SKRIPSI

BERI ADIMAS ARYANTO GINTING NIM. 12620020

Oleh:



JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG 2018

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

BERI ADIMAS ARYANTO GINTING
NIM. 12620020

JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2018

SKRIPSI

Oleh : BERI ADIMAS ARYANTO GINTING NIM, 12620020

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji Tanggal: 16 Januari 2018

Dosen Pembimbing I

Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002 Dosen Pembimbing II

<u>Umaiyatus Syarifah, M.A</u> NIP. 19820925 200901 2 005

Tanggal, 16 Januari 2018

Mengetahui Ketua Jurusan Biologi

Romaidi, M. Si., D. Sc NIP. 19810201 200901 1 019

SKRIPSI

Oleh: BERI ADIMAS ARYANTO GINTING NIM. 12620020

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 16 Januari 2018

Penguji Utama	Suyono M.P NIP. 19751006 200312 1 001	Som
Ketua Penguji	Ruri Siti Resmisari, M.Si NIDT. 19790123 20160801 2 063	Rus-
Sekretaris Penguji	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	7
Anggota Penguji	<u>Umaiyatus Syarifah, M.A</u> NIP. 19820925 200901 2 005	4

Mengetahui, Ketua Jurusan Biologi

Romaidi, M. Si., D. Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama

: Beri Adimas Aryanto Ginting

NIM

: 12620020

Jurusan

: Biologi

Fakultas

: Sains dan Teknologi

Judul Sripsi

: Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Terhadap

Perkecambahan dan Induksi Kalus Embrionik Tanaman Cendana

(Santalum album L.) Secara In Vitro

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagi hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Januari 2018 Yang Membuat Pernyataan

Beri Adimas Aryanto Ginting

NIM: 12620020

MOTTO

Barang siapa keluar untuk mencari Ilmu maka dia berada **di** jalan Allah ". (HR. Turmudzi)

"내일이 곧 지금이다"

"Besok adalah Sekarang"

HALAMAN PERSEMBAHAN

Teruntuk, Allah SWT yang menciptakan aku Dengan kelebihan dan kekurangan

Ayahanda (Alm) Andrianus Ginting, Ayahanda Ibnu Qoyyim Nasution, Ibunda Masitah br Bangun yang menjadi perantara Rabby, membesarkan dan mendidik saya. Untuk Adinda Ahmad Rifai'i Nasution, Muhammad Abduh Nasution dan Zahratul Husni Nasution yang selalu mendukung dan menyemangati saya.

Special Thanks to Koloni Biologi 2012 dan 2013

Teman perjuangan nyekripsi Mike wati, Alfiatun Hasanah, Muzdalifah, Ari Mustofa, Putro, Mufidahtunniswah, Ismi, Pipit, Desy sari Utami, Subriyah, Zaidatul Khasanah, Imam subandi (terimakasih sudah mau menampung keluh kesah dan membantu selama penelitian berlangsung)

Para Korlab, Mbk Lil, Mas Basyar, Mas Ismail

Teman-Teman yang sudah ikut berpartisipasi dalam membantu dalam mengerjakan skripsi Choirus zakinah, Roihana al-Firdaus, kurniawan, Novita rahmawati, Tazkiah Diah Arifiani dan emil serta yang membuat saya tertawa ketika kesuntukan melanda yaitu MEMBER EXO & GOT 7.

Terima Kasih atas bantuan dan doanya dan semua pihak yang sudah turut membantu tak dapat kusebutkan satu persatu.

"승자는 결코 시도하길 멈추지 않는다"

Syukron and Anyyeonghaseo 🛘 🗀

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbil 'alamiin, puji syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga skripsi dengan judul "Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Terhadap Perkecambahan dan Induksi Kalus Embrionik Tanaman Cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*" ini dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

- Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 4. Kholifah Holil, M.Si selaku pembimbing yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.

- 5. Umaiyatus Syarifah, M.A selaku pembimbing agama yang dengan senyum kesabaran telah membimbing dan mengarahkan skripsi ini pada kajian alqur'an dan as-sunnah.
- 6. Suyono M.P dan Ruri Siti Resmisari, M.Si yang telah banyak memberikan saran dan evaluasi pada penelitian ini.
- 7. Seluruh dosen, staf dan administrasi dan laboran Jurusan Biologi yang telah banyak membantu penyusunan skripsi ini.
- 8. Ayahanda tercinta Ibnu Qoyyim Nasution S.Pdi dan Ibunda Masitah Br Bangun yang dengan penuh kasih sayang dan kesabaran telah memberikan segala bentuk dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan studi sampai penulisan skripsi ini..
- Choirus zakinah S.Si, selaku partner yang selalu mendukung dan menyemangati dalam mengerjakan skripsi serta membantu dalam pengoreksian skripsi.
- 10. Novita Rahmawati dan Mike wati selaku patner yang selalu ikut serta dalam membantu mengerjakan penelitian.
- 11. Teman-teman Biologi angakatan 2012 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat untuk membawa khasanah ilmu pengetahuan, khususnya di bidang pengembangan biologi molekuler.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 16 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	\mathbf{v}
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	XV
ABSTRACT	xvi
الملخص الملخص	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.5 Batasan Masalah	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Cendana (Santalum album Linn)	13
2.1.1 Tinjauan Umum (Santalum album Linn)	
2.1.2 Persyaratan Tempat Tumbuh Cendana	16
2.1.2.1 Iklim	
2.1.2.2 Keadaan Tanah	16
2.1.2.3 Ketinggian Tempat	16
2.1.3 Morfologi Cendana	17
2.2 Kultur Jaringan	21
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan	
2.2.2 Prinsip Kultur Jaringan	22
2.2.3 Manfaat Kultur Jaringan	22
2.3 Perbanyakan Cendana	23
2.3.1 Perbanyakan Cendana Secara Generatif	24
2.3.2 Pengumpulan Buah dan Biji	24
2.3.3 Ekstraksi Benih	
2.3.4 Penyimpanan Benih	25
2.4 Klasifikasi Dormansi	
2.5 Dormansi Fisiologis	26
2.5.1 Pematahan Dormansi	28

2.5.2 Perkecambahan	29
2.5.3 Metabolisme Perkecambahan	30
2.6 Perbanyakan Cendana Secara Vegetatif	35
2.6.1 Kultur Kalus	
2.6.2 Kultur Kalus Embrionik	
2.7 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kultur Jaringan	
	42
	42
	45
2.8.3 BAP (6-Benzyl Amino Purine)	47
	49
2.9 Tekstur Kalus	51
	52
BAB III METODE PENELITIAN	55
3.1 Rancangan Penelitian	55
3.2 Variabel Penelitian	55
	56
3.4 Alat dan Bahan	
3.4.1 Alat	
3.4.2 Bahan	
3.5 Langkah Kerja	
	57
	61
*	65
	65
3.6.2 Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kecambah, Hari Muncul	
	65
3.6.3 Pengamatan Hari Munculnya Kalus, Persentase Kalus, Berat	
Basah Kalus, Warna Kalus, Tekstur Kalus dan Anatomi Kalus	
	66
3.7 Analisis Data	68
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	69
4.1 Pengaruh Penambahan Berbagai Macam Zat Pengatur Tumbuh	
(GA3, BAP dan IBA) Terhadap Perkecambahan Biji Cendana	
(Santalum album Linn) Secara in Vitro	69
4.2 Induksi Kalus Embriogenik	82

4.2.1 Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Kuantitas Kalus Embriogenik Pada Eksplan Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana Secara <i>in Vitro</i>	82
4.2.2 Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Morfologi dan Anatomi Kalus Embriogenik pada Eksplan Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana secara <i>in Vitro</i>	90
BAB V PENUTUP	100
5.1. Kesimpulan	100 101
DAFTAR PUSTAKA	102
LAMPIRAN	11

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Analisis <i>Oneway Anova</i> Pengaruh Berbagai Macam Zat Pengatur Tumbuh (GA3, BAP dan IBA) Terhadap Perkecambahan Biji Cendana (<i>Santalum album</i> Linn) Secara <i>in Vitro</i>	69
Tabel 4.2 Hasil Uji BNJ 5% Pengaruh Berbagai Macam Zat Pengatur Tumbuh (GA3, BAP dan IBA) Terhadap Perkecambahan Biji Cendana (<i>Santalum album</i> Linn) secara <i>in vitro</i>	70
Tabel 4.3 Hasil Analisis <i>Oneway Anova</i> Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik pada Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana (<i>Santalum album</i> Linn) Secara <i>in Vitro</i>	83
Tabel 4.4 Hasil Uji BNJ 5% Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik pada Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana (<i>Santalum album</i> Linn) Secara <i>in Vitro</i>	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon Induk Batang Cendana	17
Gambar 2.2 Daun Tanaman Cendana	18
Gambar 2.3 Bungan dan Biji Tanaman Cendana	19
Gambar 2.4 Buah Tanaman Cendana	20
Gambar 2.5 Akar Tanaman Cendana	21
Gambar 2.6 Metabolisme Perkecambahan	31
Gambar 2.7 Pengubahan ATP menjadi ADP	32
Gambar 2.8 Struktur Kimia 2,4-D	43
Gambar 2.9 Struktur Kimia IBA (Indole Butyric Acid)	46
Gambar 2.10 Struktur Kimia BAP (6-Benzyl Amino Purine)	48
Gambar 2.11 Tekstur Kalus Jarak Pagar	51
Gambar 2.12 Warna Kalus Jarak Pagar	54
Gambar 4.1 Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Morfologi dan	
Anatomi Kalus Embriogenik pada Daun dan Kotiledon	
Tanaman Cendana (Santalum album Linn) Secara in	
Vitro	90
Gambar 4.2 Anatomi Kalus Embrionik Tanaman Cendana	97

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas dan Koefisien	
Keragaman	115
Lampiran 2. Data Hasil Pengamatan Induksi Kalus	120
Lampiran 3. Gambar Hasil Pengamatan Kecambah Biji Cendana dan Induks	i
Kalus Embriogenik Daun dan Kotiledon	122
Lampiran 4. Alat-Alat Penelitian	124
Lampiran 5. Bahan-Bahan Penelitian	125
Lampiran 6. Perhitungan Larutan Stok	126
Lampiran 7. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok	127



ABSTRAK

Ginting, Beri Adimas Aryanto. 2018. **Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh** (**ZPT**) **Terhadap Perkecambahan dan Induksi Kalus Embrionik Tanaman Cendana** (*Santalum album L.*) **Secara** *In Vitro*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si; Pembimbing Agama: Umaiyatus Syarifah, M.A.

Kata kunci: Santalum album, perkecambahan, biji cendana, kalus daun dan kotiledon, IBA, BAP, GA3, 2,4-D, kultur in vitro.

Cendana (*Santalum album* L.) merupakan tanaman yang tumbuh khusus di Nusa Tenggara Timur serta memiliki beragam manfaat yaitu minyaknya digunakan dalam dunia farmasi, kosmetik dan parfum, sedangkan kayunya digunakan sebagai patung, tasbih dan kipas. Kebutuhan cendana didunia sangatlah tinggi sehingga kekurangan cendana didunia mencapai 80ton pertahun. Kekurangan ini disebabkan karena tanaman cendana yang mudah mati sehingga budidaya secara konvensional sulit dilakukan. Kondisi ini mendorong untuk melakukan budidaya secara massal menggunakan teknik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* dilakukan melalui perkecambahan dan induksi kalus embrionik dari daun dan kotiledon dengan penambahan 2,4-D. Induksi kalus kotiledon harus dimulai dari proses perkecambahan dengan penambahan IBA, BAP dan GA3. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh IBA, BAP dan GA3 terhadap perkecambahan biji serta pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus embrionik dari daun dan kotiledon cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perkecambahan biji cendana menggunakan IBA dan BAP dengan konsentrasi 0 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5mg/L, 2mg/L dan 2.5mg/L sedangkan GA3 0mg/L, 5mg/L, 10mg/L, 15mg/L, 20mg/L dan diulang masing-masing sebanyak 5 kali. Untuk induksi kalus embrionik daun dan kotiledon cendana menggunakan penambahan 2,4-D dengan konsentrasi 0mg/l, 1mg/L, 2mg/L, 3mg/L dan diulang masing-masing sebanyak 6 kali. Data perkecambahan biji dan kalus cendana dianalisis dengan uji *Oneway Anova* α = 5%. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf signifkan 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian IBA, BAP dan GA3 terhadap perkecambahan biji dan 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik daun dan kotiledon tanaman cedana. Konsentrasi yang paling terbaik dalam meningkatkan perkecambahan biji cendana adalah pada hari muncul kecambah GA3 20mg/L (7.6 HST); tinggi batang IBA 1.5mg/L (4.616cm); panjang akar IBA 1mg/L (5.25cm) dan jumlah daun GA3 10mg/L (4.8). Konsentrasi yang paling terbaik terhadap induksi kalus embrionik dengan penambahan 2,4-D yaitu hari munculnya kalus 3mg/L (19.666) pada daun dan 3mg/L (17.666) pada kotiledon; persentase pertumbuhan kalus 2mg/L (99.17%) pada daun dan 2mg/L (100%) pada kotiledon; berat basah kalus 2mg/l (0.180783gr) pada daun dan 1mg/L (0.9002) pada kotiledon. Untuk warna kalus yang dihasilkan adalah putih kekuningan, putih kehijauan, hijau dan hijau kekuningan, sedangkan teksturnya remah, kompak dan intermediet.

ABSTRACT

Ginting, Beri Adimas Aryanto. 2018. Effect of the additions Growing on Germinatin and Embrionic Callus Induction on Sandalwood (Santalum album L.) In Vitro. Thesis. Biology Department Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Biology Advisor: Kholifah Holil, M.Si; Religion Advisor: Umaiyatus Syarifah, M.A.

Keywords: Santalum album L., germination, sandalwood seeds, callus leaf and cotyledons, IBA, BAP, GA3, 2,4-D, in vitro cultures

Sandalwood (*Santalum album* L.) is specially growed plant in Nusa Tenggara Timur. Its oil is widely used in pharmacy, cosmetics, and perfumery industry while its wood is used for statue, rosary, and fan. High demand for sandalwood resulted in shortage of sandalwood reached 80 tons per year. This is due to vulnerability of sandalwood to easily die so the conventional cultivation is difficult to be done. To overcome this, mass cultivation using *in vitro* technique is highly recommended. *In vitro* culture is done through germination and induction of embryonic callus from leaves and cotyledon by adding 2,4-D. Induction of cotyledon callus should starts from germination with the addition of IBA, BAP, and GA3. Therefore, this study aims to determine the influence of IBA, BAP and GA3 on seed germination as well as the effect of 2.4-D addition on embryonic callus induction from Sandalwood leaves and cotyledon *in vitro*.

This experimental research was conducted using complete randomized design method. Germination of sandalwood seed was done using IBA and BAP with concentration varies from 0 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5mg/L, 2mg/L and 2.5mg/L while GA3 0mg/L, 5mg/L, 10mg/L, 15mg/L, 20mg/L and repeated 5 times each. Callus embryonic induction of leaf and cotyledon were done by addition of 2,4-D with concentration 0mg/l, 1mg/L, 2mg/L, 3mg/L and repeated each of 6 times. Data of seed germination and callus of sandalwood were analyzed by Oneway Anova test $\alpha = 5\%$. If there is significant difference then continued with HSD test (BNJ) with 5% significance level.

The results showed that there was an effect of adding IBA, BAP and GA3 on seed germination and 2,4-D on induction of embryogenic callus from sandalwood leaf and cotyledon. The best concentration for increasing the germination of sandalwood seeds is the sprouts appear in GA3 20mg/L (7.6 HST); stem height in 1.5mg/L IBA (4.616cm); length of root in IBA 1mg/L (5.25cm) and leaf amount in GA3 10mg/L (4.8). The best concentration on induction of embryogenic callus by the addition of 2,4-D on the day of callus emergence 3mg/L (19,666) on leaves and 3mg/L (17.666) on cotyledon; percent growth of callus 2mg/L (99.17%) on leaves and 2mg/L(100%) on cotyledon; wet weight callus 2mg/L (0.180783gr) on leaves and 1mg/L (0.9002gr) on cotyledon. For the resulting callus color is yellowish white, greenish green, green and yellowish green, while the texture is crumb, compact and intermediates.

مختلص البحث

غينتيع ,بييري اديماس اربيانتو. تاثير إضافة المواد المنظم للنمو (ZPT) و إثيار كاليوس امريوجنيك من شجر خشب الصندل (.Santalum album L.) في المختبر. بحثٌ عمليٌ. قسم البيولوجيا، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة في علم البيولوجيا: خليفة خليل الماجستير, المشرفة في علم الدين: امية الشريفة الماجستير.

الكلمات الرئيسية: خشب الصندل (.Santalum album L.) الإنبات، بذرة خشب الصندل، كاليوس من الأوراق و كوتيليدون، GA3، BAP ،IBA، الضندل، كاليوس من الأوراق و كوتيليدون، D-2.4

خشب الصندل هو نبات ينمو خاصة في نوسا تينجارا الشرقية وله فوائد متنوعة منها النفط المستعمل في المستحضرات الصيدلانية ومستحضرات التحميل والعطور، و اما الأخشاب تستعمل لتمثال والمسبحة والمروحة. والحاجة البيه مرتفعة جدا حتى يوجد ان نقص خشب الصندل في العالم يصل إلى 80 طن في السنة. و هذا النقص يسبب بسهل موت النباتات خشب الصندل الصغيرة و لذلك, يصعب قيام المشتل تقليدياً. وتشجع هذا الحال الى زراعة الجماعة باستعمال تقنية زراعة الأنسجة النباتية المختبرية يقام بالإنبات و إثيار كاليوس من الورقة و كوتيليدون بزيادة 4.2-D. ويجب ابتداء اثيار كاليوس و كوتيليدون بالإنبات بزيادة AAD, ولذلك, يهدف هذا البحث إلى معرفة تأثير بالإنبات البذور, و معرفة تأثير زيادة 4.2-D الى إثيار كاليوس المربوجنيك من الورقة و كوتيليدون من شجر خشب الصندل (.A BAP) في (Santalum album L) في المختبر.

و صفة هذا البحث هو بحثٌ تجريبيٌ و استعمل خطة طائشة كاملة (RAL). و بذور BAP الإنبات من خشب الصندل يستعمل BAP و BAP و BAP بتركيز 0 ملغ 0.5 ملغ 0.5

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu organisme yang berperan penting dalam kehidupan manusia. Peranan tumbuhan tersebut diantaranya sebagai sandang, pangan dan papan. Allah SWT berfirman dalam surat asy-Syu'ara (26): 7;

Artinya: Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?(QS Asy-Syuara /26:7).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam al-Quran surat as-Syu'ara (26): 7, kata Karim (عُرِيم) berarti baik/mulia. Adapun kata al-karam dalam bahasa arab adalah al-fadhl (keutamaan). Kata tersebut menunjuk pada kata Anbatsna (اَنْبَتْنَا) yang berarti menumbuhkan tanaman. Allah SWT telah menumbuhkan tanaman yang baik yaitu tanaman yang tumbuh subur dan bermanfaat (Katsir,2004; al-Qurthubi, 2008). Salah satu tanaman yang baik adalah tanaman cendana.

Cendana (Santalum album L.) merupakan tanaman yang tumbuh secara alami di Indonesia khususnya di Wilayah Nusa Tenggara Timur (NTT). Tanaman cendana memiliki berbagai macam manfaat yaitu kayu dan minyaknya banyak digunakan untuk upacara-upacara adat dan upacara kematian. Manfaat lain yang dimiliki tanaman cendana yaitu kayunya banyak digunakan untuk bahan baku kerajinan seperti patung, gagang keris, tasbih dan kipas. Sedangkan minyaknya banyak digunakan dalam dunia farmasi, kosmetik dan dimanfaatkan sebagai

parfum (Herawan, 2012). Bagian tanaman cendana yang dipanen untuk di manfaatkan adalah bagian akar dan kayunya karena banyak mengandung minyak atsiri (Brand dan P.Jones, 1999).

Kandungan minyak cendana dapat mencapai 10% dari berat akar dan 1,5% - 2,10% dari berat kayunya atau rata-rata keduanya berkisar 4,5%-6,25% (Rahayu, dkk., 2002). Banyaknya manfaat serta tingginya kandungan minyak yang dimiliki tanaman cendana membuat minyak dan kayu cendana banyak diekspor ke berbagai Negara. Negara-negara yang mengekspor minyak dan kayu cendana adalah Negara Eropa, Amerika, China, Hongkong, Korea, Taiwan, dan Jepang (Herawan dkk, 2015). Untuk kebutuhan minyak cendana di dunia diperkirakan sekitar 200 ton pertahun. Mayoritas kebutuhan disuplai dari India sekitar 100 ton, sedangkan dari Indonesia, Australian, Kaledonia Baru dan Fuji sekitar 20 ton sehingga kekurangan sekitar 80 ton pertahun (Masyhud, 2009). Kekurangan tersebut ternyata disebabkan karena adanya masalah dalam keberhasilan penanaman cendana.

Permasalahan dalam keberhasilan penanaman cendana adalah tanaman cendana yang memiliki sifat yang mudah mati. Menurut Surata (2006) bahwa kematian bibit cendana cukup tinggi dengan tingkat keberhasilan tumbuh antara 20-40% apabila ditanam menggunakan teknik penanaman secara langsung ditanah. Selain itu, penanaman biji cendana secara konvensional juga memiliki tingkat keberhasilan yang rendah dan membutuhkan waktu berkecambah yang sangat lama ±1 bulan. Surata dan Idris (2001) menjelaskan bahwa keberhasilan tanaman cendana dinilai masih rendah yaitu kurang dari 50%. Kondisi tersebut

mendorong untuk membuat suatu terobosan dalam penyediaan bibit tanaman cendana secara massal. Penyediaan bibit tanaman cendana secara massal dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan secara *in vitro*.

Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyakan yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif singkat, proses pembibitan tidak tergantung oleh musim serta dalam perbanyakan tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif maupun generatif konvensional. Adapun perbanyakan tanaman cendana dapat dilakukan dengan cara mengecambahkan biji dan induksi kalus embriogenik secara kultur *in vitro* (Suryowinoto, 1996).

Perbanyakan tanaman menggunakan biji melalui proses perkecambahan secara *in vitro* akan dibantu oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) pada media. Penambahan ZPT pada media merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh dalam perkecambahan biji, karena dapat membantu mempercepat perkecambahan dalam menghentikan dormansi pada biji. Oleh karena itu, pemilihan zat pengatur tumbuh pada perkecambahan biji cendana sangatlah penting. Beberapa diantara ZPT yang akan digunakan untuk perkecambahan biji candana adalah GA3, BAP dan IBA.

Giberelin (GA3) merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam proses perkecambahan dikarenakan giberelin berperan dalam menghambat dormansi dan mempercepat perkecambahan biji dengan cara mengaktifkan reaksi enzim didalam biji. Proses pengaktifan enzimatik akan dimulai ketika asam giberelin didisfusikan ke lapisan aleuron, dimana akan dihasilkan enzim-enzim

hidrolitik. Enzim-enzim hidrolitik akan berdifusi ke endosperm menjadi gula dan asam amino. Gula reduksi sebagian akan digunakan dalam respirasi untuk menghasilkan energi dan sebagian lagi akan ditranslokasikan ke titik pertumbuhan embrio biji. Penelitian Keshtkar *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa pemberian giberelin pada konsentrasi 100ppm hingga 500ppm dapat menghasilkan kenaikan yang signifikan dalam meningkatkan persentase perkecambahan pada biji *Astragalus cyclophyllon*.

BAP (*Benzyl Amino Purine*) merupakan hormon sitokinin yang berperan sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan merangsang sel dorman. Menurut Wattimena (1990) bahwa sitokinin sebagai senyawa organik dapat mendorong perkecambahan biji, pembelahan sel dan menentukan arah diferensiasi sel tanaman. Pembelahan sel dapat terjadi karena terjadinya pengikatan sitokinin dengan reseptor histidin kinase di membran sel. Kopleks sitokinin-reseptor akan mengalami fosforilasi sehingga gugus fosfat akan diterima oleh apartat yang selanjutnya ditransfer menuju histidin pada protein AHP.

Protein AHP yang telah aktif kemudian mengalami fosforilasi sehingga dapat masuk ke nukleus dan mengaktifkan protein ARR tipe B. Protein ARR tipe B dapat mengaktifkan ekspresi gen yang meregulasi pembelahan sel, pembentukan tunas serta menghambat penuaan daun. Pengaktifan protein ARR tipe B akan meningkatkan transkripsi protein ARR tipe A. Protein ARR tipe A bersama-sama dengan protein ARR tipe B berperan dalam memediasi perubahan fungsi sel, seperti pengaturan pembelahan sel (Schmulling *et al.*, 2003). Hasil penelitian Kabar dan Saner (1990) menunjukkan bahwa pemberiam kinetin pada

konsentrasi 100ppm dapat meningkatkan persentase perkecambahan pada biji selada.

