

## INDUKSI KALUS AKASIA (*Acacia mangium*) DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI 2,4-D DAN BAP PADA MEDIA MS

**Luluk Wahyuningtyas, Ruri Siti Resmisari, M. Si, Ach. Nashichuddin, M. A**

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

### ABSTRAK

Penelitian induksi kalus akasia (*Acacia mangium*) dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP pada media MS dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Mei-Agustus 2014. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama perlakuan konsentrasi 2,4-D (*Diclorophenoxyacetic acid*) yaitu 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, dan 4 mg/L. Faktor yang kedua yaitu perlakuan konsentrasi BAP (*Benzyl amino purine*) yaitu 0 mg/L, 0,5 mg/L, dan 1 mg/L untuk menginduksi kalus akasia (*Acacia mangium*). Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan Analisis Variansi (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap munculnya kalus ( $p=0,00$ ) tapi tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan berkalus ( $p=0,06$ ). Kombinasi terbaik dalam menumbuhkan kalus akasia (*Acacia mangium*) adalah 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP. Kombinasi tersebut mampu menginduksi kalus dalam waktu 33 hari dengan persentase 77,78%. Selain itu kalus yang dihasilkan berwarna putih dan bertekstur kompak.

**Kata Kunci** : Kalus Akasia (*Acacia mangium*), 2,4-D, BAP.

### PENDAHULUAN

*Acacia mangium*, yang juga dikenal dengan nama akasia adalah salah satu spesies pohon yang cepat tumbuh yang paling banyak digunakan dalam program ilmu kehutanan dan perkebunan di seluruh Asia dan Pasifik. Pertumbuhannya cepat, kualitas kayunya baik dan kemampuan toleransinya terhadap berbagai jenis tanah dan lingkungan (National Research Council, 1983)

Akasia merupakan salah satu tanaman industri yang sangat dibutuhkan dalam pemenuhan bahan baku *pulp*. Hal ini terbukti pada tahun 1984, telah dicanangkan pembangunan Hutan Tanaman Industri (HTI) di Indonesia. Kayu akasia telah dipilih sebagai salah satu jenis favorit untuk ditanam di areal HTI. Luas areal hutan tanaman akasia di Indonesia dilaporkan mencapai 67% dari total luas areal hutan tanaman akasia di dunia (FAO, 2002). Rimbawanto (2002) melaporkan bahwa sekitar 80% dari areal hutan tanaman di Indonesia yang dikelola oleh perusahaan

negara dan swasta terdiri dari akasia. Sekitar 1,3 juta ha hutan tanaman akasia telah dibangun di Indonesia untuk tujuan produksi kayu *pulp* (Departemen Kehutanan, 2003).

Industri *pulp* atau bubur kayu dan kertas Indonesia merupakan salah satu penyumbang terbesar di pasar internasional, dimana industri *pulp* yang menempati nomor 9 dan industri kertas menempati nomor 11 di dunia. Pada tahun 2017, kapasitas pabrik *pulp* diproyeksi meningkat 26,5% menjadi sekitar 10 juta ton. Peningkatan kapasitas ini akan berdampak pada peningkatan kebutuhan bahan baku kayu. Peningkatan tersebut diprediksi mencapai 45 juta m<sup>3</sup>, naik 27,5% jika dibandingkan pada tahun 2013 (Kementerian Perindustrian Republik Indonesia, 2013).

Seperti halnya industri *pulp*, kapasitas produksi kertas pada tahun 2017 juga diprediksi meningkat menjadi 17 juta ton atau naik 22,3% dibandingkan tahun 2013 yang sebanyak 13,9 juta ton. Volume ekspor *pulp* mencapai 3,1 juta ton dan kertas

sebanyak 4,2 juta ton. Peningkatan kapasitas industri *pulp* dan kertas dalam negeri tersebut disebabkan karena kebutuhan kertas dunia yang meningkat rata-rata 2,1% per tahun (Kementrian Perindustrian Republik Indonesia, 2013).

Sebagai salah satu jenis pohon prioritas dalam penanaman Hutan Tanaman Industri (HTI), keberhasilan penanaman akasia perlu ditunjang oleh ketersediaan benih yang bermutu, baik dalam jumlah yang cukup dan juga tersedia pada saat dibutuhkan. Oleh karena itu, langkah-langkah yang menjamin pengadaan benih secara terus-menerus, baik dalam mutu maupun jumlah yang dibutuhkan sangat dirasakan urgensinya.

Akasia pada umumnya dibudidayakan melalui perbanyakan secara generatif yaitu dengan menggunakan biji atau diperbanyak melalui perbanyakan secara vegetatif yaitu dengan mencangkok, stek, dan lain-lain. Namun untuk memenuhi permintaan pasar yang semakin meningkat tersebut, perbanyakan dengan cara konvensional tidaklah efektif untuk mendapatkan bibit yang unggul dan seragam dalam waktu yang relatif singkat. Kelemahan perbanyakan secara konvensional adalah membutuhkan waktu yang cukup lama dalam pengadaan bibit dari mulai benih hingga menghasilkan biji kembali. Seperti yang diungkapkan Krisnawati (2011), bahwa akasia mulai berbunga dan menghasilkan biji sekitar 18-20 bulan setelah tanam. Selain itu dari segi genetik, kualitas biji yang dihasilkan belum diketahui secara pasti dan belum tentu seragam. Namun seiring dengan kemajuan teknologi, teknik kultur *in vitro* menjadi alternatif dalam perbanyakan akasia karena dapat menghasilkan banyak bibit yang unggul dan seragam dalam waktu yang singkat.

