

**LAPORAN PENELITIAN DASAR UNGGULAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
KLASTER RISET – PUBLIKASI PERCEPATAN KE GURU BESAR  
(KRP2GB-PDU-UNAND)**



**KONSEVASI PLASMA NUTFAH TANAMAN GAHARU  
(*Aquilaria malacensis* Lamk.) DAN UPAYA PENINGKATAN KUALITAS  
GUBAL GAHARU MELALUI STRESSING AGENS DAN CENDAWAN  
PATHOGEN (*Fusarium oxysporum*)**

Sub Judul: Konservasi Plasma Nutfah Tanaman Gaharu  
(*Aquilaria malacensis* Lamk.) Secara *In Vitro*

No. Kontrak : 40/UN.16.17/PP.PGB/LPPM/2018, TANGGAL 23 April 2018

**Tim Peneliti:**

**Dr. Ir. Benni Satria, MP/NIDN : 0030096508**  
**Ir. Syahyana Raesi, MSc/NIDN : 0003026506**  
**Dr. Ir. Gustian, MS/NIDN : 0025086016**  
**Dr. Ir. Nurbailis, MSi/NIDN : 0006116113**  
**Prof. Dr. Ir. Musliar Kasim, MS/NIDN: 0029045810**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS PADANG  
November 2018**

**HALAMAN PENGESAHAN  
PENELITIAN DASAR UNGGULAN UNIVERSITAS ANDALAS  
KLUSTER RISET –PUBLIKASI PERCEPATAN KE GURU BESAR  
(KRP2GB-PDU-UNAND)**

1. Judul Kegiatan : Konservasi Plasma Nutfah Tanaman Gaharu (*Aquilaria malacensis* L.) secara *In Vitro* dan Upaya Peningkatan Kualitas Gubal Gaharu Melalui Stressing Agens dan Jamur Pathogen (*Fusarium oxysporum*)
2. Peneliti
1. Ketua
- a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Benni Satria, MP  
b. NIDN : 0030096508  
c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
d. Program Studi : Agroekoteknologi  
e. No. HP : 082174136613  
f. Alamat surat (e-mail) : [benni\\_bd@yahoo.com](mailto:benni_bd@yahoo.com)
2. Anggota Peneliti 1
- a. Nama Lengkap : Ir. Syahyana Raesi, MSc  
b. NIDN : 0003026506
3. Anggota Peneliti 2
- a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Gustian, MS  
b. NIDN : 0025086016
4. Anggota Peneliti 3
- a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Nurbailis, MS  
b. NIDN : 0006116113
5. Anggota Peneliti 4
- a. Nama Lengkap : Prof. Dr. Ir. Musliar Kasim, MS  
b. NIDN : 0029045810
3. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas  
4. Lama Penelitian : 4 Tahun  
5. Penelitian Tahun ke-1 : Rp. 110.000.000,-  
6. Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp. 440.000.000,-  
7. Biaya Tahun Berjalan : - diusulkan Rp. 110.000.000,-  
8. No. rekening bank BPD ketua : 2100.0210.03730-9  
9. Nama rekening : Bank Nagari Kantor Cabang Utama Padang
- Mengetahui,  
Ketua Prodi Agroteknologi,  
Padang, 19 Maret 2018  
Ketua Peneliti,

  
Dr. Yushiwati, SP, MP  
NIP.197012172000122001

  
Dr. Ir. Benni Satria, MP  
NIP.196509301995121001

Menyetujui,  
Dekan Fakultas Pertanian,  
  
Dr. Ir. Munzir Busniah, MSi  
NIP.196406081989031001



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan KaruniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan akhir. Kegiatan penelitian ini didanai melalui Skim Klaster Riset Publikasi Percepatan ke Guru Besar Universitas Andalas dengan judul:” **KONSEVASI PLASMA NUTFAH TANAMAN GAHARU (*Aquilaria malacensis* L.) DAN UPAYA PENINGKATAN KUALITAS GUBAL GAHARU MELALUI STRESSING AGENS DAN CENDAWAN PATHOGEN (*Fusarium oxyporum*)”**

Terimakasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Andalas yang telah mendanai dan memfasilitasi penelitian ini sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik dan ucapan terimakasih kepada. Selanjutnya ucapan terimakasih disampaikan kepada jurusan BDP dan laboratorium kultur jaringan yang telah mengizinkan penggunaan fasilitas kebun percobaan, sehingga penelitian dapat terlaksanakan dengan baik. Demikianlah juga disampaikan kepada ketua kebun, staf kebun percobaan dan mahasiswa Fakultas Pertanian yang telah membantu dalam penyediaan tempat penelitian.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian dan penulisan laporan penelitian ini . Penulis sangat menyadari bahwa laporan ini jauh dari kesempurnaan. Maka dari itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar maksud dan tujuan dapat tercapai, sehingga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Padang, 29 November 2018

Penulis,

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Peta Jalan.....	4
1.3. Tujuan.....	5
1.4. Penerapan Hasil Kegiatan .....	5
1.5. Target Capaian Tahunan.....	6
<b>BAB II . URAIAN KEGITAN .....</b>	<b>6</b>
<b>BAB III ,METODE PENELITIAN.....</b>	<b>8</b>
3.1. Tempat dan Waktu.....	8
3.2. Bahan dan Alat .....	8
3.3. Metode Penelitian .....	8
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>11</b>
4.1. Perbanyak tanaman talas melalui kultur <i>in vitro</i> .....	11
4.2. Penyimpanan plasma nutfah talas melalui kultur <i>in vitro</i> .....	19

<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>20</b>
<b>5.1. Kesimpulan .....</b>	<b>20</b>
<b>5.2. Saran.....</b>	<b>21</b>
<b>Daftar Pustaka .....</b>	<b>22.</b>
<b>Lampiran.....</b>	<b>25</b>

**KONSEVASI PLASMA NUTFAH TANAMAN GAHARU  
(*Aquilaria malacensis* L.) DAN UPAYA PENINGKATAN KUALITAS  
GUBAL GAHARU MELALUI STRESSING AGENS DAN CENDAWAN  
PATHOGEN (*Fusarium oxysporum*)**

Sub Judul: Konservasi Plasma Nutfah Tanaman Gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk.) secara *In Vitro*

**Benni Satria<sup>1)</sup>, Syahyana Raesi<sup>2)</sup>, Gustian<sup>3)</sup>, Nurbailis<sup>4)</sup> dan Musliar Kasim<sup>5)</sup>,  
1,3 dan 5) Prodi Agroetnologi, Jurusan BDP ; 2) Prodi Agribisnis jurusan SOSEK  
dan 4) Prodi Proteksi Tanaman jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian  
Universitas Andalas Padang, Telp. (0751-7276-72701, kode Pos 25163, Indonesia  
<sup>1)</sup> Email : [benni\\_bd@yahoo.com](mailto:benni_bd@yahoo.com); [bennisatria@agr.unand.ac.id](mailto:bennisatria@agr.unand.ac.id)**

**Abstrak**

Tanaman gaharu memiliki benih yang bersifat rekasistran dimana daya kecambah menurun bila disimpan maka perlu dilakukan konservasi plasma nutfah melalui kultur jaringan. Penelitian ini merupakan percobaan tahun 1, bahagian dari klaster riset percepatan guru besar dilaksanakan selama 4 tahun. Percobaan tahun pertama terdiri dari 2 tahap yaitu tahap perbanyak tanaman secara *in vitro* dan tahap penyimpanan hasil kultur. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji F pada taraf nyata 5% dan apabila F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilarutkan dengan Uji BNJ pada taraf nyata 5%. Jenis eksplan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Embrio merupakan eksplan terbaik dalam persentase eksplan bertahan hidup, yaitu 95%; saat eksplan membentuk kalus tercepat yaitu: 12 hari; persentase eksplan membentuk kalus, yaitu: 56,33%. Kalus yang terbentuk memiliki tekstur bervariasi mulai remah sampai kompak dengan warna kalus hijau dan putih kekuningan.

Jenis media kultur memberikan pengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan eksplan. MS merupakan media terbaik dalam persentase eksplan hidup tertinggi, yaitu: 85% dan eksplan membentuk kalus tertinggi yaitu :65%. Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh terhadap induksi dan regenerasi kalus tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) dimana konsentrasi 2,5mg/L 2,4-D merupakan perlakuan terbaik pada persentase eksplan hidup, saat mulai berkalus, persentase eksplan membentuk kalus, warna kalus dan struktur kalus. Pemberian kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh terhadap regenerasi kalus, dimana konsentrasi 2,5 mg/L 2,4-D + 3,00 mg/L BAP merupakan perlakuan terbaik pada persentase kalus hidup, saat kalus beregenerasi dan persentase kalus bergenerasi membentuk shootlet dan plantlet. Perlakuan Mannitol memberikan pengaruh terhadap penyimpan plantlet tanaman gaharu dimana konsentrasi Mannitol 15 ppm merupakan perlakuan terbaik paada plantlet bertahan hidup.

---

**Key Word:** Rekasistran, Gaharu, kultur in vitro, kalus, shootlet dan plantlet

## PENDAHULUAN

Tanaman gaharu (*Aqiularia malacensis* L.) merupakan tanaman hutan bukan kayu dimana gaharu atau garu berasal dari kata melayu yang berarti “ Harun”, suatu substansi aromatik berbentuk padat berupa gulungan-gulungan besar dan kecil, berwarna coklat dan kehitam-hitaman sampai hitam yang tersebar tidak menentukan dalam pohon penghasil gaharu. Gaharu diperdagangkan sebagai komoditi mewah untuk keperluan industri : parfum, komestik, dupa, obat-obatan (obat : awet muda, menunda menopause, anti kanker, anti stress, anti stroke, jantung, Liver, anti oksidan dll). Leaflet sekilas gaharu terlampir.