IBA (*Indole Butyric Acid*) merupakan golongan auksin yang berperan dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel pada tanaman. Mekanisme kerja auksin dalam pemanjanga sel dengan cara mempengaruhi pengendoran atau pelenturan dinding sel. Auksin akan memacu protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H+ ke dinding sel. Ion H+ ini akan mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa silang hydrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Sel tumbuh kemudian memanjang akibat air yang masuk secara osmosis. Setelah pemanjangan terjadi sel akan terus tumbuh dengan mensintesis kembali material dinding sel dan sitoplasma.

Selanjutnya adalah perbanyakan tanaman melalui proses induksi kalus embriogenik secara *in vitro*. Kalus embriogenik merupakan kalus yang memiliki potensi untuk bergenerasi menjadi tanaman lengkap melalui proses organogenesis dan embriogenesis. Kultur kalus yang bersifat embrionik dapat memproduksi bibit yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan penggunaan teknik yang lain dikarenakan embrio dapat diproleh dari satu sel saja. Untuk keberhasilan kultur kalus yang embriogenik maka sangat tergantung pada sejumlah variabel termasuk diantaranya adalah faktor eksplan, zat pengatur tumbuh (ZPT), nutrisi medium (nitrogen, fosfat, sukrosa dan ion Cu²⁺), faktor fisika (cahaya, temperature, pH, aerasi dan kepadatan sel) dan faktor biologi (variasi sel dan kemampuan biosintesis) (Darwati, 2007). Sebagai konsekwensinya bahwa keberhasilan teknik

kultur jaringan sangat tergantung pada optimasi variabel-variabel tersebut. Selain itu keberhasilan kultur tidak lepas dari bagian tanaman yang akan digunakan.

Eksplan adalah potongan atau bagian jaringan yang diisolasi dari tanaman yang digunakan untuk inisiasi kultur *in* vitro. Pemilihan eksplan harus didasarkan pada bagian-bagian sel yang mengandung hormon tanaman dan keadaan selselnya masih aktif membelah (Wijayani, 1994; Dewi Kumala, 1998). Oleh karena itu pemilihan eksplan yang akan diambil untuk induksi kalus embriogenik adalah daun muda dan kotiledon hasil perkecambahan biji cendana yang masih aktif membelah. Selain itu menurut Wattimena dkk., (1992) bahwa kalus embriogenik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang masih meristematik yakni dari daun yang masih muda, pucuk tunas, akar, epikotil kecambah, kotiledon muda dan hipokotil kecambah. Selain itu media juga salah satu penentu keberhasilan kultur jaringan adalah media.

Media merupakan salah satu penentu dalam keberhasilan kultur jaringan dimana tidak semua eksplan dapat tumbuh dalam media yang sama karena masing-masing eksplan membutuhkan media tanam yang sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangannya (Sofia et al., 2005). Media MS (Murashige and Skoog) merupakan media dasar yang memiliki ciri dengan kandungan garamgaram anorganik yang tinggi (Purwantono dan Mardin, 2007). Selain itu, media MS juga merupakan media yang sangat luas pemakainnya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap serta vitamin untuk pertumbuhan, sehingga dapat digunakan sebagai media dengan berbagai spesies tanaman. Selain

media, pemilihan zat pengatur tumbuh (ZPT) juga dibutuhkan dalam menginduksi kalus.

Pemilihan ZPT juga merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam pembentukan kalus karena ZPT berguna untuk menstimulasi pembentukan kalus dan organ tanaman (Vasil, 1987). Selain itu untuk pemberian zat pengatur tumbuh yang tepat juga akan mempengaruhi pertumbuhan kalus. Menurut Azriati et al., (2010) bahwa zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan pada media kultur in vitro adalah ZPT golongan auksin dan sitokinin. Ditambahkan oleh Sitinjak, et al., (2006) bahwa penambahan auksin atau sitokinin yang seimbang akan berdampak pada munculnya kalus. Kombinasi auksin dan sitokinin tidak harus selalu dikombinasikan, karena keseimbangan dan interaksi dari ZPT endogen dengan ZPT yang diserap dari media tumbuh (eksogen) juga harus seimbang. Oleh sebab itu, penggunaan ZPT untuk menginduksi pembentukan kalus tanaman cendana adalah ZPT auksin golongan 2,4-D.

2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) merupakan zat pengatur tumbuh yang memiliki sifat lebih baik dibandingkan dengan jenis auksin sintetik lainnya, karena lebih mudah diserap oleh tanaman, tidak mudah terurai oleh pemanasan pada proses sterilisasi dan juga berfungsi memicu morfogenik (Kurniati, 2012). Selain itu 2,4-D merupakan ZPT yang sering digunakan pada kultur kalus karena aktivitasnya yang kuat untuk memacu proses deferensisasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus (Wattimena, 1988). Adapun mekanisme 2,4-D dalam pembentukan kalus yaitu dengan berdifusi ke dalam jaringan tanaman yang telah dilukai. 2,4-D yang diberikan akan merangsang

auksin yang terkandung di dalam jaringan eksplan sehingga akan menstimulasi pembelahan sel, terutama pembelahan sel-sel yang berada disekitar daerah luka (Ulfa, 2011).

Penggunaan zat pengatur tumbuh untuk kultur kalus telah dibuktikan dalam beberapa penelitian. Pada penelitian Bustami (2011) bahwa pemberian 2,4-D pada konsentrasi 1ppm sampai 3.5ppm dapat menginduksi kalus pada eksplan daun kacang tanah. Pada penelitian Pernama (2015) menunjukkan bahwa ada pengaruh penggunaan 2,4-D pada induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) dan konsentrasi yang optimal dalam menginduksi kalus tercepat terdapat pada 1.5ppm. Pada penelitian Malik (2003) medium dengan penambahan 2.4-D 3.5ppm merupakan konsentrasi optimum yang digunakan untuk menginduksi kalus *Triticum aestivum* L. melalui kultur biji. Pada penelitian (Smiullah, 2013) bahwa pada konsentrasi 2,4-D 3ppm mampu menginduksi kalus dengan maksimal pada *Saccharum officinarum*. Berdasarkan dari hasil penelitian terdahulu diharapkan penggunaan ZPT tunggal diharapkan dapat menginduksi dan meningkatkan pertumbuhan kalus sehingga didapatkan biomassa yang besar.

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian mengenai pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh terhadap perkecambahan dan induksi kalus embriogenik tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*. Pada penelitian ini akan menggunakan beragam konsentrasi zat pengatur tumbuh GA3, BAP dan IBA untuk perkecambahan dan 2,4-D untuk induksi kalus embriogenik secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1. Adakah pengaruh penambahan penambahan GA3 (*Giberellin*), BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan IBA (*Indole Butyric Acid*) terhadap perkecambahn biji cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*?
- 2. Pada konsentrasi berapakah pengaruh penambahan GA3 (*Giberellin*), BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan IBA (*Indole Butyric Acid*) yang efektif terhadap perkecambahan biji cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*?
- 3. Adakah pengaruh penambahan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) terhadap induksi kalus embriogenik pada rksplan daun dan kotiledon tanaman cendana (Santalum album L.) secara in vitro?
- 4. Pada konsentrasi berapakah pengaruh penambahan 2,4-D (2,4Dichlorophenoxyacetic acid) yang efektif terhadap induksi kalus
 embriogenik pada daun dan kotiledon tanaman cendana (Santalum album
 L.) secara in vitro?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan GA3 (*Giberellin*), BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan IBA (*Indole Butyric Acid*) yang efektif terhadap perkecambahn biji cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

- 2. Untuk mengetahui konsentrasi berapakah pengaruh penambahan GA3 (Giberellin), BAP (Benzyl Amino Purine) dan IBA (Indole Butyric Acid) terhadap perkecambahan biji cendana (Santalum album L.) secara in vitro.
- 3. Untuk mengetahui pengaruh penambahan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) terhadap induksi kalus embriogenik pada eksplan daun dan kotiledon tanaman cendana (Santalum album L.) secara in vitro.
- 4. Untuk mengetahui konsentrasi berapakah pengaruh penambahan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) yang efektif terhadap induksi kalus embriogenik pada daun dan kotiledon tanaman cendana (Santalum album L.) secara in vitro.

1.4 Manfaat

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

- Dapat digunakan sebagai dasar informasi tentang pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh terhadap perkecambahan dan induksi kalus embriogenik tanaman cendana (Santalum album L.) secara in vitro.
- Zat pengatur tumbuh GA3, BAP dan GA3 dapat diaplikasikan sebagai induksi perkecambahan dan 2,4-D sebagai induksi kalus embriogenik.
- Perkecambahan dan induksi kalus melalui kultur jaringan diharapkan mampu menyediakan bibit dalam jumlah banyak dengan kualitas yang baik terutama untuk perkecambahan dan induksi kalus embriogenik.

Dalam jangka panjang diperlukan untuk memenuhi kebutuhan pasar dari kekurangan minyak cendana yang dibutuhkan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1. Eksplan biji dan daun muda diambil dari Kebun Raya Purwodadi
- Eksplan yang digunakan adalah biji cendana untuk perkecambahan sedangkan untuk induksi kalus embriogenik menggunakan daun muda dan kotiledon hasil perkecambahan biji cendana secara in vitro yang berumur 42 hari (HST).
- 3. Media yang digunakan adalah media MS (Murashige and Skoog).
- 4. ZPT yang digunakan adalah GA3, BAP dan IBA untuk perkecambahan dan 2,4-D untuk induksi kalus embriogenik.
- 5. Pengamatan perkecambahan dilakukan selama 42 hari (HST) sedangkan untuk induksi kalus embriogenik selama 45 hari (HST).
- 6. Parameter yang diamati adalah a) perkecambahan meliputi hari muncul kecambah, tinggi batang, panjang akar dan jumlah daun sedangkan b) induksi kalus meliputi hari muncul kalus, persentase tumbuhnya kalus, berat basah kalus, warna kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus embriogenik.
- Kalus yang diinginkan adalah kalus embriogenik yang dicirikan dengan kalus berwarna putih kekuningan dan bertekstur remah serta memiliki

vakuola yang berukuran kecil, mengandung butir pati dan memiliki inti besar.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cendana (Santalum album Linn)

2.1.1 Tinjauan Umum Cendana (Santalum album Linn)

Tumbuhan merupakan salah satu organisme yang diciptakan oleh Allah untuk diambil manfaatnya. Misalnya digunakan untuk dikonsumsi, sebagai obat, dimanfaatkan sebagai bahan bangunan, sebagai bahan minyak maupun untuk menunjang kehidupan sehari-hari dalam kehidupan manusia. Allah SWT berfirman dalam surat Thahaa (20): 53;

ٱلَّذِي جَعَلَ لَكُمُ ٱلأَرضَ مَهدا وَسَلَكَ لَكُم فِيهَا سُبُلا وَأَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَاءِ مَاء فَأَحرَحنَا بِهِ أَزوٰجا مِّن نَّبَات شَتَّى ٥٣

Artinya: "Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-ja]an, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam" (Q.S. Thahaa (20): 53).

Berdasarkan firman Allah dalam suratThahaa (20): 53, kata نَبَات شَنَّى adalah jenis yang bermacam-macam bentuk, ukuran, manfaat, warna, bau dan rasanya. Kata شَنَّى berarti tumbuhan yang bermacam-macam, sedangkan kata شَنَّى merupakan bentuk jamak dari kata معرشتيت yang artinya yang bermacam-macam (Syanqithi, 2007). Dalam tafsir Maraghi (1993)menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Allah SWT mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawija dan buah-buahan, baik yang masam maupun yang manis. Allah SWT juga

mengeluarkannya dengan berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk. Sebagian dari tanaman itu cocok untuk manusia dan sebagian lainnya cocok untuk hewan. Disini terdapat penjelasan tentang nikmat-nikmat Allah SWT yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui air hujan yang melahirkan berbagai manfaat. Tumbuhan bermacam-macam dan memiliki bebagai jenis manfaat yang diciptakan Allah adalah tumbuhan yang mempunyai aroma harum/wangi seperti tanaman cendana (*Santalum album* Linn).

Cendana yang tumbuh di NTT dikenal sebagai pohon asli daerah setempat yang mempunyai nama ilmiah *Santalum album* Linn. Didaerah asalnya pohon cendana dikenal dengan nama *hau meni* atau *ai nitu* (Pulau Timor) dan *sendana* dalam bahasa melayu. Dalam dunia perdagangan cendana dikenal dengan nama sandal wood (Kementrian kehutanan, 2011).

Cendana merupakan hasil hutan yang tergolong sangat penting di Propinsi Nusa Tenggara Timur karena mempunyai nilai ekonomi tinggi dan merupakan spesies endemik yang terbaik di dunia. Spesies Cendana di NTT mempunyai keunggulan kadar minyak dan produksi kayu teras yang tinggi. Teras batang mengandung minyak 4.50-4.75, akar 5.50-5.70%, sedangkan kadar santanol teras batang lebih tinggi dari pada teras akar (Hermawan,1993). Kandungan kimia akar dan batang mengandung saponin dan flavonoida. Disamping itu daunnya mengandung antrakionin. Kayu Cendana menghasilkan minyak atsiri dengan aroma yang harum dan banyak digemari, sehingga mempunyai nilai pasar yang cukup baik (Kementrian kehutanan, 2011).

Menurut Hamilton (1990) pohon Cendana dari famili Santalaceae yang ada di dunia hanya 29 spesies yang tumbuh secara alami tersebar di Indonesia, Australia, India dan negara-negara kepulauan Pasifik. Akan tetapi yang dieksploitasi hanya 8 spesies karena mempunyai aroma dan kadar minyak. *Santalum album* L. adalah salah satu spesies cendana yang menghasilkan kadar minyak dan volume kayu teras yang terbaik di dunia, sehingga beberapa negara sangat tertarik untuk mengembangkan spesies tersebut (Dewi, 2014).

Tanaman cendana memiliki manfaat diantaranya dapat diolah sebagai bahan kerajianan seperti cendramata. Selain itu, serbuk kayu cendana digunakan untuk pembuatan dupa, hio atau wewangian (Bagia, 2005). Untuk kayu cendana digunakan sebagai penghalus kulit, peluruh keringat, pereda kejang, pencegah mual. Untuk daunnya digunakan sebagai obat demam (Primawati, 2006).

Cendana dalam klasifikasi tidak banyak menimbulkan perbedaan pendapat diantara para ahli botani. Jumlah spesies di Indonesia hanya satu, yaitu *Santalum album* L.. Klasifikasi cendana menurut holmes (1983) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae

Class : Dicotylodonae

Sub Classis : Rosidae

Ordo : Santales

Family : Santalacea

Genus : Santalum

Species : Santalum album L.

2.1.2 Persyaratan Tempat Tumbuh Cendana

2.1.2.1 Iklim

Cendana dari spesies *Santalum album* L. menyebar secara alami pada kondisi iklim yang kering. Jenis ini tumbuh pada daerah curah hujan rata-rata 625 - 1625 mm/tahun, tipe iklim D dan E menurut Schmidt dan Ferguson (1951). Rata-rata temperatur berkisar antara 10-35°C pada siang hari. Kelembaban relatif pada musim kemarau 50%-60 %.

2.1.2.2 Keadaan Tanah

Untuk menghasilkan pertumbuhan yang baik jenis ini membutuhkan tanah subur, sarang, drainase yang baik, reaksi tanah alkalis dan solum tanah tipis. Di NTT cendana tumbuh di daerah batuan induk berkapur-vulkanis, tanah dangkal berbatu, tekstur tanah lempung, pH tanah netral-alkalis, Kadar N sedang, P2O5 sedang-tinggi, warna tanah hitam, merah-coklat, jenis tanah pada umumnya litosol, mediteran dan tanah kompleks (Hamzah, 1976). Cendana memerlukan unsur Fe, Kalsium dan Kalium yang tinggi dari dalam tanah (Nasi,1994).

2.1.2.3 Ketinggian Tempat

Jenis pohon ini tumbuh di P.Timor dengan ketinggian 0-1200m dari permukaan laut. Secara alami pada ketinggian diatas 400m dari permukaan laut akan menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik (Kementrian Kehutanan, 2011).

2.1.3 Morfologi Cendana (Santalum album L.)

a. Batang

Pohon cendana mempunyai ciri-ciri arsitektur: batang monopodial, arthotropis (mengarah ke atas), pertumbuhan kontinu. Perbungaan di ujung atau di ketiak daun. Tanaman Cendana secara morfologi memiliki ciri-ciri: pohon kecil sampai sedang, menggugurkan daun, dapat mencapai tinggi 20 meter dan diameter 40 cm, tajuk ramping atau melebar, batang bulat agak bersilangan (Surata, 2006).



Gambar 2.1. Pohon Induk Cendana (Surata, 2006).

b. Daun

Daun Cendana adalah daun tunggal yang tumbuh berhadapan pada ranting, letaknya berselingan, berwarna hijau mengkilap dan daun cendana gundulbentuk elip, tepi rata, ujung runcing tetapi terkadang ada yang tumpul atau bulat (Dewi, 2014).



Gambar 2.2. Daun Cendana (Nita, 2014)

c. Bunga dan Biji

Perbungaan Cendana adalah terminal atau eksiler, recimus articulatus, bunga pedicel 3-5 cm, gundul, tabung perigonium berbentuk campanulatus, panjang 3 mm dan diameter kurang lebih 2 mm, memiliki 4 cuping perigonium, bentuk segitiga, tumpul pada bagian ujung dan kedua permukaan gundul (Sindhu, 2010).

Cendana berbunga dan berbuah pada umur 5 tahun dan berbuah setiap tahun, ada beberapa pohon Cendana yang tidak berbuah setiap tahun karena pengaruh *beineal bearing*. Musim berbunga pada umumnya terjadi pada bulan Mei-Juni dan buah masak pada bulan September-Oktober, sedangkan musim bunga kedua jatuh pada bulan Maret-April (Sindhu, 2010).

Biji Cendana berwarna coklat dan padat, berbentuk bulat, memiliki radikal (calon akar, berwarna kuning kecoklatan dan tidak keriput). Jika warna biji terlalu pucat dan hitam, ada kemungkinan lembaganya sudah mati, sehingga tidak dapat digunakan dalam pembibitan. Dalam 1kg biji cendana terdapat 5000-6000 butir. Benih cendana termasuk *ortodoks* sehingga bisa disimpan (Dewi, 2014).

Benih yang sudah dibersihkan dikeringkan di tempat yang teduh atau dengan alat pengering *benih* (*seed driyer*) pada suhu 40 °C sampai kadar air mencapai 5-8%. Selanjutnya benih diberi perlakuan desinfektan untuk menekan adanya jamur dan bakteri. Benih cendana disimpan di dalam kemasan kantung plastik atau botol kedap udara. Benih yang sudah dikemas dimasukkan ke dalam salah satu ruangan penyimpanan (Lepa, 2001).



Gambar 2.3. (a) Bunga (b) Biji (Surata, 2006).

d. Buah

Cendana memiliki buah batu dan bulat, waktu masak daging kulit buah berwarna hitam, mempunyai lapisan eksocarp, mesocarp berdaging, endocarp keras dengan garis dari ujung ke pangkal buah cendana sebesar kacang polong, garis tengah sekitar 3-8 mm, saat muda berwarna hijau dan apabila masak berwarna hitam keunguan. Kulit buah tipis dan keras dengan tiga jalur dari atas sampai tengah. Buah Cendana letaknya diujung ranting berjumlah 4-10 buah. Buah masak ditandai oleh kulit daging buah yang berwarna hitam. Pengambilan buah jangan sampai terlambat karena buah yang sudah masak akan segera gugur dan buah yang jatuh di tanah suka dimakan tikus. Bentuk buah cendana bulat,

diameter 0.5-0.8cm, yang mengandung 1biji/buah dan termasuk jenis buah ortodoks (Lepa, 2001).

Pengambilan buah dilakukan dengan cara mengambil buah yang telah mencapai masak fisiologis (yang ditandai dengan daging kulit buah berwarna hitam), dilakukan dengan memanjat atau menggunakan galah berkait. Dihindarkan pemetikan buah dengan cara memotong dahan sebab dapat mengganggu produksi buah dan pertumbuhan pohon selanjutnya (mengingat kayu cendana adalah pohon yang lambat tumbuh). Ciri-ciri buah yang masih bagus adalah buah yang baru jatuh, mempunyai daging buah berwarna hitam atau kalau sudah hilang daging buahnya maka bijinya berwarna coklat (Araujo, 2011).



Gambar 2.4. Buah Cendana (Surata, 2006).

e. Akar

Sistem perakaran cendana adalah akar tunjang yang jelas dengan banyaknya akar-akar cabang yang kuat. Akar yang muda mempunyai sedikit rambut akar. Akar cabang bentuknya panjang dan ramping, mempunyai kemampuan menjelajah tanah sejauh 30-40 m dan mencapai inangnya (Araujo, 2011).



Gambar 2.5. Akar Cendana (Kertabaya, 2014)

2.2 Kultur Jaringan

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah teknik perbanyakan tanaman dengan cara memperbanyak jaringan mikro tanaman yang ditumbuhkan secara *in* vitro menjadi tanaman yang sempurna dalan jumlah yang tidak terbatas. Yang menjadi dasar kultur jaringan adalah *totipotensi* sel, yaitu bahwa setiap sel organ tanaman mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila ditempatkan di lingkungan yang sesuai (Yuliarti, 2010).

Keuntungan perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan adalah: (1) waktu perbanyakan lebih cepat; (2) jumlah benih yang dihasilkan tidak terbatas; (3) jumlah eksplan yang digunakan sedikit; (4) bebas hama dan penyakit; (5) memerlukan lahan sempit; (6) genotip sama dengan induknya (Surachman, 2011). Beberapa keuntungan dari penggunaan teknik kultur jaringan adalah untuk produksi senyawa metabolit sekunder antara lain: tidak tergantung musim, sistem produksi dapat diatur sesuai kebutuhan, lebih konsisten, dan mengurangi penggunaan lahan (Sutini, 2008).

2.2.2 Prinsip Kultur Jaringan

Beberapa prinsip dasar yang harus diperhatikan dalam melaksanakan teknik kultur jaringan, diantaranya mengetahui totipotensi sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Scwann yaitu sel mempunyai kemampuan *outonom*, bahkan mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel, yang diambil dari suatu tempat dan apabila diletakkan pada tempat yang lain dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Yusnita, 2003).

Memahami konsep Skoog dan Miller yang menyatakan bahwa regenerasi tunas dan akar *in vitro* dikontrol secara hormonal oleh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin. *Organogenesis* adalah proses terbentuknya organ seperti tunas atau akar baik secara langsung dari pemukaan eksplan atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus terlebih dahulu (Yusnita, 2003).

Memahami sifat kompeten, diferensiasi dan determinasi di mana suatu sel akan dikatakan kompeten apabila sel atau jaringan tersebut mampu memberikan tanggapan terhadap signal lingkungan atau signal secara kultur jaringan serta mampu memahami tata cara perbanyakan tanaman secara kultur jaringan (Yusnita, 2003).

2.2.3 Masalah dalam Kultur Jaringan

Pada kegiatan kultur jaringan, tidak sedikit masalah dapat terjadi sebagai penyebab kegagalan. Kontaminasi adalah gangguan yang sering terjadi pada kultur. Kontaminasi dapat dilihat dari jenis kontaminan, seperti bakteri, jamur, dan virus. Selain itu dapat berdasarkan waktunya yaitu hitungan jam, hitungan

hari, dan minggu, serta berdasarkan sumber kontaminan dari media atau eksplan (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

Browning atau pencoklatan adalah karakter yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan (hitam atau coklat). Terjadi perubahan aditif eksplan disebabkan pengaruh fisik maupun biokimia (memar, luka, atau serangan penyakit) (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

Vitrifikasi umumnya terjadi akibat kegagalan pada proses pembentukan daging sel dan hambatan pada proses pembentukan lignin. Hal ini dapat diatasi dengan cara menaikkan sukrosa, menambah pektin, memindahkan eksplan pada suhu 40°C selama 15 hari (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

Kendala yang sering ditemukan sebagai penghambat antara lain, adanya mutasi pada bibit yang dihasilkan sehingga berbeda dengan induknya, keberhasilan induksi perakaran dari tunas yang telah dibentuk secara *in vitro* sedikit, aklimatisasi sering gagal, tingkat keanekaragamannya di setiap generasi turun terutama apabila sering dilakukan subkultur (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

2.3 Perbanyakan Cendana (Santalum album L.)

Perbanyakan tanaman cendana dapat dilakukan secara generatif dan vegetatif. Perbanyakan tanaman cendana secara generative dapat dilakukan dengan menggunakan biji sedangkan perbanyakan secara vegetatif dapat dilakuan dengan banyak cara salah satu diantaranya adalah perbanyakan secara *in vitro* yaitu induksi kalus embriogenik.

