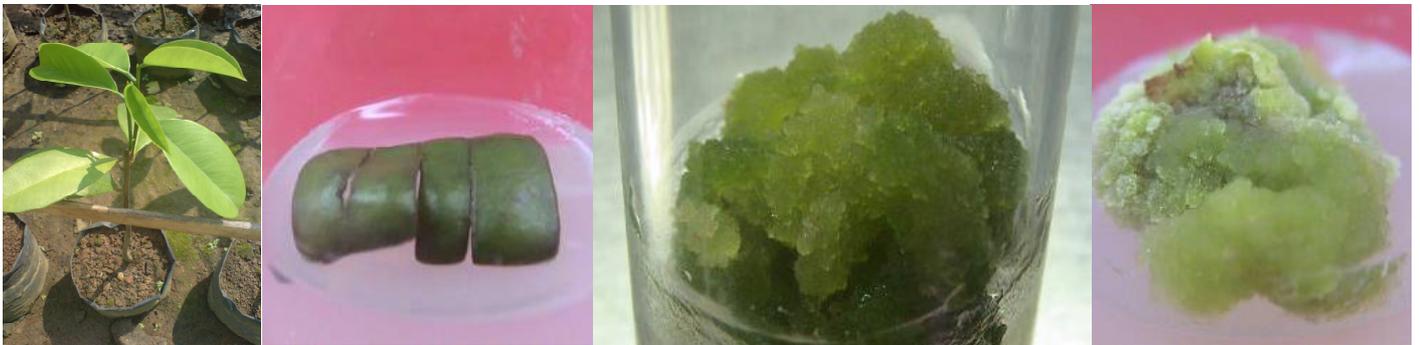


UPAYA INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI POTONGAN DAUN RAMIN



Dra. Yelnititis, M.Si
Ir. Tajudin Edy Komar, M.Sc

**ITTO CITES PROJECT
BEKERJASAMA DENGAN
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
HUTAN DAN KONSERVASI ALAM
KEMENTERIAN KEHUTANAN**

Bogor, 2010



TECHNICAL REPORT

UPAYA INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI POTONGAN DAUN RAMIN

**Dra. Yelnititis, MSi
Ir. Tajudin Edi Komar, MSc**

**ITTO CITES PROJECT
BEKERJASAMA DENGAN
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
HUTAN DAN KONSERVASI ALAM
KEMENTERIAN KEHUTANAN**

Bogor, 2010



Upaya Induksi Kalus Embriogenik dari Potongan Daun Ramin

Hak cipta © 2010

Publikasi ini disusun atas kerjasama International Tropical Timber Organization (ITTO) - CITES untuk meningkatkan kapasitas dalam implementasi masuknya jenis-jenis pohon ke dalam daftar appendix. Donator untuk program kerjasama ini adalah EU (donor utama), Amerika Serikat (USA), Jepang, Norwegia, Selandia dan Swiss

Activity Document 3 "Exploratory assessment on the population distribution and potential uses of Non-*Gonystylus bancanus* species in Indonesia"
Additional Activity 1.1.

Diterbitkan oleh

Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project
Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam
Badan Litbang Kehutanan, Kementerian Kehutanan, Indonesia
Jl. Gunung Batu No.5 Bogor-Indonesia
Telepon : 62-251- 8633234
Fax : 62-251-8638111
E-mail : raminpd426@yahoo.co.id

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	ii
ABSTRAK	1
PENDAHULUAN	1
BAHAN DAN METODE	2
HASIL DAN PEMBAHASAN	4
KESIMPULAN	11
UCAPAN TERIMA KASIH	12
DAFTAR PUSTAKA	12

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Kalus dari perlakuan 2,4-D dan kombinasi dengan thidiazuron umur 8 minggu	7
-----------------	---	---

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	A. Eksplan potongan daun; B - C . Kalus dari perlakuan 2,4-D	5
Gambar 2.	Kalus dari perlakuan 2,4-D kombinasi dengan thidiazuron	8
Gambar 3.	A – D.Kalus friabel dari perlakuan berbeda umur 35 hari	9
Gambar 4.	Kalus Friabel	10
Gambar 5.	Pertumbuhan kalus friabel dari perlakuan 2,4-D + biotin.	11

UPAYA INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI POTONGAN DAUN RAMIN