Gaharu telah dikenal dalam perdagangan sejak tahun 1200-an oleh pedagang Portugis dan Tiongkok yang mempunyai nilai ekonomis yang tinggi, dimana harga 1 kg gaharu super 5 - 25 juta ditingkat ekpotir, dan ditingkat international harga gaharu double super yang ditandai warna hitam mencapai \$ 10.000 per kg (Faisal, 2005). Dewasa ini permintaan gaharu dipasaran dunia semakin meningkat sedangkan produsen menemui kendala dalam memperoleh gaharu dari petani, karena semakin langkanya tanaman penghasil gaharu, dimana umur 5 – 8 tahun telah ditebang sementara tanaman ini baru berbunga, berbuah pertama pada umur 10 tahun, tetapi buahnya banyak dibawa burung ketempat lain, sehingga walaupun ada buah yang jatuh didekat pohon hanya sedikit. CITES (organisasi perdagangan Gaharu Internasional) pada konvensi ke IX di Florida 1995, telah menetapkan bahwa tanaman penghasil gaharu terutama tanaman *Aquilaria* spp dimasukkan dalam Appendix II yang berarti penebangan dan ekspornya harus dibatasi dalam kuota dan berlaku pada semua negara, mengingat tanaman ini terancam punah bila tidak dilestarikan.

Potensi pasar bibit sangat menjanjikan mengingat tanaman gaharu saat ini termasuk tanaman terancam punah bila tidak dibudiyakan dan termasuk kategori Appendix II (Satria,2014), memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga permintaan akan bibit tinggi dari dinas Kehutanan provinsi/kabupaten/kota, perkebunan sawit swasta yang berguna sebagai tanaman pelindung sawit dan pengusaha lainnya. disamping itu permintaan inokulan pathogen jamur penyebab terbentuk gaharu tinggi, dimana masyarakat tani Sumatera Barat telah menanam sekitar 100.000 bibit melalui pembagian bibit oleh dinas Kehutanan, saat ini telah berumur antara 5 - 10 tahun

tetapi sedikit sekali pohon yang mengandung gubal, sehingga perlu dipotensikan melalui inokulasi dengan jamur pathogen (Satria, 2016).

Pohon gaharu berkembang biak dengan benih, namun tidak semua pohon menghasilkan bunga dan buah. Hasil pengamatan pada populasi *Aquilaria malaccensis* di Muara Lingge kabupaten Sijunjung (Satria, 2014), menunjukkan hanya sekitar 8% populasi tersebut yang mampu menghasilkan benih secara alamiah. Selain itu daya perkecambahan benih gaharu hanya sekitar 50% (Umboh *et al*, 2000). Di sisi lain pemanfaatan gaharu saat ini dan pada masa yang akan datang akan semakin bertambah seiring dengan pertambahan penduduk dunia. Saat ini diperkirakan kurang lebih 2,5 milyar orang yang menggunakannya, namun persediaan di hutan alam sudah semakin terbatas. Upaya budidaya gaharu tersebut belum mengimbangi jumlah pohon yang ditebang dan eksploitasi hutan gaharu yang telah dilakukan sebelumnya. Umboh *et al* (2000) melaporkan bahwa tidak semua pohon gaharu mempunyai kemampuan memproduksi gubal gaharu berkualitas.

Adapun permasalahan yang akan ditangani adalah: 1). terancam punahnya tanaman gaharu (CITES, 2015); 2). Benih gaharu bersifat rekasistran yang memiliki kadar air tinggi dan apabila disimpan akar terjadi penurunan daya kecambah dan rendahnya mutu bibit dan daya hidup tanaman yang rendah (47%) dilapangan. Salah satu alternatif dilakukan adalah dengan konsevasi plasma nutfah gaharu melalui kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan salah satu alternative konservasi plasma nutfah sumber genetik pohon gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) yang merupakan langkah awal yang strategis untuk menanggulangi erosi sumber plasma genetik, rendahnya keragaman genetik serta kelangkaan spesies-spesies gaharu. Pembangunan hutan konservasi gaharu selain mencegah terjadinya kepunahan spesies juga memperkaya keragaman genetik dan memberikan peluang tersedianya gen-gen baru melalui perkawinan silang baik secara alamiah maupun terkontrol.

Hasil perkawinan silang secara alamiah telah terbukti dapat menghasilkan turunan dengan keragaman genetik yang tinggi serta terciptanya pohon-pohon unggul secara alamiah. Bibit hasil kultur jaringan memiliki kelemahan dimana pertumbuhan daun lemah dan lambat, lapisan kutikula sedikit, perakaran sedikit dan pertumbuhan dan perkembangan akar terlambat sehingga perlu pemanfaatan Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) pada penelitian tahun ke dua. FMA berperan dalam membantu akar dalam pengambilan unsur hara, memproduksi ZPT yang dapat dimanfaatkan

oleh tanaman untuk pembesaran diameter batang, menghambat perkembangan penyakit melalui kompetisi dalam perebutan makanan, cahaya dan air dan lain-lain.

Untuk itu peneliti akan melakukan penelitian dengan judul “Konservasi Plasma Nutfah Tanaman Gaharu (*Aquilaria malacensis* L.) secara *In Vitro* dan Upaya Peningkatan Kualitas Gubal Gaharu Melalui Stressing Agens dan Cendawan Pathogen (*Fusarium oxysporum*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan: metode baku kultur *in vitro* yang tepat untuk perbanyakan dan penyelamatan plasma nutfah tanaman gaharu. Penelitian ini menjadi sangat berarti jika didapatkan metode baku yang tepat: guna konservasi plasma nutfah tanaman gaharu, aklimatisasi bibit gaharu sehingga akan diperoleh bibit gaharu bermutu.

Ada beberapa luaran yang ditargetkan dari penelitian tahun pertama ini, diantaranya adalah tersedianya metode baku yang tepat untuk konservasi plasma nutfah tanaman gaharu dalam bentuk perbanyakan dan penyimpanan plantlet, dan aklimatisasi bibit hasil kultur jaringan sehingga tersedia bibit bermutu yang dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.

Penelitian ini merujuk kepada Renstra dan Peta Jalan Penelitian (RIP) Universitas Andalas yang telah ditetapkan tema-tema penelitian unggulan. Salah satu tema yang erat kaitannya dengan rencana penelitian ini adalah Pelestarian plasma nutfah tanaman dan pengembangan tanaman obat. Isu strategis sesuai tema tersebut antara lain adalah: Teknologi Produksi Tanaman (Adaptasi tanaman terhadap Agroekoteknologi; Optimalisasi teknologi produksi tanaman yang berkelanjutan sesuai dengan kaidah-kaidah konservasi tanah dan air).

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian tahun 1 ini merupakan bagian dari kluster riset percepatan guru besar Unand selama 4 tahun (2018-2021). Penelitian ini menggunakan metode percobaan dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan, ruang aklimatisasi Laboratorium Agronomi jurusan BDP, rumah setengah bayang dan di kebun percobaan Fakultas Pertanian Universitas Andalas selama tiga tahun (tahun 2018-2020) dan Penelitian tahun ke empat (2021) di kabupaten Solok dan kota Sawah Lunto).

Percobaan ini dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan BDP Faperta Unand Padang. Percobaan dilaksanakan selama 48 minggu. Percobaan ini merupakan percobaan upaya konservasi plasma nutfah Tanaman Gaharu melalui: 1).perbanyak dan 2). penyimpanan secara *in vitro*. Percobaan tahun kedua disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan.

Percobaan perbanyak tanaman secara *in vitro* terdiri dari 3 tahap yaitu tahap 1). Tahap mencari jenis eksplan yang tumbuh pada media MS (6 minggu) 2). Tahap mencari jenis media dasar yang sesuai (6 minggu) dan 3). Tahap mendapatkan konsentrasi Zat pengatur tumbuh yang tepat (12 minggu).

Percobaan tahap 1 mencari jenis eksplan yang tepat, yang terdiri dari 3 taraf perlakuan: mendapatkan jenis eksplan (E) yang tepat untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu eksplan: 1. Pucuk (E1), 2. Embrio (E2), 3. Mahkota bunga (E3), sehingga seluruhnya ada  $3 \times 3 = 9$  satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 20 botol kultur, sehingga diperoleh 180 botol kultur.

Percobaan tahap 2 merupakan percobaan lanjutan dari penelitian tahap satu, yaitu untuk mendapatkan jenis media dasar (M) yang tepat untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan hasil penelitian tahun kedua tahap 1, yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu: 1. Media MS (M1); 2. Media WPM (M2) dan 3. Media B5 (M3), sehingga seluruhnya ada  $3 \times 3 = 9$  satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 20 botol kultur, sehingga diperoleh 180 botol kultur.

Percobaan tahap 3 disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Percobaan ini terdiri dari 2 seri: Seri pertama merupakan tahap induksi kalus pada media MS dengan berbagai konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang terdiri dari 6 taraf perlakuan, yaitu: tanpa perlakuan (kontrol) 2,4-D (D0); 0,5 mg/L 2,4-D (D1); 1 mg/L 2,4-D (D2); 1,5 mg/L 2,4-D (D3); 2,0 mg/L 2,4-D (D4); 2,5 mg/L 2,4-D (D5) dan 3,0 mg/L 2,4-D (D6)., diulang sebanyak 5 kali, sehingga terdapat 30 satuan percobaan. Pada setiap 1 satuan percobaan terdiri dari 3 botol kultur sehingga terdapat 90 botol kultur. Percobaan seri kedua merupakan tahap regenerasi kalus, dimana lanjutan dari percobaan tahap satu dimana hasil perlakuan terbaik pada percobaan tahap satu 2,4-D yaitu: 2,5 mg/l dipindahkan pada media kultur yang ditambahkan BAP dengan terdiri dari 4 taraf yaitu: 0,0 mg/L BAP (B0);

1,0 mg/L BAP (B1); 2,0 mg/L BAP (B2) dan 3,0 mg/L BAP(B3), diulang sebanyak 5 kali sehingga seluruhnya ada  $5 \times 4 = 20$  satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol kultur, sehingga diperoleh 100 botol kultur. Data hasil penelitian dianalisis dengan Uji F sidik ragam dengan taraf 5%. Apabila terdapat perbedaan nyata analisis dilanjutkan dengan uji lanjut BNJ pada taraf 5%.