Kultur *in vitro* adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat bergenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Winata, 1987). Zulkarnain (2009) menambahkan, dengan kultur *in vitro*, rekombinasi acak dari karakter genetik yang terjadi pada

perbanyakan seksual (melalui biji) dapat dihindarkan. Oleh karena itu, tanaman yang dihasilkan secara genetik akan identik dengan induknya.

Induksi kalus merupakan salah satu teknik dalam kultur *in vitro* yang bertujuan untuk perbanyakan secara masal. Kalus merupakan sumber bahan tanam yang sangat penting dalam meregenerasi tanaman yang baru. Setiap selnya memiliki kemampuan membentuk organisme baru. Oleh karena itu, dengan menginduksi kalus pemenuhan bibit akasia dapat dicapai dalam waktu singkat dan hasil yang banyak. Selain itu, penggunaan kalus akan sangat menguntungkan karena pembentukan kalus dapat diinisiasi dari jaringan manapun dari tanaman.

Keberhasilan kultur *in vitro* ditentukan oleh media. Media mempunyai 2 fungsi utama, yaitu untuk menyuplai nutrisi dan untuk mengarahkan pertumbuhan melalui zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus adalah auksin dan sitokinin. Diantara golongan auksin yang umum digunakan pada media kultur *in vitro* adalah 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid). Menurut Indah dan Ermavitalini (2013), 2,4-D memiliki sifat lebih stabil jika dibandingkan auksin lain seperti IAA karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada saat sterilisasi. Selain auksin, pemberian sitokinin juga berperan dalam menginduksi kalus dimana perannya memicu pembelahan sel. Salah satu golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BAP (6-Benzyl amino purine). BAP memiliki sifat stabil, tidak mahal dan lebih efektif jika dibandingkan dengan kinetin.

Beberapa penelitian mengenai 2,4-D dan BAP untuk menginduksi kalus telah dilakukan. Lizawati dkk (2012) menunjukkan bahwa perlakuan 4 ppm 2,4-D dengan kombinasi 0,5 ppm BAP menghasilkan kalus eksplan daun durian yang paling cepat yaitu 8 hari setelah tanam dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Penelitian Argaloka (2013), menunjukkan persentase kalus kotiledon *Acacia mangium*

tertinggi diperoleh pada media MS yang diberi 1 mg/L BAP ditambah 2 mg/L 2,4-D yaitu persentase 83,3%. Persentase terbentuknya kalus dan perkembangan kalus jati tertinggi dicapai pada perlakuan 1,5 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L BAP dalam penelitian Armaniar (2004) yaitu sebesar 100%. Kalus yang terbentuk berwarna hijau hingga hijau keputihan.

Konsentrasi 2,4-D dan BAP yang digunakan dalam penelitian ini merujuk pada penelitian-penelitian sebelumnya seperti pada penjelasan diatas. Berdasarkan pemahaman di atas, penelitian dengan judul “induksi kalus akasia (*Acacia mangium*) dengan penambahan 2,4-D dan BAP pada media MS” diharapkan mampu menginduksi kalus akasia.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, pada bulan Mei-Agustus 2014.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan filodia (daun semu) akasia yang masih muda yang ditumbuhkan dalam rumah kaca. Eksplan dicuci dengan *detergent* cair lalu dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya eksplan direndam dalam fungisida 5% selama 1 jam kemudian dibilas dengan air mengalir. Sterilisasi selanjutnya dilakukan didalam LAF dengan cara : eksplan direndam dalam larutan NaOCl 30%, 20%, 10% masing-masing 10 menit, lalu dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali, dan selanjutnya direndam pada larutan *iodine* selama 1 menit. Media dasar yang digunakan adalah media MS yang dipadatkan dengan agar 7 g/l.

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 4 taraf : D1 = 0 mg/l 2,4-D; D2 = 1mg/l 2,4-D; D3 = 2 mg/l 2,4-D; D4 = 4 mg/l 2,4-D. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari 3 taraf : B1 = 0 mg/l BAP; B2 = 0,5

mg/l BAP; B3 = 1 mg/l BAP. Dari dua faktor tersebut dihasilkan 12 kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan.

Setiap perlakuan terdiri 3 botol yang terdiri dari 3 eksplan. Kultur diinkubasi pada suhu 25°C dengan pencahayaan 36 watt dan kelembapan ruang 70% selama 8 minggu atau 56 hari. Pengamatan dilakukan terhadap munculnya kalus, persentase eksplan berkalus, warna dan tekstur kalus. Kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi (ANAVA) dan diuji lanjut dengan uji DMRT pada selang kepercayaan sebesar 5 %.