2.3.1 Perbanyakan Cendana (Santalum album L.) secara Generatif

Perbanyakan tanaman cendana secara generatif dengan menggunakan biji memerlukan sumber benih yang terpelihara dengan baik. Ada beberapa tahapan kegiatan dalam memperbanyak tanaman cendana dengan biji antara lain:

2.3.2 Pengumpulan Buah dan Biji

Masalah utama yang perlu diperhatikan dalam perbenihan cendana adalah bahan yang dipakai untuk keperluan benih dikumpulkan dari tegakan yang berkualitas baik yang sangat ditentukan oleh sumber benih, waktu pemungutan, koleksi secara tepat serta teknik penyimpanan yang baik. Hal ini perlu dilakukan agar nantinya diperoleh tegakan tanaman yang baik.

Pengambilan buah cendana harus dipilih dari sumber benih atau tegakan benih yang baik. Pengambilan buah dilakukan dengan cara mengambil buah yang telah masak fisiologis yang ditandai dengan daging kulit buah berwarna hitam, dilakukan dengan memanjat atau menggunakan galat berkait. Dihindarkan dari pemetikan buah dengan cara memotong dahan, sebab dapat mengganggu produksi buah dan pertumbuhan pohon selanjutnya, selanjutnya mengumpulkan buah di bawah tajuk pohon yang telah diambil kemudian dibersihkan dari kotoran (Surata, 2006).

2.3.3 Ekstraksi Benih

Ekstraksi benih akan dilakukan ketika buah sudah terkumpul. Ekstraksi dilakukan dengan cara mengeluarkan biji dari daging buah dengan cara meremas seluruh daging buah hingga bersih. Selanjutnya dilakukan seleksi biji yaitu dengan cara memilih biji yang berwarna coklat dan padat, berbentuk bulat dan

memiliki radikal (calon akar, berwarna kuning kecoklatan dan tidak keriput). Jika warna biji terlalu pucat dan hitam ada kemungkinan lembaganya sudah mati, sehingga tidak dapat dipergunakan dalam pembibitan (Surata, 2006).

2.3.4 Penyimpanan Benih

Benih cendana (*Santalum album* L.) termasuk ortodoks sehingga bisa disimpan. Benih yang sudah dibersihkan dikeringkat ditempat yang teduh atau dengan alat pengering benih (*seed driyer*) pada suhu 40°C sampai kadar air mencapai 5-8%. Selanjutnya benih diberi perlakuan disinfektan untuk menekan adanya jamur dan bakteri. Benih cendana disimpan di dalam kemasan dan dimasukkan kedalam salah satu ruangan penyimpanan dengan kondisi sebagai berikut: ruang simpan kering-dingin (*Dry cold storage*) dengan suhu 4°C dan kelembapan nisbi 40-50%, ruang ber AC yang dilengkapi dengan alat pengatur kelembapan udara. Suhu 20-22°C dan RH 50-60% dan ruang kamar dengan suhu 25-28°C dan RH 70%.

2.4 Klasifikasi Dormansi

Terdapat dua istilah yang diberikan oleh ahli fisiologi benih terhadap keadaan benih sebelum tanam yaitu Kuisen dan Dormansi. Dua hal tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut: *Kuisen*, yaitu kondisi biji saat tidak mampu berkecambah hanya karena kondisi luarnya tidak sesuai (misalnya, biji terlalu kering atau terlalu dingin) dan *Dormansi*, yaitu kondisi biji yang gagal berkecambah karena kondisi dalam walaupun kondisi luar (misalnya, suhu, kelembapan dan atmosfer) sudah sesuai (Salisbury, 1995)

Dormansi benih adalah ketidakmampuan benih hidup untuk berkecambah pada lingkungan yang optimum. Dormansi dapat disebabkan oleh keadaan fisik dari kulit benih, keadaan fisiologi dari embrio atau kombinasi dari kedua keadaan tersebut. Namun demikian dormansi bukan berarti benih tersebut mati atau tidak dapat tumbuh kembali (Kamil, 1979).

Benih mengalami dormansi yaitu keadaan tidak aktif yang bersifat sementara yang artinya walaupun berada dalam lingkungan yang sesuai bagi perkecambahan baginya sementara tidak mau tumbuh. Hal ini disebabkan oleh faktor-faktor dalam benih itu sendiri, kemungkinan dikarenakan embrio yang rudimenter, embrio yang dorman, kulit benih yang kedap terhadap air dan udara, atau kemungkinan pula karena adanya zat penghambat perkecambahan (Kertasapoetra, 2003).

2.5 Dormansi Fisiologis

Dormansi dapat disebabkan oleh sejumlah mekanisme fisiologis, seperti zat pengatur tumbuh baik yang bersifat penghambat maupun perangsang tumbuh atau disebabkan antara lain oleh faktor-faktor internal biji seprti ketidakmasakan embrio (Immaturity Embryo) dan jangka waktu tertentu untuk berkecambah atau after ripening.

a. Immaturity Embryo

Ketidakmasakan embrio (*Immaturity Embryo*) dapat terjadi akibat dari perkecambahan embrio yang tidak bersamaan atau lebih lambat daripada jaringan di sekelilingnya, sehingga embrio dikatakan masih dalam keadaan *immature*

(belum masak atau dewasa). Akibatnya dormansi akan terjadi walaupun kondisi lingkungan misalnya kadar air dan oksigen sudah memadai untuk perkecambahan. Contoh dormansi tipe ini antara lain wortel dan anggrek.

b. Dormansi oleh Hambatan Metabolisme pada Embrio

Dormansi ini akibat dari kerja zat-zat penghambat perkecambahan didalam embrio. Zat-zat penghambat perkecambahan diketahui terdapat dalam tumbuhan antara lain *ammonia*, asam absisat atau *abscisic acid* (ABA), asam benzoat *ethylene*, dan *alkaloid* misalnya *coumarin*. Zat-zat tersebut menjadi inhibitor bagi kerja enzim α-amilase dan beta-amilase, yaitu suatu enzim yang penting dalam proses perkecambahan.

c. Jangka Waktu untuk Perkecambahan

Biji-biji tanaman seperti padi, selada, dan bayam membutuhkan jangka waktu simpan tertentu agar dapat berkecambah. Walaupun embrio sudah terbentuk sempurna dan kondisi lingkungan sudah memenuhi syarat, namun biji tetap gagal untuk berkecambah. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa biji membutuhkan jangka waktu tertentu untuk mengubah kondisi fisiologis dari tidak mampu berkecambah menjadi mampu berkecambah. Jangka waktu yang dibutuhkan tersebut dikenal dengan istilah *after ripening*.

Penyebab dan mekanisme dormansi merupakan hal yang sangat penting diketahui untuk dapat menentukan cara pematahan dormansi yang tepat sehingga benih dapat berkecambah dengan cepat dan seragam. Masa dormansi tersebut dapat dipatahkan dengan skarifikasi mekanik maupun kimia. Studi beberapa

perlakuan pematahan dormansi belum memberikan hasil yang memuaskan khususnya pada benih tanaman perkebunan (Kamil, 1979).

2.5.1 Pematahan Dormansi

Menurut Kertasapoetra (2003) memaparkan bahwa dormansi dapat diatasi dengan melakukan beberapa perlakuan yaitu:

- Pemarutan atau penggoresan (skarifikasi), yaitu dengan cara menghaluskan kulit benih ataupun menggoreskan kulit benih agar dapat dilalui air dan udara.
- 2. Melemaskan kulit benih dari sifat kerasnya agar dengan demikian terjadi lubang-lubang untuk memudahkan air dan udara melakukan aliran yang mendorong perkecambahan. Cara ini diperoleh apabila benih selama ditanam dilakukan perendaman terlebih dahulu secara periodik, atau benih ditempatkan dalam air yang mengalir.
- 3. Perusakan strophiole benih yang menyumbat tempat masuknya air ke dalam benih, yaitu dengan cara memasukkan benih ke dalam botol yang disumbat dan secara periodik mengguncang-guncangnya.
- 4. Stratifikasi terhadap benih dengan suhu rendah (cold stratification) ataupun suhu yang tinggi (warm stratification), dimana benih yang mengalami dormansi fisiologi dikenakan suhu rendah selama waktu tertentu (beberapa hari atau beberapa minggu atau beberapa bulan) agar benih dapat aktif kembali (dapat membantu zat tumbuh), suhu tinggi digunakan apabila penyebab dormansi adalah embrio yang belum sempurna.

- 5. Perubahan suhu (alternating) ditujukan untuk mempercepat perkecambahan dilakukan teknik perubahan-perubahan suhu, artinya direndahkan derajatnya (5° C- 10° C) tergantung dari jenis benih atau ditinggikan derajatnya (20° C- 30° C, 25° C- 35° C) penggunaan suhu yang lebih tinggi dapat dilakukan selama 8 jam, sedangkan penggunaan suhu rendah dapat 16 jam.
- 6. Penggunaan zat kimia dalam perangsangan perkecambahan benih, dengan bahan misalnya: KNO3 sebagai pengganti fungsi cahaya dan suhu serta untuk mempercepat penerimaan benih akan O2, selain untuk mengatasi dormansi, juga untuk memulihkan kembali vigor benih yang telah menurun digunakan GA, Penggunaan Cytokinine serta 2,4 D dapat mengatasi masalah dormansi ini.

2.5.2 Perkecambahan

Definisi istilah perkecambahan tergantung pada sudut pandang orang yang mendefinisikannya. Seorang analisis biji mungkin menyetujuinya sebagai suatu perubahan morfologis, seperti penonjolan akar lembaga (radikula) tetapi bagi seorang petani perkecambahan berarti munculnya semai. Secara teknis, perkecambahan adalah permulaan munculnya pertumbuhan aktif yang menghasilkan pecahnya kulit biji dan munculnya semai Amen (dalam Gardner, 1991). Sedangkan menurut (Kimball, 1983) perkecambahan merupakan permulaan kembali pertumbuhan embrio di dalam biji. Diperlukan suhu yang cocok, banyaknya air yang memadai, dan persediaan oksigen yang cukup. Antara spesies satu dengan yang lain memiliki perbedaan pada tiga hal tersebut, namun

keberadaan tiga faktor tersebut harus terpenuhi. Ashari (1995) menyatakan bahwa perkecambahan dapat terjadi karena substrat (karbohidrat, protein, lipid) berperan sebagai penyedia energi yang akan digunakan dalam proses morfologi (pemunculan organ-organ tanaman seperti akar, daun, dan batang). Dengan demikian kandungan zat kimia dalam biji merupakan faktor yang sangat menentukan perkecambahan.

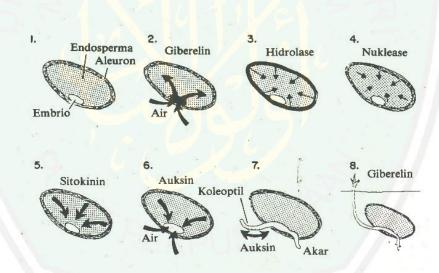
Gardner (1991) menjelaskan bahwa perkecambahan meliputi peristiwaperistiwa fisiologis dan morfologis berikut (1) imbibisi dan absopsi air, (2) hidrasi
jaringan, (3) absopsi O₂, (4) pengaktifan enzim dan pencernaan, (5) transport
molekul yang terhidrolisis ke sumbu embrio, (6) peningkatan respirasi dan
asimilasi, (7) inisiasi pembelahan dan pembesaran sel dan (8) munculnya embrio.
Pada pertumbuhan sumbu embrio, awal mula pertumbuhan akar lembaga
(radikula) lebih cepat daripada pucuk lembaga (plumula) dan umumnya radikula
pertama muncul dari kulit biji yang pecah.

2.5.3 Metabolisme Perkecambahan

Perkecambahan dan munculnya semai memerlukan suatu energi yang tinggi lewat respirasi cadangan makanan biji. Energi dalam ikatan kimia pada karbohidrat, lemak, dan protein dilepaskan oleh pencernaan dan fosforilasi oksidatif yang menghasilkan nukleotida berenergi tinggi seperti adenosin trifosfat (ATP) di dalam mitokondria (tempat) respirasi.

Proses perkecambahan benih merupakan suatu rangkaian kompleks dari perubahan-perubahan morfologi, fisiologi, dan biokimia. Tahap pertama suatu perkecambahan benih dimulai dari proses penyerapan air oleh benih, melunakkan

kulit benih dan hidrasi dari protoplasma. Tahap kedua dimulai dengan kegiatan sel dan enzim-enzim serta naiknya tingkat respirasi benih. Tahap ketiga merupakan tahap dimana terjadi penguraian bahan-bahan seperti karbohidrat, lemak dan protein menjadi bentuk yang melarut dan ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh. Tahap keempat adalah asimilasi dari bahan-bahan yang telah diuraikan didaerah meristematik untuk menghasilkan energi bagi kegiatan pembentukan komponen dan pertumbuhan sel-sel baru. Tahap kelima adalah pertumbuhan dari kecambah melalui proses pembelahan, pembesarna dan pembagian sel-sel pada titik tumbuh (Sadjad, 1975).



Gambar 2.6 Perkecambahan pada serealia di bawah permukaan tanah diatur oleh sejumlah hormon yang kerjanya bertahap. (1) absopsi air menyebabkan embrio memproduksi sejumlah giberelin (2) giberelin berdifusi pada lapisan aleuron, menyebabkan sel endosperma membentuk enzim (3) sel endosperma memecah dan mencair (4) sitokinin dan auksin terbentuk (5,6) sel-sel membelah dan membesar (7) waktu pucuk telah pecah terkena matahari, tumbuhan memproduksi makanan sendiri (Sumber: Van Overbeek (dalam Gardner, 2001).

Apabila ATP diubah manjadi adenosine difosfat (ADP) dilepaskan energi untuk aktivitas biologi sebagai berikut:

(ADP + Pi) ATP



Karbohidrat, lemak ------ hasil----- biosontesis atau protein degradasi



(Gambar 2.7 Pengubahan ATP menjadi ADP. (Sumber: Gardner, 1991)

Penyerapan air oleh benih yang terjadi pada tahap pertama biasanya berlangsung sampai jaringan mempunyai kandungan air 40-60% (atau 67-150% atas dasar berat kering). Meningkat lagi pada saat munculnya radikal sampai jaringan penyimpanan dan kecambah yang sedang tumbuh mempunyai kandungan air 70-90%. Kira-kira 80% dari protein yang biasanya berbentuk kristal disimpan dalam jaringan yang disebut badan protein, sedangkan sisanya 20% terbagi dalam nukleus, mitokondria, protoplatid, mikrosom, dan dalam sitosol. Pati biasanya tersimpan dalam butir-butir pati dalam amiloplast atau protoplastid. Lipid terbentuk dalam bahan lipid (badan lemak atau spherosoma). Bahan-bahan ini setelah dirombak oleh enzim-enzim maka sebagian langsung dipakai sebagai bahan penyusun pertumbuhan didaerah titik tumbuh sebagian lagi digunakan sebagai bahan bakar respirasi. Pada biji pati terdiri dari dua bentuk yakni amilopektin dan amilose (Sutopo, 2004)

Dua enzim yang ikut dalam awal perombakan adalah α -amilase dan β -amilase, α -amilase merombak amilosa dan amilopektin menjadi dekstrin, sedangkan β -amilase dengan diperantarai oleh giberelin menghasilkan

disakarida (maltose) dan glukosa. Van Overbeek (dalam Gardner, 1991) menggambarkan dengan jelas peranan hormon pertumbuhan dalam hidrolisis dan munculnya semai. Beberapa glukosa diubah oleh enzim *invertase* menjadi sukrosa, gula yang umumnya ditransport pada tumbuhan. Metabolisme glukosa dilakukan dengan (1) *glikolisis*, yang membentuk dua molekul asam piruvat dan ATP; (2) Oksidasi lewat daur *krebs* atau daur asam *trikarboksilat*, yang secara lengkap dapat mengoksidasi asam perantara menjadi CO₂, H₂O, dan ATP atu kemungkinan lain melalui jalur lintas pentose fosfat.

Lemak dirombak oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak dan gliserol kemudian dipakai sebagai pembentuk glukosa, dimana glukosa ini dipakai sebagai bahan bakar pada proses respirasi. Sebelumnya asam lemak didegradasi lebih lanjut oleh peroksidase dan aldehidrogenase dalam oksidasi-α, yang memindahkan atom-atom karbon secara berturut-turut untuk menghasilkan CO₂, dan energi tersimpan (NADPH). Degradasi asam lemak yang lebih umum adalah dengan oksidase-β, yang memecah asam lemak menjadi satu-satuan dua karbon (*Asetil koenzim A*) dan ATP. Asetil koenzim A mungkin masuk ke daur *Krebs* untuk mengalami oksidasi lebih lanjut dan menghasilkan ATP (Gardner, 1991)

Protein dirombak oleh enzim *protease* menghasilkan suatu asam amin. Selanjutnya asam amino akan menjadi sebagai berikut: (1) disintesis kembali menjadi protein baru pada pertumbuhan; (2) *transaminasi*, pemindahan asam amino ke suatu asam organik; (3) *deaminasi*, hidrolisis asam amino menjadi asam organik dan amonia. Residu asam organik masuk ke daur *Krebs* untuk

mengalami oksidasi lebih lanjut. Fosfor dibebaskan dari fitin oleh enzim fitase. Sampai batas tertentu fosfolipid mungkin juga dihidrolisis, membebaskan fosfor. Fosfor yang ada dalam jaringan tumbuhan terutama terdapat sebagai penyusun nukleotida (ADP, ATP, NAD dan NADP), asam nukleat fosfolipid, fosfoprotein, dan gula terfosforilasi (Gardner, 1991).

Energi dalam bentuk ATP (Adenosin triphosphate) atau dalam bentuk donor hidrogen NADH2 atau NADPH2 (Nikotin Amida Dinukleutida H2 atau Nikotin Amida dinukleotida phosphate H2) dan bahan baku dihasilkan pada proses respirasi. Disakarida maltose hasil perombakan pati pada permulaan respirasi menjadi glukosa. Glukosa pada respirasi aerobik dirombak melalui proses glikolisa, siklus krebs dan oksidasi terminal menjadi CO₂, H₂O dan energi. Kegiatan enzim-enzim didalam biji distimulir oleh adanya giberelin acid (GA₃) yaitu suatu hormon tumbuh yang dihasilkan oleh embrio setelah menyerap air, semua proses ini berlangsung dalam tahap kedua, ketiga dan keempat (katabolisme) dari proses metabolisme perkecambahan benih (Page, 1985)

Proses pertumbuhan dan perkembangan embrio semula terjadi pada ujung tumbuh dari akar. Kemudian diikuti oleh ujung tumbuh tunas, proses pembagian dan membesarnya sel-sel ini bergantung dari terbentuknya energi dan molekul-molekul komponen tumbuh ynag berasal daari jaringan persediaan makanan. Dimana molekul-molekul protein dan lemak penting untuk pembentukan protoplasma, sedangkan molekul-molekul kompleks polisakaria dan asam poliuronat untuk pembentukan dinding sel. Merupakan

tahap kelima (anabolisme) dari proses metabolisme perkecambahan benih (Achmad, 2008)

Metabolisme sel-sel embrio mulai setelah menyerap air yang meliputi reaksi-reaksi perombakan yang biasa disebut katabolisme dan sintesa komponen-komponen sel untuk perttumbuhan yang biasa disebut anabolisme. Proses metabolisme ini berlangsung terus dan merupakan pendukung dari pertumbuhan kecambah hingga tanaman dewasa (Suseno, 1974).

Beberapa rangkaian reaksi menghasilkan senyawa dengan molekul yang besar seperti pati, selulosa, protein, lemak dan asam lemak. Pembentukan senyawa yang lebih besar dari molekul-molekul yang lebih kecil disebut anabolisme (dalam bahasa yunani "ana" berarti naik). Reaksi anabolime membutuhkan energi. Sebaliknya ("kata" berarti turun) merupakan perombakan senyawa dengan molekul yang besar menbentuk senyawa-senyawa dengan molekul yang lebih kecil. Reaksi katabolisme menghasilkan energi. Respirasi merupakan reaksi katabolisme yang paling penting untuk menghasilkan energi dalam setiap sel. Respirasi merupakan pemecahan molekul karbohidrat secara oksidatif menjadi CO₂ dan air (Lakitan, 2012).

2.6 Perbanyakan Cendana (Santalum album L.) Secara Vegetatif

Perbanyakan cendana (*Santalum album* L.) secara vegetatif dapat dilakukan dengan berbagai macam cara salah satunya adalah menggunakan teknik kultur jaringan melalui induksi kalus embriogenik menggunakan eksplan daun atau kotiledon yang berasal dari hasil perkecambahan.

Embriogenesis merupakan salah satu teknik yang menguntungkan untuk propagasi vegetatif massal dari spesies yang mempunyai ekonomi tinggi, dapat terjadi secara langsung maupun secara tidak langsung, memiliki sifat klonal yang sama seperti induknya dan juga mempunyai sifat juvenile seperti embrio yang berasal dari biji (Blanc *et al.*, 1999; Molina *et al.*, 2002). Untuk menghasilkan kalus embriogenik maka tahap awal yang harus dilakukan adalah induksi kalus.

2.6.1 Kultur Kalus

Kultur kalus Kalus adalah sekumpulan sel amorphous yang terbentuk dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri secara terus menerus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ tumbuhan yang mengalami luka, sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan dengan luka tersebut bersifat meristematik dan dapat membentuk massa sel yang tidak terdeferensiasi (Surbarnas, 2011).

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tumbuhan (akar, batang, daun, tunas, hipokotil, polen, endosperm dan mesofil), tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Menurut Endress (1994) dalam Surbarnas (2011) bahwa inisiasi kalus sebaiknya menggunakan eksplan dari jaringan muda. Eksplan tersebut mempunyai kondisi fisiologis untuk dapat diinduksi membentuk kalus pada medium nutrisi yang tepat, setelah terlebih dahulu disterilisasi dan dipotong-potong dalam ukuran kecil.

Kultur kalus dapat dikembangkan dengan menggunakan eksplan yang berasal dari berbagai sumber, misalnya tunas muda, daun, ujung akar, dan bunga.

Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada ekplan melalui pembalahan sel berulang-ulang. Kultur kalus tumbuh dan berkembang labih lambat dibandingkan kultur yang berasal dari suspense sel. Kalus terbentuk melalui tiga tahapan yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium, dan faktor lingkungan. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem berkembang lebih cepat dibanding jaringan dari sel-sel berdinding tipis dan mengandung lignin. Untuk memelihara kalus, maka perlu dilakukan subkultur secara berkala, misalnya setiap 30 hari (Yuwono, 2008).

Pertumbuhan dan perkembangan yang terjadi pada kalus, Proses pembentukkan kalus dimulai dengan terdeferensiasinya sel akibat dari pembelahan sel, pemanjangan sel, dan penambahan volume karena terjadinya tekanan turgor sel sehingga sel menjadi besar. Proses ini disebut dengan tumbuh dan ini dapat dilihat dengan terjadinya pembengkakan pada jaringan eksplan yang dikulturkan. Setelah terjadi proses diferensiasi sel kemudian jaringan akan mengalami dediferensiasi sel yaitu jaringan yang sudah terdeferensiasi menjadi tidak terdeferensiasi dan pada akhirnya akan terbentuk kalus (Siregar, 2006).

2.6.2 Kultur Kalus Embriogenik

Kalus yang terbentuk dalam kultur *in vitro* dibedakan menjadi dua macam, yaitu kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus

yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman (Surbarnas, 2011).

Dalam regenerasi melalui embriogenesis, terdapat beberapa tahapan dari eksplan menjadi tanaman lengkap yang meliputi: tahapan induksi, poliferasi, dan diferensiasi jaringan. Proses pembentukan embrio somatic pada umumnya didahului dengan pembentukan jaringan embrionik, selanjutnya pembentukan stuktur embrio globular, hati, torpedo dan kotiledonari (Handayani, 2008).

Kalus yang embrionik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang masih bersifat meristematik. Menurut Wattimena, dkk. (1992) ekplan yang dapat digunakan untuk induksi kalus embrionik adalah daun yang masih muda, pucuk tunas, akar, epikotil kecambah, kotiledon muda, dan hipokotil kecambah. Selanjutnya menurut Gray (2005) dalam Handayani (2008) kalus yang embrionik dapat diinduksi dari sel somatik diduga karena dikendalikan oleh sekumpulan gen dan adanya kemampuan totipotensi sel untuk tumbuh menjadi tanaman lengkap. Sel-sel embrionik biasanya berukuran kecil dengan sitoplasma yang banyak serta banyak kandungan patinya. Dan sebaliknya pada kalus non-embrionik dimana selnya berukuran besar dengan vakuola yang berukuran besar.

