

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Akasia (*Acacia mangium*)

Surat dalam Al-Qur'an mengiratkan bahwa telah terdapat bermacam tumbuhan yang memiliki kelebihan dan manfaat (tumbuhan yang baik), yaitu pada surat Asy Syu'araa' / 26 : 7 yang berbunyi:

كِرِيمٍ زَوْجٍ كُلِّ مِّنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَمَا الْأَرْضِ إِلَى يَرَوْا أَوْلَمَ ﴿٧﴾

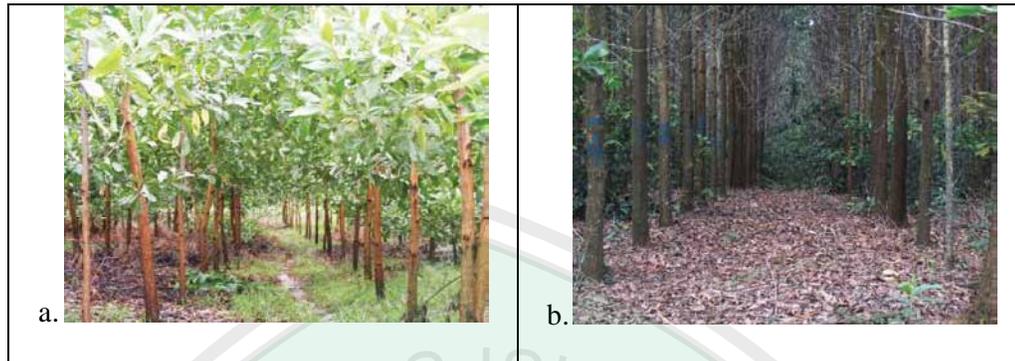
Artinya: danApakahmerekatidakmemperhatikanbumi, berapakahbanyaknya Kami tumbuhkan di bumiituberbagaimacamtumbuh-tumbuhan yang baik? (QS. AsySyu'araa' / 26 : 7).

Ayat tersebut dijelaskan dalam Tafsir Al-Mishbah oleh Shihab (2003) bahwa ayat ini membuktikan melalui uraiannya, keniscayaan Keesaan Allah SWT. Aneka tumbuhan yang terhampar di persada bumi sedemikian banyak dan bermanfaat, berbeda-beda jenis rasa, warna dan keadaannya konsisten. Itu semua tidak tercipta dengan sendirinya, pasti ada penciptanya Yang Maha Esa lagi Maha Kuasa . Salah satu tumbuhan tersebut adalah *Acacia mangium*. Tanaman ini menurut Syafii dan Iskandar (2006) mengandung lebih dari 45% selulosa. Kandungan selulosa yang tinggi berarti kandungan *pulp* saat proses *pulping* juga besar, sehingga baik untuk pembuatan *pulp*.

Acacia mangium Willd. termasuk kedalam Subfamili Mimosoideae. Famili Leguminosae (National Academy of Science, 1979) dalam (Wiekanda, 2001). Menurut Lawrence (1959) dalam Wiekanda (2001) taksonomi jenis ini secara lengkap adalah sebagai berikut:

Division : Embryophyta
Sub Division : Angiospermae
Class : Rosales
Sub Class : Dicotyledonae
Famili : Leguminosae
Sub Famili : Mimosoideae
Genus : Acacia
Spesies : *Acacia mangium* Willd.

Acacia mangium Willd., yang juga dikenal dengan nama mangium, merupakan salah satu jenis pohon cepat tumbuh yang paling umum digunakan dalam program pembangunan hutan tanaman di Asia dan Pasifik. Keunggulan dari jenis ini adalah pertumbuhan pohonnya yang cepat, kualitas kayunya yang baik, dan kemampuan toleransinya terhadap berbagai jenis tanah dan lingkungan (National Research Council, 1983) dalam (Krisnawati, 2011).