Peubah yang diamati pada percobaan tahap 1 meliputi : 1). persentase eksplan hidup; 2). saat eksplan membentuk kalus; 3). persentase eksplan membentuk kalus; 4). Struktur kalus dan 6). warna kalus. Peubah yang diamati pada percobaan tahap 2 meliputi : 1). persentase eksplan hidup dan 2). persentase eksplan membentuk kalus; Peubah yang diamati pada percobaan tahap 3.1.(Induksi kalus), meliputi : 1). Persentase eksplan hidup; 2). Saat eksplan membentuk kalus; 3). Persentase eksplan membentuk kalus; 4)Struktur kalus dan 5). Warna kalus dan tahap 3.2. (Regenerasi kalus), meliputi: 1).Persentase kalus hidup; 2). Saat kalus bergenerasi; 3). Persentase kalus membentuk shootlet; 9). Persentase kalus membentuk plantlet.

Percobaan penyimpanan plasma nutfah ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi mannitol terbaik untuk penyimpanan shootlet dan plantlet Tanaman gaharu. Manfaat yang dapat diambil adalah teratasinya masalah penyediaan bibit Tanaman Talas yang selain menjadi kendala, sehingga akan membantu, program pemerintahan daerah sumbar khususnya dan pemerintahan pusat umumnya dalam pengembangan tanaman sukun khususnya.

Kegiatan ini menggunakan media dasar yang terbaik dari hasil penelitian perbanyak secara *in vitro* sebelumnya yang diperkaya dengan beberapa konsentrasi Retardan (Mannitol) pada tahap penyimpanan bahan tanam. Percobaan ini merupakan penyimpanan plasma nutfah tanaman gaharu (8 minggu) hasil kultur pada media yang terbaik hasil penelitian sebelumnya pada taraf perlakuan konsentrasi ZPT Retardan (mannitol), dimana percobaan ini terdiri dari 4 taraf perlakuan konsentrasi Manntol (R), yang terdiri dari :1. 0,00 mg/l (R0); 5,00 mg/l (R1); 10,00 mg/l (R2) dan 15,00 mg/l (R3). Setiap perlakuan terdiri dari 4 ulangan sehingga diperoleh 16 satuan percobaan pada masing-masing satuan percobaan terdiri dari 10 botol dengan total 160 botol percobaan. Data hasil peneliatan dianalisis secara statistik dengan uji F pada taraf nyata 5% dan apabila F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilarutkan dengan Uji BNJ pada taraf nyata 5%.

Peubah yang diamati pada percobaan tahap penyimpanan meliputi : 1). persentase plantlet yang hidup; 2). persentase plantlet mengalami pencoklatan; 3). tinggi plantlet; 4). jumlah daun plantlet dan 5). panjang akar plantlet

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Percobaan Mencari Jenis Eksplan

#### A.1. Persentase Eksplan yang Hidup dan Saat Eksplan membentuk Kalus

Hasil pengamatan persentase eksplan hidup dan saat eksplan membentuk kalus selama 6 minggu akibat perlakuan berbagai jenis eksplan tanaman gaharu pada media MS0 setelah dianalisis secara statistik, menunjukkan pengaruh berbeda nyata setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1 . Persentase eksplan hidup dan saat eksplan membentuk kalus akibat pengaruh berbagai jenis eksplan tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) sampai umur 6 Minggu Setelah Kultur**

Perlakuan	Persentase eksplan hidup(%)	Saat eksplan membentuk kalus (hari)
Tunas + MS0 (E1)	80,00 b	20,00 f
Embrio + MS0 (E2)	95,00 a	12,00
Mahkota Bunga + MS0(E)	65,00 c	15,00
<b>KK (%) =</b>	<b>8,96</b>	<b>5,16</b>

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ pada taraf 5%

Tabel 1 memperlihatkan bahwa persentase eksplan yang hidup dan saat eksplan membentuk kalus tertinggi dijumpai pada jenis eksplan embrio yang dikulturkan pada media MS0 berbeda nyata dengan perlakuan (tunas dan lainnya (mahkota bunga) yang dikulturkan pada media MS0.

Hal ini disebabkan karena jenis eksplan yang dikulturkan pada berbagai media kultur mampu memberikan respon untuk mempertahankan kehidupan eksplan tertinggi. Kemampuan hidup eksplan pada kultur *in vitro* sangat tergantung dari jenis eksplan itu sendiri, jenis dan komposisi media yang diberikan serta kandungan zat pengatur tumbuh (Gambar 1).



**Gambar 1. Eksplant tanaman penghasil gaharu bertahan hidup pada MS0**

Jenis dan komposisi media sangat mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup pada media tersebut, sedangkan zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin endogen yang terdapat pada eksplan berpengaruh terhadap besarnya penyerapan zat makanan yang tersedia dalam media kultur sehingga eksplan dapat bertahan hidup lebih lama (George dan Sherrington, 1984). Bila pertumbuhan eksplan baik dapat meningkatkan daya tahan hidup eksplan (Gunawan, 1988).

Ukuran eksplan juga menentukan keberhasilan pengkulturan. Bagian tanaman yang banyak mengandung persediaan makanan serta bahan lain seperti ZPT endogen untuk pertumbuhan akan lebih mudah untuk beregenerasi dibanding bagian tanaman yang kurang mengandung persediaan makanan, namun makin besar ukuran eksplan bervariasi tergantung dari tanamannya, umumnya ukuran eksplan yang baik berkisar antara 0,5 – 1,0 cm, apabila lebih kecil maka daya tahannya terhadap stress akibat proses pengkulturan akan semakin berkurang (Katuuk, 1989).

Perimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan dapat meningkatkan kemampuan hidup, pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan (Satria, Dwipa, dan Jamsari, 1999). Tanaman membutuhkan media yang mengandung unsure hara makro, unsure hara mikro, vitamin, asam dan N-organik, gula, bahan pematat, buffer organik dengan perbandingan tertentu. Unsur hara makro mutlak dibutuhkan oleh eksplan untuk pertumbuhan. Unsur hara makro yang utama dalam kultur *in vitro* adalah N,P,K,Ca,Mg, dan S. Selain itu juga perlu ditambahkan sukrosa sebagai sumber energi dan karbon. Konsentrasi sukrosa pada media antara 2 % sampai 3 % tergantung dari eksplan yang digunakan (Gunawan, 1988).

Unsur hara makro mutlak dibutuhkan oleh tanaman untuk pertumbuhannya, dan media yang baik bagi tanaman adalah adanya keseimbangan anantara ion-ion unsur makro tersebut. Unsur hara makro umumnya dibutuhkan dalam jumlah milimol (George dan Sherrington, 1984).

Unsur hara mikro adalah unsure yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang sedikit (mikromol), tetapi tanaman tanpa unsure mikro tidak akan tumbuh secara normal (Gamborg dan Shyluk, 1981). Vitamin sering digunakan dalam media kultur *in vitro*, pada konsentrasi tertentu dapat menunjang perkembangan sel (Hendaryono, dan Wijayani, 1994).

Hasil pengamatan saat eksplan membentuk kalus akibat perlakuan berbagai jenis eksplan tanaman gaharu setelah dianalisis secara statistik, menunjukkan pengaruh berbeda nyata setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa saat eksplan membentuk kalus tercepat dijumpai pada eksplan embrio yang dikulturkan pada media MS0 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Respon perubahan eksplan embrio setelah dikulturkan pada media MS0 dapat dikatakan cukup cepat. Pada mulanya, eksplan berubah dari putih kekuningan menjadi coklat pada bagian bekas pemotongan dan menjadi kehijauan pada bagian yang tidak mengalami pelukaan. Pada pengamatan 1 minggu setelah kultur, eksplan membengkak kemudian ujung eksplan merekah, dan 1 minggu kemudian terbentuk kalus. Sesuai penelitian Priyono et al. (2000), eksplan dapat membentuk kalus pada beberapa minggu setelah penaburan. Terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsang luka (Fowler, 1983). Rangsang tersebut menyebabkan keseimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir ke luar sehingga mulai terbentuk kalus.

Untuk pembentukan kalus, tergantung pada jenis eksplan yang digunakan, komposisi media kultur, dan kandungan hormone auksin endogen dan eksogen dimana sebaiknya dipakai kadar auksin tinggi (Suryowinoto, 1985 dalam Ambarwati, 1987). Menurut Priyono et al. (2000) pada kultur jaringan bakal buah pisang, bakal buah mampu beregenerasi tanpa tambahan auksin dari luar, diduga dalam buah pisang telah terkandung auksin endogen yang cukup untuk memobilisasi sel-selnya guna membentuk individu-individu baru.