## HASIL DAN PENGAMATAN

### Munculnya Kalus

Pembentukan kalus menurut Astutik (2007) diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua. Ketika tanaman dilukai maka kalus akan terbentuk akibat selnya mengalami kerusakan dan terjadi autolisis (pemecahan), dan dari sel yang rusak tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel di lapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdiferensiasi.

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANAVA) menunjukkan bahwa 2,4-D dan BAP serta kombinasi keduanya memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hari munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*) ( $\rho=0,00$ ). Keberadaan 2,4-D sebagai hormon auksin memiliki pengaruh yang signifikan terhadap hari munculnya kalus akasia ( $\rho = 0,00$ ), oleh karena itu di uji lanjut dengan uji DMRT 5%.

Tabel 1. Hasil uji DMRT 5% pengaruh 2,4-D terhadap munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*) pada media MS

| Konsentrasi 2,4-D (mg/L) | Munculnya Kalus (Hari) |
|--------------------------|------------------------|
| 0                        | -                      |
| 1                        | 26,89 b                |
| 2                        | 23,22 a                |
| 4                        | 23,33 a                |

Keterangan: Angka yang didampingi oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT  $\alpha=0,05$ , tanda (-): belum muncul kalus

Berdasarkan Tabel 1., tiap konsentrasi 2,4-D mampu menginduksi kalus. Konsentrasi 2,4-D 2 mg/L dan 4 mg/L tidak berbeda nyata dalam menginduksi

kalus. Kedua konsentrasi tersebut sama-sama menginduksi kalus hari ke 23. Sedangkan konsentrasi 2,4-D 1 mg/L menginduksi kalus hari ke 26,89. Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan dan diikuti dengan munculnya kalus yang nampak putih di ujung dan tepi eksplan.

Kalus terbentuk melalui tiga tahapan. Dodds dan Roberts (1985) mengemukakan bahwa tiga tahapan tersebut meliputi induksi, pembelahan sel dan diferensiasi sel. Kalus yang dihasilkan pada penelitian ini belum ke tahap diferensiasi karena kalus yang terbentuk hanya pada daerah bekas pelukaan saat pemotongan dan menunjukkan aktifitas pembengkakan sel. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Suryowinoto (1996) bahwa terbentuknya kalus pada eksplan adalah dikarenakan sel-sel yang kontak dengan medium terdorong menjadi meristematik. Sel-sel yang bersifat meristematik ini selanjutnya aktif membelah dan memperbanyak diri, namun tidak berdiferensiasi, sehingga tidak terorganisir dan menjadi seperti jaringan penutup luka.

Pembengkakan pada eksplan menandakan bahwa eksplan sudah merespon media yang diberikan. Media tersebut diserap eksplan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan kalus yang selanjutnya akan ditandai dengan tahapan proliferasi (perbanyakkan sel). Pembentukan kalus tidak terlepas dari pembelahan, pembesaran dan pemanjangan sel. 2,4-D merupakan auksin yang berperan dalam pembelahan, pembesaran dan pemanjangan sel sebagai akibat ion organik dan molekul anorganik masuk ke dalam sel. Menurut Campbell (2005) pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memainkan peranan dalam respons pertumbuhan dari sel-sel terhadap auksin. Pada daerah pemanjangan suatu tunas, auksin merangsang pompa proton, yaitu satu tindakan yang menurunkan pH pada dinding sel. Pengasaman dinding ini mengaktifkan enzim-enzim yang memecahkan ikatan silang (ikatan hidrogen) yang terdapat antara mikrofibril-mikrofibril selulosa, sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Karena dindingnya sekarang lebih plastis, sel bebas mengambil tambahan air melalui osmosis.

Konsentrasi 2 mg/L 2,4-D adalah konsentrasi yang terbaik dalam menginduksi kalus paling cepat. Hal ini menunjukkan bahwa untuk induksi kalus dibutuhkan 2,4-D dengan konsentrasi yang tidak terlalu tinggi. Sama halnya dengan hasil penelitian Zulkarnain dan Lizawati (2011) menunjukkan bahwa kultur hipokotil *Jatropha curcas* L. tercepat dapat dihasilkan dari perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 2 mg/L.

Pemberian auksin sangat efektif untuk menginduksi pembentukan kalus, walaupun demikian peranan sitokinin sangat dibutuhkan untuk proliferasi kalus sehingga kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus (Abidin, 1983). Penelitian ini menggunakan konsentrasi sitokinin BAP yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi auksin (2,4-D), diduga perbedaan konsentrasi keduanya akan menginduksi kalus pada eksplan daun semu akasia. Thomy (2012) menyatakan bahwa secara umum penambahan auksin pada konsentrasi tinggi memacu pembentukan kalus, sebaliknya jika perbandingan auksin dan sitokinin di dalam media lebih rendah akan memacu pertumbuhan eksplan beregenerasi membentuk organ.