Gambar 2.1: (a) *Acacia mangium* berusia 2 tahun, (b) *A. mangium* berusia 3 tahun (Krisnawati, 2011). Pertumbuhan *A. mangium* terbilang cepat.

Jenis mangium mulai berbunga dan menghasilkan biji sekitar 18–20 bulan setelah tanam (National Research Council, 1983) dalam (Krisnawati, 2011). Musim berbunga dan berbuah bervariasi tergantung lokasi geografis. Sebagai contoh, di Australia puncak musim bunga terjadi pada bulan Maret dan Mei dengan musim buah jatuh pada akhir September–Desember (Sedgley, 1992) dalam (Krisnawati, 2011). Di Indonesia, buah masak terjadi lebih awal yaitu sekitar bulan Juli, dan di Papua Nugini buah masak terjadi pada bulan September (Turnbull, 1986) dalam (Krisnawati, 2011). Secara umum, buah akan masak 5–7 bulan setelah periode pembungaan (Krisnawati, 2011).

Ukuran dan berat biji *A. mangium* yang berasal dari Australia memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan biji dari Papua New Guinea (PNG). Biji *A. mangium* Australia memiliki panjang 2,8–2,6 mm; lebar 2,0–2,6 mm; dan berat 1000 butir 5,3–12,2 gr. Sedangkan biji *A. mangium* PNG memiliki panjang 3,6–6,5 mm; lebar 2,3–2,9 mm dan berat 1000 butir 8,0–15,8 gr (Wiekanda, 2001).

Akasia merupakan jenis yang mudah sekali tumbuh dan pertumbuhannya sangat cepat. Di Jawa pohon akasia ini berbunga sepanjang tahun. Pada bulan-

bulan Juli sampai November biasanya menghasilkan bunga lebih banyak. Perbanyakan dapat dilakukan dengan bijinya atau dengan setek. Bijinya perlu disemaikan lebih dulu. Setelah mencapai tinggi tertentu, semai tersebut dapat dipindah. Biji yang tua dapat disimpan untuk waktu yang cukup lama, asal saja tempatnya kering dan penyimpanannya baik (LIPI, 1980).

Produksi benih bervariasi menurut sumber benih. Produksi benih *Acacia mangium* umur 5 tahun di Subanjeriji Sumatera Selatan adalah 0,05 kg/pohon dengan ratio polong dan benih 70:1 (Komar dan Riskendarsyah, 1987) dalam (Wiekanda, 2001). Produksi benih pada pohon umur 14 tahun di Sabah Malaysia dapat mencapai 0,4 kg/pohon/tahun (National Academy of Science, 1979) dalam (Wiekanda, 2001).

Secara alami *Acacia mangium* Willd ditemukan di Australia yaitu sepanjang Pantai Queensland antara 11°LS-18°LS dan menyebar mulai dari pantai sampai ketinggian 720 m dari atas permukaan laut (Nicholson, 1980) dalam (Wiekanda, 2001). Selain itu jenis ini tumbuh secara alami di Papua New Guinea, Maluku dan Irian Jaya. Populasinya menyebar antara 0°5' Lintang Selatan di Irian Jaya sampai sekitar 19° Lintang Selatan di Queensland (National Research Council, 1983) dalam (Wiekanda, 2001).

Menurut Sindusuwarno dan Utomo (1979) dalam Wiekanda (2001), *Acacia mangium* Willd tidak membutuhkan persyaratan tumbuh yang tinggi dan mampu tumbuh pada lahan yang miskin hara dan tidak subur. Hal ini dijelaskan pula oleh Retnowati (1988) dalam Wiekanda (2001) bahkan *Acacia mangium* mampu tumbuh pada tanah podsolik, padang alang-alang, bekas penebangan,

tanah tererosi, tanah miskin mineral, berbatu-batu dan pada tanah aluvial serta mudah beradaptasi.

2.2 Kultur Kalus dan Kalus Embriogenik Tanaman

Pemenuhan benih *Acacia*

mangium dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan tumbuhan.