## A.2. Persentase eksplan yang membentuk kalus, Struktur Kalus dan Warna Kalus

Hasil pengamatan persentase eksplan membentuk kalus selama 6 minggu akibat perlakuan berbagai jenis eksplan tanaman gaharu setelah dianalisis secara statistik, menunjukkan pengaruh berbeda nyata setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

**Tabel 2. Persentase eksplan membentuk kalus, struktur kalus dan warna kalus akibat pengaruh berbagai jenis eksplan tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) sampai umur 6 Minggu setelah Kultur**

Perlakuan	Persentase eksplan membentuk kalus (%)	Struktur kalus	Warna Kalus
Tunas + MS0 (E1)	56,33a	Kompak	Putih kekuningan
Embrio + MS0 (E2)	20,67c	Remah	Putih kekuningan
Mahkota Bunga + MS0(E3)	40,67b	Kompak	Putih kekuningan
<b>KK (%) =</b>	23,05		

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ pada taraf 5%

Tabel 2 memperlihatkan bahwa persentase eksplan membentuk kalus tertinggi dijumpai pada eksplan tunas yang dikulturkan pada media MS0 berbeda nyata dengan eksplan embrio dan mahkota bunga yang dikulturkan pada media MS0.



**Gambar 2. Bentuk kalus yang terbentuk pada eksplan embrio dan tunas**

Eksplan tunas yang dikulturkan pada media MS0 telah menghasilkan persentase eksplan membentuk kalus tertinggi yaitu sebesar 56,33%. Hal ini memperlihatkan bahwa adanya respon yang kuat dari ibu tulang daun dalam menyerap unsure hara yang ada pada media MS0 dan hormon endogen yang terdapat pada eksplan ibu tulang daun sehingga merangsang perkembangan jaringan untuk membentuk kalus. Selain itu terbentuknya kalus yang tinggi pada jenis eksplan ini disebabkan ibu tulang daun mempunyai banyak jaringan pengangkut yang berfungsi

sebagai jalur transportasi fotosintat sehingga banyak mengandung nutrisi dan hormon endogen. Dengan adanya zat pengatur tumbuh endogen sehingga mengakibatkan proses proliferasi sel mengarah pada pembentukan kalus yang tinggi. Sesuai dengan pendapat Warneing dan Philips (1981) bahwa hormon endogen saja yang terdapat dalam jaringan eksplan akan mempengaruhi proses fisiologis dan morfologis tanaman.

Disamping itu menurut Mandang (2000) bahwa media MS merupakan jenis media yang paling banyak dipakai dalam kultur jaringan dimana keistimewaan dari media MS adalah kandungan nitrat, kalium dan ammonium yang tinggi (Kyte, 1990). Empat faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman dalam kultur jaringan yaitu genotype, media, lingkungan tumbuh dan fisiologi jaringan tanaman sebagai eksplan (Wattimena, et al, 1991).

Pada dasarnya setiap tanaman dapat digunakan sebagai sumber eksplan, tetapi sel-sel yang telah mengalami differensiasi lebih sukar ditumbuhkan dibandingkan dengan sel meristematik. Scheiden dan Schwan mengatakan bahwa sel mempunyai kemampuan otonom dan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel darimana saja sel itu diambil, bila ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai akan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Persentase terbentuknya kalus yang tinggi pada eksplan ibu tulang daun dibandingkan eksplan pucuk dan petiole juga disebabkan fenol yang dikeluarkan oleh kedua jenis eksplan di atas, sehingga menyebabkan persentase eksplan yang bertahan hidup lebih sedikit dan peluang untuk berkembang membentuk kalus lebih kecil dibandingkan dengan eksplan ibu tulang daun.

Rendahnya persentase terbentuknya kalus disebabkan terganggunya keseimbangan hormone endogen atas batas optimum, sehingga proses proliferasi sel akhirnya menjadi terganggu dan akibatnya jumlah eksplan yang membentuk kalus menjadi menurun. Secara umum persentase terbentuknya kalus yang rendah juga disebabkan besarnya pengaruh fenol yang dikeluarkan oleh semua jenis eksplan. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh bahwa ternyata kemampuan eksplan tunas pucuk gaharu untuk membentuk kalus lebih rendah dibandingkan pada eksplan ibu tulang daun. Kenyataan ini bertolak belakang dengan pendapat para ahli terdahulu yang menyatakan bahwa untuk beberapa tanaman tunas pucuk dan tunas aksilar terbukti sebagai eksplan yang paling memuaskan dalam pembentukan kalus dan pada umumnya jaringan tanaman yang sedang tumbuh aktif cenderung untuk tumbuh lebih baik dibandingkan bagian tanaman yang lebih tua (Drew, 1980). Selanjutnya Gunawan (1988) menyatakan bahwa eksplan yang dapat menghasilkan terutama kalus adalah

hipokotil, kotiledon, tunas pucuk, meristem muda, tunas samping dan jaringan yang masih aktif membelah.

Rendahnya persentase terbentuknya kalus pada eksplan tunas pucuk dan petiole dibandingkan dengan eksplan ibu tulang daun karena pengaruh fenol yang dikeluarkan oleh eksplan ini lebih banyak dibandingkan fenol yang dikeluarkan oleh eksplan ibu tulang daun. Akibatnya kemampuan eksplan yang hidup lebih sedikit dan peluang terbentuknya kalus juga lebih sedikit walaupun umumnya tunas pucuk adalah jaringan meristematis yang mudah ditumbuhkan.

Kesulitan dalam mengembangkan tanaman berkayu adalah mendapatkan eksplan yang steril, karena tanaman induk tumbuh di lapangan, kemampuan regenerasi yang sangat lemah serta sering mengeluarkan senyawa fenol yang menyebabkan racun terhadap media tanam dan tanaman itu sendiri sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan kultur (Gunawan, 1988). Induksi kalus diawali dengan pengkerutan eksplan kemudian diikuti dengan munculnya kalus pada permukaan eksplan yang mengalami perlakuan. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) kalus merupakan sel-sel yang belum terdeferensiasi yang terbentuk pada salah satu atau seluruh irisan eksplan. Dari hasil penelitian yang diperoleh, secara umum menunjukkan bahwa metode yang digunakan belum mampu memberikan hasil yang maksimal, namun data dijadikan sebagai informasi awal bagi pemuliaan tanaman dalam upaya kegiatan penyelamatan dan pelestarian tanaman penghasil gaharu secara *in vitro*.

Menurut Gunawan (1988) kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung antara lain; umur fisiologis dan jaringan waktu diisolasi, bagian tanaman yang dipakai sebagai sumber eksplan dan jenis tanaman. Pembentukan kalus terjadi jika perbandingan antara konsentrasi Auksin dan Sitokinin dalam keadaan seimbang baik endogen maupun eksogen (Rao, Sin, Kothagoda, and Hutchinson, 1981 ; dan Widiastoe, 1985).

Selanjutnya perbedaan bagian bahan eksplan akan mempengaruhi kemampuan eksplan membentuk kalus, sebagaimana pendapat Wiendi, Wattimena, dan Gunawan (1991) bahwa kemampuan eksplan membentuk kalus dan laju pertumbuhannya dapat berbeda antar bagian jaringan eksplan. Hal ini sesuai dengan hasil percobaan Masyudi (1993) yang mana terdapat perbedaan kemampuan eksplan membentuk kalus dan daya regenerasi kalus antara bagian-bagian dari jaringan eksplan.

Faktor lain yang berpengaruh adalah lingkungan tempat tumbuh, yang paling utama cahaya dan suhu ruang kultur. Temperatur ruangan dapat mempengaruhi proses

fisiologis eksplan. Murashige menggaris bahwa suhu ruang kultur in vitro hendaknya 20 – 25 oC, walaupun bebrapa jenis spesies tanaman ada yang daapat tumbuh dengan suhu yang samanamun tiap jenis tanaman memiliki suhu optimal untuk pertumbuhan dan perbanyakan (Wattimena, et al, 1991). Pertumbuhan organ tanaman secara in vitro yang optimal seringkali memerlukan adanya cahaya, namun tidak demikian dengan proses pembelahan. Awal pembelahan sel dari eskplan yang dikulturkan dan pertumbuhan kalus kadang-kadang dihambat oleh adanya cahaya (Wattimena et al., 1991).

Pengamatan struktur kalus dan warna kalus dilakukan secara visual dan menggunakan pinset. Struktur kalus yang dihasilkan pada berbagai jenis eksplan (tunas pucuk, embrio dan mahkota bunga)ditampilkan pada Tabel 2 dan secara umum dapat dilihat pada Gambar 3 . Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa respon berbagai jenis eksplan yang dikulturkan pada berbagai media kultur memperlihatkan perbedaan



**Gambar 3. Respon berbagai jenis eksplan pada berbagai media kultur**

terhadap struktur kalus dan warna kalus tanaman penghasil gaharu. Umumnya struktur kalus yang terbentuk pada percobaan ini berbentuk remah dan kompak dan mempunyai warna yang berbeda.

Berdasarkan hasil yang beranekaragam tersebut struktur kalus yang diperoleh pada percobaan ini data dipengaruhi oleh genotip eksplan yang digunakan serta media kultur yang digunakan. Wattimena et al(1992) menyatakan bahwapembentukan kalus atau organ pada kultur in vitro lebih dipengaruhi oleh genotype, inisiasi kultur, lingkungan tumbuh dan fisiologi jaringan yang digunakan. Bentuk, tekstur, warna dan kemampuan morfogenetik serta diferensiasi sel tergantung pada umur dan kemurnian jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Perbedaan yang terjadi akan

lebih besar jika eksplan tersusun lebih dari satu jenis sel (George dan Sherrington, 1984).

Kalus dari berbagai spesies dapat berbeda tekstur, viabilitas dan warna dan pembentukan kalus ditandai dengan perubahan tekstur eksplan menjadi kasar dan permukaannya mengkilat saat terpantul cahaya (Wetherell, 1982). Berdasarkan hasil percobaan di atas menunjukkan bahwa umumnya struktur kalus tersebut kompak maka jenis kalus ini cocok dimanfaatkan untuk organogenesis. Triatminingsih *et al.*, (2000) menyatakan bahwa bentuk dan warna kalus akan menentukan arah morfogenesis selanjutnya. Kalus yang remah cocok dimanfaatkan untuk embriogenesis sedangkan kalus yang kompak untuk organogenesis.