Komposisi media kultur merupakan faktor penentuk keberhasilan pembentukan kalus embrionik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sitinjak, dkk. (2006) kombinasi konsentrasi terbaik untuk mengindukis kalus embriogenik dari meristem jahe hingga mencapai 93,33% per eksplan adalah 1mg/l 2,4-D + 3 mg/l BA. Dan ketika konsentrasi 2,4-D semakin dinaikkan justru kualitas kalus semakin menurun. Hasil yang berbeda didapat pada penelitian Indria (2016)

dimana induksi kalus embriogenik rumput gajah didapatkan dengan komposisi media 2,4-D 3 mg/l + BA 0,9 mg.

2.7 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan

Menurut Santoso dan Nursandi (2004), ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan diantaranya genotif dimana pada beberapa jenis tumbuhan embrio mudah tumbuh akan tetapi pada beberapa jenis tumbuhan lain sukar untuk tumbuh. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kultivar dari jaringan yang sama (Santoso dan Nursandi, 2004).

Eksplan berupa sel, jaringan atau organ yang digunakan sebagai bahan inokulum dan ditanam dalam media kultur, bagian yang digunakan sebagai eksplan adalah sel yang aktif membelah, dari tanaman induk sehat dan berkualitas tinggi. Ukuran eksplan kecil ketahanan eksplan kurang baik dan bila eksplan terlalu besar, akan mudah terkontaminasi (Santoso dan Nursandi, 2004).

Komposisi media juga mempengaruhi keberhasilan dalam kultur jaringan, karena media sebagai sumber makanan harus mengandung senyawa organik dan anorganik, seperti nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, gula, air, asam amino, vitamin, dan ZPT. Faktor penting lainnya yang tidak boleh diabaikan adalah ion amonium dan potassium (Santoso dan Nursandi, 2004).

Media dasar yang sering digunakan adalah media MS. Media MS merupaka media dasar yang dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, menurut Gamborg dan Shyluk (1981) dalam Purwantono & Mardin (2007) media MS memiliki komposisi media berupa makronutrien terdiri atas NH₄NO₃

1.650mg/l, KNO₃ 1.900mg/l, CaCl₂.2H₂O 332,2mg/l, MgSO₄.7H₂O 370 mg/l, KH₂PO₄ 170mg/l. Komponen mikronutrien terdiri atas Kl 0,83 mg/l, H3BO3 6,2mg/l, MnSO₄.H2O 16,9mg/l, ZnSO₄.7H2O 8,6mg/l, Na₂MoO₄. 2H2O 0,25mg/l, CuSO₄. 5H2O 0,025mg/l, CoCl₂ 6H2O 0,025mg/l, Na₂EDTA 37,3mg/l, FeSO₄. 7H2O 27,8mg/l. Komponen vitamin dan asam amino yang terdiri atas Thiamin HCL 0,1mg/l, asam nicotinic 0,5mg/l, pyridoxine HCL 0,5mg/l, Glycine 2,0mg/l, myo-inositol 100mg/l. Disusun juga dari komponen lain berupa sukrosa 30mg/l, dan agar 7 gr/l.

Media MS merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman. Lebih lanjut Marlina (2004) menyatakan bahwa Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium dan ammoniumnya yang tinggi, dan jumlah hara anorganiknya yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak sel tanaman dalam kultur (Wetter, 1991). Selain Media penambahan ZPT juga dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan.

Pada teknik kultur jaringan kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan, Pierik (1997) dalam Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyakan tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Terdapat lima kategori utama zat pengatur tumbuh, yaitu auksin (IAA, NAA, IBA dan 2,4-D), giberelin, sitokinin (kinetin, benziladenil, zeatin), etilen dan penghambat pertumbuhan seperti asam absisat (ABA) (Zulkarnain, 2009).

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, strutur kimia, konsentrasi genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman. Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar akan terjadi interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman (Winata, 1987).

Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi "faktor pemicu" dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al.*, 1989) dalam (Lestari, 2011).

Oksigen dan cahaya juga merupakan dua faktor yang mempengaruhi berhasil tidaknya kultur jaringan. Suplai oksigen yang cukup sangat menentukan laju multipikasi tunas dalam usaha perbanyakan secara *in vitro*. Selain itu intensitas cahaya yang rendah dapat mempertinggi embriogenesis dan organogenesis. Intensitas cahaya optimum pada kultur 0-1000 lux (inisiasi), 1000-10000 (multiplikasi), 10000-30000 (pengakaran) dan <30000 untuk aklimatisasi. Perkembangan embrio membutuhkan tempat gelap kira-kira selama 7-14 hari. Baru dipindahkan ke tempat terang untuk pembentukam klorofil (Santoso dan Nursandi, 2004).

Tumbuhan juga membutuhkan temperatur yang optimum. Secara normal temperatur yang digunakan adalah antara 22°C-28°C. Sel-sel yang dikembangkan dengan kultur jaringan memiliki toleransi pH yang relatif sempit dan tidak normal antara 5-6. Apabila eksplan sudah tumbuh biasanya pH media umumnya akan naik (Santoso dan Nursandi, 2004).

Kondisi lingkungan sangat menentukan terhadap tingkat keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan. Kondisi lingkungan yang harus dibentuk adalah lingkuan yang aseptis. Lingkungan aseptis akan menurunkan tingkat kontaminan pada eksplan sehingga meningkatkan keberhasilan dalam proses kultur jaringan (Santoso dan Nursandi, 2004).

2.8 Jeni Zat Pengatur Tumuh (ZPT)

2.8.1 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid)

2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) merupakan auksin tiruan yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik (Bhojwani & Razdan, 1996). Dibandingkan dengan golongan auksin IAA, 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah, 2013).

Menurut Abidin (1983), aktivitas auksin ditentukan oleh adanya struktur cincin yang tidak jenuh, adanya rantai keasaman (*acid chain*), pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, dan adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mempunyai carboxyl group dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen akan memberikan aktivitas yang

optimal. Sebagai contoh yaitu IAA dan 2,4-D mempunyai aktivitas cukup tinggi karena persyaratan di atas terpenuhi.

Gambar 2.8. Struktur Kimia 2,4- Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)

(Zulkarnain, 2009)

Zat pengatur tumbuh yang dikenal, auksin kuat seperti 2,4-D dikenal sebagai komponen media tumbuh yang mampu menginduksi kalus embriogenik pada berbagai jenis tanaman. Penambahan 2,4-D dalam media menurut Rahayu dkk., (2002) akan dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Selain itu menurut Harjadi (2009) 2,4-D juga dapat digunakan untuk herbisida gulma berdaun lebar.

2,4-D sebagai auksin menyebabkan perluasan dan pemanjangan sel tidak terjadi tetapi memicu pembelahan sel. Pembelahan sel yang berlebihan dan tidak diikuti dengan perluasan dan pemanjangan mengakibatkan terjadinya kalus. Pemberian 2,4-D pada medium dasar kultur *in vitro* dapat menginduksi kalus dan menyebabkan pertumbuhan kalus terus berlangsung (Krinkorian, 1995).

Kisaran konsentrasi hormon 2,4-D yang cocok untuk menginduksi pembentukan kalus adalah antara 0,5-2 mg/l. Pada kultur kalus beberapa kultivar padi penambahan 2,4-D saja dalam media mampu menginduksi kalus. Hasil yang sama juga didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2005) pada kultur kalus pegagan perlakuan 2,4-D saja menghasilkan pengaruh secara nyata terhadap berat basah dan kering kalus yang berasal dari daun dan tangkai daun pada umur 8 dan 16 minggu setelah tanam. Pada kultur kalus pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah dimana secara umum rata-rata berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/l dan 5 mg/l). Pembentukan kalus pegagan yang baik diperoleh dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam konsentrasi rendah (0,1 mg/l – 1,0 mg/l). Nazza (2013) juga mengemukakan bahwa media yang di suplementasi dengan 2 mg/L 2,4-D merupakan media yang tepat untuk induksi kalus pegagan dengan cepat yakni 1,25 hari.

Konsentrasi 2,4-D yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena telah melebihi konsentrasi optimum untuk pertumbuhan eksplan. Disamping itu di dalam vakuola banyak terdapat senyawa flavons dan quinons yang pada proses oksidasi akan berikatan dengan oksigen menghasilkan brown polimers yang menyebabkan eksplan menjadi coklat. Selanjutnya eksplan akan kering dan mati. Hal ini diduga karena pemberian 2,4 D yang berlebihan fungsinya berubah sebagai herbisida (Hendaryono,1994).

2.8.2 IBA (Indole Butyric Acid)

IBA (*Indole Butyric Acid*) merupakan jenis auksin yang paling sering digunakan dalam menginduksi akar dibandingkan jenis auksin lainnya, karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengendalikan inisiasi akar (Weisman *et al.*, 1988 dalam Palestine, 2008). IBA memegang peranan penting pada proses pembelahan dan pembesaran sel, terutama di awal pembentukan akar. Hal ini menunjukkan IBA memiliki kemampuan paling baik dalam menginduksi terbentuknya akar bila dibandingkan dengan jenis auksin lainnya (Salisbury dan Ross, 1995). Disamping itu, IBA juga lebih stabil dan tingkat toksisitas yang rendah dibandingkan NAA dan IAA (George *et al.*, 2007).

Asam indol butarat (IBA) lebih lazim digunakan untuk memacu perakaran dibandingkan NAA atau auksin lainnya. IBA bersifat aktif, sekalipun cepat dimetabolismekan menjadi IBA-aspartat dan sekurangnya menjadi satu konjugat dengan peptida lainnya. Diduga terbentuknya konjugat tersebut dapat menyimpan IBA yang kemudian bertahap dilepaskan. Hal itu menjadikan konsentrasi IBA bertahan pada tingkat yang tepat, khususnya pada tahap pembentukan akar selanjutnya (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Irwanto (2001), IBA memiliki sifat penyebaran yang sangat kecil. Sehingga apabila IBA diberikan pada akar, ia hanya akan menstimulasi pada bagian akar saja, dan kemungkinan kecil untuk mampu menstimulasi pertumbuhan pada bagian atas tanaman. IBA memiliki kandungan kimia lebih stabil dan mobilitasnya di dalam tanaman rendah. Sifat inilah yang menyebabkan pemakaian IBA lebih berhasil karena sifat kimianya yang

mantap dan pengaruhnya lebih lama (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Struktur kimia IBA dapat dilihat pada Gambar 2.5.

Gambar 2.9 Struktur kimia IBA (George et al., 2007)

Beberapa penelitian mengenai IBA yaitu pada penelitian Widiastoety dan Soebijanto (1988), menggunakan IBA untuk menginduksi akar pada stek bunga sepatu dengan persentase keberhasilan lebih dari 96%. Hasil penelitian Yunita (2011), menunjukkan bahwa IBA menginduksi perakaran terbaik pada konsentrasi 1,0 mg/l pada tanaman pulai pandak (*Rauwolfia serpentine* L.).

Penelitian lain yang dilakukan Afrizal (2002), menunjukkan bahwa stek yang berasal dari tunas yang berumur 5 minggu dengan hormon tumbuh IBA dosis 100 ppm merupakan perlakuan yang paling baik digunakan untuk penyetekan stek mahoni (*Swietenia macrophylla* King). Salim. (2010) juga menjelaskan bahwa pemberian IBA pada akar mampu memperbaiki pertumbuhan akar yang mengakibatkan proses penyerapan air dan hara mineral menjadi lebih baik sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan bagian atas tanaman. Pada penelitian Mariska (2004), tanaman Sukun dalam waktu dua bulan eksplan yang ditanam pada 3 mg/l IBA mampu membentuk akar dengan persentase perakaran 60% dan panjang akar 4,5 cm. Penelitian Supriyati

(2004), Pada tanaman Belimbing dewi tunas *in vitro* yang ditanam pada media 3 mg/l IBA persentase tunas yang berakar 80% dengan rerata jumlah akar 7 buah dan rerata panjang akar 4,2 cm.

2.8.3 BAP (6-Benzyl amino purine)

Sitokinin merupakan kelompok hormon tumbuhan. Dari segi kimia masing-masing mengandung purin adenin yang merupakan bagian dari rumus bangunnya (Kimball,1994). Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel. Sitokinin berpean dalam merangsang pertumbuhan tunas samping (lateral), meningkatkan klorofil daun serta memperlambat proses penuaan (senescence) pada daun, buah dan organ-organ lainnya (Wattimena, 1988). Sitokinin sintetik yang umum digunakan dalam kultur jaringan, salah satunya adalah (Santoso dan Nursadi, 2004).

Peran sitokinin dalam pembelahan sel meliputi dua tahapan, yang pertama, diSitokinin dalam siklus sel memiliki peranan penting yaitu pemacuan sitokinesis. Sitokinin mendorong pembelahan sel dengan cara meningkatkan peralihan G₂ ke mitosis dan dalam hal ini sitokinin juga meningkatkan laju sintesis protein. Beberapa protein itu adalah protein pembangun atau enzim yang dibutuhkan untuk mitosis. Sitokinin juga memperpendek fase S yaitu dengan cara mengaktifkan DNA, sehingga ukuran salinan DNA menjadi dua kali lebih besar kemudian laju sintesis DNA digandakan (Wijayani, 2007).

Kedua, Sitokinin dapat mempengaruhi gen KNOX (Knotted Like Homeobox). Gen KNOX mengkode suatu protein yang berfungsi memacu

pertumbuhan dan pemeliharaan maristem ujung batang supaya sel-selnya selalu bersifat maristematik (Wijayani, 2007).

Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (*6-amino purin*). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktifitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut akan meningkatkan aktifitas zat pengatur tumbuh. NH₂N NH Adenine (*6-amino purine*). Sitokinin memiliki rantai samping yang kaya akan karbon dan hidrogen, menempel pada nitrogen yang menonjol dari puncak cincin purin. ZPT yang tergolong dalam sitokinin adalah BAP dan BA. BAP memiliki rumus bangun C₁₂H₁₁N₅ dan titik lebur 230-233°C (Santoso dan Nursadi, 2004).

6-Benzyl amino purine (BAP) merupakan sitokinin sintesis yang memiliki berat molekul sebesar 225.26 (Alitalia, 2008). Wattimena (1988) menambahkan bahwa BAP (6-Benzyl Amino Purine) merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 yang strukturnya serupa dengan kinetin. Struktur kimia 6- Benzil amino purin dapat dilihat pada Gambar berikut.

Gambar 2.10. Struktur molekul BAP (Wuzhouchem, 2016)

BAP (6-Benzyl Amino Purine) adalah sitokinin yang sering digunakan karena paling efektif untuk merangsang pembentukan tunas, lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi serta paling murah diantara sitokinin lainnya. BAP (6-Benzyl Amino Purine) merupakan golongan sitokinin sintetik yang paling sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara kultur in vitro. Hal ini karena BAP (6-Benzyl Amino Purine) mempunyai efektifitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan, mudah didapat dan relatif lebih murah dibandingkan dengan kinetin (Yusnita, 2003).

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa BAP (6-Benzyl Amino Purine) memiliki potensi untuk menginduksi tunas. Pada penelitian induksi in vitro tanaman Gaharu (Aquilaria microcarpa baill.) dari eksplan tunas aksilar dengan penambahan 6-benzylaminopurine (BAP) Wahyuni dkk (2014) menunjukkan waktu muncul tunas tercepat diperoleh pada perlakuan pemberian 0,4 mg/l BAP yaitu pada minggu ketiga dan konsentrasi BAP optimal yang mampu memicu pembentukan tunas terbanyak adalah pada pemberian 0,4 mg/l BAP sebanyak 3 tunas dengan persentase pembentukan tunas sebesar 33,33%.

2.8.4 GA3 (Giberelin)

Giberelin adalah jenis hormon yang mula-mula ditemukan dijepang oleh Kurosawa pada tahun 1926. Kurosawa melakukan penelitian terhadap penyakit 'Bakanae' yang menyerang tanaman padi yang disebabkan oleh jamur *Giberellin fujikuroi*. Suatu gejala khas dari penyakit bakanae ini ialah apabila tanaman padi diserang, maka tanaman tersebut memperlihatkan batang daun

yang memanjang secara tidak normal. Penelitian dilanjutkan oleh Yabuta dan Hasyashi pada tahun 1939 dengan mengisolasi crystalline material yang dapat menstimulasi pertumbuhan padaakar kecambah. Pada tahun 1951 Stodola *et al.*, melakukan penelitian terhadap substansi ini dan menghasilkan "Giberellin A" dan "Giberellin X" (Abidin, 1982).

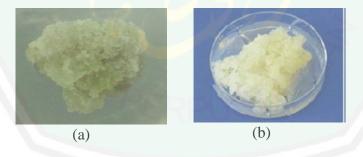
GA₃ merupakan diterpenoid, yang menempatkan zat itu dalam keluarga kimia yang sama dengan klorofil dan karoten. Bagian dasar kimia GA₃ adalah kerangka giban dan kelompok karboksil bebas. Macam-macam bentuk GA₃ berbeda-beda karena adanya pergantian kelompok-kelompok hidroksil, metal atau etil pada kerangka giban dan karena adanya cincin laktona. GA₃ yang berbeda-beda dinamai dengan kode huruf-huruf (GA₁, GA₂, GA₃, ..., GA₇₂), yang pertama kali diidentifikasi, merupakan yang paling dikenal dan paling banyak diteliti. GA₃ pertama kali dikristalkan dari jamur *Giberella fujikuroi*. Hal yang paling menarik, GA₃ mempunyai kisaran aktifitas biologis yang paling lebar. Sumber GA₃ komersil diperoleh dari kultur jamur, walaupun GA₃ lainnya juga terdapat diantara tumbuhan tinggi (Gardner *et al.*,1991). Secara alami semua organ tanaman mengandung berbagai macam GA₃ pada tingkat yang berbeda-beda.

Salisbury (1995) menyebutkan bahwa biji yang belum masak mengandung gibberellin dalam jumlah yang cukup tinggi dibandingkan bagian tumbuhan lainnya dan ekstrak bebas sel dari biji beberapa spesies dapat mensintesis giberellin. Hal ini dan hasil percobaan lainnya menunjukkan bahwa sebagian besar kandungan giberellin yang tinggi di

dalam biji dihasilkan dari biosintesis dan bukan karena pengangkutan dari organ lain ke dalam biji. Sedangkan Gardner *et al*, (1991), menyebutkan bahwa sumber terkaya GA3 dan mungkin juga tempat sintesisnya adalah pada buah, biji, tunas, daun muda dan ujung akar.

2.9 Tekstur Kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan meremah. Kalus kompak bertekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus meremah bertekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak. Perbedaan tekstur kalus menimbulkan adanya perbedaan kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder. Kalus kompak menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak daripada kalus meremah (Surbarnas, 2011).



Gambar 2.11. Tekstur kalus tanaman jarak pagar (a) kalus kompak, (b) kalus remah (Lizawati, 2012).

Kalus remah sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspense. Kalus kompak dapat menjadi kalus remah akan tetapi kalus remah tidak dapat menjadi kalus kompak. Kalus remah dan kalus kompak mempunyai komposisi kimia yang berbeda. Kalus kompak mempunyai kandungan

polisakarida dengan pectin dan hemiselulosa. Kandungan selulosa yang tinggi meningkatkan sel lebih rigid. Pectin yang tinggi sel kuat dan dapat menahan fragmentasi (Aliata, 2008).

Tekstur kalus yang berbeda disebabkan oleh kombinasi auksin dan sitokinin yang digunakan. Namun respon kombinasi auksin dan sitokinin akan berbeda untuk tiap spesiesnya. Penelitian yang dilakukan oleh Bibi (2011) bahwa pada kultur kalus pegagan dihasilkan kalus dengan tekstur remah dan berwarna hijau terang dalam media yang mengandung 5,3μM NAA + 2,21μM BA. Selain itu, kalus bertekstur kompak dan berwarna hijau dihasilkan pada media yang mengandung 5,37μM NAA + 4,42 μM BA. Berdasarkan hasil penelitian Nazza (2013) media dengan konsentrasi 1 mg/L 2,4-D + 10% air kelapa dihasilkan kalus pegagan bertekstur kompak. Media dengan konsentrasi 3 mg/L 2,4-D + 10% air kelapa menghasilkan kalus intermediet dan media dengan konsentrasi 3 mg/L 2,4-D + 20% air kelapa dihasilkan kalus dengan tekstur remah.

2.10 Warna Kalus

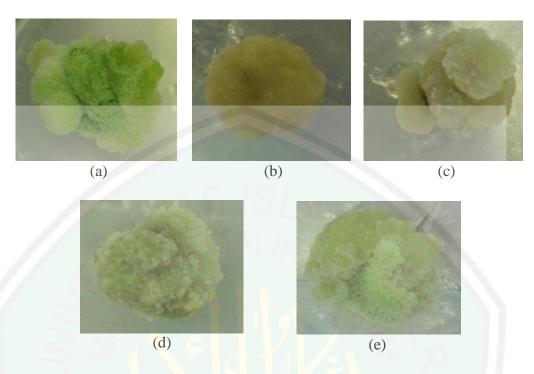
Warna kalus juga merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embriogenik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi (Ariati, 2012). Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya dalam kalus (Dwi, 2012).

Kualitas kalus yang baik memiliki warna hijau. Warna hijau pada kalus adalah akibat efek konsentrasi sitokinin yang tinggi yang mempengaruhi

pembentukan klorofil (Riyadi & Tirtoboma, 2004). Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolism dalam sintesis protein (Wardani, *et al.*, 2004).

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (2004) disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang cenderung berwakna kecoklatan disebabkan oleh kondisi eksplan yang secara internal mempunyai kandungan fenol tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh (Lizawati, 2012) pada kultur kalus jarak pagar media dengan perlakuan 0 ppm 2,4-D + TDZ secara bertingkat antara 0,5 ppm sampai 2 ppm rata-rata kalus yang terbentuk berwarna hijau. Hanifah (2007) mengemukakan Pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama. Kalus berwarna putih atau kekuningan terjadi pada sebagian besar perlakuan dari tingkat konsentrasi 2,5 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm 2,4-D yang ditambahkan dengan 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm TDZ. Konsentrasi yang tinggi oleh 2,4-D dan tidak adanya penambahan sitokinin dalam media juga mampu memacu terjadinya *senesensi* yang dapat menghambat proses pertumbuhan kalus.



Gambar 2.12. warna kalus pada eksplan jarak pagar (a) kalus berwarna hijau pada permberian 0 ppm 2,4-D+2 ppm TDZ (b) kalus berwarna kuning pada pemberian 10 ppm 2,4-D + 0,5 ppm TDZ (c) kalus berwarna putih pada pemberian 10 ppm 2,4-D + 2 ppm TDZ (d) kalus berwarna hijau keputihan pada pemberian 0 ppm 2,4-D + 1 ppm TDZ (e) kalus berwarna hijau kekuningan pada pemberian 0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm TDZ (Lizawati, 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal yaitu pemberian perlakuan jenis ZPT GA3, BAP dan IBA untuk perkecambahan dan 2,4-D untuk induksi kalus embriogenik pada media MS. Adapun perlakuan pemberian ZPT untuk perkecambahan yaitu ZPT GA3= G0: 0ppm; G1: 5ppm; G2: 10ppm; G3: 15ppm dan G4: 20ppm, ZPT BAP= B0: 0ppm; B1: 0,5ppm; B2: 1ppm; B3: 1,5ppm; B4: 2ppm dan B5: 2,5ppm, ZPT IBA= I0: 0ppm; I1: 0,5ppm; I2: 1ppm; I3: 1,5ppm; I4: 2ppm dan I5: 2,5ppm. Untuk induksi kalus embriogenik yaitu 2,4-D= D0: 0ppm; D1: 1ppm; D2: 2ppm dan D3: 3ppm.

Penelitian perkecambahan terdiri dari 5 perlakuan untuk GA3, 6 perlakuan untuk BAP dan IBA, setiap perlakuan terdiri dari 5 ulangan, pada setiap ulangan hanya terdapat satu eksplan biji. Untuk induksi kalus terdiri dari 4 perlakuan dan 6 ulangan, setiap ualangan hanya terdiri dari satu eksplan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas: konsentrasi zat pengatur tumbuh GA3, BAP, IBA dan 2,4-D
- Variabel terikat: a) perkecambahan meliputi persentase perkecambahan, hari muncul kecambah, panjang batang, panjang akar dan jumlah daun sedangkan b) induksi kalus embriogenik meliputi hari muncul kalus,

- persentase pertumbuhan kalus, berat basah kalus, warna kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus embriogenik.
- Variabel terkendali: meliputi suhu ruang, pH media, media, eksplan, waktur pembuatan media, pananaman biji dan kalus, lamanya waktu pengamatan.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan September sampai Desember 2017.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, botol kultur, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), LAF (*Laminar Air Flow*), timbangan analitik, oven, autoklaf, lampu bunsen, penyemprot alkohol (*sprayer*), pH meter (indikator pH), lemari pendingin, rak kultur, AC (*Air Conditioner*), lampu, *hot plate and magnetik stirrer*, rak kultur, tisu, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, karet, plastik, kompor, dan panci pemanas.

3.4.2 Bahan-Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah biji cendana untuk perkecambahan sedangkan untuk induksi kalus embriogenik daun pertama dan kotiledon hasil kultur *in vitro* tanaman cendana (*Santalum album* L.). Bahan untuk sterilisasi adalah detergen, aquades, fungisida, bakterisida, Clorox 10%, Alkohol 70% dan aquades steril. Bahan media yang digunakan adalah MS (Murashige & Skoog) instan dengan kode CAT#30630067-2 Lot#L14072301, agar-agar swallow warna putih, gula pasir. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan adalah 2,4-D. Bahan lainnya meliputi Alkohol 70% dan 96% dan spiritus.

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Tahap Persiapan

1. Sterilisasi Ruang Tanam

Langkah kerja dalam sterilisasi ruang tanam adalah sebagai berikut:

- 1. Dituangkan wipol (1 tutup botol/2liter air) kedalam ember yang berisi air.
- 2. Dipel dengan wipol yang telah dicampur dengan air.
- 3. Dibersihkan meja LAF (*Laminar Air Flow*) dengan alkohol 70% untuk sterilisasi meja LAF, kemudian dilap dengan tisu.
- 4. Dinyalakan lampu UV saat sebelum digunakan.
- Dimatikan lampu UV saat ingin digunakan dan lampu neon dan kipas dinyalakan.

2. Sterilisasi Alat

Langkah kerja dalam sterilisasi alat adalah sebagai berikut:

- 1. Dicuci alat-alat *disecting set* (scalpel, pinset, gunting), alat-alat gelas dan botol kultur dengan detergen cair dan dibilas dengan air mengalir.
- 2. Direndam di dalam tipol (5 tutup botol/2liter air) selama 1 x 24 jam.
- 3. Dibilas dengan air mengalir.
- 4. Disterilisasi dengan cara dikering anginkan dengan oven selama 3 jam dengan suhu 121°C
- 5. Dikeluarkan dari oven
- 6. Dibungkus alat-alat *disecting set* (scalpel, pinset, gunting) dengan aluminium foil dan dimasukkan kedalam plastik tahan panas. Alat-alat gelas dimasukkan dengan plastik tahan panas dan cawan petri dibungkus dengan kertas. Selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sedangkan botol kultur disimpan kedalam lemari penyimpanan botol.

3.Pembuatan Stok Hormon

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan dalam pembuatan media. Langkah kerja dalam pembuatan larutan stok hormon dengan konsentrasi 100 ppm dalam 100 ml aquades adalah sebagai berikut:

- 1. Serbuk ZPT ditimbang sebanyak 10 mg
- 2. Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml.
- 3. Dihomogenkan sampai larutan tercampur merata.

4. Digunakan rumus M1.V1=M2.V2 untuk pengambilan larutan dari stok (sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan yaitu 1 mg/l). Misalkan dalam pembuatan media 500 ml, ZPT dengan konsentrasi 1 mg/l maka yang ditambahkan adalah sebanyak:

M1.V1 = M2.V2 500.1 = 100.V2

500/100 = V2

V2 = 5 ml

4.Pembuatan Media Perkecambahan

Langkah kerja dalam pembuatan media 1 MS sebanyak 1020 ml yang terdiri dari Kontrol, IBA 6 perlakuan, BAP 6 perlakuan dan GA3 5 perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan, setiap perlakuan dibagi menjadi 60 ml dan setiap ulangan perpelakuan sebanyak 12 ml adalah sebagai berikut:

- Ditimbang media dengan takaran sebagai berikut: Murashige and Skoog
 (MS) 4,5186 gram, gula 30,6gram, agar 0,48 gram/60 ml media
- 2. Dihomogenkan media MS dan gula dengan stirer di atas hot plate.
- 3. Dibagi media yang telah dihomogenkan menjadi 13 bagian. Masingmasing dibagi sebanyak 75 ml yang terdiri dari media Kontrol: K0; IBA (I1, I2, I3, dan I4); BAP (B1, B2, B3 dan B4); GA3 (G1, G2, G3, dan G4).
- Ditambahkan ZPT GA3= G1: 5ppm; G2: 10ppm; G3: 15ppm dan G4: 20ppm, ZPT BAP= B1: 0,5ppm; B2: 1ppm; B3: 1,5ppm; B4: 2ppm dan B5: 2,5ppm, ZPT IBA= I1: 0,5ppm; I2: 1ppm; I3: 1,5ppm; I4: 2ppm dan

- I5: 2,5ppm lalu masing-masing media dihomogenkan dengan stirrer diatas hot plate.
- 5. Diukur masing-masing pH media kontrol, GA3, BAP dan IBA sebesar 5,8 dengan indikator pH. Jika pH kurang 5,8 maka ditambahkan larutan NaOH 0,1 N dan jika lebih 5,8 maka ditambahkan HCl 0,1 N.
- 6. Ditambahkan agar 0,48 gram di setiap masing-masing media.
- 7. Dipanaskan media dan diaduk hingga mendidih.
- 8. Dimasukkan masing-masing media GA3 (G0, G1, G2, G3, dan G4) BAP (B0, B1, B2, B3 dan B4); IBA (I0, I1, I2, I3, dan I4) ke dalam botol kultur ukuran kecil sebanyak 12 ml media yang telah masak.
- Ditutup botol kultur yang berisi media dengan plastik dan diikat dengan karet.
- 10. Disterilisasi media kultur yang telah dibuat dengan cara diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- 11. Disimpan media yang telah disterilisasi dirak media di dalam ruang steril selama satu minggu sebelum inisiasi tanaman.

5.Pembuatan Media Induksi Kalus

Langkah kerja dalam pembuatan media 1 MS sebanyak 240 ml yang terdiri dari 4 perlakuan dan 6 ulangan. Pada setiap perlakuan dibagi menjadi 60 ml adalah sebagai berikut:

- Ditimbang media dengan takaran sebagai berikut: Murashige & Skoog
 (MS) 1,0632 gram, gula 7,2gram, agar 1,92 gram/60 ml media
- 2. Dihomogenkan media MS dan gula dengan stirer di atas hot plate.

- 3. Dibagi media yang telah dihomogenkan menjadi 4 bagian. Masing-masing dibagi sebanyak 60 ml yang terdiri dari media D0, D1, D2, D3.
- 4. Ditambahkan ZPT 2,4-D D1: 1ppm, D2: 2ppm dan D3: 3ppm lalu masing-masing media dihomogenkan dengan stirer diatas hot plate.
- 5. Diukur masing-masing pH media D0, D1, D2 dan D3 sebesar 5,8 dengan indikator pH. Jika pH kurang 5,8 maka ditambahkan larutan NaOH 0,1 N dan jika lebih 5,8 maka ditambahkan HCl 0,1 N.
- 6. Ditambahkan agar 0,192 gram di setiap masing-masing media.
- 7. Dipanaskan media dan diaduk hingga mendidih.
- 8. Dimasukkan masing-masing media (D0, D1, D2 dan D3) ke dalam botol kultur ukuran kecil sebanyak 10 ml media yang telah masak.
- 9. Ditutup botol kultur yang berisi media dengan plastik dan diikat dengan karet.
- 10. Disterilisasi media kultur yang telah dibuat dengan cara diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- 11. Disimpan media yang telah disterilisasi dirak media di dalam ruang steril selama satu minggu sebelum inisiasi tanaman.

3.5.2 Tahap Pelaksanaan

1. Sterilisasi Biji Cendana (Santalum album L.)

Langkah kerja dalam dalam sterilisasi biji cendana adalah sebagai berikut:

- 1. Di kupas kulit ari biji cendana
- Dicuci biji cendana menggunakan detergen yang telah selesai dikupas selama 20 menit dan dibilas dengan air mengalir

- Direndam biji cendana menggunakan bakterisida selama 15 menit dan dibilas dengan air mengalir
- Direndam biji cendana menggunakan fungisida selama 15 menit dan dibilas dengan air mengalir
- Dimasukkan kedalam LAF dan direndam menggunakan larutan Clorox
 15% selama 5 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak 2 kali.
- 6. Direndam menggunakan Alkohol 70% selama 2 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak 2 kali.
- 7. Dilakukan tahap inisiasi.

2. Penanaman Biji Cendana (Inisiasi)

Penanam (inisiasi) planlet dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

Adapun langkah kerja dalam pelaksanaan penanaman adalah sebagai berikut:

- 1. Disemprot tangan dengan alkohol 70% di luar *Laminar Air Flow* (LAF), selanjutnya dibersihkan dengan tisu dan alkohol 70%.
- Dicelupkan alat- alat seperti pinset, scalpel, gunting yang diperlukan dalam kultur dalam alkohol 96%.
- 3. Disemprot anggota tubuh yang masuk dalam LAF dengan alkohol 70%.
- 4. Dibakar pinset, scalpel, gunting dengan api bunsen dan diletakkan di atas tutup kotak stainless steel (dimasukkan ke dalam aquades steril) dan dibiarkan dingin.
- 5. Diambil biji cendana yang telah selesai disterilisasi, lalu diletakkan diatas cawan petri yang di dalamnya terdapat tisu.

- Ditunggu sampai biji cendana kering lalu ditanam (1 botol 1 biji cendana) ke dalam berbagai macam konsentrasi ZPT pada media MS menggunakan pinset.
- 7. Ditutup botol kultur yang telah diinisiasi biji dengan plastik wrap, plastik tahan panas dan diikat dengan karet.
- 8. Diinkubasi botol-botol yang telah ditanami biji dalam ruang kultur pada suhu 21-27°C.
- 9. Diamati setiap hari setelah tanam (HST) untuk persentase pertumbuhan kecambah, awal munculnya kecambah dan hal lain seperti kontaminasi tanaman, kontaminasi media dan perubahan yang terjadi pada tanaman. Setelah 42 hari dihitung panjang batang, panjang akar dan jumlah daun.

3.Sterilisasi Eksplan Daun Muda Tanaman Cendana (Santalum album L)

Langkah kerja dalam dalam sterilisasi biji cendana adalah sebagai berikut:

- 1. Diambil eksplan daun muda yang akan disterilisasi
- 2. Dicuci eksplan daun muda dengan air mengalir selama 30 menit
- Direndam eksplan daun muda dengan detergen selama 10 menit dan dibilas dengan air mengalir
- Direndam eksplan daun muda cendana menggunakan bakterisida selama
 menit dan dibilas dengan air mengalir
- Direndam eksplan daun muda cendana menggunakan fungisida selama 10 menit dan dibilas dengan air mengalir

- Dimasukkan kedalam LAF dan direndam menggunakan larutan Clorox 5% selama 5 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak 2 kali.
- 7. Direndam menggunakan Alkohol 70% selama 1 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak 2 kali.
- 8. Dilakukan tahap inisiasi.

4.Penanaman Induksi Kalus Embriogenik Cendana (Santalum album L.) (Inisiasi).

Penanaman (inisiasi) kalus cendana dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Adapun langkah kerja dalam pelaksanaan penanaman (inisiasi) adalah sebagai berikut:

- 1. Disemprot tangan dengan alkohol 70% di luar *Laminar Air Flow* (LAF), selanjutnya dibersihkan dengan tisu dan alkohol 70%.
- 2. Dicelupkan alat- alat seperti pinset, scalpel, gunting yang diperlukan dalam kultur dalam alkohol 96%.
- 3. Disemprot anggota tubuh yang masuk dalam LAF dengan alkohol 70%.
- 4. Dibakar pinset, scalpel, gunting dengan api bunsen dan diletakkan di atas tutup kotak *stainless steel* (dimasukkan ke dalam aquades steril) dan dibiarkan dingin.
- 5. Diambil daun muda tanaman cendana yang telah selesai disterilisasi dan daun kotiledon hasil perkecambahan secara *in vitro* yang berumur 42 hari.
- 6. Diletakkan eksplan didalam cawan petri.
- 7. Dipotong eksplan ± 1 cm x 1 cm dikeempat sisinya.

- 8. Ditanam eksplan (1 botol berisi 1 eksplan) kedalam berbagai macam konsentrasi ZPT pada media MS menggunakan pinset.
- Ditutup botol kultur yang telah diinisiasi eksplan dengan plastik wrap, palastik tahan panas dan diikat dengan karet.
- Diinkubasi botol-botol kultur yang telah ditanami eksplan dalam ruang kultur pada suhu 21-27°C.
- 11. Diamati setiap hari setelah tanam (HST) untuk melihat awal muncul kalus. Setelah 45 hari diamati persentase pertumbuhan kalus, warna kalus, berat kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus embriogenik. Selain itu hal lain yang diamati seperti kontaminasi tanaman, kontaminasi media dan perubahan yang terjadi pada tanaman.

3.6 Pengamatan

3.6.1 Pengamatan Munculnya Kecambah dan Kalus Embriogenik

Pengamatan tentang hari munculnya kecambah biji dan kalus embriogenik cendana diamati setiap hari sampai akhir. Pengamatan perkecambahan dilakukan selama 42 hari yang ditandai dengan munculnya akar sedangkan pengamatan induksi kalus embriogenik selama 45 hari yang ditandai dengan munculnya butiran-butiran sel pada bagian daun yang terluka.

3.6.2 Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kecambah, Hari Munculnya Kecambah, Panjang Batang, Panjang Akar dan Jumlah daun.

Pengamatan akhir dilakukan di hari ke-42 pengamatan setelah tanam.
 Parameter pengamatan meliputi: (a) hari munculnya kecambah; (b) panjang batang; (c) panjang akar dan (d) jumlah daun.

a. Hari Muncul Kecambah

Pengamatan hari munculnya kecambah diamati setiap hari sampai akhir pengamtan yang ditandai dengan munculnya akar pada biji. Adapun hari munculnya kecambah (HMK) dapat dihitung dengan rumus:

 $HMK = \frac{\text{Jumlah total waktu yang muncul kecambah}}{\text{Total ulangan}}$

b. Pengukuran panjang batang, panjang akar dan jumlah daun

Pengamatan panjang batang dilakukan dengan cara mengukur dari pangkal batang sampai ujung batang dibawah kotiledon, panjang akar diukur dari pangkal akar sampai ujung menggunakan penggaris, sedangkan untuk jumlah daun dihitung dari daun yang muncul. Pengamatan ini dilakukan di akhir pengamatan.

3.6.3 Pengamatan Hari Munculnya Kalus, Persentase Kalus, Berat Basah kalus, Warna Kalus, Tekstur kalus dan Anatomi kalus embriogenik.

Pengamatan akhir dilakukan dihari ke-45 pengamatan setelah tanam.
 Parameter pengamatan meliputi: (a) hari munculnya kalus; (b) persentase kalus; (c) berat basah kalus; (d) warna kalus; (e) tekstur kalus dan (e) anatomi kalus.

a. Hari Munculnya Kalus

Hari muncul kalus diamati setiap hari sampai akhir pengamatan yang ditandai dengan ada butiran-butiran sel disemua sisi daun yang terlukai. Adapun hari munculnya kalus dapat dihitung menggunakan rumus:

$$HMK = \frac{\sum total\ hari\ yang\ muncul\ kalus}{Total\ ulangan}$$

b. Persentase Pertumbuhan Kalus

Pengamatan persentase pertumbuhan kalus dilakukan pada akhir pengamatan yaitu di hari ke-45 hari setelah tanam. Persentase pertumbuhan kalus dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

% kalus =
$$\frac{\text{jumlah persentase eksplan yang berkalus}}{\text{Total ulangan}} X 100\%$$

c. Warna Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan diakhir pengamatan pada hari ke-45 HST dengan cara mengamati perubahan pada setiap warna kalusnya. Satuan parameter warna kalus adalah dilihat dari warna kalus yang terbentuk, misalnya warna putih kehijauan (PH), putih kekuningan (PK), kekuningan (K), dan hijau (H).

d. Berat Kalus

Pengamatan dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Berat basah kalus didapatkan dengan cara memotong bagian eksplan yang sudah terbentuk kalus dan ditimbang menggunakan timbangan analitik dengan satuan gram (g).

e. Tekstur Kalus

Pengamatan tektur kalus dilakukan diakhir pengmatan pada hari ke-45 HST kemudian diamati secara visual terhadap panampakan kalus yaitu dengan melihat kalus apakah remah atau *friable*, kalus kompak dan kalus intermediet.

f. Anatomi Kalus Embriogenik

Pengamatan anatomi kalus embriogenik Dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Pengamatan anatomi dilakukan dengan cara membuat preparat kalus menggunakan teknik *squash* dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop.

3.7 Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif perkecambahan berupa pengamatan persentase pertumbuhan kecambah, panjang batang, panjang akar, jumlah daun. Untuk pengamatan induksi kalus embriogenik yaitu data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus, sedangkan data kuantitatif berupa berat basah kalus, persentase ekspaln berkalus. Data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara diskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji statistik *Oneway Anova* (ANOVA) satu faktor mengugunakan aplikasi SPSS 17.0. Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujut) pada taraf 5% untuk mengetahui konsentrasi ZPT terbaik.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Penambahan Berbagai Macam Zat Pengatur Tumbuh (GA3, BAP dan IBA) Terhadap Perkecambahan Biji Cendana (Santalum album L.) Secara in Vitro.

Dormansi biji merupakan keadaan dimana biji tidak mampu berkecambah pada kondisi lingkungan yang mendukung perkecambahan. Dormansi akan terhambat apabila telah terjadi perkecambahan yaitu ditandai dengan munculnya radikula. Hasil yang didapatkan dari analisis menggunakan uji *Oneway Anova* tentang pengaruh penambahan berbagai macam zat pengatur tumbuh (GA3, BAP dan IBA) terhadap perkecambahan biji cendana secara *in vitro* dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil analisis *Oneway Anova* pengaruh berbagai macam zat pengatur tumbuh (GA3, BAP dan IBA) terhadap perkecambahan biji cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

Variabel	F-hitung	F tabel 5%
Hari munculnya kecambah	124.265*	1.84
Panjang batang	4.367*	1.84
Panjang akar	92.982*	1.84
Jumlah daun	12.437*	1.84

Keterangan: (a) *= menunjukkan berpengaruh nyata, (b) untuk data lengkap dapat dilihat pada lampiran 1.

Berdasarkan hasil analisis *Oneway Anova* (tabel 4.1) didapatkan hasil bahwa F hitung > F tabel, ini menunjukkan ada pengaruh berbagai macam zat

pengatur tumbuh (GA3, BAP dan IBA) terhadap perkecambahan biji cendana (Santalum album L.) secara in vitro. Selanjutnya adalah analisis koefisien keragaman yang bertujuan untuk menentukan uji lanjut yang akan digunakan. Berdasarkan dari hasil yang didapat bahwa analisis koefisien keragaman memiliki nilai dibawah 5% (Lampiran 3). Oleh karena itu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf signifikansi 5%. Hasil Uji BNJ dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji BNJ 5% pengaruh berbagai macam zat pengatur tumbuh (GA3, BAP dan IBA) terhadap perkecambahan biji cendana (*Santalum album L.*) secara *in vitro*.

Konsentrasi ZPT (ppm)	Hari Muncul Kecambah	Panjang Batang (cm)	Panjang Akar (cm)	Jumlah Daun
	(HST)		4A /	
KONTROL	18.40i	2.58a	1.74a	0.0a
GA3 5	10.60c	8.06b	2.62b	4.0cde
GA3 10	9.40b	9.564h	2.646b	4.8e
GA3 15	8.60b	8.612de	2.66b	4.4de
GA3 20	7.60a	8.53d	2.76b	4.2de
BAP 0.5	14.40h	8.05b	2.52b	2.8bcd
BAP 1	13.60gh	8.678e	2.532b	3.2bcde
BAP 1.5	12.80efg	8.702ef	2.55b	3.6bcde
BAP 2	12.40def	8.81fg	2.58b	3.8cde
BAP 2.5	11.40cd	8.848g	2.606b	4.0cde
IBA 0.5	13.80gh	10.35i	2.94b	2.0b
IBA 1	13.20fg	10.888j	5.25d	2.4bc

IBA 1.5	12.40def	11.526k	4.616c	2.8bcd
IBA 2	11.80de	8.91g	2.72b	3.2bcde
IBA 2.5	11.40cd	8.22c	4.7c	3.8cde

Keterangan: (a) Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (BNJ _{0,05}), (b) notasi yang berurutan dapat dilihat pada lampiran 1, (c) GA3 (*Giberellin*), BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan IBA (*Indole Butyric Acid*), (d) Nilai BNJ hari muncul kecambah= 1.169045, Panjang batang=0.149789, Panjang akar=0.508940075, Jumlah daun=1,026979

Pertama adalah hasil uji BNJ pada hari munculnya kecambah. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa hari munculnya kecambah biji cendana secara *in vitro* berbeda-beda antar perlakuan. Perlakuan dengan hasil paling terbaik terdapat pada perlakuan GA3 20ppm, karena berbeda nyata pengaruhnya dengan semua perlakuan. Oleh karena itu perlakuan GA3 20ppm inilah yang paling terbaik dalam mempercepat perkecambahan biji cendana secara *in vitro*. Untuk perlakuan terbaik terjadi pada perlakuan GA3 15ppm, karena berbeda nyata dengan perlakuan GA3 20ppm dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan GA3 10ppm. Sehingga perlakuan GA3 15ppm inilah yang terbaik dalam mempercepat perkecambahan biji cendana secara *in vitro*. Untuk perlakuan yang paling rendah dalam mempercepat perkecambahan biji cendana secara *in vitro* terdapat pada perlakuan kontrol karena berbeda nyata dengan semua perlakuan yang diberi ZPT.

Berdasarkan pernyataan di atas (tabel 4.2) bahwa perlakuan kontrol (18.40 HST) memiliki kemampuan berkecambah yang paling rendah. Hal ini dapat disebabkan karena pada perlakuan kontrol tidak terdapat adanya penambahan zat pengatur tumbuh eksogen. Mayer (1975) menjelaskan bahwa

faktor eksternal seperti air, suhu, kelembapan, cahaya dan adanya senyawa kimia tertentu seperti ZPT yang berprilaku sebagai inhibitor perkecambahan dapat mempengaruhi perkecambahan.

Data di atas (tabel 4.2) menunjukkan bahwa konsentrasi GA3 20ppm (7.60 HST) yang paling terbaik dalam mempercepat perkecambahan biji cendana secara *in vitro*, hal ini karena berhubungan dengan pemberian ZPT giberelin eksogen yang tinggi. Jika giberelin endogen berada dalam jumlah terbatas maka proses perkecambahan biji akan berjalan lambat, sebaliknya jika diberikan giberelin eksogen yang tinggi dapat mengubah konsentrasi giberelin endogen sehingga dapat memicu proses perkecambahan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wilkins (1989) dan Kamil (1987) bahwa giberelin berperan dalam menghambat dormansi dan mempercepat perkecambahan biji, sehingga giberelin akan mengaktifkan reaksi enzimatik didalam biji. Ditambahkan Goldworthy dan Fisher (1992) bahwa penyebab biji berkecambah adalah dengan mengaktifkan enzimenzim dan merombak cadangan makanan menjadi zat-zat yang lebih sederhana sehingga dapat diangkut keseluruh bagian embrio.

Proses pengaktifan reaksi enzimatik akan dimulai ketika asam giberelin didifusikan ke lapisan aleuron, dimana akan dihasilkan enzim-enzim hidrolitik. Enzim-enzim hidrolitik akan berdifusi ke endosperm menjadi gula dan asam amino. Gula reduksi sebagian akan digunakan dalam respirasi untuk menghasilkan energi dan sebagian lagi akan ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh untuk pertumbuhan embrio biji. Sedangkan IBA dan BAP dikatakan berpengaruh dalam proses perkecambahan dimungkinkan dibantu oleh hormon giberelin

endogen yang ada di dalam biji. Jika giberelin endogen di dalam biji berada dalam jumlah terbatas maka proses perkecambahan akan berjalan lambat dan begitu juga sebaliknya.

Pada penelitian Astutik dan Puji (2006) melaporkan bahwa pemberian konsentrasi giberelin dan lama perendaman pada biji jati (*Tectona grandis* L.) mampu memberikan pengaruh signifikan terhadap perkecambahn biji jati sampai dengan 60 % dengan konsentrasi 10ppm dan lama perendaman selama 24 jam. Penelitian tersebut memiliki perlakuan yang berbeda dalam prosesnya akan tetapi hormon yang digunakan pada penelitian ini sama-sama menggunakan giberelin untuk proses perkecamaban.

Pada penelitian Keshtkar *et al.* (2008) menunjukkan bahwa pemberian giberelin dari konsentrasi 100ppm hingga 500ppm menghasilkan kenaikan yang signifikan dalam meningkatkan perkecambahan pada biji *Astragus cyclophyllon*. Pada penelitian Sultana *et al.*,(2000) menunjukkan bahwa biji gandum yang direndam pada GA3 100ppm efektif dalam meningkatkan kecepatan munculnya kecambah dan ekspresi α-amilase. Pada penelitian Setyowati dan Utami (2008) terhadap biji *Brusea javanica* diketahui bahwa perendaman biji dalam larutan GA3 1000ppm efektif dalam mempercepat perkecambahan. Oleh sebab itu maka dengan pemberian GA3 20ppm dapat mempercepat perkecambahan biji cendana secara *in vitro*. Allah SWT berfirman dalam surat Yasin (36): 33;

Atinya: "Dan suatu tanda (kekuasaan Allah yang besar) bagi mereka adalah bumi yang mati. Kami hidupkan bumi itu dan Kami keluarkan dari padanya biji-bijian, maka daripadanya mereka makan" (QS. Yasin (36): 33).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam al-Quran surat Yasin (36): 33, kata الْكُرْتُ الْمُنْيَّةُ berarti "bumi yang mati" yang berarti dahulunya bumi itu mati dan gersang, tidak ada tumbuhan satupun. Adapun kata الْحُيْتُهُا وَأَخْرَجُنَا مِنْهَا حَبًا وَلَيْكُا وَالْحَالَ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِّ وَالْمُعَالِي وَالْمُعَلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعِلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعِلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعِلِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعَالِي وَالْمُعِلِي وَالْمُعِلِي

Kedua adalah hasil uji BNJ panjang batang. Berdasarkan dari hasil analisis *Oneway Anova* (tabel 4.2) menunjukkan panjang batang pada kecambah biji cendana memiliki jumlah rata-rata yang berbeda-beda antar semua perlakuan. Perlakuan yang terendah diantara semua perlakuan terdapat pada perlakuan kontrol karena berbeda nyata dengan perlakuan yang diberi ZPT. Untuk perlakuan dengan hasil yang paling terbaik dari semua perlakuan terdapat pada IBA 1.5ppm karena berbeda nyata dengan semua perlakuan baik kontrol maupun yang diberi perlakuan ZPT.

Hasil di atas menunjukkan bahwa perlakuan kontrol (2.58cm) memiliki panjang batang terendah dan perlakuan IBA 1.5ppm (11.526cm) memiliki perlakuan yang paling terbaik dalam mempengaruhi panjang batang cendana. Hal ini dimungkinkan karena pada perlakuan kontrol memiliki kandungan hormon endogen lebih sedikit pada biji sehingga aktifitas pertumbuhan tanaman kurang efektif atau lambat. Gardner *et al.*, (1991) menyatakan bahwa jika kandungan zat

pengatur tumbuh endogen berada di bawah titik optimal maka dibutuhkan sumber ZPT dari luar untuk menghasilkan respon yang dikehendaki. Menurut Djamhar (2010) bahwa zat pengatur tumbuh eksogen yang diaplikasikan pada tanaman berfungsi untuk memacu pembentukan fitohormon. Fitohormon sebagai senyawa organik yang bekerja secara aktif dalam jumlah sedikit biasanya ditransformasikan keseluruh bagian tanaman sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan atau proses-proses fisiologis tanaman.

Berdasarkan hal diatas dapat juga dinyatakan bahwa pada saat proses imbibisi auksin diserap masuk oleh biji. Masuknya air dan zat lain yang terkandung dalam auksin menyebabkan terjadinya proses kimiawi yang ditandai dengan perkecambahan biji. Setelah perkecambahan biji auksin yang mengandung zat bahan aktif akan berfungsi untuk merangsang pembentukan batang, pembelahan sel dan meningkatkan pertumbuhan tinggi kecambah. Pertumbuhan tinggi kecambah biasanya dipengaruhi oleh fototropisme.

Fototropisme merupakan peristiwa membengkoknya batang tanaman ke arah cahaya. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan rangsangan perpanjangan sel akibat penyebaran auksin yang tidak merata dan tidak diproduksinya auksin pada bagian yang terkena cahaya. Bagian yang tidak terkena cahaya akan aktif memproduksi auksin sehingga terjadi penimbunan auksin. Penimbunan auksin pada sisi yang tidak terkena cahaya akan mengakibatkan pemanjangan sel di sisi tersebut lebih cepat sehingga batang akan membengkok ke arah datangnya cahaya. Menurut Fetter (1998) menjelaskan bahwa ZPT IBA merupakan hormon

auksin yang berfungsi dalam proses pemanjangan batang, menghambat mata tunas samping dan berperan dalam pertumbuhan akar.

Singh et.al,.(2009) menyatakan tentang pengaruh waktu tanam dan IBA terhadap akar dan pertumbuhan delima (Punica granatum) bahwa penggunaan IBA 100ppm dan 2000 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti persentase tumbuh, jumlah akar, berat akar dan tinggi tanaman. Nurzaman (2005) pada penelitiannya melaporkan bahwa perlakuan IBA 0.1ppm (2.03cm) dapat meningkatkan tinggi mini stek pule pandak sedangkan untuk perlakuan IBA 2.0ppm (0.9cm) menunjukkan stek terendah. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini akan tetapi perlakuan ZPT yang diberikan adalah sama. Allah SWT berfirman dalam surat al-Qomar (54): 49;

Artinya: "Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran"

Berdasarkan firman Allah SWT dalam al-Qomar (54); 49, kata (عَدَر) berarti kadar/ukuran. Kata tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannnya sesuai dengan ketetapan, ilmu pengetahuan dan suratan takdir-Nya. Jadi, semua yang terjadi di alam semesta pasti berdasarkan takdir Allah SWT (Muyasar, 2007). Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini tentang pengaruh penggunaan berbagai macam ZPT tehadap tinggi batang kecambah biji cendana (*Santalum album* L.). Jadi dapat diketahui konsentrasi ZPT yang dibutuhkan untuk tinggi batang kecambah cendana

berbeda-beda ukurannya dan pada penelitian ini yang paling efektif adalah pemberian ZPT IBA 1.5ppm.

Ketiga adalah hasil uji BNJ panjang akar. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tebel 4.2 menunjukkan bahwa panjang akar kecambah biji cendana secara *in vitro* berbeda-beda antar perlakuan. Perlakuan dengan hasil optimum terjadi pada perlakuan IBA 1ppm, karena berbeda nyata pengaruhnya dengan semua perlakuan. Jadi, perlakuan IBA 1ppm inilah yang efektif dalam menginduksi panjang akar kecambah biji cendana. Sedangkan untuk perlakuan terbaik terjadi pada perlakuan IBA 2.5ppm, karena berbeda nyata dengan perlakuan IBA 1ppm dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan IBA 1.5ppm. Sehingga perlakuan IBA 2.5ppm inilah yang efektif dalam mepercepat induksi akar kecambah biji cendana secara *in vitro*.

Hasil pengamatan tabel 4.2 menunjukkan bahwa perlakuan kontrol (1.74cm) memiliki nilai rata-rata lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan dari berbagai macam ZPT. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya hormon endogen yang ada di dalam biji sehingga aktifitas pertumbuhan akar pada biji kurang efektif atau lambat. Menurut Winata (1987) bahwa zat pengatur tumbuh sangat berperan penting dalam mengontrol proses biologi tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman.

Data di atas (tabel 4.2) menunjukkan bahwa konsentrasi IBA 1ppm (5.25cm) yang terbaik dalam menginduksi akar kecambah biji cendana secara *in*

vitro diduga karena berhubungan dengan ZPT eksogen yang diberikan dan fungsi dari hormon IBA itu sendiri. Menurut Wattimena (1991) bahwa IBA merupakan jenis auksin yang paling sering digunakan dalam menginduksi akar dibandingkan jenis auksin lainnya, karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengendalikan inisiasi akar (Wattimena, 1991). Salisbury dan Ross (1995) menjelaskan bahwa IBA memegang peranan penting pada proses pembelahan dan pembesaran sel, terutama diawal pembentukan akar. Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja IBA.

Mekanisme kerja IBA pada proses pembentukan akar akan dimulai ketika IBA memperlambat aktivitas senyawa yang mempengaruhi pembentukan kalsium pektat, sehingga menyebabkan dinding sel menjadi lebih elastis (Hastuti, dkk, 2002). Dinding sel yang elastis menyebabkan ion-ion seperti H+, K+, Ca+dapat masuk kedalam sel. Akibatnya, sitoplasma lebih mudah untuk mendorong dinding sel ke arah luar dan memperluas volume sel. Selain itu, IBA menyebabkan terjadinya pertukaran antara ion H+ dengan ion K+. Ion K+ akan masuk ke dalam sitoplasma dan memacu penyerapan air ke dalam sitoplasma untuk mempertahankan tekanan turgor dalam sel. Setelah mengalami pembengkakan maka dinding sel akan menjadi keras kembali karena terjadi kegiatan metabolik berupa penyerapan ion Ca+ dari luar sel sehingga menyempurnakan susunan kalsium pektat dalam dinding sel (Hasanah dan Nintya, 2007). Air dan ion-ion yang masuk ke dalam sitoplasma akan mengaktifkan enzim pertumbuhan, sehingga sel yang terinisiasi oleh hormon IBA akan mengalami pemanjangan. Pemanjangan sel yang terjadi pada batang cendana yang diberikan

hormon IBA akan tumbuh menjadi akar yang berfungsi untuk penyerapan zat hara.

Pada penelitian Setiawati pengaruh zat pengatur tumbuh (ZPT) terhadap pertumbuhan Gladiol (*Gladiolus x gandavensis*) dapat menginduksi akar pada konsentrasi IBA 5ppm sepanjang 31.00 mm. B. Janarthanam *et al.*, (2011) dalam penelitiannya menyatakan menggunakan kombinasi ZPT IBA 0,5 mg/L⁻¹ dan NAA 0,25 mg/L⁻¹ mampu meningkatkan produksi akar sebesar 4,2 ± 0,10 cm dan dengan tinggi rata-rata 4,8 ± 0,2 cm setelah dikultur selama enam minggu pada tanaman *Santalum album*. Pada penelitian Herawan, dkk., (2015) bahwa tanaman cendana menggunakan eksplan mata tunas dengan penambahan ZPT IBA 20ppm + 1ppm IAA + 0,01ppm NAA mampu menginduksi akar dengan rerata perakaran mencapai 37%. Allah SWT berfirman dalam surat al-Hijr (15): 21;

Artinya: " dan Kami tidak menurunkannya melaikan dengan ukuran yang tertentu" (QS. al-Hijr (15): 21).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam surat al-Hijr (15): 21, kata (ﷺ) berarti kadar/ukuran. Kata tersebut menunjukkan bahwa Allah menurunkan sesuatu sudah menentukan ukurannya masing-masing. Jadi apapun yang telah Allah SWT ciptakan dimuka bumi ini telah ditetapkan ukurannya (Katsir, 2004). Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini tentang penggunaan berbagai macam ZPT terhadap pertumbuhan dan panjang akar kecambah biji cendana secara *in vitro*. Pada penelitian ini yang paling efektif dalam mempengaruhi panjang akar adalah IBA 1ppm.

Keempat adalah hasil uji BNJ pada jumlah daun. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa jumlah daun kecambah biji cendana memiliki nilai rata-rata yang berbeda-beda. Perlakuan dengan hasil yang paling baik terdapat pada perlakuan GA3 10ppm, GA3 15ppm, GA3 20ppm, GA3 5ppm, BAP 2.5ppm, BAP 2ppm, IBA 2.5ppm, IBA 1ppm dan IBA 2ppm karena tidak berbeda nyata antr perlakuan tersebut dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada perlakuan yang terbaik di atas, jika dilihat berdasarkan nilai rata-rata yang didapatkan maka perlakuan dengan jumlah daun dengan nilai rata-rata tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi GA3 10ppm (4.8). Davies (1995) menjelaskan bahwa hormon merupakan golongan senyawa organik alami yang dihasilkan tumbuhan dan dapat mempengaruhi proses fisiologi pada konsentrasi rendah. Selain itu, pelakuan GA3 10ppm yang merupakan perlakuan terbaik karena mendapatkan nilai rata-rata tertingg dapat disebabkan karena giberelin berperan dalam mempercepat pertumbuhan dan pembelahan sel sehingga dapat membantu pembentukan daun.

Pembentukan daun pada kecambah sangat dipengaruhi oleh ketersediaan air dan hormon baik itu endogen maupun eksogen. Handayani (2008) menjelaskan bahwa pemberian triakotanol dan giberelin dapat meningkatkan pertambahan jumlah anak daun, hal ini terjadi karena giberelin berfungsi memacu pertumbuhan dan mempercepat pembelahan sel. Proses pembentukan daun yang dipengaruhi oleh hormon akan terjadi ketika aktivitas gen dimulai dengan transkrip DNA menjadi mRNA. mRNA akan keluar dari inti ke sitosol dan ditraslasikan di

ribosom, sehingga terjadi sintesis protein. Sintesis protein akan membentuk enzim-enzim baru dan mengaktifkan enzim-enzim tertentu yang mempengaruhi proses metabolisme. Serangkaian proses metabolisme akan mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan tanaman (Salsbury dan Ross, 1995). Pertumbuhan tanaman tersebut dapat berupa daun.

Hidayat (1995) menyatakan bahwa penambahan jumlah daun diduga karena meningkatnya pembelahan sel-sel primodial daun dan diferensiasi sel ujung batang. Ditambalan Goldsworty dan Fisher (1992) bahwa pemanjangan dan pembelahan sel dipengaruhi oleh hormon giberelin yang bekerja pada sel, sedangkan sitokinin akan bertanggung jawab untuk mengatur perkembangan daun seperti ketersediaan air dan nitrogen yang termineralisasi.

Pada penelitian Fathonah dan Sugiyarto (2009) tentang pengaruh IAA dan GA3 terhadap pertumbuhan purwoceng (*Pimpinella alpina*) dapat meningkatkan jumlah daun pada perlakuan kombinasi IAA 0ppm+ GA3 500ppm dengan jumlah daun terbaik yaitu rata-rata 10.33. Pada penelitian Lestari (2008) pada tanaman pule pandak (*Rauvolfia verticillata* Lour.) mendapat jumlah daun terbanyak yaitu dengan rata-rata 6.2 pada perlakuan kombinasi GA3 50ppm+ Sitokinin 0ppm. Allah SWT berfirman dalam surat al-An'am (6): 99;

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau...." (QS.al-An'am (6): 99).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam surat al-An'am (6): 99, dalam kalimat وَهُو ٱلَّذِيۤ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَاءِ مَاء (Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari

4.2 Induksi Kalus Embriogenik

4.2.1.Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Kuantitas Kalus Embriogenik Pada Eksplan Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana (Santalum album L.) secara in vitro.

Kalus adalah sekumpulan sel yang terbentuk dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri secara terus menerus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ yang mengalami luka pada sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan dengan luka yang bersifat meristematik dan dapat membentuk massa sel yang tidak terdeferensiasi (Subarnas, 2001). Pada penelitian ini eksplan yang digunakan adalah daun dan kotiledon tanaman cendana. Pengamatan kuantitas kalus diamati selama 45 HST yang meliputi hari muncul kalus (HMK), persentase pertumbuhan kalus (PPK) dan berat basah kalus (BBK). Untuk melihat hasil yang signifikan maka dilakukan analisis secara statistika. Hasil uji statistik menggunakan *Oneway*

Anova tentang pengaruh penambahan 2,4-D terhadap kuantitas kalus embriogenik pada eksplan daun dan kotiledon tanaman cendana secara *in vitro* dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil analisis *Oneway Anova* pengaruh penambahan 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik pada eksplan daun dan kotiledon tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

Jenis Eksplan	Variabel	F-hitung	F-tabel
Kotiledon	Hari Muncul Kalus	3.039*	2.3
	Berat Basah Kalus	8.515*	2.3
	Persentase Berkalus	42.615*	2.3
Daun	Hari Muncul Kalus	3.129*	2.3
	Berat Basah Kalus	38.640*	2.3
//	Persentase Berkalus	39.964*	2.3

Keterangan: (a) *= menunjukkan berpengaruh nyata, (b) untuk data lengkap dapat dilihat pada lampiran 1.

Berdasarkan hasil analisis *Oneway Anova* (tabel 4.3) didapatkan hasil bahwa F hitung > F tabel, ini menunjukkan ada pengaruh penambahan 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik pada ekplan daun dan kotiledon tanaman cedana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*. Selanjutnya adalah analisis koefisien keragaman untuk mengetahui uji lanjut yang akan dipergunakan. Berdasarkan hasil yang didapat bahwa nilai koefisien keragaman dibawah 5% (Lampiran 3). Hal ini menunjukkan bahwa uji lanjut yang akan dipakai adalah uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji BNJ dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil uji BNJ 5% pengaruh penambahan 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik pada eksplan daun dan kotiledon tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

Jenis	Konsentrasi	Hari Muncul	Berat Basah	Persentase
Eksplan	2,4-D (ppm)	Kalus (HST)	Kalus (gr)	Kalus (%)
Kotiledon	0	45.6667c	0a	0a
	1	19.333b	0.9002b	77.50bc
	2	18.333a	0.6613b	100c
	3	17.6667a	0.07435b	61.67b
Daun	0	45.6667c	0a	0a
	1	21.50b	0.12265b	93.33c
	2	20.1667a	0.18078c	99.17c
	3	19.6667a	0.10157b	58.33b

(a) Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (BNJ _{0,05}), (b) notasi yang berurutan dapat dilihat pada lampiran 1.

Pertama adalah hasil uji BNJ hari muncul kalus. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa eksplan kotiledon dan daun memiliki nilai rata-rata yang berbeda-beda antar perlakuan. Perlakuan yang paling rendah dalam memicu munculnya kalus dari kedua eksplan adalah perlakuan 0ppm, karena berbeda nyata dengan semua perlakuan. Untuk eksplan kotiledon yang paling terbaik dalam memicu munculnya kalus terdapat pada 2,4-D 3ppm dan 2ppm sedangkan untuk eksplan daun terdapat pada perlakuan 3ppm dan 2ppm. Hal ini dikarenakan pada perlakuan 3ppm dan 2ppm pada eksplan daun dan kotiledon tidak berbeda nyata dan hanya berbeda nyata dengan perlakuan 1ppm dan 0ppm.

Berdasarkan dari penyataan diatas bahwa pada eksplan daun dan kotiledon Oppm (45.667 HST) memilki kemampuan yang paling rendah dalam menginduksi kalus embriogenik. Hal ini dapat disebabkan karena hormon endogen yang terdapat di dalam daun sangatlah sedikit sehingga dibutuhkan ZPT eksogen untuk membantu hormon endogen yang ada pada daun dan kotiledon. Lestari (2011) menjelaskan bahwa dengan penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel sebagai faktor pemicu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada jaringan.

Selanjutnya adalah perlakuan terbaik dalam memicu munculnya kalus. Berdasarkan dari hasil pada tabel 4.4 jika dilihat dari nilai rata-rata yang diperoleh maka konsentrasi 2,4-D 3ppm kotiledon (17.6667 HST) dan daun (19.6667 HST) merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi kalus embriogenik, karena memiliki nilai rata-rata yang paling rendah. Selain itu ini juga menunjukkan bahwa semakin tinggi perlakuan konsentrasi yang diberikan maka hari muncul kalus juga semakin cepat. Wattimena (1988) menjelaskan bahwa 2,4-D merupakan ZPT yang paling sering digunakan pada kultur kalus karena aktvitasnya yang stabil untuk memacu proses diferensiasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus.

Pembentukan kalus tidak terlepas dari pembelahan, pembesaran dan pemanjangan sel. 2,4-D merupakan auksin yang berperan dalam pembelahan, pembesaran dan pemanjangan sel karena ion organik dan molekul organik masuk ke dalam sel. Mekanisme auksin adalah dimana auksin menginisiasi pemanjangan

sel dengan cara mempengaruhi fleksibilitas dinding sel dan memacu protein tertentu yang ada di membran plasma untuk memompa ion H+ ke dinding sel. Ion H+ akan mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan ikatan hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Karena dinding sel sudah elastis maka sel akan bebas mengambil tambahan air melalui osmosis untuk tumbuh (Ulfa, 2011). Mekanisme kerja 2,4-D dalam pembentukan kalus yaitu dengan cara berdifusi ke dalam jaringan tanaman yang telah dilukai. 2,4-D yang diberikan akan merangsang auksin yang terkandung di dalam jaringan eksplan untuk menstimulasi pembelahan sel terutama sel-sel yang berada disekitar daerah luka (Ulfa, 2011).

Kedua adalah hasil uji BNJ pada berat basah kalus. Pertumbuhan adalah peningkatan permanen ukuran bagian dari tumbuhan yang merupakan hasil dari peningkatan dan ukuran sel. Pengukuran berat basah kalus dapat diamati karena pertumbuhannya memiliki ciri dengan bertambahnya berat yang *irreversible*. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa perlakuan eksplan kotiledon yang paling terbaik secara berurutan terdapat pada 2,4-D 1ppm, 3ppm dan 2ppm karena tidak berbeda nyata antar perlakuan dan hanya berbeda nyata dengan 0ppm. Untuk eksplan daun yang memiliki perlakuan yang paling terbaik terbaik terdapat pada 2,4-D 2ppm, karena berbeda nyata dengan perlakuan 1ppm, 2ppm dan 0ppm.

Hasil di atas menunjukkan bahwa eksplan kotiledon dengan konsentrasi 1ppm, 3ppm dan 2ppm jika dilihat dari hasil nilai rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan 1ppm (0.9002gr). Oleh sebab itu konsentrasi 1ppm merupakan

perlakuan yang paling terbaik dalam menginduksi berat basah kalus paling baik pada eksplan kotiledon. Untuk eksplan daun sudah dapat terlihat pada konsentrasi 2ppm (0.1807gr) merupakan konsentrasi yang paling terbaik menginduksi berat basah kalus karena berbeda nyata denga semua perlakuan. Adanya pengaruh yang berbeda-beda dapat dikarenakan dari kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Pada penelitian Fitrianti (2006) menyatakan bahwa konsentrasi 2,4-D 0.5 ppm pada eksplan daun sambiloto mampu menghasilkan berat basah kalus paling tinggi yakni sebesar 0.33gr. Hal ini dapat dikatakan bahwasanya 2,4-D berpengaruh baik terhadap berat basah kalus pada eksplan daun dan kotiledon.

Pembentukan kalus pada penelitian ini mungkin dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin dengan perbandingan yang tepat dan sesuai, maka dengan perbandingan yang sesuai akan mendukung pertumbuhan kalus. Mekanisme kerja pembentukan kalus dimulai ketika sitokinin berperan dalam proses transkripsi dan translasi RNA di dalam sel. Proses transkripsi dan translasi berlangsung dalam tahap metafase. Ketika dilakukannya proses transkripsi RNA, maka 2,4-D akan mempengaruhi metabolisme RNA dan mengontrol sintesis protein, karena dengan kenaikan sintesis protein dapat menyebabkan bertambahnya sumber tenaga untuk pertumbuhan (Rahayu, dkk, 2003). Proses translasi RNA dilanjutkan dengan pembentukan asam-asam amino yang merupakan komponen dasar protien. Protein yang terbentuk antara lain adalah enzim-enzim yang berperan dalam pembelahan sel. Enzim-enzim tersebut misalnya enzim polymerase DNA yang berperan dalam pemanjangan rantai DNA dan memperbaiki kesalahan dalam penyusunan basa

nitrogen pada DNA dan enzim ligase yang berperan dalam menghubungkan fragmen-fragmen DNA yang putus-putus pada saat replikasi. Ketersedaan enzim ini di dalam sel akan menyeabkan proses pembelahan sel berlangsung lebih efektif (Hayati, 2010).

Ketiga adalah uji BNJ pada persentase pertumbuhan kalus. Kebutuhan akan auksin untuk menginduksi kalus tergantung dari kadar auksin endogen. Ditambahkan oleh Zulkarnain (2009) dan Andaryani (2010) bahwa kalus merupakan masa parenkimatis yang belum terdiferensiasi, sehingga proses terjadinya kalus tergantung dari bagian eksplan yang dipakai dan penambahan zat pengatur tumbuh pada media dasar. Berdasarkan dari hasil uji BNJ pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada eksplan kotiledon yang terbaik terdapat pada 2,4D 2ppm karena tidak berbeda nyata dengan 1ppm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Untuk perlakuan eksplan daun yang terbaik terdapat pada 2ppm, karena tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1ppm dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Berdasarkan dari hasil pernyataan di atas jika dilihat dari nilai rata-rata tertinggi untuk menentukan hasil yang paling terbaik terdapat pada konsentrasi 2,4-D 2ppm (100%) eksplan kotiledon dan 2ppm (99.17%) eksplan daun. Karjadi dan Buchory (2008) mengatakan bahwa kebutuhan hormon eksogen bergantung pada jumlah hormon endogen yang terkandung pada eksplan. Mekanisme proses pembentukan kalus terjadi karena adanya pelukaan yang diberikan pada eksplan, sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel yang rusak. Pada awalnya akan terjadi pembentangan dinding sel dan penyerapan air yang akan

menyebabkan sel membengkak sehingga akan terjadi pembelahan sel dan selanjutnya akan membentuk kalus. Pada saat proses aktivitas metabolik tersebut sel akan membutuhkan energi, sehingga sukrosa yang ada di dalam media yang akan menjadi sumber energi bagi sel-sel eksplan. (Sitorus, 2007). Pada penelitian Nazza (2013) menyatakan bahwa media dengan perlakuan 2,4-D 1ppm mendapatkan persentase kalus daun pegagan tertinggi yakni 60% dibandingkan dengan perlakuan 2,4-D 2ppm dengan persentase eksplan berkalus 16.08%.

Allah SWT berfirman dalam surat al-Insyiqaq (84):19;

لَتَرَكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَق

Artinya: "Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam keidupan)" (QS.al-Insyiqaq (84): 19).

Kata Amemiliki arti tingkat demi tingkat. Dari yang hidup menjadi mati kemudian dibangkitkan kembali (Katsir, 2004). Dalam konteks tumbuhan kalimat tersebut dapat diartikan bahwa segala sesuatu itu tidak langsung berkembang menjadi dewasa, melainkan semuanya mengalami beberapa proses dalam pertumbuhan. Kalus terbentuk karena adanya eksplan yang berasal dari jaringan meristematik yang mengalami luka, sehingga dengan adanya zat pengatur tumbuh auksin maka akan menyebabkan sel pada eksplan mengalami pemanjangan sel yang tidak diikuti dengan pembelahan, sehingga menyeabkan terbentuknya kalus. Setelah kalus terbentuk maka kalus akan bergenerasi menjadi embrio kemudian tumbuh dan berkembang menjadi tanaman dewasa (planlet).

4.2.2 Pengaruh Penambahan 2,4-D Terhadap Morfologi dan Anatomi kalus Embriogenik dan Pada Eksplan Daun dan Kotiledon Tanaman Cendana (Santalum album L.) Secara in Vitro.

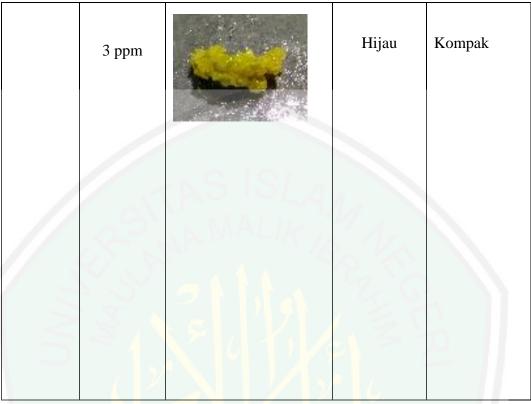
Warna kalus merupakan gambaran visual yang dijadikan sebagai indikator perkembangan eksplan untuk mengetahui apakah sel-sel pada kultur kalus masih aktif membelah atau sudah mati, sedangkan tekstur kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan (Indah dan Ermavitalini, 2013). Hasil yang didapatkan dari pengaruh 2,4-D terhadap warna dan tekstur kalus embriogenik pada daun dan kotiledon tanaman cendana secara *in vitro* disajikan pada gambar 4.1.

Gambar 4.1 Pengaruh penambahan 2,4-D terhadap morfologi kalus embriogenik pada daun dan kotiledon tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro*.

Jenis Eksplam	Perlakuan ZPT 2,4- D	Gambar Kalus	Warna Kalus	Tekstur kalus
Kotiledon	0 ppm			

	1 ppm		Putih Kekuningan	Remah
	261	AS ISLA AMALIKA 2111A		
5	2 ppm		Hijau keputihan	Kompak
	20077	ABBUGN		
	3 ppm		Haijau keputihan	Kompak

Daun	0 ppm		-	-
	291	AS ISLA		
	1 ppm		Putih kekuningan	Remah
	2 ppm		Hijau	Intermediet



Keterangan: Tanda (-) menunjukkan daun tidak berkalus.

Berdasarkan data hasil pengamatan gambar 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan kontrol tidak terbentuk kalus, sehingga pengamatan warna dan tekstur kalus tidak dapat diamati. Untuk pengamatan warna dan tektur kalus embriogenik dari kedua jenis eksplan yang diberi perlakuan memiliki warna dan tektur yang berbeda-beda. Pengamatan pertama adala warna kalus embriogenik dari kedua jenis eksplan tanaman cendana. Warna kalus embriogenik pada daun dan kotiledon terdiri dari warna hijau keputihan, hijau dan putih kekuningan. Hendaryono dan Wijayani (1994) menjelaskan bahwa perbedaan warna kalus dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti pigmentasi, intensitas cahaya dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda. Di tambahkan oleh Lutviana

(2012) bahwa jaringan yang dihasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna kalus yang berbeda-beda.

Kalus embriogenik yang terbentuk pada perlakuan pengaruh 2,4-D 1ppm, 2ppm, 3ppm terhadap berbagai jenis eksplan tanaman cendana didomanasi oleh kalus berwarna hijau dan hijau keputihan. Warna putih kehijauan atau hijau pada kalus dapat disebabkan karena eksplan memiliki konsentrasi sitokinin yang tinggi. Konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat memperlambat proses penuaan serta menghambat perombakan butir-butir klorofil sehingga secara visual kalus akan tampak berwarna hijau. Proses terbentuknya warna kalus pada eksplan dimulai dari bintik putih yang kemudian akan berubah menjadi beberapa bintik putih hingga membentuk kalus. Sebagian dari bintik putih tersebut akan berubah menjadi kehijauan.

Menurut Ariati (2012) bahwa kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki butir pati yang tinggi. Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil dalam jaringan, sehingga jika warna hijau pada kalus semakin banyak maka semakin banyak pula kandungan klorofil pada kalus (Dwi, 2012). Selain itu, pembentukan warna kalus juga dipengaruhi oleh ZPT yang ditambakan di dalam media. Hanifah (2007) menyatakan bahwa pada perlakuan dengan penamabahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan kalus berwarna hijau (cerah) yang tahan lama.

Kalus embriogenik yang baik dalam perbanyakan tanaman adalah kalus yang berwarna putih kekuningan. Pembentukan warna kalus diberbagai

konsentrasi pada penelitian ini mampu menghasilkan kalus dengan warna putih kekuningan diantaranya terdapat pada daun dan hipokotil 2,4-D 1ppm. Menurut Peterson dan Smith (1991) bahwa kalus embrogenik yang baik adalah yang memiliki warna kalus putih kekuningan dan mengkilat. Ditambahakan Rahayu dkk., (2003) bahwa kecepatan sel dalam melakukan pembelahan dan perbanyakan diri akan memberikan pengaruh pada warna kalus yang dihasilkan. Kalus yang aktif membelah cenderung berwarna putih atau putih kekuningan dikarenakan sel pada kalus masih terus bergenerasi dan membentuk jaringan muda. Oleh karena itu, maka dapat dikatakan kalus yang berwarna putih kekuningan merupakan kalus yang baik dan dapat digunakan dalam perbanyakan tanaman.

Kalus memiliki berbagai macam tekstur diantaranya adalah bertekstur remah, intermediet dan kompak. Kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel tubular dimana struktur sel-selnya renggang, tidak teratur dan mudah rapuh (Manuhara, 2001). Sementara itu, kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air, sedangkan kalus intermediet adalah campuran antara remah dan kompak (Manuhara, 2001). Hasil pengamatan tentang tekstur kalus dapat dilihat pada tabel 4.5 dan gambar 4.1.

Data hasil pengamatan pada tabel 4.5 dan gambar 4.1 tentang tekstur kalus embriogenik pada berbagai jenis eksplan tanaman cendana mendapatkan tekstur yang berbeda-beda yaitu bertekstur remah, intermediet dan kompak. Hal ini dapat disebabkan karena jenis zat pengatur tumbuh yang diberikan beserta konsentrasinya yang berbeda-beda. Menurut Pierik (1987) bahwa tekstur pada

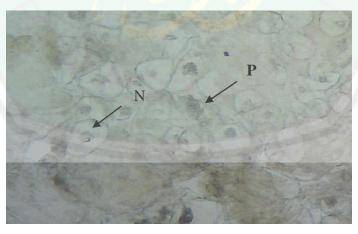
kalus yaitu kompak hingga meremah tergantung dari jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrien media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur. Selain itu, adapun kalus yang diperoleh pada penelitian ini setelah diidentifikasi teksturnya cenderung bertekstur kompak. Kalus bertekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan memiliki banyak pati gandum (karbohidrat) (Ariati, 2012).

Kalus yang kompak dapat disebabkan sel-sel yang semula membelah mengalami penurunan aktivitas proliferasinya. Aktivitas ini dipengaruhi auksin alami yang terdapat pada eksplan (Santoso dan Nursandi, 2004). Pada penelitian ini tekstur kalus yang cenderung kompak dimungkinkan karena kandungan hormon sitokinin yang terdapat di dalam eksplan. Ariati (2012) menyatakan bahwa tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih keras. Ditambahkan oleh Marfirani, dkk (2015) bahwa sitokinin di dalam eksplan berperan dalam transpot zat hara. Tarasport sitokinin dari bagian basal menuju apeks membawa air dan zat hara lainnya melalui pembuluh floem akan mempengaruhi potensial osmotik di dalam sel, sehingga membuat dinding sel menjadi kaku dan membuat tekstur kalus menjadi kompak.

Pada peneltian Lizawati (2012) menyatakan bahwa induksi kalus tunas apikal pada tanaman jarak pagar menggunakan TDZ 0ppm, 1ppm dan 2ppm yang dikombinasikan dengan 2,4-D 0ppm dapat menghasilkan kalus yang bertekstur

kompak. Pada penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa tingginya konsentrasi sitokinin menyebabkan tunas apikal jarak pagar bertekstur kompak.

Kalus embriogenik yang baik untuk bergenerasi menjadi tanaman adalah kalus yang bertekstur remah. Pada penelitian ini kalus yang bertekstur remah dapat dilihat pada perlakan eksplan daun dan kotiledon 1ppm. Tektur kalus yang remah dianggap baik karena kalus remah merupakan kalus yang mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal dan sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspensi (Alitalia, 2008). Selain itu kalus yang remah juga dikatakan sebagai kalus yang sel-selnya masih aktif melakukan pembelahan. Struktur kalus remah yang didapatkan dalam penelitian ini diduga merupakan kalus embriogenik. Struktur kalus embriogenik yang didapat secara visual dapat didukung menggunakan mikroskop. Kalus yang remah bila diamati dibawah mikroskop akan terlihat memiliki sel-sel kecil yang bergerombol.



Gambar 4.2 Pengamatan anatomi kalus remah pada eksplan kalus embriogenik tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro* (perbesaran 100X), P=Plastid, N=Nukleus.

Menurut gunawan (1987) kalus embriogenik secara visual dicirikan dengan tekstur kalus yang remah berwarna putih bening atau kekuningan, serta

memiliki sitoplasma yang padat, vakuola kecil, mengandung butir pati dan memiliki inti yang besar. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa tekstur kalus yang baik untuk pebanyakan tanaman adalah tekstur kalus yang remah. Pada penelitan Rusdianto dan Ari (2012) tentang induksi kalus embriogenik wortel menggunakan 2,4-D 2ppm dapat menghasilkan kalus berwarna putih bening dan putih kekuningan dengan tekstur *friable* atau remah.

Menurut Ayuningrum dkk., (2015) 2,4-D sangat interaktif dalam melakukan pembelahan dan perbesaran sel, dengan penambahan 2,4-D sel-sel akan lebih aktif melakuakn pembelahan dan perbesaran sehingga didapatkan kalus yang remah. Kalus dengan tekstur remah memiliki ciri mudah dalam hal pemisahan sel-sel nya menjadi sel tunggal. Secara visual kalus yang memiliki tekstur remah memiliki ikatan antar sel yang renggang, kalus yang remah akan mudah dipisahkan satu sama lain dan mudah pecah serta ketika dilakukan pengambilan dengan pinset sebagian akan lengket pada pinset. Struktur kalus yang remah menunjukkan bahwa sel kalus masih aktif melakukan pembelahan.

Struktur kalus remah yang didapatkan pada penelitian ini dapat diduga merupakan kalus embriogenik. Struktur kalus embriogenik yang didapat dari pengamatan secara visual (pengamatan morfologi) didukung dengan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop (pengamatan anatomi). Dimana kalus yang berstuktur remah yang berumur 45 HST bila diamati di bawah mikroskop terlihat memiliki sel-sel kecil dan bergerombol. Menurut Gunawan (1987) kalus embriogenik secara visual dicirikan dengan struktur kalus yang remah dan berwarna putih bening atau kekuningan, serta memiliki sitoplasma

yang padat, vakuola kecil-kecil, mengandung butir pati, dan memiliki memiliki inti besar. Ditambahankan Kasi & Sumaryono (2008) mengemukakan bahwa kalus embriogenik dengan tekstur remah terdiri atas sel-sel yang bersifat meristematik (yang ditandai dengan ruang antar sel lebih rapat, mempunyai inti yang jelas, sitoplasma padat dan aktivitas pembelahan sel yang tinggi).

Allah berfrman dalam surat an-Nahl (16) ayat 13:

Artinya: "dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran" (QS. An-Nahl (16): 13).

Kalimata وَمَا ذَرَا لَكُمْ فِي ٱلْأَرْضِ مُخْتَلِفًا ٱلْوَلَهُ (Dia ciptakan untukmu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya). Maksud dari kata tersebut adalah ketika Allah SWT telah mengingatkan atas tanda-tanda yang ada dilangit dan bumi, Dia mengingatkan atas apa yang dia ciptakan di bumi berupa benda-benda yang menakjubkan dan berbagai macam sesuatu diantaranya bintang-bintang, bendabenda tambang, tumbuh-tumbuhan dan benda-benda mati, dengan berbagai macam warna dan bentuknya termasuk keguanaan dan keistimewaannya. Salah satu yang dapat dilihat tanda kebesaran Allah SWT tentang berbagai macam warna dan bentuknya serta kegunaan dan keistimewaannya adalah jenis warna dan tekstur pada induksi kalus embriogenik tanaman cendana. Warna dan tekstur kalus yang dimiliki tanaman cendana dapat dimanfaatkan untuk kepentingan perbanyakan tanaman atau produksi metabolit sekunder.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan tentang pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh terhadap perkecambahan dan induksi kalus embriogenik tanaman cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro* dapat disimpulkan sebagai berikut.

- 1. Ada pengaruh IBA, BAP dan GA3 terhadap perkecambahan biji cendana pada hari muncul kecambah, tinggi batang, panjang akar dan jumlah daun cendana secara *in vitro*.
- Konsentrasi yang paling terbaik dalam meningkatkan perkecambahan biji cendana adalah hari muncul kecambah GA3 20mg/L (7.6 HST); tinggi batang IBA 1.5mg/L (4.616cm); panjang akar IBA 1mg/L (5.25cm) dan jumlah daun GA3 10mg/L (4.8).
- 3. Ada pengaruh penambahan 2,4-D terhadap induksi kalus embrionik daun dan kotiledon tanaman cendana secara *in vitro*.
- 4. Konsentrasi yang paling terbaik terhadap induksi kalus embriogenik dengan penambahan 2,4-D pada hari munculnya kalus adalah 3mg/L (19.666 HST) pada daun dan 3mg/L (17.666) pada kotiledon; persentase pertumbuhan kalus 2mg/L (99.17%) pada daun dan 2mg/L (100%) pada kotiledon; berat basah kalus 2mg/l (0.180783gr) pada daun dan 1mg/L (0.9002gr) pada kotiledon. Warna kalus yang dihasilkan adalah putih

kekuningan, putih kehijauan, hijau dan hijau kekuningan, sedangkan teksturnya remah, kompak dan intermediet.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

- Untuk mengetahui potensi antara zpt tunggal dan kombinasi teradap perkecambahan biji cendana maka perlu dilakuakan penelitian tentang kombinasi antara GA3, IBA dan BAP.
- 2. Untuk mengetahui potensi kalus yang dihasilkan apakah jenis kalus embriogenik atau non embriogenik maka perlu dilakukan pengamatan anatomi terhadap kalus yang bertekstur remah.
- Untuk mengetahui kemampuan kalus dalam membentuk akar maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan cara menginduksi kalus menggunakan auksin dengan konsentrasi yang berbeda-beda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2003. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 2. Bogor. Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abidin, Z. 1985. Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Abidin, Z. 1990. Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Abidin, Z., 1983. Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Bandung: Angkasa.
- Achmad. A. 2008. *Teknik Penanganan dan Pengujian Mutu Benih beberapa Jenis Pohon Prioritas HTI*. Bogor: Balitbang Kehutanan.
- Admojo, L., Indrianto, A. & Hadi, H., 2014. Perkembangan Penelitian Induksi Kalus Embriogenik Pada Jaringan Vegetatif Tanaman Karet Klonal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). Warta Perkaretan, 33(1), pp. 19-28.
- Afrizal. 2002. Pengaruh Umur Bahan Stek dan Zat Pengatur Tumbuh IBA terhadap Pertumbuhan Stek Mahoni (*Swietenia macrophylla* King). *Skripsi*. Jurusan Manajemen Hutan, Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Aliata, Y., 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (Nepenthes mirabilis) Secara In vitro, Bogor: Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *in Vitro*. *Skripsi tidak diterbitkan*. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Al-Qarni Aidh. (2007). Tafsir Muyassar, Jakarta: Qisthi Press.
- Al-Qurtubi, Syaikh Ilham. 2008. *Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Azzam. (Penerjemah: Muyyiddin Masrida).

- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in Vitro. Tidak Diterbitkan*. UNS. Surakarta.
- Araujo, J. D. 2011. Pertumbuhan Tanaman Pokok Cendana (*Santalum Album* Linn.) Pada Sistem Agroforestri Di Desa Sanirin, Kecamatan Balibo, Kabupaten Bobonaro Timor Leste. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: IPB.
- Ariati, S. N., 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao L.*) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Sciences*, 1(1), pp. 74-84.
- Ashari, S.1995. Holtikultura Aspek Budidaya. Jakarta: UI press.
- Astutik, S. 2007. Pengaruh Varietas Kedelai (*Glycine max*) terhadap Pertmbuhan Kalus dan Kandungan Senyawa Isoflavon (*Daidzein* dan *Genisten*). *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan IPA Universitas Islam Malang.
- Astutik., dan Puji, Y. 2006. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Giberelin Terhadap Perkecambahan Biji Jati*. Universitas Airlangga.
- Ayuningrum, K., Iman Budisantoso dan Kamsinah. 2015. Respon Pemberian Hormon 2,4-D Terhadap Pertubuhan Subkultur Kalus Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merrill) Secara *in Vitro. Jurnal Biosfera* 32 (1).
- B. Janarthanam and E. Sumathi, 2011. High Frequency Shoot Regeneration from Internodal Explants of *Santalum album* L. *International Journal of Botany*, 7: 249-254.
- Bagia, N., Harijono dan I. M. Parsa. 2005. Alat Pemotong Serpihan Limbah Kayu Cendana. Universitas Nusa Cendana/Sari Wangi. Kupang. http://www.dikti.org/p3m/vucer9/04042s.html (Di akses tanggal 13 Januari 2017).
- Bibi, Y., 2011. Regeneration of Centella asiatica Plants From Non-Embryogenic Cell Lines and Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of Regenerated Calli and Plants. *J. Biol. Eng*, 5(13).

- Brand, J and Jones, P. 1999. Growing Sandalwood (*Santalum spicatum*) on Farmland in Western Australia. *Sandalwood Information Sheet*. Issue 1 May 1999: 1-4.
- Bustami, M.U. 2011. Penggunaan 2,4-D untuk induksi kalus kacang tanah. *Media Litbang Sulteng*. 4(2):137-141.
- D.J.Fetter. 1998. Fisiologi Tumbuhan Dasar. Jakarta: PT Yudhistira.
- Darwati, I. 2007. Pengaruh Jenis Eksplan dan 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Kalus Purwoceng (Pimpinella pruatjan Molk.). Bogor: Penelitian IPB.
- Davies, J. P. 1995. *Plant Hormones*, *Physiology*, *Biochemistry and Moleculer Biology*. Kluwer Academic Publisher. Boston.
- Dewi, Maria Paulin Sari. (2014). Etnobotani Cendana (Santalum album L.) Sebagai Buku Refrensi Pada Matakuliah Botani Tumbuhan Tinggi..
- Dwi, N.M., Waenati, Muslimin, Suwastika. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.) *Jurnal Natural Science*. Vol 1(1): 53-62.
- Faridah Nur Hasanah dan Nitya Setiari. 2007. Pembentukan Akar pada Stek Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) setelah Direndam IBA (*Indol Butyric Acid*) pada Konsentrasi Berbeda. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 15: 2. 1-6.
- Fathonah, Dasiyem dan Sugiyarto. (2009). Biomassa, Kandungan Klorofil dan Nitrogen Daun Dua Varietas Cabai (*Capsicum annum*) Pada Berbagai Perlakuan Pemupukan. *Jurnal Nusantara Bioscience* (1): 17-22.
- Fitrianti, A., 2006. Efektifitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kinetin pada medium MS dalam induksi kalus sambiloto dengan eksplan potongan daun, Semarang: Fakultas MIPA UNS.
- Gamborg, O. L. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. USA: International Plant Research Institute.

- Gardner, P. F. dan R.B. Pearce. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- George, E. F., and Klerk, G. J. D. 2007. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd *Edition. Vol. 1*. The Background Springer, The Netherland. 504.
- Goldsworthy, P. R. dan Fisher, N. M. 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Laboratorium Kultur Jaringan Tanman: PAU IPB.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi. IPB Bogor.
- Hamilton, L.and Conrad, C. E. 1990. *Proceedings symposium Sandalwood in the Pacific*. USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep.PSW-122.
- Hanafiah, Kemas Ali. 2014. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Jakarta. Rajawali Press.
- Handayani, T., 2008. Potensi Embriogenesis Beberapa Genotip Kedelai Toleran dan Peka Naungan, Bogor: IPB.
- Hanifah, N., 2007. *Pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan jarak pagar (Jatropha curcas* L.) *secara in vitro*, Surakarta: Fakultas Pertanian Surakarta.
- Harahap, R. A., 2005. Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (Centella asiatica L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida, Bogor: Sekolah Pascasarjana ITB.
- Harjadi, S., 2009. Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan Pada Tanaman. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hastuti, E. D., E. Prihastanti dan R. B. Hastuti. 2000. *Fisiologi Tumbuhan II*. Universitas Diponegoro.

- Hayati, S.K., Nurchayati, Yulita., dan Setiari, Nintya. 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara in vitro dengan Penambahan *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan α-Napthalene Acetid Acid (NAA). BIOMA. Vol. 12 No (1).
- Hendaryono dan Wijayanti. 1994. Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern. Yogyakarta: Kanisius.
- Hendaryono, D. P. dan Wijayani, A., 2004. Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif-Modern. Yogyakarta: Kanisius.
- Henuhili, V., 2005. Tanaman Transgenik dan Pemenuhan Kebutuhan Pangan. Seminar Nasional Pendidikan, Penelitian, dan Penerapan MIPA, pp. B.150-B.115.
- Herawan, T. 2012. Kultur Jaringan Cendana (Santalum album L.). Yogyakarta:

 Jurnal Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman

 Hutan.
- Herawan, toni, Mohammad Na'iem, Sapto Indrioko, Ari Indriant. 2015. Kultur Jaringan Cendana (Santalum album L.) Menggunakan Eksplan Mata Tunas. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*.Vol (9). No (3). Hal:177-188.
- Hermawan R. 1993. *Pedoman Teknis Budidaya Kayu Cendana (Santalum album Linn.)*. Bogor: Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Herwinaldo, D. C., 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan dan Induksi Embriogenesis Somatik Kultur Kalus Tapak Dara (Catharanthus roseus (I.)G.Don), Surakarta: FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Hidayat, E. B. 1995. Anatomi Tumbuhan Berbiji. Penerbit ITB. Bandung.
- Holmes S. 1983. Outline of Plant Classification. New York: Longman.

- Indah, Nur Putri dan Ermavitalini, Dini. 2013. Induksi Daun Nyamplung (Calophyllum inophyllum Linn.) Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Jurnal Sains dan Seni Pomits. 2 (1): 2337-3520.
- Indah, P. N., 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-*Benzylaminopurine* (BAP) dan 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1).
- Indria, W., 2016. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus dan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Rumput Gajah Varietas Hawah (Pennisetum purpureum cv. Hawaii) (In vitro), Bogor: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Irwanto. 2001. Pengaruh hormon IBA (*Indole Butyric Acid*) Terhadap Persen Jadi Pucuk Meranti Putih (*Shorea montigena*). *Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian*. Universitas Pattimura Ambon.
- Kamil, J. 1979. Teknologi Benih. Jakarta: Angkasa Raya.
- Kamil, Jurnal. 1987. Teknolog Benih. Padang: Aksara Raya. Hal: 66-76.
- Karjadi dan Buchory. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, Dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *Journal*. *Hort*. 18(1): 1-9.
- Katsir. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid* 6, Penerjemah; Abu Ihsan al-Atsari, M. Abdul Ghofar E.M. Bogor: Pustaka Imam asy-Syaf'i.
- Kementerian Kehutanan. 2011. *Masterplan Pengembangan Pelestarian Cendana Provinsi Nusa Tenggara Timur Tahun 2010/2030*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Kupang: Kupang.
- Kertabaya. 2014. Kayu Bertuah Nusantara. <u>kertabaya.blogspot.co.id</u> (diakses pada tanggal 20 Februari 2017).
- Kertasapoetra, Ance G. 2003. *Teknologi Benih*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.

- Keshtkar AR, Keshtkar HR, Razavi SM, Dalfardi S. 2008. Methods to break seed dormancy of *Astragalus cyclophyllon*. *African J. Biotechnol* 7 (21): 3874-3877.
- Kimball, John W.1994. Biologi Edisi Kelima; Jilid 1. Erlangga. Jakarta.
- Krinkorian, A., 1995. *Hormones In Tissue Culture and Micropropagation*. s.l.:Kluwer Academic Publisher.
- Lakitan, B. 2012. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Leovici, Helena, Dody Kastono, Eka Tarwaca Susila Putra. 2014. Pengaruh Macam dan Konsentrasi Bahan Organik Sumber Zat Pengatur Tumbuh Alami Terhadap Pertumbuhan Awal Tebu (*Saccharum officinarum L.*). *Jurnal Vegetalika*. Vol 3. No 1. Hal: 22-34.
- Lepa, Y. 2001. Etnobotani Cendana Dalam Kehidupan Masyarakat Suku Dawan di Propinsi Nusa Tenggara Timur. Tesis tidak diterbitkan. Bogor: Program PascaSarjana Institut Pertanian Bogor.
- Lestari, E. G., 2011. Peran Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agro Biogren*, 7(1), pp. 63-68.
- Lestari, P. P. 2008. Pertumbuhan Klorofil dan Karotenoid serta Aktivitas Nitrat Reduktase Rauvolfia verticillata Lour. pada Ketersediaan Air yang Berbeda. *Skripsi*. UNS. Surakarta.
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Tunas apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *ISSN*: 2302-6472. 1(2).
- Mahdi, A, 1986. The biology of *Santalum album* seed with special emphasis on its germination characteristics. *Biotrop Technical Buletin* 1 (1): 1-9. Rahayu, S., A.H. Wawo, M. van Noordwijk, dan K. Hairiah. 2002. *Cendana*.
- Maraghi, A.M. 1993. *Tafsir Maraghi*. Penerjemah: Abubakar, B., Aly H.N., Sitanggal, A.U. Semarang: Toha putra.

- Marfirani, Melisa,. Yuni Sri Rahayu dan Evie Ratnasari. 2014. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Filtrat Umbi Bawang Merah dan Rootone-F terhadap Pertumbuhan Stek Melati "Rato Ebu". *Jurnal Lentera Bio*. Vol. 3. No. 1. Hal: 73-76.
- Mariska dan Sukmadjaja, 2003. *Kultur Jaringan Abaka Melalui Kultur Jaringan*.

 Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Mariska, I.,Y. Supriati dan S. Hutami. 2004. Mikropropagasi Sukun (*Artocarpus communis* Forst), Tanaman Sumber Karbohidrat Alternatif. Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, halaman 180-188. *Badan Penelilitian dan Pengembangan Pertanian*. Bogor.
- Marlin, Yulian dan Hermansyah. 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang Curup Dengan Penambahan Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivor*. 11 (2): 275-283.
- Marlina, N., 2004. Teknik modifikasi Media Murashige dan Skoog (MS) untuk Konservasi in vitro Mawar. *Bull. Teknik Pertanian*, 9(1), pp. 4-6.
- Masyhud. 2009. Dunia Kekurangan Minyak Cendana 80 Ton Per Tahun. Siaran Pers Nomor S.48/PIK-1/2009. Kementerian Kehutanan Republik Indonesia.
- Mayer, A.M dan A. Poljakoff-Mayber. 1975. *The Germination of Seeds*. Second Edition. Volume 5. Pergamon Press Ltd, USA.
- Nazza, Y., 2013. Induksi Kalus Pegagan (Centella asiatica) pada Media MS dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasi dengan Air Kelapa, MALANG: UIN MALIKI MALANG.
- Nita. 2014. Biotechnology UAJY. <u>blogs.uajy.ac.id</u> (diakses pada tanggal 20 Februari 2017).
- Nugrahani, P. 2011. Dasar Bioteknologi Tanaman Teknik Propagasi Secara In Vitro. Surabaya: Universitas Pembangunan Nasional "Veteran".

- Nugroho, Wicaksono Dwi. 2006. "Model Pengelolaan Kawasan Wisata Budaya Terunyan Kajian Melalui Perspektif *Culture Resource Management*". *Tesis*. Yogyakarta Fakultas Ilmu Budaya Universitas Gadjah Mada.
- Nursetiadi, E. 2008. Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP Terhadap Multifikasi Tanaman Manggis (Garcinia mangostana L.) Secara In vitro. Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Hal 11-12.
- Nurzaman, Z. 2005. Pengaruh Zat Pengatut Tumbuh NAA dan IBA Terhadap Pertmbuhan Stek Mini Pule Pandak (*Rauwolfia serpentine* Benth.) Hasil Kultur *in Vitro* pada Meda Arang Sekam dan Zeolit. *Skrpsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Oyebanji O.B. O.Nweke. O Odebunmi. N.B Galadima. M.S Idris. U.N Nnodi. A.S Afolabi and G.H Ogbadu, (2009). Simple, effective and economical explants- surface sterilization protocol for cowpea, rice and sorghum seeds. *African Journal of Biotechnology* 8(20): 5395-5399.
- Palestine, A.S. 2008, Induksi Akar pada Biakan Tanaman Pule Pandak (*Rauvolfia serpentine* L.) Secara Kultur Jaringan. *Skripsi*. Jurusan Budidaya Pertanian fakultas Pertanan. Malang.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Hinger Plant*. Netherlands: Martinus Nijhoft Publisher.
- Primawati, E. 2006. Perbanyakan Cendana (*Santalum album* Linn.) secara Kultur *In Vitro* dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin (BAP dan Kinetin). *Skripsi* Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Purwantono, P. A. & Mardin, S., 2007. Modifikasi Media MS dan Perlakuan Penambahan Air Kelapa Untuk Menumbuhkan Eksplan Tanaman Kentang. *Jurnal Penelitian dan Informasi Pertanian "Agrin"*, 11(1), pp. 36-42.
- Radji, M., 2005. Peran MIkrobiologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), pp. 113-126.

- Rahayu S, Wawo AH, van Noordwijk M, Hairiah K. 2002. *Cendana Deregulasi dan Strategi Pengembangannya*. Bogor: World Agroforestry Centre (ICRAF). Rajawali Pers. Jakarta.
- Rahayu, B., Solibchatun., dan Anggarwulan, Endang. 2003. Pengaruh Asam 2,4-*Diklorofenoksiasetat* (2,4-D) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan
 Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1 (1): 1-6.
- Rahayu, E. S., 2014. Konservasi Plasma Nutfah Tumbuhan Secara In vitro: Potensi dan Kontribusinya dalam Mewujudkan Unnes Sebagai Universitas Konservasi. *Proceeding Seminar Nasional Konservasi dan Kualitas Pendidikan*, pp. 113-123.
- Rahayu, tintrim. 2016. Pengaruh Penambahan Hormon IBA terhadap PEmbentukan Akar Stek Pucuk Zaitun (Olea europaea L.) dengan Teknik Micro-Cutting. Prosiding Seminar Nasyonal from Basic Science to Comprehensive Education.
- Riyadi & Tirtoboma, 2004. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah*, 10(2).
- Ruswaningsih, F. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pusuk* Artemisia annua *L. pada Kultur in vitro*. Surakarta: Fakultas Pertanian UNS.
- Sadjad S. 1975. Dasar-Dasar Teknologi Benih. Bogor: IPB.
- Salim. 2010. Pertumbuhan Bibit Manggis Asal Seedling (*Garcinia mangostana* L.) pada Berbagai Konsentrasi IBA. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*. Vol. 12 No. 2.
- Salisbury dan Ross. 1995. Fisiologi Tumbuha Jilid 3. Bandung: ITB Bandung.
- Santoso, U dan Nursandi, F, 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Setyowati, N dan Utami, N. W. 2008. Pengaruh Tingkat Ketuaan Buah, Perlakuan Perendaman dengan Air dan Larutan GA3 terhadap Perkecambahan Brucea javanica (L.) Merr. *Jurnal Biodiversitas* (9)1: 13-16.

- Sinaga, M. dan Buharman. 1996. Teknologi Budidaya Cendana (Santalum album Linn) Dan Kajian Kelembagaan. Sylva Tropika No. 04, Oktober 1996. http://www2.bonet.co.id/dephut/st1096.htm-16k (Diakses 8 februari 2017).
- Sindhu, R. 2010. Santalum Album Linn: A Review On Morphology, Phytochemistry And Pharmacological Aspects. *International Journal of PharmTech Research*. 2 (1): 914-919.
- Singh, G. 1999. *Plant Systematic*. Science publishers, Inc. New Hampshire. 1-7: 165-210.
- Siregar, C., 2006. Pengaruh 2,4-D untuk inisiasi kalus jaringan nucellus *Mangifera odorata* Griff. Melalui budidaya jaringan. *J.Floratek*, 2(-), pp. 69-77.
- Sitinjak, R. R., Rostiana, O., K. & Supriyatun, T., 2006. Pengaruh 2,4-D Dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rose.). *Berita Biologi*, 8(2), pp. 105-120.
- Sitompul, S. M. dan Guritno, B. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Sitorus, E.N. 2007. Induksi Kalus Bianhong (*Basella rubra*) pada Medium MS (*Murashige & Skoog*) dengan Kombinasi ZPT IBA dan BAP. *Laporan Kerja Praktek*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNDIP. Semarang.
- Sunanto, H. 1995. Budidaya Cendana. Kanisus. Yogyakarta.
- Supriyati, Y., IMariska, I., Husni, A. & Hutami, S. 2004. Inisiasi dan Perkembangan perkaran serta aklimatisasi belimbing dewi (*Averrhoa carambola* L). Kumpulan Makalah Seminar Hasil Penelitian BB-Biogen. BB-Biogen. Bogor. 189-193.
- Surachman, D. 2011. Teknik Pemanfaatan Air Kelapa untuk Perbanyakan Nilam Secara *In vitro*. *Buletin Teknik Pertanian* 16 (1): 31-33.

- Surata, I. K. 2006. *Teknik Budidaya Cendana*. Tidak Diterbitkan. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bali dan Nusa Tenggara.
- Surata, I.K. dan M.M. Idris. 2001. Status Penelitian Cendana di Propinsi Nusa Tenggara Timur. *Berita Biologi Edisi Khusus Vol 5.No.5*. Pusat Penelitian Biologi LIPI.
- Surbarnas, A., 2011. *Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung: CV. Lubuk Agung.
- Suseno, H. 1974. Fisiologi dan Biokimia Kemunduran Benih. Kursus Singkat Pengujian Benih. Bogor: IPB.
- Sutini, 2008. Meningkatkan Produksi Flavon-3-ol Melalui Kalus *Camellia* sinensis L. dengan Elisitor Cu 2+. Berkas Penelitian Hayati: 14.
- Sutopo, I. 2004. Teknologi Benih. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Syanqithi, S. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Penerjemah: Fakhurrazi. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Ulfa, M. B. 2011. Penggunaan 2,4-D untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng*. Vol: IV(2): 137-147.
- Wahyuni, S.R., Lestari, W dan Novriyanti, E. 2014. Induksi *In Vitro* Tanaman Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) dari Eksplan Tunas Aksilar Dengan Penambahan 6-Benzylaminopurine (Bap). *Jomfmipa*. 1(2).
- Wardani, Dian P, Sholichatun & Ahmad, D. S., 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-D dan Kinetin. *Biofarmasi*, 2(1), pp. 35-43.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bogor: Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.
- Wattimena, G.A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU Bioteknologi Tanaman. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Bogor.
- Wetter, L. d. F. C., 1991. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Bandung: ITB.

- Widiastoety, D. dan Soebijanto. 1988. Perakaran Setek Tanaman Kembang Sepatu. *Buletin Penelitian Hortikulture* 16: 73-83.
- Wijayani, Yuanita dan Mudyantini, W. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm Like Body* Anggrek *Grammatophyllumscriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*. 4 (2): 33-40. ISSN: 0216-6887.
- Wilkins. 1989. *Peranan Zat Pengatur Tumbuh*.(Online),http://akmala-akmal.blogspot.com/2009/08/peranan-zat-pengatur-tumbuh-zp-dalam.html. Diakses 3 Desemer 2017.
- Winata, L. 1998. Budidaya Anggrek. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Winata, L., 1987. Teknik Kultur Jaringan. Bogor: PAU Bogor.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jarinngan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Yuwono, T., 2008. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Pemberian 2,4-D. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(1).
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya. Bumi Aksara, Jakarta.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas dan Koefisien Keragaman

1. Hari Muncul Kecambah

(a) Uji normalitas

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
HASIL	75	12.1200	2.57829	7.00	19.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
1 7 6	Hasil			
	75			
Mean	12.1200			
Std. Deviation	2.57829			
Absolute	.140			
Positive	.140			
Negative	121			
	1.209			
-NAT	.107			
	Mean Std. Deviation Absolute Positive			

(b) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances						
Hasil						
Levene Statistic	df1	df2	Sig.			
.958	14	60	.506			

(c) Analisis Koefisien Keragaman

$$KK = \frac{\sqrt{KT \ galat}}{\text{y rata} - \text{rata}} X \ 100\%$$

$$KK = \frac{\sqrt{0.273333}}{181.8} X \ 100\%$$

$$KK = \frac{0.522812586}{181.8} X \ 100\%$$

KK = 0.28757568

2. Tinggi Batang

(a) Uji normalitas

- 7	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
HASIL	75	8.6885	1.92646	2.40	11.60

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
	a/9/	Hasil		
N		75		
Normal Parameters ^a	Mean	8.6885		
	Std. Deviation	1.92646		
Most Extreme Differences	Absolute	.294		
	Positive	.169		
	Negative	294		
Kolmogorov-Smirnov Z		2.544		
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000		
a. Test distribution is Normal.				

(a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances							
Hasil							
Levene Statistic	df1	df2	Sig.				
5.201							

(b) Kruskal Wallis Test

Test Statistics ^{a,b}				
FRIA 61 1777	HASIL			
Chi-Square	73.044			
Df	14			
Asymp. Sig.	.000			
a. Kruskal Wallis Test	//			
b. Grouping Variable: KELOMPOK	> //			

3. Panjang Akar

(a) Uji Normalitas

(a) ordiv espagaenery	le u u						
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test							
		Hasil Panjang Akar (IBA)	Hasil Panjang Akar (BAP)	HASIL PANJANG AKAR (GA3)			
N		30	30	25			
	Mean	3.6477	2.4213	2.4852			

Normal Parameters	Std. Deviation	1.31822	.35435	.44432
Most Extreme	Absolute	.190	.221	.224
Differences	Positive	.155	.136	.086
	Negative	190	221	224
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	1.211	1.120
Asymp. Sig. (2-tailed)		.231	.106	.163
a. Test distribution is Nor	mal.	, C	IQ1	

(b). Uji Homogenitas

Test	of Homogen	eity of	Varia	nces	1
Hasil	91		'a1\		Z.
Levene Statistic	df1	df2		Sig.	1
1.173	14		60	7 P	.319

(c.).Uji Koefesien Keragaman

$$KK = \frac{\sqrt{KT \ galat}}{y \ rata - rata} X \ 100\%$$

$$KK = \frac{\sqrt{0.51804}}{45.44} X \ 100\%$$

$$KK = \frac{0.22760492}{45.44}X\ 100\%$$

$$KK = 0.500891109$$

3. Jumlah daun

(a) Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test							
	Hasil						
N	72 10	75					
Normal Parameters ^a	Mean	3.2680					
	Std. Deviation	1.33570					
Most Extreme	Absolute	.335					
Differences	Positive	.239					
	Negative	335					
Kolmogorov-Smirnov Z		2.900					
Asymp. Sig. (2-tailed)	76	.000					
a. Test distribution is N	ormal.						

(b) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances						
Hasil						
Levene Statistic	df1	df2	Sig.			
7.299	14	60	.000			

(c) Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics ^{a,b}					
	HASIL				
Chi-Square	48.541				

Df	14
Asymp. Sig.	.000
a. Kruskal Wallis Test	7/8/1
b. Grouping Variable: KELOMPOK	al F

LAMPIRAN 2. Data Hasil Pengamatana

1. Data hari muncul kalus (HMK)

	lari munc	ui itu	145 (.		/				
Eksplan	ZPT			Ulaı	ngan	Jumlah	Rata-rata		
Daun	2,4-D	1	2	3	1	5	6		(Homi)
	(/T)	1	2	3	4	3	6		(Hari)
	(mg/L)			16		31		1	
11	0	45	45	46	46	45	47	274	45,66667
	1	19	19	20	19	20	19	116	19,33333
Hipokotil	2	18	19	18	18	19	18	110	18,33333
	3	18	17	18	18	18	17	106	17,66667
	0	45	45	46	46	45	47	274	45,66667
Daun Muda	1	22	22	21	21	21	22	129	21,5
Muda	2	21	20	20	20	21	19	121	20,16667
	3	20	20	19	20	20	19	118	19,66667
						T	otal	1248	208

2. Data persentase pertumbuhan kalus (%)

Ekaplan	ZPT			Ula	ngan	Jumlah	Rata-rata		
Daun	2,4-D (mg/L)	1	2	co.	4	5	6		(%)
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipokotil	1	60	75	100	70	80	80	465	77,5

2	100	100	100	100	100	100	600	100
3	80	80	100	50	30	30	370	61,66667
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	100	80	100	80	100	100	560	93,33333
2	100	95	511	100	100	100	495	99
3	100	100	60	30	30	30	350	58,33333
			7			Total	2840	489,8333
	3 0 1 2	3 80 0 0 1 100 2 100	3 80 80 0 0 0 1 100 80 2 100 95	3 80 80 100 0 0 0 0 1 100 80 100 2 100 95	3 80 80 100 50 0 0 0 0 0 1 100 80 100 80 2 100 95 100	3 80 80 100 50 30 0 0 0 0 0 0 1 100 80 100 80 100 2 100 95 100 100	3 80 80 100 50 30 30 0 0 0 0 0 0 0 0 1 100 80 100 80 100 100 2 100 95 100 100 100 3 100 100 60 30 30 30	3 80 80 100 50 30 30 370 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 100 80 100 80 100 100 560 2 100 95 100 100 100 495 3 100 100 60 30 30 30 350

3. Berat Basah Kalus (BBK) (gr)

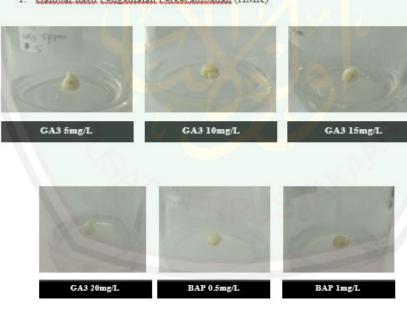
Ekaplan	ZPT	Wangan						Jumlah.	Rata-rata
Daun	2,4-D	1	2	3	4	5	6		(gr)
	(mg/L)								
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hinekatil	1	0,1855	0,1138	0,0778	0,0625	0,0445	0,056	0,5401	0,090017
	2	0,0786	0,0586	0,0511	0,0585	0,103	0,047	0,3968	0,066133
	3	0,127	0,094	0,0834	0,0687	0,038	0,035	0,4461	0,07435
Daun	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muda	1	0,1901	0,124	0,1048	0,0852	0,1513	0,0805	0,7359	0,12265
	2	0,2197	0,1989	0,171	0,1337	0,1724	0,189	1,0847	0,180783
	3	0,1349	0,1057	0,1347	0,078	0,078	0,0781	0,6094	0,101567
	1						Total	3,813	0,6355

4. Hasil uji normalitas dan homogenitas

(a) Uii Normalitas

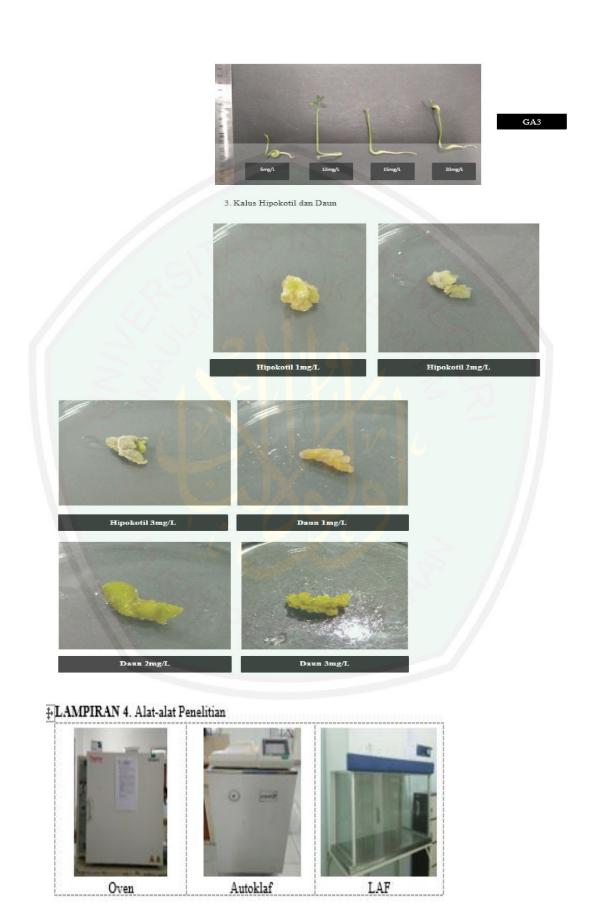
		berat basab. kalus	persen	HMK
N		48	48	48
Normal <u>Parameters</u>	Mean	.086381	57.9167	23.7917
	Std. Deviation	.1226733	4.11514E1	1.32809E1
Most Extreme	Absolute	.241	.201	.304
Differences	Positive	.200	.170	.304
	Negative	241	201	195
Kolmogorov-Smirnov Z	DJ.	1.667	1.392	2.104
Asymp. Sig. (2-tailed)	7	.008	.041	.000

LAMPIRAN 3. Gambar Hasil Pengamatan 1. Gambar hasil Pengamatan Perkecambahan (HMK)











ZPT 2,4-D

Eksplan kecambah



LAMPIRAN 6. Perhitungan Larutan Stok

a. Larutan stok 2,4-D 100 mg/l dalam 100 ml

Larutan stok 2,4-D 100 mg/l =
$$\frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

LAMPIRAN 7. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

- 1. Perlakuan Pemberian 2,4-D
 - a. Konsentrasi 1 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l x V1} = 1 \text{ mg/l x 60 ml}$$

$$V1 = \frac{1 \, mg/l \, x \, 60 \, m}{100 \, mg/l}$$

$$V1 = 0.6ml$$

b. Konsentrasi 2 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l x V1} = 2 \text{ mg/l x 60 ml}$$

$$V1 = \frac{2 \, mg/l \, x \, 60 \, ml}{100 \, mg/l}$$

$$V1 = 1,2 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 3 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

100 mg/l x V1 = 3 mg/l x 60 ml

$$V1 = \frac{3 mg/l \times 60 ml}{100 mg/l}$$

$$V1 = 1.8 \text{ ml}$$