ABSTRAK

Ramin (*Gonystylus* spp.) merupakan salah satu genus penghasil kayu yang banyak diminati untuk diperdagangkan. Tanaman ini tumbuh di daerah hutan rawa gambut. Terdapat lebih dari 20 jenis yang termasuk ke dalam genus ini dan paling banyak dieksploitasi. Sejak tahun 2004 jenis ini sudah dimasukkan ke dalam APPENDIX II CITES. Perbanyakan tanaman ramin dapat dilakukan secara generatif dengan menggunakan biji namun benihnya sulit ditemukan. Selain itu ramin juga dapat diperbanyak secara vegetatif konvensional. Upaya pembentukan kalus embriogenik dari eksplan potongan daun telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta dari bulan Februari sampai bulan Mei 2010. Media dasar Murashige dan Skoog (MS) dijadikan sebagai media tumbuh. Penelitian dilakukan dalam tiga tahap yaitu tahap induksi dan perbanyakan kalus, tahap induksi kalus friabel dan tahap induksi kalus embriogenik. Perlakuan yang diuji untuk induksi kalus adalah penggunaan 2,4-D (3.0 – 5.0 mg/l). Kalus yang diperoleh diperbanyak pada perlakuan terbaik dan kombinasi dengan thidiazuron (1.0 – 2.0 mg/l). Untuk induksi kalus friabel diberikan perlakuan 2,4-D 6.0 mg/l dikombinasikan dengan thidiazuron dan atau biotin. Untuk induksi kalus embriogenik diberikan perlakuan 2,4-D (7.0 – 8.0 mg/l) dan kombinasi dengan biotin (1.0 – 2.0 mg/l). Pengamatan dilakukan terhadap waktu induksi kalus dan penampakan biakan kalus secara visual. Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus dapat diinduksi dari perlakuan 2,4-D 5 mg/l. Kalus semi friabel dapat dihasilkan dari perlakuan 2,4-D 5 mg/l dikombinasikan dengan thidiazuron dengan pertumbuhan cepat. Perlakuan 2,4-D 6.0 mg/l dikombinasikan dengan thidiazuron merupakan perlakuan yang dapat menghasilkan kalus friabel. Dari perlakuan 2,4-D dengan biotin dihasilkan kalus dengan struktur sangat friabel, berwarna putih kekuningan dan belum embriogenik.

PENDAHULUAN

Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) merupakan salah satu dari beberapa jenis pohon yang penting dan mempunyai nilai ekonomi tinggi. Jenis ini merupakan salah satu jenis pohon penghasil kayu yang paling banyak dieksploitasi dan paling diminati untuk diperdagangkan dari 10 jenis yang ada di Indonesia. Eksploitasi kayu ramin yang berlebihan tanpa memperhitungkan kelestariannya menyebabkan jenis ini semakin sulit ditemukan sehingga jenis ini terancam kepunahan. Menurut CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna dan Flora*) jenis ramin dimasukkan ke dalam appendix III dan meningkat menjadi appendix II pada tahun 2004.

Ramin dapat diperbanyak secara generatif dengan menggunakan biji tetapi benihnya sulit ditemukan, selain itu ramin berbuah sekali dalam 2 - 4 tahun. Menurut Mukjizat dan Hermansyah (2005) ramin tidak berbunga dan berbuah

setiap tahun. Salah satu bahan yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan bibit adalah dengan mengambil anakan dibawah tegakan induknya di alam. Selain dengan cara generatif ramin juga dapat diperbanyak secara vegetatif konvensional dengan setek. Propagasi in vitro pada ramin belum banyak dilaporkan. Yelnititis dan Komar (2008) menyatakan bahwa tunas dapat diinduksi secara in vitro dengan pertumbuhan lambat. Berdasarkan hal diatas perlu dicari teknik lain sebagai upaya perbanyak tanaman dengan rentang waktu yang lebih singkat.

Embriogenesis merupakan salah satu teknik yang menguntungkan untuk propagasi vegetatif massal dari spesies yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (Blanc *et al.*, 1999). Selanjutnya Molina *et al.*, (2002) menyatakan bahwa embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung maupun dan secara tidak langsung. Embrio somatik yang dihasilkan memiliki sifat klonal yang sama seperti induknya dan juga mempunyai sifat juvenile seperti embrio yang berasal dari biji. Propagasi tanaman melalui embriogenesis somatik terdiri dari beberapa tahap yaitu inisiasi kalus dan kalus embriogenik, perbanyak kalus embriogenik, pendewasaan embrio somatik, penuaan embrio somatik dan perkecambahan (von Arnold, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kalus yang friable dan embriogenik, sehingga dari kalus tersebut dapat diperoleh embrioid yang akan berkembang membentuk embrio somatik yang kemudian akan tumbuh menjadi plantlet.

BAHAN DAN METODE

a. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Yogyakarta dari bulan Februari sampai bulan Mei 2010.

b. Bahan dan alat

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun yang masih muda dari anakan yang berasal dari Palembang, Sumatera Selatan.

Media yang digunakan adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS) atau modifikasinya yang diperkaya dengan sukrosa dan agar. Sebagai perlakuan diberikan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan thidiazuron serta biotin.

Alat yang digunakan terdiri dari alat-alat gelas dan alat dissecting. Alat-alat gelas terdiri dari botol kultur, gelas ukur, becker glass dan petridish serta alat dissecting seperti pinset dan pisau dan lain-lain. Selain itu juga digunakan alat pemotong lainnya yaitu pisau atau gunting tanaman untuk pengambilan bahan tanaman

c. Metodologi

Daun dicuci sampai bersih dengan menggunakan detergen cair dan larutan fungisida. Daun yang sudah bersih disterilisasi di dalam laminar air flow dengan menggunakan alkohol, HgCl₂ dan bayclin dan terakhir dibilas dengan aquades steril. Kemudian daun dipotong-potong dengan ukuran 1 x 1 cm (Gambar 1a), lalu ditanam di dalam perlakuan media yang sudah disiapkan. Penelitian dilakukan dalam 3 tahap kegiatan yaitu :

1. induksi dan perbanyak kalus
2. induksi kalus friabel
3. induksi kalus embriogenik

1. Induksi dan perbanyak kalus.

Perlakuan yang diberikan untuk induksi kalus adalah penggunaan 2,4-D dengan konsentrasi (3.0 – 5.0 mg/l). Kalus yang diperoleh diperbanyak pada perlakuan terbaik dan kombinasi dengan thidiazuron (1.0 – 1.5 mg/l).