Kultur jaringan dalam Al-Qur'an juga tersirat pada surat Al-An'am / 6 : 95 yang berbunyi:

بِإِذْنِ اللَّهِ ذَلِكُمُ الْحَيُّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ تُخْرِجُهُم مِّنَ النَّوَى الْحَبِّ فَالِقُ الْإِنِّ ﴿٩٥﴾
تُؤَفِّكُونَ فَأَ ﴿٩٥﴾

Artinya: Sesungguhnya Allah menumbuhkan butiran tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Diambil mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (yang memiliki sifat-sifat) demikianialah Allah, Maka mengapa kamu masih berpaling? (QS. Al-An'am / 6 : 95).

Ayat di atas menurut Al-Maragi (1992), kandungan ayat di atas menjelaskan bahwa "Allah menumbuhkan apa yang kita tanam, berupa benih tanaman yang dituai, dan biji buah, serta membelah dengan kekuasaan dan perhitungannya, dengan menghubungkan sebab musabab, seperti menjadikan benih biji dalam tanah, serta menyirami tanah dengan air".

Kata يخرج yang berarti mengeluarkan memiliki makna tersendiri bagi tumbuhan. Jika diperhatikan proses perkembangan tumbuhan secara garis besar maka mengeluarkan memiliki arti bahwasannya Allah menumbuhkan tumbuhan-tumbuhan tersebut di atas tanah baik dimulai dari benih, biji ataupun tunas sehingga menjadi tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya. Dimana

dalam AgroMedia (2007) juga dijelaskan bahwa teknik kultur jaringan dilakukan dengan cara menumbuhkan bagian generatif atau vegetatif pohon induk. Bagian generatif yang digunakan bisa berupa ovule, embrio, atau biji. Sementara itu, bagian vegetatifnya bisa berupa akar, daun, batang, atau mata tunas. Penumbuhan bagian-bagian tersebut dilakukan di media buatan cair dan padat.

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (zat pengatur tumbuh), serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2004).

Menurut Biondi dan Thorpe (1982) dalam Karjadi dan Buchory(2008), terdapat 3 prinsip utama yang terlibat dalam kultur jaringan dan mendasari terminologi kultur jaringan tersebut. Prinsip-prinsip tersebut adalah (1) isolasi bagian tanaman dari tanaman utuh seperti organ, jaringan, atau sel, (2) memelihara bagian tanaman tersebut dalam lingkungan yang sesuai dan dalam kondisi yang tepat, dan (3) pemeliharaan dalam kondisi aseptik.

Disamping itu kultur jaringan memiliki keuntungan dibandingkan teknik konvensional. Menurut Hendaryono (2007), kultur jaringan memiliki keuntungan yaitu, dapat mengatasi biji yang heterogen. Yakni tidak semua biji mempunyai *viabilitas* (daya hidup) yang baik. Dengan membudidayakannya dalam botol, pengaruh lingkungan yang kurang menguntungkan terhadap biji bisa diminimalkan. Disamping itu di dalam media agar, seluruh biji yang ditanam

dapat memanfaatkan unsur hara yang tersebar merata di media agar. Berbeda dengan tanah, seringkali distribusi unsur haranya tidak merata.

Kultur jaringan tanaman terdiri dari sejumlah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan dan sel tanaman. Jaringan dapat dikultur pada agar padat atau dalam medium hara cair. Jika ditanam dalam agar, jaringan akan membentuk kalus, yaitu massa atau sel-sel yang tak tertara. Kultur agar juga merupakan teknik untuk meristem dan juga untuk mempelajari organogenesis (Wetter dan F Constabel, 1991).

Kultur kalus terbentuk melalui tiga tahapan, yaitu induksi, pembelahan sel 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 ber dinding tipis dan mengandung lignin. Untuk memelihara kalus, maka perlu dilakukan subkultur secara berkala, misalnya setiap 30 hari (Yuwono, 2008).

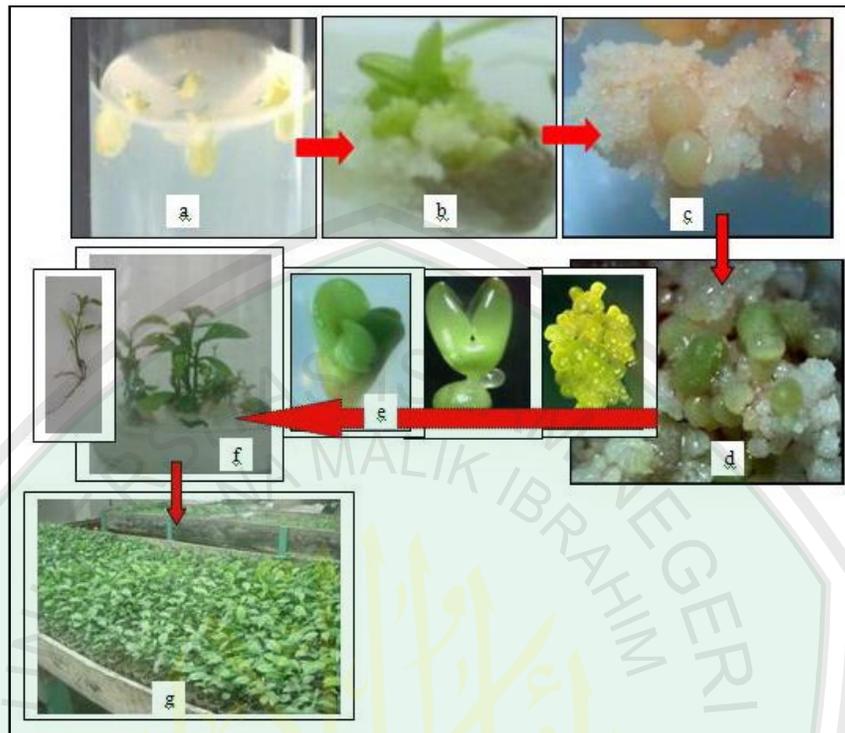
Harjoko (1999) dalam Rahayuet *al*(2003) mengemukakan bahwa dengan berlanjutnya pertumbuhan kalus maka akan diikuti dengan perubahan warna kalus. Kalus muda berwarna putih, kemudian warnanya akan berubah menjadi hijau dengan bertambahnya umur. Perbedaan warna kalus ini disebabkan adanya perubahan pigmentasi.

Kultur kalus bermanfaat untuk mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan diferensiasinya, misalnya (1) mempelajari aspek nutrisi tanaman, (2) diferensiasi dan morfogenesis sel dan organ tanaman, (3)

variasi somaklonal, (4) transformasi genetik menggunakan teknik biolistik, (5) produksi metabolit sekunder dan regulasinya (Yuwono, 2008).

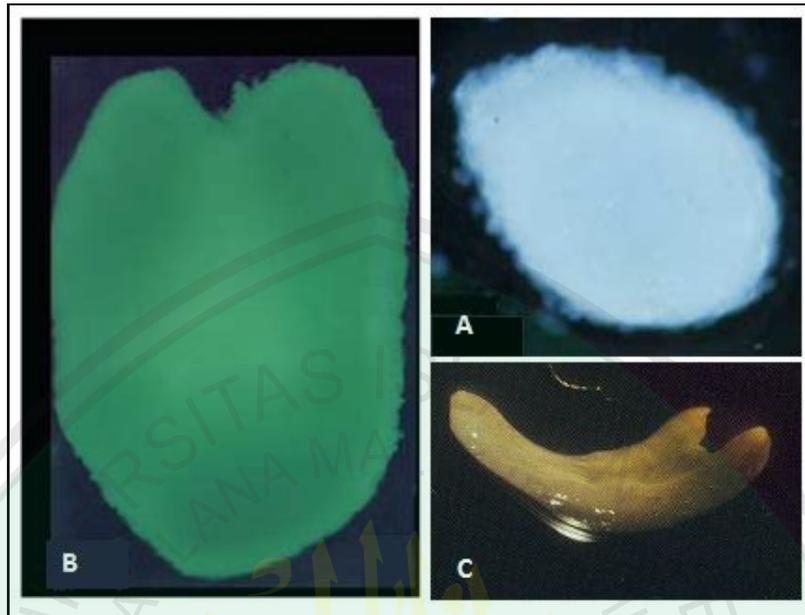
Kultur embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari sel somatik melalui proses perkembangan non-seksual (Stasolla *et al.*, 2002) dalam (Sitinjaket *et al.*, 2006). Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan melalui embriogenesis somatik dapat berhasil apabila diperoleh persentase kalus remah (kalus embriogenik) yang cukup tinggi dari eksplan yang dikulturkan ke dalam medium tertentu (Sitinjaket *et al.*, 2006).

