PENGGUNAAN KINETIN DAN DUA JENIS AUKSIN TERHADAP PERBANYAKAN SENGON (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) SECARA *IN VITRO*

Murgayanti[1], Syafrie Syafei[2], Sumaryati Syukur[2], G.A. Watttinema[2]

ABSTRACT

The experimental design used in this experiment was factorial design arranged in Completely Randomized Design. The first factor was kinetin with 5 level of concentration i.e. 0 ; 1.0 ; 2.0 ; 3.0 and 4.0 ppm and level of auxin consist of IAA and NAA i.e. 0 ; 0.01 ; 0.1 ppm of each.

The experiment was design to observe the use of kinetin and group of auxin to induce the growth of sengon *In Vitro*. The experiment were conducted at laboratory of Cellular and Molecular Biology, Inter University Center IPB Bogor, between February to May 1997. The result showed that application at 2.0 ppm Kinetin and 0.1 ppm IAA could induced shoot emerge and increase shoot number.

Key Words : *Paraserianthes falcataria*, kinetin, auxin, culture *in vitro*.

PENDAHULUAN

Permintaan terhadap hasil hutan terutama kayu, di masa yang akan datang terus meningkat karena semakin berkembangnya industri kertas, pulp dan kayu lapis, oleh karena itu diperlukan pengelolaan hutan secara intensif dan berkesinambungan. Sementara itu, di negara-negara berkembang penyusutan areal hutan terjadi secara cepat dan tidak terkendali. Salah satu upaya pemerintah untuk mengatasi masalah tersebut, adalah menggalakkan penanaman Hutan Tanaman Industri (HTI) dan konservasi genetik dari jenis-jenis tanaman hutan yang penting dalam dunia komersial.

Sengon (*Paraserianthes falcataria* L. Nielsen) termasuk jenis tanaman hutan yang banyak dimanfaatkan untuk keperluan industri antara lain sebagai bahan baku pulp kertas, papan serat, papan partikel, papan semen, bahan rangka cetak beton serta kayu lapis (Atmosuseno, 1994; Santoso, 1995). Oleh karena itu, tanaman ini merupakan salah satu jenis kayu yang diprioritaskan untuk dikembangkan dalam HTI. Disamping itu, tanaman ini dapat tumbuh dengan cepat dan memberikan volume kayu yang besar dengan waktu rotasi yang pendek (Suharti, Hartoyo, Adisoemarto, Sudtajat, Ginting dan Sumiasri, 1991)

Perbanyakan sengon secara konvensional umumnya dilakukan dengan biji, tetapi ketersediaan biji yang berkualitas tinggi sangat terbatas karena tanaman sengon tidak menghasilkan buah terus menerus sepanjang tahun. Disamping itu, perbanyakan dengan cara konvensional membutuhkan waktu generasi yang lama serta luas lahan yang besar. Untuk menunjang program HTI dibutuhkan bibit sengon yang berkualitas tinggi dalam jumlah besar, oleh karena itu perbanyakan pohon unggul (pohon plus) melalui teknologi propagasi *in vitro* atau yang dikenal dengan teknik kultur jaringan sangat diperlukan. Menurut Pierik (1987) dan Gunawan (1998), teknik ini memiliki banyak kelebihan, yaitu tanaman dapat diperbanyak setiap saat dan lebih cepat menghasilkan bibit yang banyak dalam rentang waktu yang pendek.

Keberhasilan teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu (1) faktor genotipe dari bahan tanaman yang dukulturkan, (2) subtrat termasuk komponen media dan zat pengatur tumbuh, (3) faktor lingkungan yaitu kondisi fisik dimana kultur ditumbuhkan dan (4) faktor fisiologi jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan (George dan Sherrington, 1984). Keempat faktor ini saling berinteraksi dan perlu dicari komposisi yang tepat untuk menghasilkan pertumbuhan yang optimal.

Penggunaan zat pengatur tumbuh terutama golongan auksin dan sitokinin sangat penting dalam kultur jaringan. Perimbangan antara keduanya akan menentukan arah pertumbuhan dan perkembangan suatu kultur (Taji, Dodd dan Williams, 1992). Pemilihan jenis dan konsentrasi yang tepat sangat diperlukan karena setiap jenis tanaman dan jaringan tanaman mempunyai respon tersendiri terhadap zat

[1] Alumni Program Studi Agronomi PPs Unand
[2] Dosen Program Pascasarjana Universitas Andalas

pengatur tumbuh yang diberikan (Armini, Wattimena, dan Gunawan, 1992).