Tabel 2. Hasil uji DMRT 5% pengaruh BAP terhadap munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*) Pada Media MS

| Konsentrasi BAP (mg/L) | Munculnya Kalus (Hari) |
|------------------------|------------------------|
| 0                      | -                      |
| 0,5                    | 29,67 b                |
| 1                      | 25,42 a                |

Keterangan: Angka yang didampingi oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT  $\alpha=0,05$ , tanda (-) : tidak muncul kalus

Pengaruh BAP terhadap munculnya kalus pada Tabel 2. menunjukkan bahwa konsentrasi 1 mg/L BAP mampu menginduksi kalus lebih cepat yaitu 25,42, jika dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/L BAP yang mampu menginduksi kalus 29,67 hari. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP yang semakin tinggi akan semakin mempercepat induksi kalus. Berbeda pada penelitian Ramdan (2014), pada konsentrasi sitokinin yang rendah (0,5 mg/L) mampu menginduksi kalus *Citrus rootstock* paling cepat yaitu 8 hari setelah tanam.

Kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus akasia. Hal ini terbukti dari hasil analisis variansi (ANAVA) yang

menunjukkan nilai signifikansi ( $\rho = 0,00$ ). Kemudian diuji lanjut dengan uji DMRT 5%. Tabel 3. menunjukkan bahwa perlakuan yang menginduksi kalus paling cepat (29,33 hari) adalah perlakuan D2B3 (1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP). Sedangkan perlakuan D2B2 (1mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L) menginduksi kalus paling lama yaitu 51,33 hari.

Tabel 3. Hasil uji DMRT 5% Pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*)

| No. | Perlakuan | Konsentrasi ZPT |     | Munculnya Kalus (Hari) |
|-----|-----------|-----------------|-----|------------------------|
|     |           | 2,4-D           | BAP |                        |
| 1.  | D1B1      | 0               | 0   | -                      |
| 2.  | D1B2      | 0               | 0,5 | -                      |
| 3.  | D1B3      | 0               | 1   | -                      |
| 4.  | D2B1      | 1               | 0   | -                      |
| 5.  | D2B2      | 1               | 0,5 | 51,33 d                |
| 6.  | D2B3      | 1               | 1   | 29,33 a                |
| 7.  | D3B1      | 2               | 0   | -                      |
| 8.  | D3B2      | 2               | 0,5 | 34,67 bc               |
| 9.  | D3B3      | 2               | 1   | 35,00 bc               |
| 10. | D4B1      | 4               | 0   | -                      |
| 11. | D4B2      | 4               | 0,5 | 32,67 ab               |
| 12. | D4B3      | 4               | 1   | 37,33 c                |

Keterangan: Angka yang didampingi oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT  $\alpha=0,05$ , tanda (-) : belum muncul kalus

Perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang sama (1 mg/L) mampu menginduksi kalus paling cepat. Hal ini diduga karena kebutuhan eksplan akan zat pengatur tumbuh untuk menginduksi kalus sangat rendah, sehingga pada konsentrasi 1 mg/L, sudah cukup untuk menginduksi kalus. Namun ketika konsentrasi BAP dikurangi menjadi 0,5 mg/L, eksplan menginduksi kalus paling lama (51,33 hari). Hal ini diduga karena kadar BAP yang rendah tidak dapat mengimbangi kadar 2,4-D yang diberikan sehingga pembentukan kalus menjadi terhambat. Menurut Karjadi dan Buchory (2007) auksin dan sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan atau kultur organ. Perimbangan konsentrasi dan interaksi antar ZPT yang diberikan dalam media dan diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur.

Menurut Gunawan (1987) konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap induksi kalus. Kalus yang tidak muncul dimungkinkan karena eksplan mempunyai kandungan auksin dan sitokinin endogen yang rendah, sehingga masih membutuhkan tambahan auksin atau sitokinin eksogen yang lebih banyak. Selain itu, pemberian 2,4-D dan BAP secara tunggal tidak mampu

mengimbangi atau bahkan menghambat auksin dan sitokinin endogen dalam eksplan sehingga dibutuhkan kombinasi antara keduanya.

Cepat lambatnya munculnya kalus dipengaruhi oleh kerja hormon auksin dan sitokinin endogen dan eksogen yang saling berkorelasi. Seperti yang diungkapkan Indah dan Ermavitalini (2013) bahwa penambahan auksin dan sitokinin eksogen akan mengubah konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen sel. Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman.

### Persentase Eksplan Berkalus

Berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan berkalus. Hal ini ditunjukkan pada nilai signifikansinya ( $\rho=0,06$ ). Sedangkan faktor 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan berkalus. Kedua faktor tersebut memiliki nilai signifikansi ( $\rho=0,00$ ).

Dalam Tabel 4. dapat dilihat bahwa 2,4-D 4 mg/L menghasilkan persentase kalus paling tinggi yaitu 44,44%. Sedangkan konsentrasi 2,4-D 1 mg/L dan 2 mg/L menghasilkan kalus 33,33% dan 29,6%. Ketiga konsentrasi tersebut tidak berbeda nyata.