Proses embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung membentuk proembrio atau embrioid pada potongan eksplan yang disebut sebagai embriogenesis langsung atau melalui pembentuk kalus lebih dahulu yang disebut sebagai embriogenesis tidak langsung (Suryowinoto, 1990) dalam (Riyadi dan Tirtoboma, 2004). Embriogenesis langsung memerlukan waktu lebih singkat untuk menghasilkan planlet dan kemungkinan terjadinya penyimpangan akibat keragaman somaklonal lebih kecil dibandingkan dengan embriogenesis tidak langsung (Dublin, 1981) dalam (Riyadi dan Tirtoboma, 2004).



Gambar 2.2: Tahapan kultur jaringan melalui pembentukan kalus embriogenik tersaji pada gambar 2.2. (a) eksplan jaringan. (b) kalus dan embrio yang tumbuh dari sebuah jaringan jeruk. (c,d) kalus embriogenik yang berkembang menjadi (e) embrio. (f) planlet yang berkembang dari embrio. (g) aklimatisasi (Devy dan Farida, 2008).

Terdapat tiga bentuk embrio somatik yang tumbuh dan berkembang, yaitu *globular*, *early heart*, dan *middle heart*. Penggolongan bentuk embrio ini berdasarkan ciri morfologi perkembangan embrio dari hasil penelitian Raghavan (1976) dalam (Riyadi dan Tirtoboma, 2004). Ditambahkan Zulkarnain (2009), sama seperti pada tahapan embrio zigotik, tahapan bentuk embrio somatik adalah oktan, globular, awal hati, hati, torpedo, dan embrio dewasa.



Gambar 2.3: Bentuk-bentukan kalus embriogenik. A) bentuk globular; B) bentuk hati (Mohamed *et al*, 2004); C) bentuk torpedo (Tabei *et al*, 1995).

Keberhasilan regenerasi melalui embriogenesis somatik dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain formulasi media yang berbeda pada setiap tahap perkembangan embrio somatik serta jenis eksplan yang digunakan. Pada tahap pembentukan struktur globular dan hati sering digunakan zat pengatur tumbuh sitokinin seperti benzyladenin (BA) atau yang mempunyai peran fisiologis yang sama yaitu thidiazuron (Husni *et al*, 1997) dalam (Sukmadjaja, 2005) atau 2,4-D, dan NAA apabila embrio somatik melalui fase kalus (Hutami *et al*, 2002) dalam (Sukmadjaja, 2005). Untuk tahap pendewasaan, konsentrasi sitokinin diturunkan dan untuk tahap perkecambahan sering ditambahkan GA3 (Mariska *et al*, 2001) dalam (Sukmadjaja, 2005). Sebagai eksplan umumnya digunakan jaringan atau organ yang bersifat embriogenik seperti embrio zigotik, kotiledon, mata tunas, dan hipo/epikotil (Sukmadjaja, 2005).