2. Induksi kalus friabel.

Untuk induksi kalus friabel dilakukan subkultur kalus yang diperoleh secara berulang pada perlakuan :

- 2,4-D 6.0 mg/l
- 2,4-D 6.0 mg/l + thidiazuron (1.0 – 2.0 mg/l)
- 2,4-D 6.0 mg/l + thidiazuron (1.0 – 2.0 mg/l) + biotin (1.0 - 2.0 mg/l).

3. Induksi kalus embriogenik.

Perlakuan yang diberikan untuk induksi kalus embriogenik adalah penambahan 2,4-D (7.0 dan 8.0 mg/l) dan kombinasi dengan biotin (1.0 – 2.0 mg/l).

d. Pengamatan

Pengamatan pada semua tahapan dilakukan terhadap kualitatif kalus dan visual kalus yang dihasilkan. Pengambilan gambar dilakukan dengan menggunakan kamera merk Sony model DCR-TRV75E.

e. Analisa data

Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 kali ulangan. Data hasil penelitian dihitung rata-rata dan standar deviasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik merupakan pembentukan, pertumbuhan dan perkembangan embrio dari sel-sel soma atau dari sel tubuh tanaman (Ammirato, 1983). Blanc *et al.*, (1999) menyatakan bahwa embriogenesis somatik adalah cara yang menguntungkan untuk propagasi vegetatif massal dari spesies yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Selanjutnya Litz dan Gray (1995) menyatakan bahwa embrioid dapat dihasilkan dari satu sel sehingga produksi bibit jauh lebih banyak dibanding penggunaan teknik yang lain.

1. Induksi dan perbanyakan kalus.

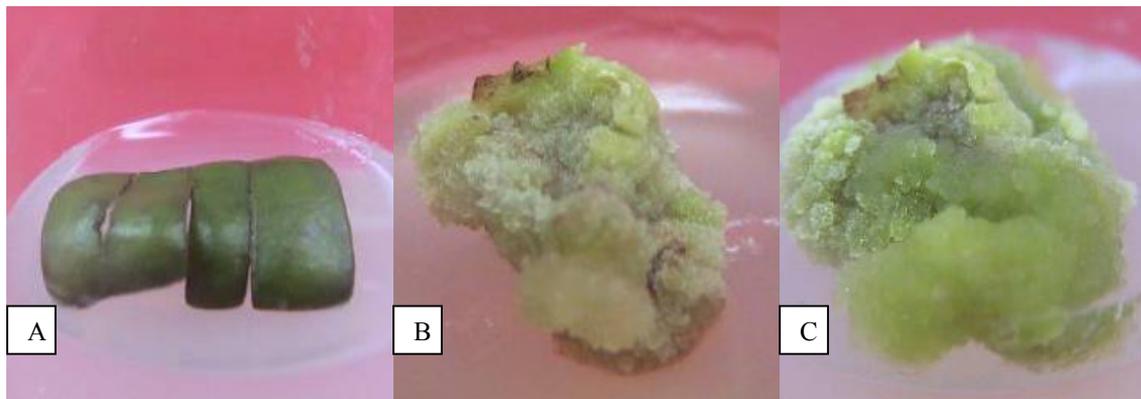
a. Induksi kalus

Tahap awal dari penelitian ini adalah induksi kalus. Perlakuan yang diuji pada tahap induksi kalus adalah penambahan 2,4-D dengan konsentrasi 3.0 sampai 5.0 mg/l.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus dapat diinduksi dari eksplan potongan daun (Gambar 1A) yang dikulturkan pada perlakuan 2,4-D. Menurut Hagio (2002) dan Sujatha dan Prabakaran (2001) zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin seperti 2,4-D penting untuk induksi kalus. Selain itu auksin juga dapat menyebabkan sel yang telah terdiferensiasi mampu mengalami dediferensiasi.

Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan interaksi eksplan dengan media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh sehingga eksplan bertambah besar. Menurut Meagher dan Green (2002) ukuran

eksplan bertambah menjadi empat kali lebih besar setelah dikulturkan selama 2 minggu pada tanaman saw palmetto. Induksi kalus dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan induksi kalus semakin cepat terjadi. Walaupun demikian tidak semua eksplan yang dikulturkan dapat membentuk kalus. Pada perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi yang lebih rendah eksplan hanya memperlihatkan penebalan dan tidak berkembang menjadi kalus walaupun dikulturkan dalam jangka waktu yang lama. Menurut Gunawan (1987) konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap induksi kalus.