Tabel 4. Hasil uji DMRT 5% pengaruh 2,4-D terhadap persentase eksplan berkalus

| Konsentrasi 2,4-D (mg/L) | Persentase Eksplan Berkalus (%) |
|--------------------------|---------------------------------|
| 0                        | 0,00 a                          |
| 1                        | 33,33 b                         |
| 2                        | 29,63 b                         |
| 4                        | 44,44 b                         |

Keterangan: Angka yang didampingi oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT  $\alpha=0,05$

Konsentrasi 2,4-D yang tinggi mampu memicu pertumbuhan kalus lebih banyak dibandingkan dengan dua konsentrasi yang lain, namun tidak berbeda nyata. Keberadaan 2,4-D dalam media sangat mendukung pertumbuhan kalus. Gati dan Mariska (1992) menyebutkan bahwa 2,4-D efektif untuk merangsang pembentukan kalus karena aktifitas yang kuat untuk memicu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus. Konsentrasi 2,4-D yang tinggi (4 mg/L) menghasilkan persentase kalus paling

tinggi. Marlin (2012) menjelaskan bahwa untuk pembentukan kalus diperlukan auksin dalam jumlah yang relatif tinggi. Konsentrasi auksin yang tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis. Kadar auksin yang tinggi dalam penelitian ini akan meningkatkan aktivitas auksin dalam eksplan yang berperan dalam proliferasi sel untuk membentuk kalus.

Kebutuhan akan auksin untuk menginduksi kalus tergantung kadar auksin endogen. Seperti yang diungkapkan Karjadi dan Buchory (2008) bahwa kebutuhan hormon eksogen bergantung pada jumlah hormon endogen yang terkandung pada eksplan. Jika dilihat dari hasil yang diperoleh, kebutuhan akan auksin eksogen cukup tinggi untuk meningkatkan pertumbuhan kalus.

Berdasarkan Tabel 5. BAP menghasilkan persentase eksplan berkalus 41,67% pada konsentrasi 0,5 mg/L dan 38,89% pada konsentrasi 1 mg/L. Hasil kedua konsentrasi tersebut tidak berbeda nyata.

Tabel 5. Hasil uji DMRT 5% pengaruh BAP terhadap persentase eksplan berkalus

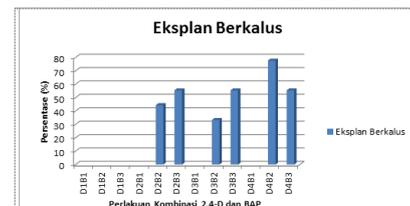
| Konsentrasi BAP (mg/L) | Persentase Eksplan Berkalus (%) |
|------------------------|---------------------------------|
| 0                      | 0,00 a                          |
| 0,5                    | 41,67 b                         |
| 1                      | 38,89 b                         |

Keterangan: Angka yang didampangi oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT  $\alpha=0,05$

Pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Menurut Zulkarnain (2009) apabila ketersediaan sitokinin di dalam medium kultur sangat terbatas maka pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan akan terhambat.

Konsentrasi BAP yang rendah (0,5 mg/L) mampu menghasilkan kalus 41,67%. Konsentrasi yang rendah tersebut sudah cukup mampu menghasilkan kalus lebih banyak jika dibandingkan dengan peningkatan konsentrasi BAP hingga 1 mg/L. Kemungkinan pemberian sitokinin eksogen dibutuhkan eksplan dalam konsentrasi yang rendah untuk menginduksi kalus. Hal tersebut tidak terlepas oleh

pengaruh hormon endogen dalam eksplan. Abidin (1983) menyatakan zat pengatur tumbuh pada konsentrasi tertentu mampu menghambat kerja hormon endogen dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel. Hormon bekerja optimal pada konsentrasi tertentu dan sel umumnya mengandung hormon cukup atau hampir cukup untuk memanjang secara normal.



Gambar 4.2 Histogram persentase eksplan berkalus pada tiap perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP (D1= 0 mg/L, D2= 1 mg/L, D3 = 2 mg/L, D4 = 4 mg/L, B1= 0 mg/L, B2 = 0,5 mg/L, dan B3= 1 mg/L)

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP yang mampu menghasilkan persentase eksplan berkalus paling tinggi adalah perlakuan D4B3 (4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP) yaitu 77,78% (Gambar 1.). Pada perlakuan tersebut konsentrasi 2,4-D sangat tinggi sedangkan konsentrasi BAP rendah. Hal ini dapat diduga kadar auksin endogen eksplan sangat rendah sehingga memerlukan tambahan auksin eksogen dengan konsentrasi yang tinggi. Sebaliknya kadar sitokinin endogen dalam eksplan sudah tinggi sehingga pemberian konsentrasi BAP yang rendah sudah cukup untuk menghasilkan kalus. Menurut Rivai dkk (2014) media dengan konsentrasi auksin lebih tinggi akan menginduksi pembentukan kalus dan menekan morfogenesis. Zulkarnain (2009) menambahkan senyawa 2,4-D diketahui dapat menginduksi perbanyakan sel tetapi menekan diferensiasi pada tanaman dikotil seperti akasia.