2.3 Media MS (Murashige and Skoog)

Media MS (Murashige dan Skoog 1962), pertama kali digunakan oleh Skoog dalam penumbuhan kultur tembakau. Kemudian oleh Murashige disempurnakan dengan cara mengatur komposisi garam anorganiknya. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3 dan 29 mM dalam bentuk NH_4^+ . Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media-media lainnya. Walaupun unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, namun komposisinya mampu mendukung kultur jaringan tanaman lain (George dan Sherington, 1993) dalam (Karjadi dan Buchory, 2008).

Menurut Wetter dan F Constabel (1991), medium yang dikembangkan oleh Murashige dan Skoog (MS) untuk kultur jaringan tembakau digunakan secara luas untuk kultivasi kalus pada agar demikian juga kultur suspensi sel dalam medium cair. Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium dan amoniumnya yang tinggi. Juga telah dilakukan kultur oleh Sumarna (2005) menggunakan media MS. Sumarna menggunakan media standar berasal dari MS (Murashige & Skoog) untuk mengkultur tanaman jati.

Media kultur jaringan ini terdiri dari unsur makro, mikro, dan karbohidrat yang pada umumnya berupa sukrosa atau gula. Hasil kultur jaringan akan lebih baik apabila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin asam amino dan ZPT (Gamborg *et al*, 1968) dalam (Karjadi dan Buchory, 2007). Menurut Westcott *et al* (1977) dalam Karjadi dan Buchory (2007) cara perbanyakan kultur jaringan yang demikian dapat meningkatkan produksi benih baik kualitas maupun kuantitasnya.

2.4 Zat Pengatur Tumbuh BAP

Sitokinin merupakan ZPT yang penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Salah satu jenis sitokinin sintetik adalah BAP (benzil adenin atau benzil aminopurin) (Karjadi dan Buchory, 2008). Selain itu Dixon dalam Rahayuet *al* (2003) mengemukakan bahwa media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) merupakan golongan sitokinin sintetik yang paling sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara kultur *in vitro*. Hal ini karena BAP mempunyai efektifitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah didapat dan relatif lebih murah dibandingkan dengan kinetin (Krikorian, 1995) dalam (Kurnianingsih *et al*, 2009)

ZPT golongan sitokinin seperti BAP dapat berfungsi untuk pembelahan sel dan pembentukan tunas (Suhartati dan Nursyamsi, 2007). Peningkatan pemberian taraf konsentrasi sitokinin (BAP) ke dalam media kultur akan mempercepat pertumbuhan tunas. Pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat (Marlin, 2005). Gardner *et al* (1991) dalam Kurnianingsih (2009) menambahkan, senyawa nitrogen yang terkandung dalam sitokinin berperan untuk proses sintesis asam-asam amino dan protein secara optimal yang selanjutnya digunakan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Menurut Utami (1998) dalam Kurnianingsih *et al* (2009) sitokinin dalam hal ini BAP berperan memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat mendorong terjadinya pembelahan sel. Selain itu,

BAP juga dapat memacu jaringan untuk menyerap air dari sekitarnya sehingga proses sintesis protein dan pembelahan sel dapat berjalan dengan baik. Chaerudinet *al* (1996) dalam Kurnianingsihet *al* (2009) menambahkan, BAP merupakan suatu zat pengatur tumbuh sintetis yang tidak mudah dirombak oleh sintesis enzim dari tanaman sehingga dapat memacu induksi dan multiplikasi tunas.

Sitokinin disamping merangsang pembelahan sel, juga dapat menghambat pemanjangan sel oleh auksin (Dustan dan Short, 1977) dalam (Karjadi dan Buchory, 2007). Adanya penambahan sitokinin (BAP) ke dalam medium dapat menghambat pemanjangan dan perkembangan akar (Marlin, 2005). Halperin (1978) dalam Marlin (2005) juga menyatakan bahwa adanya suplai sitokinin dalam media tanam menyebabkan akar tidak berkembang. Hal tersebut diperkuat oleh Moncalean *et al* (2001) dalam Azwinet *al* (2006) yang menyatakan bahwa dengan konsentrasi BAP yang tinggi dapat menyebabkan panjang tanaman terhambat.