Penelitian tentang penggunaan zat pengatur tubuh yang terbaik untuk perbanyakan tanaman sengon dengan kultur jaringan terutama dari golongan auksin dan sitokinin belum banyak dilaporkan, oleh karena itu perlu diteliti lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengatahui jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan NAA) dan sitokinin (BAP dan Kinetin) yang tepat guna mendorong pembentukan tunas dan menghasilkan tunas sengon yang banyak secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Tanaman PAU Bogor, pada bulan Februari sampai Mei 1997.

Rancangan lingkungan yang digunakan adalah acak lengkap, sedangkan rancangan perlakuan adalah faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi Kinetin dan faktor kedua adalah konsentrasi auksin. **Faktor pertama** terdiri dari 4 taraf : 0 ppm kinetin; 1 ppm kinetin; 2 ppm kinetin; 4 ppm kinetin. **Faktor kedua** konsentrasi auksin yang terdiri dari 5 taraf, yaitu : 0 ppm IAA; 0,01 ppm IAA; 0,1 ppm; 0,01 ppm NAA; dan 0,1 ppm NAA.

Dari kedua faktor tersebut terdapat 20 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang 10 kali, sehingga diperoleh 200 satuan percobaan, data hasil pengamatan kedua seri percobaan tersebut diuji dengan analisis ragam dan uji lanjut yang digunakan adalah Uji Wilayah Berganda Duncan (DNMRT).

Sterilisasi dilakukan terhadap alat-alat yang akan digunakan seperti botol kultur, gunting, pisau, scalpel, pinset dan petridish.

Botol kultur dicuci dengan menggunakan deterjen dan dibilas dengan bersih sampai terlihat bening. Kemudian dikeringkan dengan cara menelungkupkan pada rak. Selanjutnya botol disterilkan dengan menggunakaan autoclave selama 30 menit pada tekanan 15 Psi dengan temperatur 121°C. setelah itu dimasukkan ke dalam oven dengan temperatur 80°C selama 30-60 menit.

Gunting, pisau, scalpel, pinset dan petridish juga distrerilkan dengan cara yang sama, tetapi sebelum dimasukkan ke dalam autoclave, alat-alat tersebut harus dibungkus terlebih dahulu dengan kertas merang.

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah benih sengon, bahan kimia untuk pembuatan media dasar Murashige dan Skoog (MS), sukrosa, vitamin, agar, zat pengatur tumbuh Kinetin, IAA dan NAA, HCl, KOH larutan $HgCl_2$, alkohol 70%, spiritus, aquadest, aluminium foil, kertas saring, plastik wrap, dan kertas tissu.

Bahan-bahan yang akan digunakan sebagai media ditimbang dan selanjutnya dibuat larutan stok. Kemudian larutan stok untuk kultur tersebut disimpan dalam lemari pendingin.

Pembuatan media dilakukan dengan mengencerkan larutan stok nutrisi dan vitamin sesuai dengan ketentuan. Jumlah larutan media yang dibuat dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan disesuaikan dengan perlakuan. Pada larutan tersebut kemudian ditambahkan sukrosa. Setelah itu ditetapkan pH-nya menjadi 5,8.

Selanjutnya ditambah agar sebanyak 8 $g.l^{-1}$ dan dimasak dengan pemanas elektrik. Selama pemasakan media harus diaduk dengan teratur. Pemasakan segera dihentikan jika larutan terlihat jernih. Setelah itu, media dituangkan 20 ml ke dalam setiap botol kultur steril dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian botol berisi media tersebut disterilkan dalam autoclave pada tekanan 15 psi dan temperatur 121°C selama 20 menit. Selesai sterilisasi, media dikeluarkan. Selanjutnya diinkubasi selama 1 minggu di ruang penyimpanan media sebelum digunakan untuk penanaman eksplan untuk mengetahui efektivitas sterilisasi.

Eksplan yang digunakan berasal dari benih steril yang dikecambahkan secara *in vitro*. Sterilisasi di luar air flow cabinet dilakukan dengan cara merendam benih dalam larutan deterjen selama 20 menit. Kemudian dibilas sampai bersih. Selanjutnya benih direndam dalam air panas dengan suhu 70°C selama 20 menit dan setelah itu dibawa ke dalam laminar air flow cabinet.

Sterilisasi ulang terhadap benih dengan cara merendam dalam larutan $HgCl_2$ 0.1% selama 3-5 menit dan dibilas dengan aquadest steril. Selanjutnya benih direndam dalam larutan chlorox 30% selama 10 menit dan dibilas dengan aquadest steril. Benih direndam kembali dalam larutan chlorox 10% selama 15 menit. Setelah itu dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3 kali.