Berbeda pada penelitian Armaniar (2004), pada perlakuan 2,4-D yang rendah 1,5 mg/L yang dikombinasikan dengan BAP 0,5 mg/L mampu membentuk kalus *Tectona grandis* L.F. dengan persentase hingga 100%. Kemudian pada penelitian Ajjah dkk (2010), menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D 2 mg/L + kinetin 0,5 mg/L mampu menghasilkan persentase eksplan buku *Vanilla planifolia* ANDREW. berkalus paling tinggi sebesar 60%. Hal ini menurut Marlin dkk (2012) dikarenakan sumber

eksplan yang berbeda memberikan respon yang tidak sama terhadap pemberian ZPT secara eksogen.

### Warna Kalus

Warna kalus merupakan salah satu indikator dalam teknik kultur jaringan karena pada setiap eksplan akan menghasilkan warna kalus yang berbeda-beda dan dapat dipengaruhi oleh laju pertumbuhan kalus pada media. Setiap perlakuan dengan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP menunjukkan warna kalus yang berbeda-beda. Respon pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap warna kalus ditunjukkan pada Tabel 6.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh dua warna kalus akasia yaitu hijau keputihan dan putih. Menurut Fatmawati (2008), warna kalus menginduksi keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya. Warna terang atau putih dapat menginduksi bahwa kondisi kalus masih cukup baik.

Tabel 6. Warna kalus akasia (*Acacia mangium*)

| No. | Perlakuan | Konsentrasi ZPT |     | Warna Kalus     |
|-----|-----------|-----------------|-----|-----------------|
|     |           | 2,4-D           | BAP |                 |
| 1.  | D1B1      | 0               | 0   | -               |
| 2.  | D1B2      | 0               | 0,5 | -               |
| 3.  | D1B3      | 0               | 1   | -               |
| 4.  | D2B1      | 1               | 0   | -               |
| 5.  | D2B2      | 1               | 0,5 | Hijau keputihan |
| 6.  | D2B3      | 1               | 1   | Hijau keputihan |
| 7.  | D3B1      | 2               | 0   | -               |
| 8.  | D3B2      | 2               | 0,5 | Putih           |
| 9.  | D3B3      | 2               | 1   | Putih           |
| 10. | D4B1      | 4               | 0   | -               |
| 11. | D4B2      | 4               | 0,5 | Putih           |
| 12. | D4B3      | 4               | 1   | Putih           |

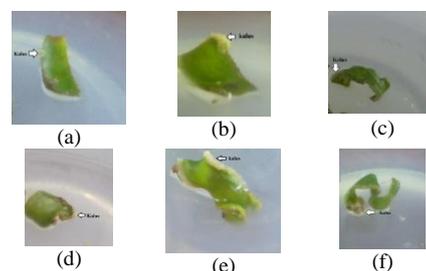
Keterangan (-) : belum muncul kalus

Kalus hijau keputihan diperoleh pada media dengan penambahan 1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dan 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP. Sedangkan kalus putih diperoleh pada media dengan penambahan 2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP, 2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP, 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L, dan 4 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP. Perbedaan warna kalus tersebut menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang berbeda-beda. Warna kalus hijau keputihan ditunjukkan pada perlakuan dengan konsentrasi auksin yang rendah dengan konsentrasi sitokinin yang rendah pula. Peran sitokinin disini kemungkinan mempengaruhi kalus hijau keputihan. Sitokinin berperan dalam memperlambat proses senesensi (penuaan) sel dengan menghambat perombakan butir-butir klorofil dan protein dalam sel (Wattimena, 1988). Andaryani (2010)

menambahkan bahwa warna hijau keputihan pada kalus disebabkan adanya interaksi antara 2,4-D (auksin) dan BAP (sitokinin) yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus dan faktor lingkungan seperti paparan cahaya.

Menurut Ariati (2012), kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi. Leupin (2000) menambahkan bahwa kalus yang berwarna putih mengandung plastid yang berisi butir pati yang sedikit demi sedikit tumbuh menjadi sistem membran yang jelas yang akhirnya terbentuklah butir-butir klorofil dengan paparan cahaya, sehingga kalus menjadi berwarna hijau.

Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan dalam media mempengaruhi penurunan kandungan klorofil dan karoten. Penurunan kandungan klorofil ini diduga terjadi karena pengaruh auksin pada metabolisme karbohidrat. Sintesis klorofil dipengaruhi oleh karbohidrat yang merupakan zat pokoknya (Rahayu dkk, 2003). Seperti halnya pada penelitian ini ketika konsentrasi 2,4-D ditingkatkan dengan konsentrasi BAP yang sama kalus cenderung berwarna putih. berlanjutnya pertumbuhan kalus maka akan diikuti dengan perubahan warna kalus. Kalus muda berwarna putih, kemudian warnanya akan berubah menjadi hijau dengan bertambahnya umur dan menandakan adanya klorofil dan telah terjadi proses fotosintesis. Perbedaan warna kalus ini disebabkan adanya perubahan pigmentasi (Rahayu dkk, 2003).