Menurut penelitian Sukmadjaja (2005) secara umum, media dasar MS yang diperkaya dengan BAP menunjukkan respons yang baik dalam membentuk embrio somatik. Persentase pembentukan embrio somatik dari eksplan embrio zigotik muda tanaman cendana pada media MS + BAP 2 mg/l menunjukkan nilai tertinggi, yaitu 71,4%. Penelitian oleh Ahmad (1989), penggunaan 0,5 mg/l BAP menghasilkan multiplikasi tunas tertinggi pada mikropropagasi *Acacia mangium*.

2.5 Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D

Senyawa tertentu yang disintesis oleh ahli kimia juga mampu menimbulkan banyak respons fisiologis seperti yang ditimbulkan oleh IAA, dan biasanya senyawa itu dianggap sebagai auksin juga. Beberapa diantaranya yang paling baik ialah asam α -naftalenasetat (NAA), asam 2,4- diklorofenoksiasetat (2,4-D), dan asam 2-metil-4- klorofenoksiasetat (MCPA) (Salisbury dan Cleon, 1995).

ZPT 2,4-D tersebut merupakan ZPT dari golongan auksin fenoksi. Menurut Harjadi (2009) selain IAA, IBA, dan NAA, auksin dan golongan fenoksi seperti 2,4-D (*2,4-dichlorofenoksi acetic acid*), CPA (*chlorofenoksi acetic acid*), dan 2,4,5-T (*2,4,5-trichlorofenoksi acetic acid*) dapat digunakan untuk merangsang perakaran.

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan auksin yang umum digunakan untuk induksi kalus (Nagasawa, 1998) dalam (Widyastuti *et al*, 1998). Menurut Suhartati dan Nursyamsi (2007), golongan auksin seperti NAA, IBA, dan 2,4-D berfungsi untuk pembentukan akar dan kalus. Auksin berperan mengaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam pembuatan komponen sel setelah pembelahan sel berlangsung (Wattimena, 1987) dalam (Marlin, 2005).

Auksin yang terkandung dalam eksplan berperan dalam sintesis nukleotida DNA dan RNA serta sintesis protein dan enzim yang selanjutnya digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan. Pemanjangan sel terjadi karena adanya proses pembelahan, pemanjangan dan pembesaran sel-sel baru yang

terjadi pada meristemujung sehingga eksplan yang ditanam bertambah tinggi (Gardner *et al*, 1991) dalam (Kurnianingsih *et al*, 2009).

Harjoko (1999); Muftuchah *et al* (1998) dalam Rahayu *et al* (2003) menambahkan, pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan diduga menginduksi sekresi ion H^+ keluar melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil, pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel, akibatnya air mudah masuk ke dalam sel dan sel akan membesar. Hal tersebut dapat mempengaruhi berat basah kalus.

Selain itu menurut Harjadi (2009) 2,4-D (2,4-dichlorofenoksi) acetic acid, digunakan untuk herbisida gulma daun lebar. Juga menurut Yuwono (2008), 2,4-D (2,4 dichlorophenoxy acetic acid) diketahui bersifat efektif untuk menginduksi embriogenesis somatik pada tanaman serelia (monokotil).

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 (Ogita *et al*, 2001) dalam (Sitinjak, 2006). Selain itu 2,4-D ini bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994) dalam (Rahayu *et al*, 2003). Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus (Rahayu *et al*, 2003).

Menurut Fereol (2002) dalam Karjadi dan Buchory (2007), auksin umumnya menghambat pertumbuhan tunas. Semakin tinggi konsentrasi auksin, konsentrasi etilen yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini akan menyebabkan

terhambatnya aktivitas auksin dalam perpanjangan sel, tetapi akan meningkatkan pelebaran sel (Ayabe dan Sumi, 1998) dalam (Karjadi dan Buchory, 2007). Delvin (1975) dalam Avivi dan Ikrarwati (2004) menyatakan bahwa pemberian konsentrasi auksin yang relatif tinggi menyebabkan terhambatnya perpanjangan akar tetapi meningkatkan jumlah akar.