Struktur kalus kompak yang diperoleh pada penelitian ini menggambarkan bahwa peluang kalus untuk dikembangkan dan ditumbuhkan lebih lanjut menjadi tanaman untuh (plantlet) secara langsung lebih besar. Hal ini dapat menjadi suatu nilai tambah bagi pemuliaan tanaman dalam rangka upaya mengatasi kelangkaan tanaman penghasil gaharu secara *in vitro*.

## **B. Percobaan mencari jenis media kultur**

### **B.1. Persentase Eksplan Hidup dan Eksplan Membentuk Kalus pada Berbagai Media**

Hasil pengamatan persentase eksplan membentuk kalus tanaman gaharu selama 6 minggu akibat perlakuan berbagai jenis media kultur setelah dianalisis secara statistik, menunjukkan pengaruh berbeda nyata setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa persentase eksplan hidup dan membentuk kalus tertinggi dijumpai pada media kultur MS yang berbeda nyata dengan perlakuan media kultur lainnya. Eksplan tunas yang dikulturkan pada media MS telah menghasilkan persentase eksplan hidup dan membentuk kalus tertinggi yaitu sebesar 85% dan 65%. Hal ini memperlihatkan bahwa adanya respon yang kuat dari tunas dalam menyerap unsure hara yang ada pada media MS dan hormon endogen yang terdapat pada eksplan ibu tulang daun sehingga merangsang perkembangan jaringan untuk membentuk kalus. Selain itu terbentuknya kalus yang tinggi pada jenis eksplan ini disebabkan ibu tulang daun mempunyai banyak jaringan pengangkut yang berfungsi sebagai jalur transportasi fotosintat sehingga banyak mengandung nutrisi dan hormon endogen. Dengan adanya zat pengatur tumbuh endogen sehingga mengakibatkan proses proliferasi sel mengarah pada pembentukan kalus yang tinggi. Sesuai dengan pendapat Warneing dan Philips (1981) bahwa hormon endogen saja

yang terdapat dalam jaringan eksplan akan mempengaruhi proses fisiologis dan morfologis tanaman. Disamping itu menurut Mandang (2000) bahwa media MS merupakan jenis media yang paling banyak dipakai dalam kultur jaringan dimana keistimewaan dari media MS adalah kandungan nitrat, kalium dan ammonium yang tinggi (Kyte, 1990).

**Tabel 3. Persentase eksplan tunas hidup dan persentase eksplan tunas membentuk kalus pada berbagai jenis Media Kultur sampai umur 6 Minggu Setelah Kultur**

<b>Media Kultur</b>	<b>Persentase Eksplan hidup(%)</b>	<b>Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)</b>
Tunas + MS (M1)	85,00 a	65,00 a
Tunas + WPM (M2)	65,00 b	45,00 b
Tunas+B5 (M3)	50,00 c	30,00 c
<b>KK=</b> <b>10,00%</b>		

**Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji BNJ pada taraf 5%**

Empat faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman dalam kultur jaringan yaitu genotype, media, lingkungan tumbuh dan fisiologi jaringan tanaman sebagai eksplan (Wattimena, et al, 1991). Pada dasarnya setiap tanaman dapat digunakan sebagai sumber eksplan, tetapi sel-sel yang telah mengalami differensiasi lebih sukar ditumbuhkan dibandingkan dengan sel meristematik. Scheiden dan Schwan mengatakan bahwa sel mempunyai kemampuan otonom dan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel darimana saja sel itu diambil, bila ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai akan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Persentase terbentuknya kalus yang tinggi pada eksplan tunas dibandingkan eksplan lainnya juga disebabkan fenol yang dikeluarkan oleh kedua jenis eksplan di atas, sehingga menyebabkan persentase eksplan yang bertahan hidup lebih sedikit dan peluang untuk berkembang membentuk kalus lebih kecil dibandingkan dengan eksplan ibu tulang daun. Rendahnya persentase terbentuknya kalus disebabkan terganggunya

keseimbangan hormone endogen atas batas optimum, sehingga proses proliferasi sel akhirnya menjadi terganggu dan akibatnya jumlah eksplan yang membentuk kalus menjadi menurun. Secara umum persentase terbentuknya kalus yang rendah juga disebabkan besarnya pengaruh fenol yang dikeluarkan oleh semua jenis eksplan. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh bahwa ternyata kemampuan eksplan tunas pucuk gaharu untuk membentuk kalus lebih rendah dibandingkan pada eksplan ibu tulang daun. Kenyataan ini bertolak belakang dengan pendapat para ahli terdahulu yang menyatakan bahwa untuk beberapa tanaman tunas pucuk dan tunas aksilar terbukti sebagai eksplan yang paling memuaskan dalam pembentukan kalus dan pada umumnya jaringan tanaman yang sedang tumbuh aktif cenderung untuk tumbuh lebih baik dibandingkan bagian tanaman yang lebih tua (Drew, 1980). Selanjutnya Gunawan (1988) menyatakan bahwa eksplan yang dapat menghasilkan terutama kalus adalah hipokotil, kotiledon, tunas pucuk, embrio muda, tunas samping dan jaringan yang masih aktif membelah.

Kesulitan dalam mengembangkan tanaman berkayu adalah mendapatkan eksplan yang steril, karena tanaman induk tumbuh di lapangan, kemampuan regenerasi yang sangat lemah serta sering mengeluarkan senyawa fenol yang menyebabkan racun terhadap media tanam dan tanaman itu sendiri sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan kultur (Gunawan, 1988). Induksi kalus diawali dengan pengkerutan eksplan kemudian diikuti dengan munculnya kalus pada permukaan eksplan yang mengalami perlukaan. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) kalus merupakan sel-sel yang belum terdeferensiasi yang terbentuk pada salah satu atau seluruh irisan eksplan. Dari hasil penelitian yang diperoleh, secara umum menunjukkan bahwa metode yang digunakan belum mampu memberikan hasil yang maksimal, namun data dijadikan sebagai informasi awal bagi pemuliaan tanaman dalam upaya kegiatan penyelamatan dan pelestarian tanaman penghasil gaharu secara *in vitro*.

Menurut Gunawan (1988) kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung antara lain; umur fisiologis dan jaringan waktu diisolasi, bagian tanaman yang dipakai sebagai sumber eksplan dan jenis tanaman. Pembentukan kalus terjadi jika perbandingan antara konsentrasi Auksin dan Sitokinin dalam keadaan seimbang baik endogen maupun eksogen (Rao, Sin, Kothagoda, and Hutchinson, 1981 ; dan Widiastoety, 1985).

Selanjutnya perbedaan bagian bahan eksplan akan mempengaruhi kemampuan eksplan membentuk kalus, sebagaimana pendapat Wiendi, Wattimena, dan Gunawan (1991) bahwa kemampuan eksplan membentuk kalus dan laju pertumbuhannya dapat berbeda antar bagian jaringan eksplan. Hal ini sesuai dengan hasil percobaan Masyudi (1993) yang mana terdapat perbedaan kemampuan eksplan membentuk kalus dan daya regenerasi kalus antara bagian-bagian dari jaringan eksplan.

Faktor lain yang berpengaruh adalah lingkungan tempat tumbuh, yang paling utama cahaya dan suhu ruang kultur. Temperatur ruangan dapat mempengaruhi proses fisiologis eksplan. Murashige menggaris bahwa suhu ruang kultur *in vitro* hendaknya 20 – 25 oC, walaupun beberapa jenis spesies tanaman ada yang dapat tumbuh dengan suhu yang samanapun tiap jenis tanaman memiliki suhu optimal untuk pertumbuhan dan perbanyakannya (Wattimena, et al, 1991). Pertumbuhan organ tanaman secara *in vitro* yang optimal seringkali memerlukan adanya cahaya, namun tidak demikian dengan proses pembelahan. Awal pembelahan sel dari eksplan yang dikulturkan dan pertumbuhan kalus kadang-kadang dihambat oleh adanya cahaya (Wattimena et al., 1991).

### **C. Mencari Zat Pengatur Tumbuh**

#### **C.1. Persentase Eksplan Hidup dan Saat Eksplan Membentuk Kalus**

Berdasarkan analisis ragam persentase eksplan hidup dan saat eksplan membentuk kalus tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) umur 6 minggu setelah tanam pada konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh berbeda nyata, setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4 memperlihatkan bahwa persentase eksplan yang hidup tinggi dan saat eksplan membentuk kalus tercepat dijumpai pada pemberian konsentrasi 2,50 ppm 2,4-D (D5) berbeda tidak nyata dengan 2,00 ppm 2,4-D (D4) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Hal ini disebabkan karena berbagai kombinasi konsentrasi Auksin (2,4-D) berbeda mampu mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan sehingga eksplan mempunyai kemampuan untuk dapat dapat hidup. Moore (1979) ; George dan

Sherrington (1984) melaporkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin pada konsentrasi rendah mampu merangsang pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta mempertahankan daya hidup jaringan eksplan, tetapi pada konsentrasi yang tinggi zat pengatur tumbuh dapat bersifat menghambat perkembangan morfogenesisi eksplan. Perimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan dapat meningkatkan kemampuan hidup, pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan (Satria, Dwipa, dan Jamsari, 1999)

**Tabel 4. Persentase Eksplan Hidup dan Saat Eksplan Membentuk Kalus pada Konsentrasi 2,4-D sampai umur 4 Minggu Setelah Kultur**