Gambar 1. A. Eksplan potongan daun; B - C . Kalus dari perlakuan 2,4-D

Dari beberapa perlakuan 2,4-D yang digunakan, konsentrasi 5.0 mg/l merupakan perlakuan yang berhasil membentuk kalus. Hal ini menunjukkan bahwa untuk induksi kalus dibutuhkan 2,4-D dengan konsentrasi yang relatif tinggi. Berbeda dengan hasil penelitian Yelnititis (2007) menunjukkan bahwa kalus dari potongan embrio muda *Shorea pinanga* dapat dihasilkan dari perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi yang lebih rendah. Selanjutnya Sopiana (2004) dalam Bastoni (2005) menyatakan bahwa kalus dari eksplan potongan daun dapat diinduksi pada perlakuan NAA secara tunggal maupun kombinasi dengan kinetin. Demikian juga Schestibratov *et al.*, (2003) menyatakan bahwa kalus dapat dihasilkan pada perlakuan modifikasi media LP dengan BAP dikombinasikan dengan IBA dari eksplan potongan kotiledon *Pinus radiata*.

Rata-rata induksi kalus dari perlakuan ini mulai terjadi 21 hari setelah dikulturkan. Menurut Gunawan (1987) eksplan berbeda memberikan respon berbeda terhadap perlakuan yang sama. Hasil penelitian Yelnititis (2008) menyatakan bahwa induksi kalus dari eksplan potongan embrio muda *Shorea pinanga* terjadi rata-rata 10 hari setelah dikulturkan. Sedangkan induksi kalus dari potongan kotiledon *Pinus radiata* terjadi 4 - 5 minggu setelah dikulturkan (Schestibratov *et al.*, 2003). Hal ini

menunjukkan bahwa kalus dari eksplan berbeda terbentuk pada waktu yang juga berbeda.

Kalus yang terbentuk pada tahap awal berstruktur kompak dan berwarna putih pada bagian permukaan (Gambar 1B). Kalus tipe ini umumnya mempunyai pertumbuhan yang lambat. Selanjutnya secara perlahan kalus mengalami pertumbuhan dan membesar, dan kemudian mengalami perubahan warna menjadi hijau keputihan dan segar (Gambar 1C). Kalus dari perlakuan ini tidak mengalami perubahan sampai umur 18 minggu.

b. Perbanyakkan kalus

Kalus kompak yang diperoleh pada tahap induksi dijadikan sebagai eksplan pada tahap induksi kalus friabel. Jumlah kalus yang dihasilkan pada tahap induksi masih terbatas karena tidak semua bagian eksplan membentuk kalus maka dilakukan tahap perbanyakkan kalus pada perlakuan :

1. 2,4-D 5.0 mg/l.
2. 2,4-D 5.0 + thidiazuron 1.0 mg/l
3. 2,4-D 5.0 + thidiazuron 1.5 mg/l
4. 2,4-D 5.0 + thidiazuron 2.0 mg/l

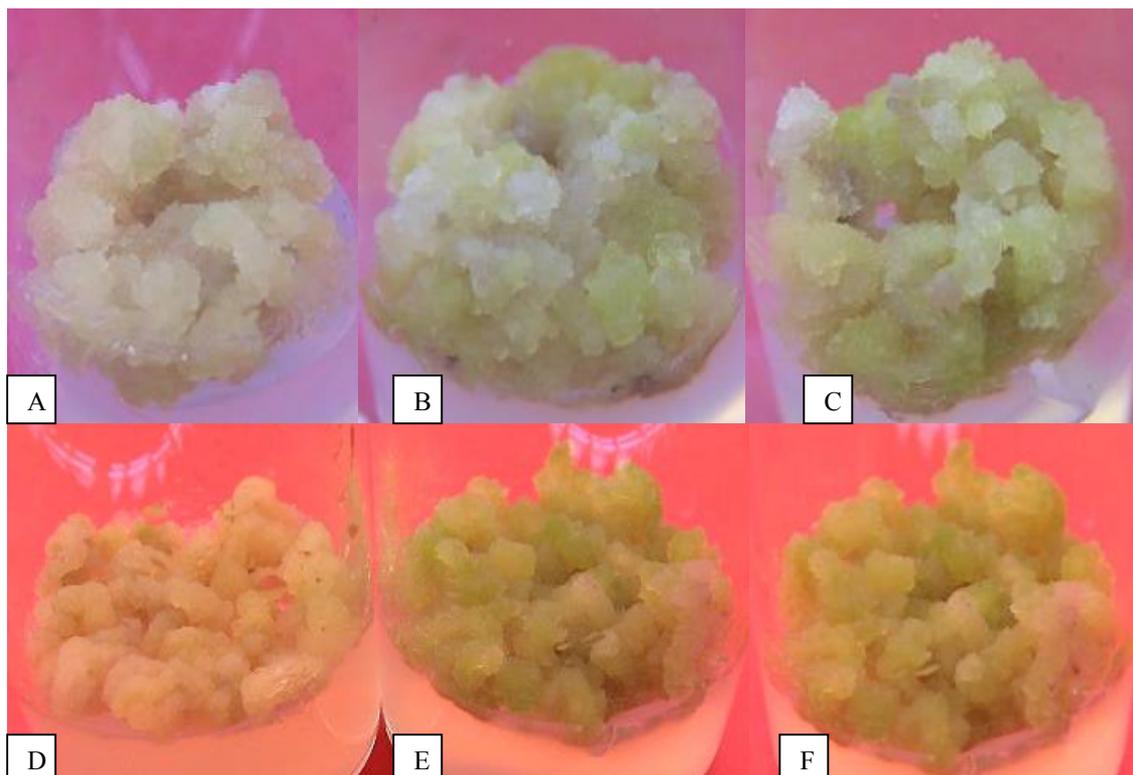
Selain untuk perbanyakkan, tahapan ini juga bertujuan untuk mendapatkan kalus friabel dan noduler yang diharapkan berkembang menjadi kalus embriogenik. Kalus friabel dapat dihasilkan melalui subkultur berulang pada perlakuan yang sama maupun perlakuan berbeda.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan thidiazuron pada media yang sudah mengandung 2,4-D dapat dihasilkan kalus dengan struktur semi friabel. Kalus tersebut muncul di bagian pinggir eksplan kalus yang menyentuh media tetapi tidak pada bagian permukaan. Selain itu kalus juga mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat dibanding pada tahap induksi. Hal ini diduga disebabkan karena penggunaan 2,4-D yang dikombinasikan dengan thidiazuron yang mempunyai daya aktif tinggi menyebabkan kandungan zat pengatur tumbuh di dalam jaringan meningkat. Peningkatan tersebut menyebabkan jaringan menjadi stres sehingga terjadi pembelahan sel secara terus menerus di dalam jaringan yang akhirnya ukuran kalus bertambah besar.

Tabel 1. Kalus dari perlakuan 2,4-D dan kombinasi dengan thidiazuron umur 8 minggu

Perlakuan (mg/l)	Penampakan visual kalus
2,4-D 5.0	Kompak, hijau, pertumbuhan lambat
2,4-D 5.0 + thi 1.0	Semi friabel, putih kekuningan, pertumbuhan cepat
2,4-D 5.0 + thi 1.5	Semi friabel, putih kekuningan, pertumbuhan cepat
2,4-D 5.0 + thi 2.0	Semi friabel, putih kekuningan, pertumbuhan cepat

Tabel 1 memperlihatkan bahwa pemakaian kombinasi 2,4-D dengan thidiazuron menghasilkan kalus dengan struktur yang berbeda dengan kalus dari perlakuan yang hanya menggunakan 2,4-D baik pada tahap induksi maupun pada tahap perbanyakan kalus. Pemakaian auksin bersama sitokinin mempunyai hubungan yang sinergis di dalam proses pembelahan sel dan proliferasi kalus. Kalus dari perlakuan tersebut mempunyai struktur semi friabel dan berwarna putih (Gambar 2A) atau putih kehijauan (Gambar 2B – C) atau kuning kehijauan (Gambar 2D – F). Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan kalus yang lebih friabel dibutuhkan senyawa atau zat pengatur tumbuh lain yang dikombinasikan dengan auksin. Hasil yang berbeda dari penelitian Guohua (1998) menunjukkan bahwa kombinasi auksin dengan thidiazuron menyebabkan terjadinya organogenesis pada tanaman cassava. Selanjutnya Aasim *et al.*, (2009) menyatakan bahwa dari perlakuan thidiazuron dikombinasikan dengan ekstrak ragi/ yeast extract dapat dihasilkan kalus. Sedangkan Giridhar dan Ravishankar (2004) menyatakan bahwa penggunaan thidiazuron yang dikombinasikan air kelapa dihasilkan tunas pada tanaman *Vanilla planifolia*. Semakin tinggi konsentrasi thidiazuron yang digunakan kalus yang dihasilkan lebih friabel.



Gambar 2. Kalus dari perlakuan 2,4-D kombinasi dengan thidiazuron

Hasil yang berbeda dari penelitian Yelnititis (2007) menunjukkan bahwa dari perlakuan yang hanya menggunakan 2,4-D dihasilkan kalus friabel pada tanaman *Shorea pinanga*.

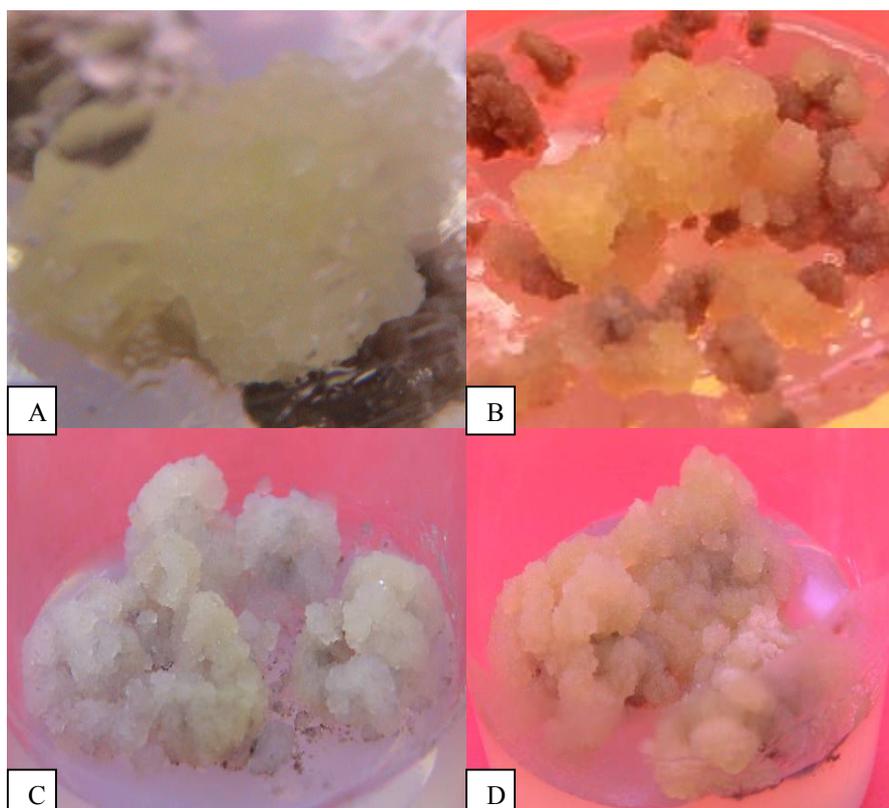
c. Induksi kalus friabel

Kalus dengan visual terbaik yang dihasilkan dari tahapan sebelumnya digunakan sebagai eksplan. Kalus friabel dapat dihasilkan secara langsung maupun melalui subkultur berulang pada perlakuan yang sama atau perlakuan berbeda. Upaya mendapatkan kalus friabel dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi 2,4-D menjadi 6.0 mg/l dan dikombinasikan dengan thidiazuron (1.0 – 2.0 mg/l) dan atau biotin (1.0 – 2.0 mg/l).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan 2,4-D menjadi 6.0 mg/l dan kombinasi dengan thidiazuron memberikan respon yang baik terhadap kalus yang terbentuk. Kalus yang dihasilkan dari perlakuan ini lebih baik dibandingkan dengan kalus yang diperoleh pada tahap induksi kalus maupun pada tahap perbanyakan kalus. Kalus yang dihasilkan mempunyai struktur friabel. Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan kalus friabel dibutuhkan auksin dengan konsentrasi yang lebih tinggi atau kombinasi dengan sitokinin seperti thidiazuron dan atau senyawa lain seperti biotin. Auksin dapat menginduksi pembelahan sel

untuk pertumbuhan sel. Selanjutnya Menurut Dudits *et al.*, (1995) penambahan zat pengatur tumbuh secara eksogen merupakan faktor eksternal yang berperan dalam reaktifasi siklus sel.

Penggunaan 2,4-D 6.0 mg/l dikombinasikan dengan thidiazuron 1.5 mg/l dan biotin 1.5 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk induksi kalus friabel. Kalus yang dihasilkan mempunyai struktur friabel dan mudah dipisahkan. Selain itu kalus yang dihasilkan berwarna putih (Gambar 3A). Dalam pertumbuhannya kalus tersebut memperlihatkan perubahan warna menjadi kuning muda (Gambar 3B).



Gambar 3. A – D.Kalus friabel dari perlakuan berbeda umur 35 hari

d. Induksi kalus embriogenik

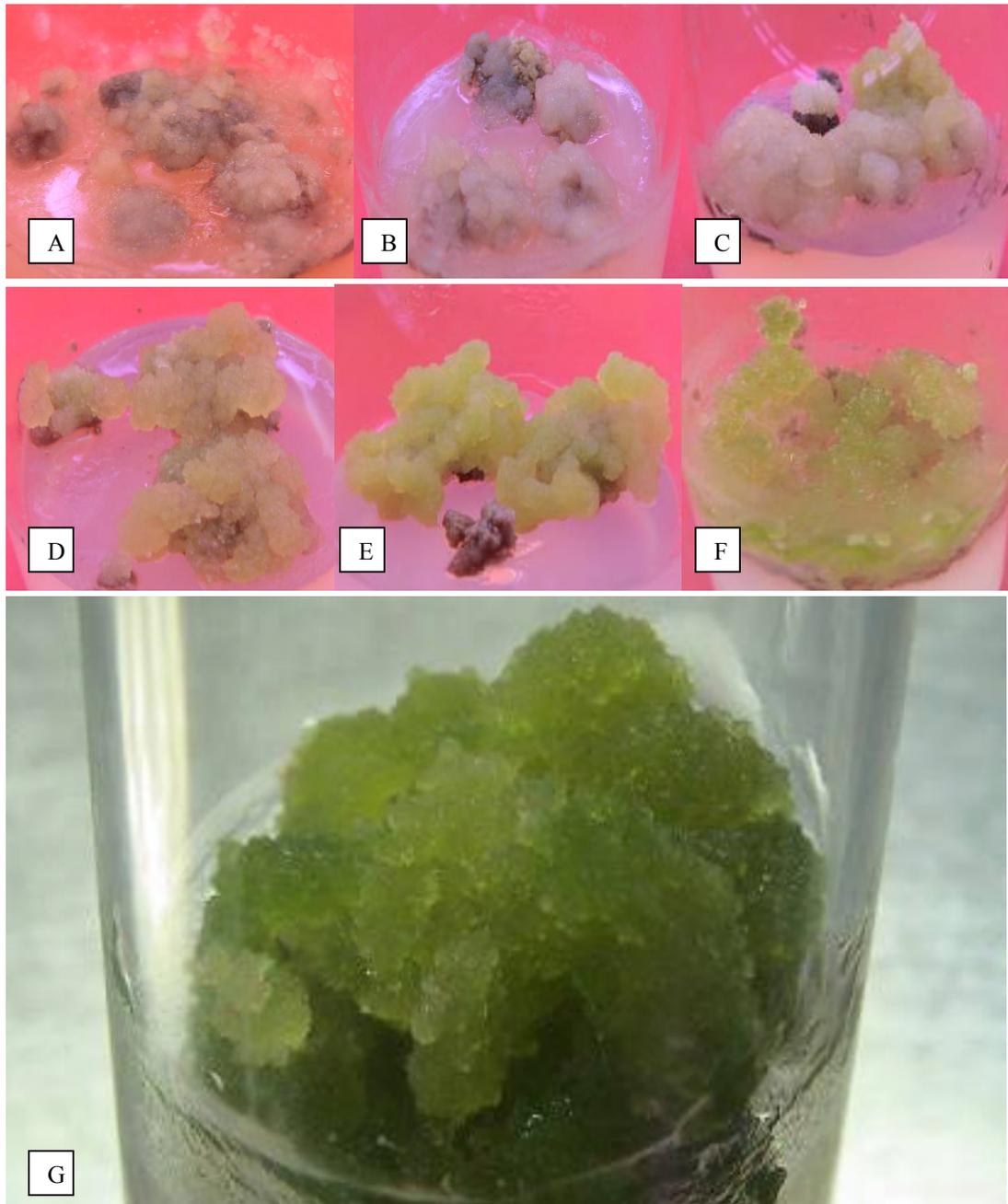
Eksplan yang digunakan pada tahap ini adalah kalus friabel yang dihasilkan dari tahap sebelumnya. Kalus embriogenik umumnya dapat diinduksi dengan menggunakan zat pengatur tumbuh auksin seperti 2,4-D (Litz, *et al.*, 1998); NAA, 2,4,5 T (Nugent *et al.*, 2001), picloram (Stella dan Braga, 2002) dan dicamba (Sagare *et al.*, 1993) atau dengan kombinasi dengan sitokinin. Selanjutnya kalus embriogenik dapat terbentuk secara langsung atau melalui subkultur berulang baik pada perlakuan yang sama maupun pada perlakuan yang berbeda.

Dalam penelitian ini induksi kalus embriogenik dilakukan dengan perlakuan 2,4-D (7.0 - D 8.0 mg/l) dan dikombinasikan dengan biotin 1.5 mg/l.

Penggunaan kalus friabel sebagai eksplan pada tahap induksi kalus embriogenik menunjukkan bahwa eksplan kalus tidak mengalami pertumbuhan lanjutan atau perkembangan tetapi pada bagian permukaan muncul kalus baru dengan struktur yang sangat friabel, sementara kalus yang terdapat pada bagian bawah mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan sampai coklat dan mati. Kalus yang baru muncul berwarna putih sampai putih kekuningan.

Peningkatan penggunaan 2,4-D dari 6.0 mg/l menjadi 8.0 mg/l memberikan pengaruh yang baik terhadap struktur kalus yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan atau kombinasi dengan biotin dalam tahapan ini semakin friabel kalus yang dihasilkan. Selain itu kalus yang diperoleh mudah dipisahkan dan berwarna putih kekuningan dan dalam pertumbuhannya berubah menjadi kekuningan atau kuning muda.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D 7.0 mg/l dikombinasikan dengan biotin 1.5 mg/l merupakan perlakuan terbaik terhadap struktur kalus yang dihasilkan. Kalus yang dihasilkan dari perlakuan ini sangat friabel dan sangat mudah dipisahkan (Gambar 4). Hal ini diduga disebabkan oleh eksplan berupa kalus friabel dan perlakuan yang digunakan.



Gambar 4. A – G. Pertumbuhan kalus friabel dari perlakuan 2,4-D + biotin.

Kalus yang diperoleh dari perlakuan 2,4-D secara tunggal maupun dengan kombinasi dengan biotin belum termasuk kalus embriogenik. Kalus embriogenik mempunyai struktur friabel, noduler dan berwarna putih atau kekuningan. Menurut Indrianto (2002) insiasi kalus embriogenik terjadi sebagai respon dari stres akibat pengaruh konsentrasi auksin yang relatif tinggi. Selanjutnya Dunstan *et al.* (1995) mendapatkan kalus embriogenik pada tanaman berkayu dengan penggunaan 2,4-D. Berbeda dari hasil penelitian Guohua (1998) menunjukkan bahwa penggunaan auksin dikombinasikan dengan thidiazuron menyebabkan terjadinya organogenesis pada tanaman *cassava*. Selanjutnya ia menyatakan bahwa

penggunaan kombinasi auksin dan sitokinin dengan konsentrasi yang berbeda menghasilkan respon yang berbeda.