2.6 Kombinasi BAP dan 2,4-D

Menurut Karjadi dan Buchory (2007), ada 2 golongan ZPT penting, yaitu sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan atau kultur organ. Perimbangan konsentrasi dan interaksi antar ZPT yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur.

Pemberian sitokinin dan auksin, dalam bentuk BAP dan NAA ke dalam media menyebabkan diferensiasi sel ke arah pembentukan organ dan jaringan menjadi lebih terarah (Marlin, 2005). Syahid (2010) menambahkan, induksi kalus memerlukan pasokan zat pengatur tumbuh secara eksogen yaitu auksin dan sitokinin yang dapat digunakan secara tunggal ataupun kombinasi keduanya dengan konsentrasi yang tepat. Litz *et al* (1995) dalam Syahid dan Natalini (2007) menambahkan, penggunaan kombinasiantara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (Benzyl Adeninaupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus.

Perbandingan relatif konsentrasi ZPT golongan auksin dan sitokinin dapat mengatur proses diferensiasi secara *in vitro*. Perbandingan konsentrasi

auksin yang lebih tinggi dari sitokinin dapat menyebabkan terangsangnya pembentukan akar. Sebaliknya bila konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin, maka akan terbentuk pucuk (Karjadi dan Buchory, 2008). Syahidet *al* (2010) berpendapat bahwa, adanya sitokinin yang dapat meningkatkan pembelahan sel dalam proses sitokinesis terutama pada saatsintesis RNA dan protein akan memacu aktivitas auksin dalam pembelahan sel membentuk kalus.

Menurut Wetter dan F Constabel (1991), sitokinin seperti kinetin atau benziladenin kadang-kadang dibutuhkan bersama 2,4-D atau NAA untuk mendapatkan pembentukan kalus yang baik. Wareing dan Phillips (1970) dalam Karjadi dan Buchory (2007), juga mengemukakan bahwa sitokinin merangsang pembelahan sel tanaman dan berinteraksi dengan auksin dalam menentukan arah diferensiasi sel. Apabila perbandingan konsentrasi sitokinin lebih besar dari auksin, maka pertumbuhan tunas dan daun akan terstimulasi. Sebaliknya apabila sitokinin lebih rendah dari auksin, maka mengakibatkan mestimulasi pada pertumbuhan akar. Apabila perbandingan sitokinin dan auksin berimbang, maka pertumbuhan tunas, dan dan akar akan berimbang pula.

Menurut Neuenschwander dan Baumann (1992) dalam (Riyadi dan Tirtoboma, 2004), penggunaan kombinasikinetin (konsentrasi relatif tinggi) dengan 2,4-D (konsentrasi relatif rendah) dapat menginduksi embriosomatik pada tanaman kopi Arabika cv. Klerk (2006) dalam Kurnianingsih (2009) zat pengatur sitokinin dapat menghambat terjadinya pemanjangan sel. Hal ini dialami Kurnianingsih (2009), bahwa perlakuan tanpa BAP ekplan yang ditanam menghasilkan auksin endogen dengan konsentrasi yang cukup tinggi sehingga

menyebabkan terjadinya proses pemanjangan sel, sedangkan pada perlakuan dengan BAP, aktifitas dari auksin endogen terhambat karena adanya sitokinin eksogen (dalam hal ini BAP).

Penelitian oleh Syahid *et al* (2010) menggunakan 2,4-D 0,1; 0,3 dan 0,5 mg/l dengan ZPT golongan sitokinin yaitu BA 0,1 dan 0,3 mg/l untuk memicu pertumbuhan kalus tanaman jati belanda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l yang dikombinasikan dengan Benzyl adenin 0,1 mg/l terhadap ukuran diameter kalus terbesar dan berat basah kalus.