Benih yang telah steril dikecambahkan secara *in vitro* pada media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh. Eksplan yang digunakan adalah kecambahan yang berumur 10-14 hari, diusahakan mempunyai penampilan fisik yang sama (tinggi,

warna, terbukanya kulit biji) dan dalam satu ulangan mempunyai umur yang sama. Dari kecambah tersebut diambil bagian epikotil.

Selanjutnya ekplan ditanam pada masing-masing botol kultur sesuai dengan perlakuan di dalam *laminar air flow cabinet*. dan ditumbuhkan dalam ruang kultur yang selalu dikendalikan temperatur dan kelembaban ruangnya.

Pengamatan dilakukan setiap dua minggu. Peubah yang diamati adalah : jumlah tunas, persentase ekplan yang membentuk akar, persentase ekplan yang membentuk akar dan tunas (planlet), serta ukuran kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Jumlah Tunas

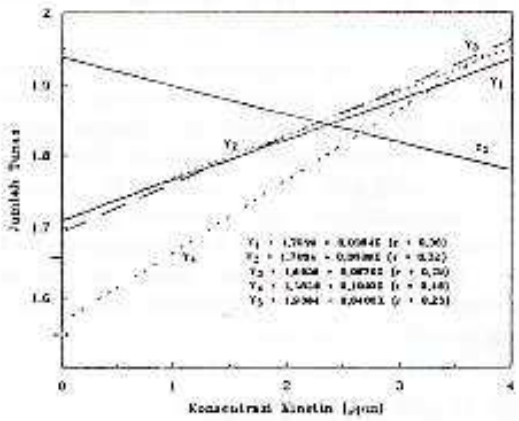
Hasil sidik ragam terhadap jumlah yang dihasilkan per kultur memperlihatkan bahwa pengaruh perlakuan auksin menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Sedangkan perlakuan kinetin dan interaksinya dengan auksin menunjukkan perbedaan nyata Hasil uji DNMRT terhadap jumlah tunas dengan perlakuan tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah tunas per eksplan pada beberapa konsentrasi pemberian Kinetin dan auksin (trasformasi dengan √(x+0,5))

Konsentrasi Kinetin (ppm)	Konsentrasi auksin (ppm)				
	0	0,01 IAA	0,1 IAA	0,01 NAA	0,1 NAA
0	$2,3^{aB}$	$2,0^{bB}$	$2,6^{aA}$	$1,8^{aB}$	$3,2^{aA}$
1	$2,8^{aAB}$	$2,9^{aA}$	$3,0^{aA}$	$2,8^{aA}$	$3,4^{aA}$
2	$3,0^{bAB}$	$3,7^{aA}$	$2,4^{bA}$	$2,5^{baB}$	$2,9^{aA}$
4	$3,2^{aA}$	$2,9^{aA}$	$3,6^{aA}$	$3,4^{aA}$	$2,7^{aA}$

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti oleh superskrip huruf kecil yang tidak sama dan angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh superskrip huruf besar yang tidak sama berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%

Dari Tabel 1 terlihat secara umum perlakuan kinetin dengan konsentrasi yang lebih tinggi (2 dan 4 ppm) menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak daripada tanpa pemberian kinetin dan pemberian kinetin 1 ppm. Pada perlakuan tanpa pemberian Kinetin dan pemberian Kinetin 1 ppm. jumlah tunas terbanyak dihasilkan jika kedua perlakuan tersebut ditambah dengan 0,1 ppm IAA. Pada perlakuan 4 ppm Kinetin jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada 0,1 ppm IAA.



Keterangan :
Y1 : 0 ppm auksin
Y2 : 0,01 ppm IAA
Y3 : 0,1 ppm IAA
Y4 : 0,01 ppm IAA
Y5 : 0,1 ppm IAA

Gambar 1. Hubungan antara Konsentrasi Kinetin dengan jumlah tunas sengon pada berbagai jenis dan konsentrasi auksin.

Sedangkan dari gambar 1 terlihat bahwa konsentrasi Kinetin yang semakin tinggi meningkatkan jumlah tunas secara linear pada pemberian auksin, kecuali pada perlakuan 0,1 ppm NAA. Hal ini membuktikan bahwa untuk pembentukan tunas sengon diperlukan keseimbangan yang tepat antara zat pengatur tumbuh Kinetin dan auksin.