Gambar 2. : (a) D2B2 (1 mg/L 2,4-D+ 0,5 mg/L BAP), (b) D2B3 (1 mg/L 2,4-D+ 1 mg/L BAP), (c) D3B2 (2 mg/L 2,4-D+0,5 mg/L BAP), (d) D3B3 (2 mg/L 2,4-D+ 1 mg/L BAP), (e) D4B2 (4 mg/L 2,4-D+0,5 mg/L BAP), (f) D4B3 (4 mg/L 2,4-D+ 1 mg/L BAP)

## Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu indikator pertumbuhan kalus. Tekstur yang baik adalah tekstur yang remah (*friable*), karena tekstur yang remah lebih mudah untuk dipisah-pisahkan antara sel yang satu dengan yang lainnya. Selain bertekstur remah kalus dapat juga membentuk tekstur kompak, yaitu kalus yang memiliki sel-sel yang berikatan rapat dan padat.

Berdasarkan hasil penelitian tekstur kalus akasia dapat dilihat pada Tabel 10. kalus akasia yang terbentuk bertekstur remah dan kompak. Pada kombinasi perlakuan 2,4-D 1 mg/L + BAP 0,5 mg/L dan 2,4-D 1 mg/L + BAP 1 mg/L kalus yang terbentuk bertekstur remah sedangkan kombinasi perlakuan 2,4-D 2 mg/L + BAP 0,5 mg/L, 2,4-D 2 mg/L + BAP 1 mg/L, 2,4-D 4 mg/L + BAP 0,5 mg/L, dan 2,4-D 4 mg/L + BAP 1 mg/L kalus yang terbentuk bertekstur kompak.

Tabel 7. Tekstur kalus akasia (*Acacia mangium*)

| No. | Perlakuan | Konsentrasi ZPT |     | Warna Kalus |
|-----|-----------|-----------------|-----|-------------|
|     |           | 2,4-D           | BAP |             |
| 1.  | D1B1      | 0               | 0   | -           |
| 2.  | D1B2      | 0               | 0,5 | -           |
| 3.  | D1B3      | 0               | 1   | -           |
| 4.  | D2B1      | 1               | 0   | -           |
| 5.  | D2B2      | 1               | 0,5 | Remah       |
| 6.  | D2B3      | 1               | 1   | Remah       |
| 7.  | D3B1      | 2               | 0   | -           |
| 8.  | D3B2      | 2               | 0,5 | Kompak      |
| 9.  | D3B3      | 2               | 1   | Kompak      |
| 10. | D4B1      | 4               | 0   | -           |
| 11. | D4B2      | 4               | 0,5 | Kompak      |
| 12. | D4B3      | 4               | 1   | Kompak      |

Keterangan (-) : belum muncul kalus

Pada penelitian ini penggunaan kombinasi 2,4-D dan BAP hampir semuanya menghasilkan kalus kompak. Kalus dengan tekstur kompak yang terbentuk memiliki ciri-ciri antara satu sel dengan yang lain sulit dipisahkan dan cenderung padat menggumpal. Menurut Ariati (2012) kalus bertekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan memiliki banyak pati gandum (karbohidrat).

Tekstur pada kalus yaitu kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur (Pierik, 1987). Meskipun tidak terbentuk secara sempurna, kalus yang diperoleh pada penelitian ini dapat diidentifikasi teksturnya seperti yang terlihat pada Gambar 2.

Menurut Santoso dan Nursandi (2004) kalus yang kompak dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya disebabkan karena sel-sel yang semula membelah mengalami penurunan aktivitas proliferasinya. Aktivitas ini dipengaruhi auksin alami yang terdapat pada eksplan asal. Hasil kalus kompak diperoleh pada kombinasi 2,4-D dengan konsentrasi lebih tinggi daripada konsentrasi BAP. Hal ini dapat disebabkan karena tingginya konsentrasi auksin yang diberikan mempengaruhi peningkatan konsentrasi auksin endogen eksplan. Selain itu adanya sitokinin (BAP) dalam konsentrasi rendah juga dapat mempengaruhi terbentuknya kalus kompak tersebut. Seperti yang dikatakan Ariati (2012) bahwa tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku.

Enam perlakuan yang menghasilkan kalus dua diantaranya bertekstur remah. Perlakuan tersebut adalah perlakuan dengan konsentrasi auksin yang rendah (1 mg/L). Hal ini menunjukkan bahwa untuk menginduksi kalus remah dibutuhkan konsentrasi auksin yang rendah yang dikombinasikan dengan sitokinin dengan konsentrasi yang rendah pula. Menurut Lizawati (2012), terbentuknya kalus yang berstruktur remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut.

Andaryani (2010) menyatakan secara visual, kalus remah yang terbentuk pada eksplan, ikatan antar selnya tampak renggang, mudah dipisahkan dan jika di ambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan ada yang menempel pada pinset. kalus remah terlihat memiliki sel-sel yang kecil dan bergerombol dan jika diambil sel-selnya mudah lepas. Thomy (2012) mengatakan bahwa tekstur kalus yang remah atau mudah pecah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal, disamping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel dengan demikian, dengan tekstur tersebut upaya untuk perbanyakan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa ada pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP pada media MS terhadap munculnya kalus, namun tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan berkalus. Kombinasi 2,4-D dan BAP terbaik dalam menginduksi kalus adalah 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP yaitu pada hari ke-33 mampu menginduksi kalus 77,78% dengan kualitas kalus kompak dan berwarna putih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung : Angkasa.
- Ajijah, N., Tasma, I. M., dan Hadipoentyanti, E. 2010. Induksi Kalus Vanili (*Vanilla planifolia* ANDREW.) Dari Eksplan Daun dan Buku. *Buletin RISTR*.1 (5)
- Andaryani, S. 2010. *Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara in vitro*. Surakarta : Universitas Seblas Maret.
- Argaloka, Aland Yusro. 2013. Pengaruh Kombinasi ZPT BAP dan 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Kotiledon Akasia (*Acacia mangium*) Pada Media MS. *Skripsi*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Ariati, Sri Niken; Muslimin, Waeniati; dan Suwastika, Nengah. 2012. Induksi Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science*.1 (1) : 74-78
- Armaniar. 2004. Pengaruh 2,4-D dan BAP Pada Kultur Pucuk Jati (*Tectona Grandis* L.F). *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. 2(3) : 41-44
- Astutik, S. 2007. Pengaruh varietas kedelai (*Glycine max*) terhadap pertumbuhan kalus dan kandungan senyawa isoflavon (*Daidzein* dan *Genisten*). *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan IPA Universitas Islam Malang
- Campbell, Neil A. 2005. *Biologi Edisi Kelima*. Jakarta : Erlangga
- Departemen Kehutanan. 2003. *Pembangunan Hutan Tanaman Industri (HTI)-Pulp 2002*. Departemen kehutanan, Jakarta, Indonesia.
- Dodds, J.H. and Roberts, L. W. 1985. *Experiments in Plant Tissue Culture*. Cambridge : Cambridge University Press.
- Fatmawati, A. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Tanaman *Artemisia annua* L. Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta
- Food And Agriculture Organization of The United Nations (FAO). 2002. *Tropical Forest Plantation Areas 1995 date set by D. Pandey*. Forest Plantation Working Paper 18. Forest Resources Development Service, Forest Resources Divison. FAO, Roma, Italia
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi. IPB Bogor
- <http://www.kemenprin.go.id/artikel/kapasitas-produksi-kertas-dan-bubur> (diunduh pada tanggal 16 Maret 2014)
- 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
- Karjadi, A.K dan Buchory, A. 2007. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Jaringan Meristem Bawang Putih Pada Media B5. *Jurnal Hort*. 17 (3) :217-223
- Karjadi, A.K dan Buchory, A. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, penambahan BAP, dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang

- Merah. *Jurnal Hortikultura*. 18(1):1-9
- Krisnawati, H. 2011. *Acacia mangium* Willd. *Ekologi, Silikultur dan Produktivitas*. Bogor : Cifor
- Leupin, Ruth E., Leupin Mariane, Charles Ehret, Karl H. Erismann, and Witholt Bernard. 2000. Compact Callus Induction and Plant Regeneration of A Non-Flowering Vitiver From Java. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Switzerland. 62 : 115-123
- Lizawati, Neliyati dan Desfira, Retna. 2012. *Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (Durio zibethinus Murr.cv. Selat Jambi) Pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP*. 1(1): 2302-6472.
- 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)
- Mariska, I. 1992. Perbanyakkan Vegetatif Tanaman Melinjo Melalui Kultur Jaringan. *Prosiding Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Nasional*. Pusat Litbang Bioteknologi LIPI. 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
- National Research Council. 1983. *Mangium and Other Fast-Growing Acacias For The Humid Tropics*. Natioanl Academy Press. Washington, DC, AS.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Netherland : Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht.
- Rahayu, B., Solichatun, Anggarwulan, Endang. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksi asetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*. 1(1) : 1-6. *ISSN : 1693-2242*
- Ramdan, R., Handaji, N., Beyahia, H., dan Ibriz, M. 2014. Influence of Regulator On Callus Induction From Embryos of Five *Citrus rootsocks*. *Journal of Applied Biociences*. 73 : 5959-5965
- Rimbawanto, A. 2002. *Plantation And Tree Improvement Trends in Indonesia*. Dalam : Barry, K. (ed) *Heartrots In Plantation Hardwoods in Indonesia Australia*, 3-7. ACIAR Technical Report 51e. Australian Centre for International Agriculture Research, Canberra, Australia
- Rivai, Reza Ramdan, Husni, Ali, dan Purwito, Aggus. 2014. Induksi Kalus dan Embrio Somatik Tanaman Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.). *Buletin Agrohorti*. 2(1) : 49-58
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang : Pusbitan UMM.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta : Kanisius.
- Thomy, Z. 2012. *Effect of Plant Growth Regulator 2,4-D and BAP on callus Growth of Plants Producing Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.)*. Prasiding Seminar Hasil Nasional Biologi. Medan, 11 Mei 2012
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor : Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.
- 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*. Jakarta : Bumi Aksara.