KESIMPULAN

Kalus dapat diinduksi dari perlakuan 2,4-D 5.0 mg/l. Kalus yang dihasilkan berstruktur kompak dan berwarna hijau. Perlakuan terbaik untuk induksi kalus friabel adalah 2,4-D + thidiazuron 1.5 mg/l + biotin 2.0 mg/l. Dari perlakuan 2,4-D 7.0 mg/l dikombinasikan dengan biotin 1.5 mg/l dihasilkan kalus yang sangat friabel dan berwarna putih kekuningan. Sampai batas waktu penelitian berakhir kalus embriogenik belum dapat dihasilkan karena waktu penelitian terbatas selama 4 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ITTO yang telah memberikan dukungan dana dalam pelaksanaan penelitian ini melalui proyek : Further analyses of genetic relationship between species and in vitro propagation of *Gonystylus spp.*

DAFTAR PUSTAKA

- Aasim, M., K.M. Khawar and S. Ozcan. 2009. Comparison of shoot regeneration on different concentration of thidiazuron from shoot tip explant of Cowpea on gelrite and agar containing medium. *Not. Bot. Hort. Agrobot Cluj* 37 (1) : 89 – 93.
- Ammirato, PV. 1983. Embryogenesis. *In* Evans, DA; WR. Sharp; PV. Ammirato and Y. Yamada (eds.). *Hand book of plant cell culture* (1). Techniques for propagation and breeding. Mc Millan, New York. pp 82 – 90.
- Bastoni. 2005. Kajian ekologi dan silvikultur ramin di Sumatera Selatan dan Jambi. *Prosiding Semiloka Nasional Konservasi dan pembangunan hutan ramin di Indonesia..* Bogor, 28 September 2008.
- Blanc, GN; Michaux-Ferriere; C. Teisson; L. Larder and M.P. Carron. 1999. Effects of carbohydrate addition on the induction of embryogenesis in *Havea brasiliensis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 59 : 103 – 112.

- Giridhar, P. and G.A. Ravishankar. 2004. Efficient micropropagation of *Vanilla planifolia* Andr. Under influence of thidiazuron, zeatin and coconut milk. Indian Journal of Biotechnology 3 : 113 – 118.
- Guohua, M. 1998. Effects of cytokinins and auxins on cassava shoot organogenesis and somatic embryogenesis from somatic embryos explants. Plant Cell Tissue and Organ Culture 54 : 1 – 7.
- Indrianto, A. 2002. Kultur jaringan tumbuhan. Fak. Biologi UGM. Yogyakarta. 134 hal.
- Litz, R.E and D.J. Gray. (1995). Somatic embryogenesis for agriculture improvement. World Jour. Microbiol. And Biotech 11 : 416 – 425.
- Meagher, M.G and J. Green. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of saw palmetto, an important landscape and medicinal plant. Plant Cell Tissue and Organ Culture 66 : 253 – 256.
- Molina, D.M., M.E. Aponte, H. Cortina and German Moreno. 2002. The effect of genotype and explant age on somatic embryogenesis of Coffe. Plant Cell Tissue and Organ Culture 71 : 117 – 125.
- Nugent, G.; S.F. Chandler, P.Whitemean and T.W. Stevenson. 2001. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus globules*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 67 : 85 – 88.
- Schestibratov, K.A; R.V. Mikhailov and S.V. Dolgov. 2003. Plantlet regeneration from subculturable nodular callus of *Pinus radiate*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 72 : 139 - 146.
- Stella, A. and M.R. Braga. 2002. Callus and suspension cultures of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. Plant Cell Tissue and Organ Culture 68 : 271 -278.
- Sagare, A.P., K. Suhasini and K.V. Krishnamurthy. 1993. Plant regeneration via somatic embryogenesis in chick pea (*Cicer arietinum* L.). Plant Cell Reports 12 : 652 – 655.
- Sujatha, M. and A.J. Prabakaran. 2001. High frequency embryogenesis in immature zygotic embryo s of *sunflower*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 65 : 23 – 29.

Yelnititis dan T.E. Komar. 2008. Perbanyakkan vegetatif ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) secara in vitro. Laporan Hasil penelitian. 24 hal.

Yelnititis. 2007. Induksi embrio somatik *Shorea pinanga* Sheff. dengan 2,4-D dan NAA. Jurnal Penelitian Tanaman Hutan 4 (1) : 235 – 243.

Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project
Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam
Badan Litbang Kehutanan, Kementerian Kehutanan, Indonesia
Jl. Gunung Batu No.5 Bogor-Indonesia
Telepon : 62-251- 8633234
Fax : 62-251-8638111
E-mail : raminpd426@yahoo.co.id