Dari seluruh kombinasi perlakuan jumlah tunas terbanyak dihasilkan oleh perlakuan pemberian Kinetin 2 ppm dan 0,01 ppm IAA. Hal ini disebabkan kinetin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang merangsang pembelahan sel jika auksin terkandung dalam konsentrasi optimal dan ditumbuhkan pada media yang optimal (Lakitan, 1996). Sedangkan jumlah tunas paling sedikit dihasilkan pada perlakuan tanpa pemberian kinetin 0,01 ppm NAA.

2. Persentase Eksplan Membentuk Akar

Hasil sidik ragam terhadap persentase ekplan yang membentuk akar menunjukkan belum terdapat interaksi yang nyata antara auksin dan kinetin serta pemberian auksin sendiri,sedangkan pemberian kinetin menunjukkan pengaruh yang nyata. Pada Tabel 2 ditampilkan hasil uji DNMRT terhadap variabel pengamatan tersebut.

Tabel 2. Persentase eksplan membentuk akar pada beberapa konsentrasi kinetin dan auksin 8 MST (trasformasi dengan aresine)

Konsentrasi Kinetin (ppm)	Konsentrasi auksin (ppm)					Rerata
	0	0,01 IAA	0,1 IAA	0,01 NAA	0,1 NAA	
0	60	40	80	70	80	66[a]
1	40	0	20	20	0	16[b]
2	30	10	0	20	0	14[b]
4	20	10	20	30	0	20[b]
Rerata	37,5[a]	15[b]	30[ab]	35[a]	22,5[ab]	

Angka-angka pada baris dan kolom yang sama yang diikuti oleh superskrip huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%

Dari pengaruh faktor utama pemberian Kinetin (Tabel 2) terlihat bahwa perlakuan tanpa pemberian Kinetin memberikan persentase pembentukan akar tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan kinetin lainnya. Hal ini disebabkan pembentukan akar lebih dipengaruhi oleh kandungan auksin. Armini et al (1992) menyatakan jika nisbah sitokinin-auksin rendah, maka yang lebih mungkin terbentuk adalah akar. Perlakuan tanpa penambahaan auksin memberikan persentase pembentukan akar tertinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahaan auksin lainnya kecuali dengan perlakuan auksin 0,01 ppm IAA. Hal ini disebabkan kandungan auksin endogen yang telah tinggi pada tanaman mendorong persentase pembentukan akar yang lebih tinggi. Menurut Wattimena (1988) dan Davies (1995), auksin mendorong insiasi akar dan perkembangan akar cabang.

3. Persentase Eksplan Membentuk Plantlet

Pada pengamatan persentase eksplan yang membentuk tunas dan akar (plantlet), hasil sidik ragamnya menunjukkan belum terdapat interaksi yang nyata antar pemberian kinetin dan auksin. Pemberian auksin belum menunjukkan pengaruh yang nyata, sedangkan pemberian kinetin menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap persentase eksplan yang membentuk plantlet

Pada Tabel 3 terlihat berdasarkan rata-rata pengaruh utama pemberian Kinetin terhadap persentase eksplan yang membentuk tunas dan akar, semua eksplan tanpa pemberian Kinetin mampu membentuk tunas dan akar (plantlet) dan memberikan persentase pembentukan plantlet yang tertinggi. Hasil ini sejalan dengan pengamatan sebelumnya terhadap persentase eksplan yang membentuk akar.

Tabel 3. Persentase eksplan membentuk plantlet pada beberapa konsentrasi kinetin dan auksin 8 MST (trasformasi dengan aresine)

Konsentrasi Kinetin (ppm)	Konsentrasi auksin (ppm)					Rerata
	0	0,01 IAA	0,1 IAA	0,01 NAA	0,1 NAA	
0	60	40	70	70	80	64[a]
1	40	0	20	20	0	16[b]
2	30	20	0	20	10	14[b]
4	20	10	20	30	0	20[b]
Rerata	37,5[a]	15[b]	27.5[ab]	35[a]	22,5[ab]	

Angka-angka pada baris dan kolom yang sama yang diikuti oleh superskrip huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%

Dari rerata pengaruh faktor utama auksin, juga terlihat perlakuan tanpa penambahan auksin, pemberian auksin 0,01 ppm NAA dan 0,1 ppm IAA tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap persentase terbentuknya plantlet, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan pemberian auksin 0,01 ppm IAA. Persentase pembentukan plntlet tertinggi dihasilkan pada perlakuan tanpa pemberian auksin.