Perlakuan	% Eksplan Hidup	Saat eksplan berkalus (hari)
D0= (0,0 mg/L 2,4-D)	35,00 e	27,8 ± 1,27 d
D1 = (0,5 mg/L 2,4-D)	40,00 de	25,5 ± 1,27 d
D2 = (1,0 mg/L 2,4-D)	45,60 cd	22,40 ± 1,27 cd
D3 = (1,5 mg/L 2,4-D)	51,50 bc	19,00 ± 1,27 bc
D4 = (2,0 mg/L 2,4-D)	68,40 ab	12,40 ± 1,27ab
D5 = (2,5 mg/L 2,4-D)	79,17 a	10,00 ± 1,27a
	KK = = 15,70	KK = 11,89

**Angka yang diikuti huruf kelas yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNJ taraf nyata 5%.**

Jenis dan komposisi media sangat mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup pada media tersebut, sedangkan zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin endogen yang terdapat pada eskplan dan eksogen yang ditambahkan berpengaruh terhadap besarnya penyerapan zat makanan yang tersedia dalam media kultur sehingga eksplan dapat bertahan hidup lebih lama( George dan Sherrington, 1984). Bila pertumbuhan eksplan baik dapat meningkatkan daya tahan hidup eksplan (Gunawan, 1988). Respon perubahan eksplan perlakuan D5 setelah dikulturkan dapat dikatakan cukup cepat. Kalus dapat muncul pada permukaan eksplan dan dari pelukaan yang dilakukan. Sesuai penelitian Priyono et al. (2000), eksplan dapat membentuk kalus pada beberapa minggu setelah penaburan. Terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsang luka (Fowler, 1983). Rangsang tersebut menyebabkan keseimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir ke luar sehingga mulai

terbentuk kalus. Untuk pembentukan kalus, tergantung pada jenis eksplan yang digunakan, komposisi media kultur, dan kandungan hormon auksin endogen dan eksogen dimana sebaiknya dipakai kadar auksin tinggi (Suryowinoto, 1985 dalam Ambarwati, 1987). Sesuai dengan yang dipaparkan oleh Kumianjani (2015), bahwa hal ini disebabkan karena pembentukan kalus pada eksplan secara fisiologi dipengaruhi oleh perubahan genetik pada sel tanaman oleh auksin. Sel yang merespon auksin akan menyebabkan dediferensiasi dan memacu pembelahan sel, senyawa auksin 2,4-D merupakan jenis auksin yang berperan dalam merangsang perbesaran dan sangat baik dalam pembelahan sel untuk membentuk kalus.

### C.2. Persentase Eksplan Membentuk Kalus

Berdasarkan analisis ragam persentase eksplan berkalus setelah tanam pada konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh berbeda nyata, setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % dan kalus yang terbentuk nertekstur kompak dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Persentase Eksplan Berkalus dan Tekstur Kalus pada Konsentrasi 2,4-D sampai umur 4 minggu Setelah Kultur**

Perlakuan	% Eksplan Berkalus	Tekstur Kalus
D0= (0,0 mg/L 2,4-D)	10,00 d	Kompak
D1 = (0,5 mg/L 2,4-D)	15,00 d	Kompak
D= (1,0 mg/L 2,4-D)	20,00 cd	Kompak
D3 = (1,5 mg/L 2,4-D)	25,00 bc	Kompak
D4 = (2,0 mg/L 2,4-D)	30,00 b	Kompak
D5 = (2,5 mg/L 2,4-D)	40,00 a	Kompak
KK = %	15,50	

Keterangan : angka yang diikuti huruf kelas yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji BNJ taraf nyata 5%.

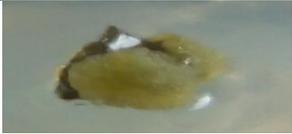
Induksi kalus diawali dengan pengkerutan eksplan kemudian diikuti dengan munculnya kalus pada permukaan eksplan yang mengalami perlukaan. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) kalus merupakan sel-sel yang belum terdeferensiasi yang terbentuk pada salah satu atau seluruh irisan eksplan. Dari hasil penelitian yang diperoleh, secara umum menunjukkan bahwa metode yang digunakan belum mampu memberikan hasil yang maksimal, namun data dijadikan sebagai informasi awal bagi pemuliaan tanaman dalam upaya kegiatan penyelamatan dan pelestarian tanaman penghasil gaharu secara in vitro.

Struktur kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas suatu kalus. Kalus secara visual dapat dibedakan menjadi tiga tipe, yaitu kalus kompak, intermediet, dan remah. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa bentuk, tekstur/struktur, warna dan kemampuan morfogenetik serta diferensiasi sel tergantung pada umur dan kemurnian jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Perbedaan yang terjadi akan lebih besar jika eksplan tersusun lebih dari satu jenis sel. Kalus dari berbagai spesies dapat berbeda tekstur, viabilitas dan warna dan pembentukan kalus ditandai dengan perubahan tekstur eksplan menjadi kasar dan permukaannya mengkilat saat terpantul cahaya (Wetherell, 1982). Berdasarkan hasil percobaan di atas menunjukkan bahwa umumnya struktur kalus tersebut kompak maka jenis kalus ini cocok dimanfaatkan untuk organogenesis. Triatminingsih *et al* (2000) menyatakan bahwa bentuk dan warna kalus akan menentukan arah morfogenesis selanjutnya. Kalus yang remah cocok dimanfaatkan untuk embriogenesis sedangkan kalus yang kompak untuk organogenesis.

### C.3. Warna Kalus

Warna kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas suatu kalus. Warna kalus dari eksplan daun umumnya memiliki warna hijau hingga putih kekuningan. Berikut ditampilkan data hasil pengamatan warna kalus pada Tabel 6.

**Tabel 6. Data hasil warna kalus tanaman gaharu sesuai dengan *Munsell Color Chart* sampai umur 4 Minggu Setelah Kultur**

Perlakuan	Warna Kalus	Kalus
D0	<i>Pale Yellow</i>	
D1	<i>Yellow</i>	
D2	<i>Pale Yellow</i>	

D3	<i>White</i>	
D4	<i>Yellow</i>	
D5	<i>Pale Yellow</i>	

---

Dari data dapat dilihat bahwa warna kalus yang diperoleh adalah putih kehijauan, putih kekuningan, dan kecoklatan. Kalus yang berwarna putih kehijauan menandakan bahwa kalus mempunyai sel-sel yang masih aktif membelah dan mengandung klorofil. Kalus yang berwarna putih kekuningan merupakan jaringan yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi, selain itu kalus berwarna putih terang menandakan bahwa kalus memiliki pertumbuhan dan dalam keadaan yang baik (Tsuru, 1998). Sedangkan kalus yang berwarna kecoklatan merupakan kalus yang selnya telah rusak atau selnya tidak aktif membelah lagi. Hal ini dapat terjadi karena terlambatnya dilakukan kegiatan subkultur.

Perbedaan warna kalus disebabkan oleh adanya perbedaan perkembangan tiap kalus. Warna putih kehijauan merupakan awal terjadinya morfogenesis (Phisesa, 2008). Perubahan warna terjadi dapat disebabkan karena adanya pigmentasi dari klorofil yang mengalami degradasi. Semakin banyak keberadaan klorofil semakin hijau warna kalus, begitu pula sebaliknya.

#### ***C.4. Persentase eksplan kalus bertahan hidup dan saat kalus beregenerasi***

Hasil sidik ragam terhadap persentase eksplan kalus bertahan hidup dan saat kalus beregenerasi, dimana setelah kalus yang terbentuk pada percobaan tahap sebelumnya disubkultur pada perlakuan berbagai kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap persentase kalus bertahan

hidup dan saat kalus beregenerasi setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7 memperlihatkan bahwa persentase eksplan yang hidup tertinggi dan saat kalus beregenerasi tercepat (Gambar 4) dijumpai pada pemberian kombinasi konsentrasi 2,50 ppm 2,4-D + 3,00 BAP (K3) berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Hal ini disebabkan karena berbagai kombinasi konsentrasi Auksin(2,4-D) dan Sitokinin (BAP) mampu mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan sehingga eksplan kalus mempunyai kemampuan untuk dapat hidup dan memiliki kemampuan berregenerasi membentuk shootlet. Moore (1979) ; George dan Sherrington (1984) melaporkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin pada konsentrasi rendah mampu merangsang pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta mempertahankan daya hidup jaringan eksplan, tetapi pada konsentrasi yang tinggi zat pengatur tumbuh dapat bersifat menghambat perkembangan morfogenesisi eksplan. Perimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan dapat meningkatkan kemampuan hidup, pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan (Satria, Dwipa, dan Jamsari, 1999)

**Tabel 7. Persentase eksplan kalus bertahan hidup dan saat kalus beregenerasi Sampai umur 16 minggu setelah kalus disubkultur pada kombinasi konsentrasi 2, 4-D (mg/L) + BAP(mg/L) pada umur 8 Minggu Setelah Kultur**

<b>Kombinasi Konsentrasi 2,4-D (mg/L) + BAP (mg/L)</b>	<b>% kalus hidup</b>	<b>Saat kalus Beregenerasi menjadi shootlet</b>
0,00 + 0,00 (K0)	29,00 d	23,00 b
2,50 + 0,00 (K1)	45,00 c	15,00 a
2,50 + 1,50 (K2)	65,50 b	14,33 a
2,50 + 3,00 (K3)	79,13 a	10,00 a
KK (%) =	16,59	21,65

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ pada taraf 5%

Jenis dan komposisi media sangat mempengaruhi besarnya daya tahan eksplan untuk hidup pada media tersebut, sedangkan zat pengatur tumbuh Auksin

dan Sitokinin endogen yang terdapat pada eksplan dan eksogen yang ditambahkan berpengaruh terhadap besarnya penyerapan zat makanan yang tersedia dalam media kultur sehingga eksplan dapat bertahan hidup lebih lama (George dan Sherrington, 1984). Bila pertumbuhan eksplan baik dapat meningkatkan daya tahan hidup eksplan (Gunawan, 1988).

Perbedaan kombinasi konsentrasi 2,4-D + BAP memberikan pengaruh terhadap persentase eksplan kalus membentuk shootlet dan jumlah shootlet yang terbentuk. Pemberian kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2,50 ppm dan 3,00 ppm BAP dalam keadaan seimbang mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan membentuk shootlet yang lebih tinggi. Perbanyakkan dengan menggunakan kalus diharapkan terjadinya organogenesis yang merupakan salah satu sumber keragaman genetik dengan terjadinya kemungkinan variasi somaklonal (Wattimena *et al.*, 1991). Wattimena (1988), Agusta (1995), Wattimena (1988) dan Satria (1999) mengatakan bahwa kalus dapat beregenerasi membentuk shootlet apabila terjadi keseimbangan antara zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin.

#### **C.5. Persentase Kalus Beregenerasi Membentuk Shootlet dan Plantlet**

Hasil sidik ragam terhadap persentase kalus beregenerasi membentuk shootlet dan plantlet, setelah kalus yang terbentuk pada percobaan tahap sebelumnya disubkultur pada perlakuan berbagai kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap persentase kalus beregenerasi membentuk shootlet dan plantlet setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5 % yang disajikan pada Tabel 8. Tabel tersebut memperlihatkan bahwa persentase kalus beregenerasi membentuk shootlet dan plantlet tertinggi (Gambar 5) dijumpai pada pemberian kombinasi konsentrasi 2,50 ppm 2,4-D + 3,00 BAP (K3) berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Hal ini disebabkan karena berbagai kombinasi konsentrasi Auksin(2,4-D) dan Sitokinin (BAP) mampu mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan sehingga eksplan kalus mempunyai kemampuan untuk dapat hidup dan memiliki kemampuan berregenerasi membentuk shootlet. Moore (1979); George dan

Sherrington (1984) melaporkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin pada konsentrasi rendah mampu merangsang pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta mempertahankan daya hidup jaringan eksplan, tetapi pada konsentrasi yang tinggi zat pengatur tumbuh dapat bersifat menghambat perkembangan morfogenesis eksplan.

**Tabel 8. Persentase kalus membentuk Shootlet dan Plantlet pada berbagai konsentrasi BAP dan pada Media MS pada umur 8 Minggu Setelah Kultur**

Kombinasi Konsentrasi 2,4-D (mg/L) + BAP (mg/L)	% kalus membentuk shootlet	% Kalus membentuk plantlet
2,50 + 0,00 (K0)	5,00 d	12,00 c
2,50 + 0,00 (K1)	30,00 c	15,00 c
2,50 + 1,50 (K2)	45,20 b	30,00 b
2,50 + 3,00 (K3)	56,67 a	50,00 a
KK (%) =	16,59	21,65

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut BNJ pada taraf 5% Tabel 8

Perimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan dapat meningkatkan kemampuan hidup, pertumbuhan dan perkembangan jaringan eksplan (Satria, Dwipa, dan Jamsari, 1999) .



**Gambar 3. Shootlet dan plantlet tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) yang terbentuk setelah kalus disubkultur pada berbagai kombinasi konsentrasi 2,4\_D dan BAP) pada media MS umur 12 minggu setelah disubkultur**

Satria, Ferita, Dwipa and Jamsari , 1999b and and Pierik, 1987 menyatakan bahwa karena ZPT endogen maupun eksogen Sitokinin mampu memacu sitokinesis, terjadi peningkatan jumlah sel. Sitokinesis adalah proses pembelahan sel, dimana sel-sel yang telah menyerap air lebih banyak, terjadi penambahan plasma serta diikuti

dengan sel-sel tersebut tumbuh memanjang, selanjutnya sel mengalami diferensiasi yang menyebabkan sel-sel tersebut mengalami spesialisasi fungsi.

Selanjutnya zat pengatur tumbuh endogen Auksin yang rendah dan Sitokinin tinggi yang terkandung dalam eksplan, tetapi dalam keadaan seimbang mendorong pertumbuhan eksplan dan perkembangan eksplan membentuk shootlet. Satria, Hervani dan Gustian (2005) melaporkan bahwa Sitokinin tinggi berfungsi dalam merangsang pembentukan tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel dan merangsang sel. Wiendi, *et al* (1991); dan Wattimena 1988 melaporkan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman membentuk shootlet dan plantlet secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dari zat pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin dalam jaringan eksplan.

#### D. Penyimpanan Plantlet

Hasil sidik ragam terhadap persentase plantlet bertahan hidup pada media penyimpanan MS yang diperkaya dengan zat penghambat tumbuh manitol pada berbagai konsentrasi setelah plantlet dipindahkan pada media penyimpanan tersebut menunjukkan perlakuan berbagai konsentrasi ZPT, memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap persentase plantlet bertahan hidup setelah dilanjutkan dengan uji BNJ pada taraf 5% yang disajikan pada Tabel 8. Tabel tersebut memperlihatkan bahwa persentase plantlet bertahan hidup tertinggi (Gambar 6) dijumpai pada pemberian konsentrasi 10 ppm manitol yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

**Tabel 9. Persentase plantlet hidup pada media penyimpanan yang mengandung konsentrasi mannitol pada umur 8 Minggu Setelah Kultur**

Konsentrasi Mannitol (ppm)	Persentase Plantlet Hidup (%)
0,00	50 d
5,00	70 b
10,00	90 a
15,00	70 b
<b>KK= %</b>	<b>17,50</b>

Angka-angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5%

Persentase plantlet bertahan hidup berkisar 50 - 90% dan yang terbaik dijumpai pada perlakuan konsentrasi mannitol 10 ppm, dimana berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh berbagai konsentrasi zat penghambat tumbuh mannitol, dimana konsentrasi mannitol tertentu dapat memperpanjang masa simpan plantlet.



**Gambar 4. Plantlet hidup**

Gati (2000) melaporkan bahwa pemberian tekanan osmotik dengan menambahkan bahan osmotik seperti mannitol dapat memperpanjang masa simpan bahan tanam. Selanjutnya Heshan (1982) dan Suryowinoto (1996) penekanan pertumbuhan samapi sekecil mungkin, jika dapat bahkan sampai nol. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka jumlah daun yang terbentuk juga semakin sedikit.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Jenis eksplan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Embrio merupakan eksplan terbaik dalam persentase eksplan bertahan hidup, yaitu 95%; saat eksplan membentuk kalus tercepat yaitu: 12 hari; persentase eksplan membentuk kalus, yaitu: 56,33%. Kalus yang terbentuk memiliki tekstur bervariasi mulai remah sampai kompak dengan warna kalus hijau dan putih kekuningan.

2. Jenis media kultur memberikan pengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan eksplan. MS merupakan media terbaik dalam persentase eksplan hidup tertinggi, yaitu: 85% dan eksplan membentuk kalus tertinggi yaitu :65%.
3. Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh terhadap induksi dan regenerasi kalus tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis* Lamk) dimana konsentrasi 2,5mg/L 2,4-D merupakan perlakuan terbaik pada persentase eksplan hidup, saat mulai berkalus, persentase eksplan membentuk kalus, warna kalus dan struktur kalus. Pemberian kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh terhadap regenerasi kalus, dimana konsentrasi 2,5 mg/L 2,4-D + 3,00 mg/L BAP merupakan perlakuan terbaik pada persentase kalus hidup, saat kalus beregenerasi dan persentase kalus beregenerasi membentuk shootlet dan plantlet .
4. Perlakuan Mannitol memberikan pengaruh terhadap penyimpanan plantlet tanaman gaharu dimana konsentrasi Mannitol 15 ppm merupakan perlakuan terbaik pada plantlet bertahan hidup.

## **B. Saran**

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan dengan menggunakan komposisi media tumbuh dan dosis FMA

## **ACKNOWLEDGMENT**

We want to say many thanks to head the Laboratory of Agronomy an tissue culture , Faculty of Agriculture, University of Andalas, To Institute for research and Community Service Andalas University was sponsored by Riseach grant was the acceleration of the Unand professor.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Akter, Selina., Md. Tanvir Islam, Mohd Zulkefeli, Sirajul Islam Khan. 2013. *Agarwood Production - A Mulidisciplinary Field To Be Explored In Bangladesh*. International Journal of Parmaceutical Life Sciences. ISSN 2305-0330. Vol 2 Issue 1.
- Andriyani, S. 2010. *Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curacas* L) Secara In Vito*. Jurnal Agroekoteknologi 4 (1).

- Armini, N. M., G. A. Wattimena dan L. W. Gunawan. 1991. *Perbanyakan Tanaman*. Hal 17-149. Dalam : Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Bioteknologi Tanaman 1. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institusi Pertanian Bogor. Bogor.
- Chambbell N. A., R. Jane, M. G. Lawrence. 2003. *Biology, Edition 5*. Erlangga : Jakarta.
- CITES (Convention on International Trade in Endangered Species). 2010. *Report On Ndf Of Agarwood For Sustainability Harvest In Indonesia*. Research Center For Biology Indonesian Institute Of Sciences And Director General Of Forest Protection And Nature Conservation - Forestry Department. <https://cites.org/eng/node/17934>
- Coimbra. M. C, R. C. R. Chagas, J. M. D. Almeida, A. H. F. Castro. 2017. *Influence of Plant Growth Regulator And Light On Callus Induction And Bioactive Phenolic Compounds Production In Pyrostegia venusta (Bignoniaceae)*. Indian Journal of Experimental Biology. 55 : 584-590
- Fowler, M. W. 1983. *Comercial Application And Economic Aspects of Mass Plant Cell Culture*. In : *Plant Biotechnology*. Mantell Smith, H. London : Cambridge University Press.
- Gati, E. 2000. Aplikasi penyimpanan tanaman langka secara in vitro dengan pertumbuhan minimal. Buletin Plasma Nutfah. Vol. 6 No.1. Hal 24-30
- Genady. Ezzat. A. M. 2017. *Influence Of 2,4-D And Picloram On In Vitro Callus Induction From Verbena bipinnatifida Nutt. And Evaluation Of In Vivo Anti-Inflammatory Activity Of Callus Extract*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 11(2): 146-150
- Gunawan, L. W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 165 hal.
- Gustian dan B. Satria. 2009. *Upaya Perbanyakan Tanaman Penghasil Gaharu (Aquilaria malacensis Lamk) Secara In Vitro*. Laporan Penelitian Fundamental. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional. 41 hal
- Habibah. N. A, S. Moeljopawiro, K. Dewi, A. Indrianto. 2018. *Callus Induction And Flavonoid Production On The Immature Seed Of Stelechocarpus Burahol*. International Conference on Mathematics, Science and Education 2017 (ICMSE2017) Series: Journal of Physics : series 983(2018) : 012186
- Hendaryono, Daisy. P.S dan A. Wijayani. 2004. *Kultur Jaringan : Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Modern*. Karnisius. Yogyakarta
- Indah, P. N dan Dini, E. 2013. *Induksi Kalus Daun Nyimplung (Calophyllum inophyllum Lin) Pda Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6 Benzylaminopurine*

*BAP dan 2,4 Dichlorophenoxyiaceric Acid 2,4-D*. Jurnal Sains POMITS. 2(1) : 2337- 2343.

- Isnaini, Y., dan J. Situmorang. 2005. *Aplikasi bioteknologi untuk pengembangan tanaman gaharu (Aquilaria spp.) di Indonesia (Studi kasus: Perkembangan penelitian gaharu di SEAMEO Biotrop)*. Malang : Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia.
- Kamenvora. K., N. Abumhadi, K. Gecheff, A. Atanassov. 2005. *Molecular Farming In Plants : An Approach Of Agricultural Biotechnology*. Journal of Cell and Molecular Biology. 4 : 77-86.
- Kumianjani, Elita, R. I .Damanik, L. A. M. Siregar. 2015. *Pengaruh Pemberian N 2,4-D Terhadap Pertumbuhan dan Metabolisme Kalus Kedelai Pada Kondisi Hipoksida Secara Invitro*. 4(1). Jurnal Agroekoteknologi
- Lestari, E. G. 2011. *Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan*. Jurnal Agrobiogen : Vol 7, No 1.
- Lewu F. B. dan A. J. Afolayan. 2011. *Plant Growth Regulators, Light and Temperature Influenced Micropropagation and Successful Field Establishment of Vernonia amygdalina Del*. Journal of Agricultural Science and Technology. ISSN 1939 – 1250.
- Maw. Z. W dan I. Kenji. 2017. *Evaluation Of Callus Induction And Plant Regeneration On Different Media In Rice F1 Hybrids Using Anther Culture*. International Journal of Scientific & Engineering Research 8. (10) : 2229-5518
- Miller. Frederic. P, Agnes F. Vandome, McBrewster John. 2010. *Agarwood*. VDM Publishing. 72 hal
- Oldfield, S., C. Lusty, and A. MacKinven. 1998. *The Word List Of Threatened Tress*. World Conservation Monitoring Centre. World Conservation Press Cambridge.
- Palei. S, G. R. Rout, A. K. Das, dan D. K. Dash. 2017. *Callus Induction And Indirect Regeneration Of Strawberry (Fragaria x Ananassa) Duch. CV. Chander*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 6 (11) : 1311-1318
- Phinesa. 2008. *Pengaruh Konsentrasi IBA, IAA dan BAP Terhadap Pembentukan Akar Poinsettia (Euphorbia Pulcherrima Wild et klotzh) In vitro*. Departement Agronomi Hortikultura. Fakultas Pertanian Institusi Pertanian Bogor
- Ramawat, K. G. 1999. *Secondary Plant Product In Nature In Biotechnology Secondary Metabolism*. U.S.A : Science Publisher, inc, pp 11-37
- Reis. A, A. M. Kleinowski, F. R. S. Klein, R. T. T. Souza, L. D. Amarante, E. J. B. Braga. 2017. *Callus Induction And Betacyanin Quantification By HPLC/MS- Ms In Alternanthera brasiliana*. Hoehnea 44(1) : 90-95

- Saika, Moitreyee, Karuna Shrivastava, S. Sureshkumar Singh. 2012. *An Efficient Protocol for Callus Induction in Aquilaria malaccensis Lamk Using Leaf Explants at Varied Concentrations of Sucrose*. DOI: 10.5923/j.plant. 2(6). 7 hal
- Santoso, U. Dan Nursadi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang. UMM Press.
- Satria, B. 2001. Upaya perbanyak gaharau (*Aquilaria malaccensis* L.) melalui kultur jaringan. Laporan Penelitian Rutin. 13 hal.
- Satria, B. 2004. Identifikasi spesies tanaman gaharu di beberapa kabupaten di Sumatera Barat. Mapeni Indarung Padang, Padang.
- Satria, B. 2005. Identifikasi morfologi jamur patogen penyebab terbentuknya gaharu dan spesies tanaman penghasil gaharu endemik Sumatera Barat. Laporan (tidak dipublikasikan). Yayasan Mapeni Indarung Padang, Padang.
- Satria, Gustian, E. Swasti, dan M. Kasim. 2006. Identifikasi keragaman jamur patogen dan tanaman *Aquilaria* spp dan inokulasi jamur patogen penyebab terbentuknya gaharu pada beberapa spesies tanaman penghasil gaharu endemik Sumatera Barat. Laporan (tidak dipublikasikan). Yayasan Mapeni Indarung Padang, Padang.
- Satria, Gustian, E. Swasti dan M. Kasim. 2007 – 2009. Kompatibilitas interaksi jamur patogen, stressing agens dengan tanaman penghasil gaharu dalam upaya meningkatkan kualitas gubal gaharu
- Satria, B. 2014. Pengaruh lama pengeringan dan kadar air pucuk dan daun terhadap masa kadarluasa teh gaharu. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Penelitian kerjasama dengan Gaharu woodindo.
- Satria, B, D. Hervani, dan Gustian. 2008. *Perbanyak Vegetatif Tanaman Gaharu Pada Media WPM yang Diperkaya Dengan 2,4-D Secara In Vitro*. Laporan Penelitian dana SP4 jurusan BDP faperta Unand. 24 hal.
- Setyamidjaja, D 1986. *Kesuburan dan Pemupukan*. CV Simplek. Jakarta. 122 hal
- Sharma. A, S. Sharma, dan A. Kaushik. 2017. *A New Method To Increase Callus Induction And Plant Regeneration From Mature Embryo Of Wheat*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(5): 2658-2661
- Sharma. P, A. Patil, dan D. Patil. 2016. *Effect Of Culture Media And Growth Hormone On Callus Induction in chataevatapia L*. International Journal of Pharmaceutical Research. 9 (2)
- Syarif, Z; N. Akhir dan B. Satria. 2016. Identifikasi morfologi dan molekuler tanaman talas. Laporan Peneliti Hibah Guru Besar than ke-1, Dana BOPTN Unand, Padang.

- Syarif, Z; N. Akhir dan B.Satria.2017. Identification of Plant Morphology of Talas as a Potencial Source of Carbohydrates . Journal IJASET. ISSN: 2088-5334. Vol 7 No. 2. Page 573-579.
- Syarif, Z; N. Akhir dan B.Satria.2017. Konservasi Plasma Nutfah tanaman Talas secara In Vitro. Laporan Penelitian HGB tahun ke-2, Dana BOPTN Unand, Padang..
- Sudarmonowati. E., 2005. Konservasi Plasma Nutfah. Buku pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Litbang Pertanian. hal. 27-37.
- Sumarna, Yana. 2012. *Budidaya Jenis Pohon Penghasil Gaharu*. Bogor : Departemen Kehutanan Pusat Litbag Produktivitas Hutan.
- Thuro, M. 1998. *Comparation Effect Of Different Types of Cyotokinin For Shoot Formation And Plant Regeneration In Leaf Derivat Callus of Lavender (Lavandura vera DC)*, Kyoto Prefecural Japan. 606-852.
- Wahyuni. D. K, P. Andriani, A. N. M. Ansori, E. Setiti, W. Utami. 2017. *Callus Induction Of Gendarussa By Various Concentration of 2,4-D, IBA, BAP*. Journal of Biology & Biology Education. 9 (3) (2017) 402-408
- Wattimena, G.A.. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU IPB. Bogor. 145 hal.
- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro* (diterjemahkan oleh Koensoemardiayah). IKIP Semarang Press : Semarang.
- Yuliarti, N dan F. S. Suyantoro. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. ANDI : Yogyakarta. 69 hlm.
- Zamini. A, A. Mokhtari, M. Tansaz, M. Zarei. 2016. *Callus Induction And Plant Regeneration Of Valeriana officinalis Are Affected By Different Leaf Explats And Various Concentrations Of Plant Growth Regulators*. Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology. 97(4) : 61-269
- Zulkarnain dan Hadiyono. 1997. *Mikropropagasi Tanaman Nenas (Ananas comosus L) Menggunakan Tunas Aksilar Mahkota Bungan Sebagai Material Awal*. Buletin Agronomi Universitas Jambi 1(2) : 65-69.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta : Bumi Aksara. 185 hlm.