Persentase pembentukan plantlet yang tinggi pada rata-rata perlakuan tanpa pemberian auksin maupun tanpa pemberian kinetin kemungkinan diduga berasal dalam tanaman sendiri terdapat hormon endogen yang cukup untuk mendorong pembentukan tunas dan akar. Menurut Gardner, Pearce dan Mitchell (1985), auksin dan sitokinin banyak terdapat pada jaringan yang muda (juvenil).

4. Ukuran kalus

Berdasarkan uji sidik ragam terhadap ukuran kalus menggambarkan bahwa belum terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan pemberian auksin, tetapi perlakuan pemberian sitokinin dan interaksi antara auksin dan sitokinin menunjukkan pengaruh yang nyata. Pada Tabel 4 disajikan hasil uji DNMRT terhadap pengamatan tersebut.

Pada Tabel 4, pemberian kinetin tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap ukuran kalus yang dihasilkan. Namun secara umum, kalus yang dihasilkan dengan pemberian kinetin lebih besar ukurannya daripada tanpa perlakuan kinetin. Hal ini disebabkan sitokinin juga dibutuhkan untuk pembentukan kalus pada tanaman dikotil, walaupun yang lebih berperan adalah auksin.

Tabel . 4 Ukuran kalus per eksplan pada beberapa konsentrasi kinetin dan auksin (berdasarkan skoring) 4 MST (trasformasi dengan $\sqrt{(x+0,5)}$)

Konsentrasi Kinetin (ppm)	Konsentrasi auksin (ppm)					Rerata
	0	0.01 IAA	0.1 IAA	0.01 NAA	0.1 NAA	
0	2.3	2.0	2.4	2.3	2.4	2.28^b
1	2.1	2.3	2.1	2.6	2.1	2.20^b
2	2.4	2.8	2.5	2.6	2.4	2.54^b
4	2.3	2.8	3.1	2.6	2.7	2.70^b
Rerata	2.28^a	2.48^a	2.53^a	2.48^a	2.4^a	

Angka-angka pada baris dan kolom yang sama yang diikuti oleh superskrip huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata menurut DNMRT pada taraf 5%

Pemberian auksin baik IAA maupun NAA tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap ukuran kalus yang dihasilkan. Hal ini diduga karena kandungan auksin endogen dalam tanaman cukup tinggi sehingga eksplan mampu membentuk kalus.

Pada percobaan I dan II eksplan terlihat menguning dan kemudian mengalami senesen. Namun pada perlakuan tanpa pemberian zat pengatur tumbuh tingkat senesen tanaman tidak ditampilkan lebih rendah dan eksplan memberikan pertumbuhan yang cukup baik terlihat dengan pertumbuhannya yang lebih vigor, namun daya multiplikasi tunasnya rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa Kinetin 2 ppm dan IAA 0,1 ppm merupakan zat pengatur tumbuh paling baik untuk mendorong dan menghasilkan tunas sengon yang banyak secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

Armini, N.M., G.A. Wattimena, dan L.W. Gunawan, 1992. *Bioteknologi tanaman* (ed) G.A. Wattimena. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.

Atmosuseno, S.B. 1994. Sengon. *Budidaya, Kegunaan, dan Prospek Sengon.* Penebar Swadaya.

Davies, P.J. 1995. *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology.* Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 833 p.

Gardner, Pearce and Mitchell. 1985. *Physiology of Crop Plants.* The Iowa State University Press, Ames Iowa. 326p.

George, F.E. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture.* Exegetic Ltd. Eversley, Basingstoke, Hants. England. 709 p.

Gunawan, L.W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan.* PAU Bioteknologi. IPB. Bogor. 282 hal.

Lakitan, B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman.* Rajawali Pers. Jakrta. 218 hal.

Pierik, R.L.M. 1987. In vitro *Culture of higher Plants.* Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht.

Santoso, H.B. 1995. *Budidaya Sengon.* Kanisius, Yogyakarta, 50 p.

Suharti, M., Hartoyo, S. Adisoemarto, Sudrajat, Ng, Ginting, dan N. Sumiasri. 1991. *Buku Pintar Sengon* Paraserianthes falcataria *L. NIELSEN.* Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta. 34 hal.

Taji, A.M., W.A. Dodd, and R.R. Williams. 1992. *Plants Tissue Culture Practice.* Botany Department. The University of new England in Armidale. Armidale. 114p.

Wattimena, G.A. 1988. *Zat pengatur Tumbuh Tanaman.* Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor.