

## BAB IV

### HASIL DAN PENGAMATAN

#### 4.1 Munculnya Kalus Akasia (*Acacia mangium*)

Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan dan diikuti dengan munculnya kalus yang nampak putih di ujung dan tepi eksplan. Pembentukan kalus pada ujung eksplan menurut Astutik (2007) diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menajadi 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 (ANOVA) menunjukkan bahwa 2,4-D dan BAP serta kombinasi keduanya memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hari munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*) (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Hasil ANOVA pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*) Pada Media MS

SK	db	JK	KT	F	Sig.
Ulangan	3	12136,69	12136,69	2,82	0,00
Perlakuan	11	13012,97	1183,00	272,76	0,00
Auksin	3	4123,86	1374,62	319,27	0,00
Sitokin	2	6176,72	3088,36	717,30	0,00
Auksin*Sitokinin	6	2712,39	452,07	105,00	0,00
Galat	22	103,33	4,31		
Total	35				

Keterangan : nilai signifikansi ( $\rho < 0,05$ ) maka ada pengaruh nyata

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 4.2 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 4.2, 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.

Hasil ANAVA menunjukkan bahwa konsentrasi BAP memberikan pengaruh signifikan ( $p = 0,00$ ) terhadap munculnya kalus akasia (*Acacia mangium*), sehingga perlu dilakukan uji lanjut DMRT 5%.

Tabel 4.3 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 4.3. 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.

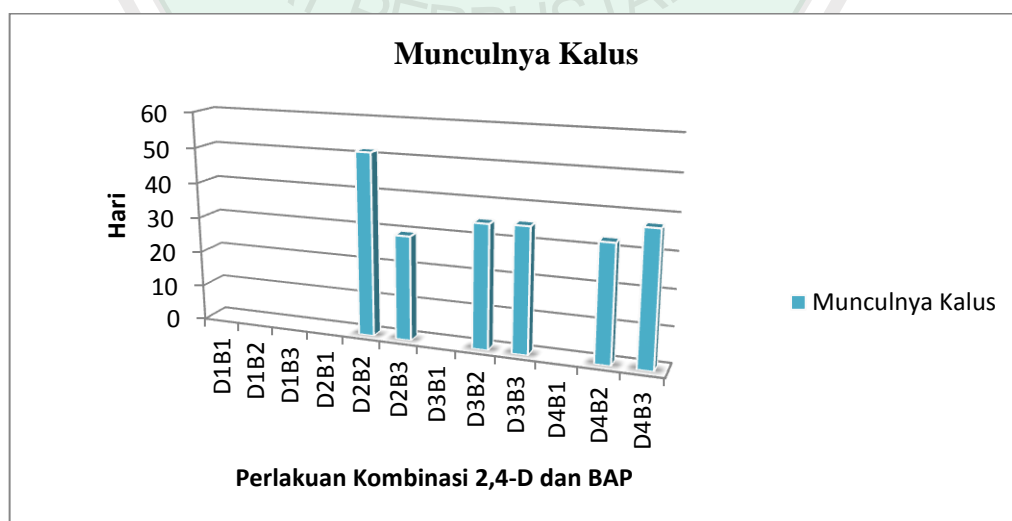
Kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus akasia. Hal ini terbukti dari hasil analisis variansi (ANOVA) yang menunjukkan nilai signifikansi ( $\rho = 0,00$ ). Kemudian diuji lanjut dengan uji DMRT 5%. Tabel 4.4 menunjukkan bahwa perlakuan yang menginduksi kalus paling cepat (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 4.4 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. Berbeda dengan penelitian Lizawati dkk (2012) pada induksi kalus daun *Durio zibethinus* Murr. Cv. Selat Jambi, dimana pada konsentrasi 4 ppm 2,4-D dengan 0,5 ppm BAP telah mampu menginduksi kalus paling cepat ( 8 hari).



Gambar 4.1 Histogram munculnya kalus pada tiap perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP

Pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa kalus terinduksi pada perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP sedangkan perlakuan dengan pemberian 2,4-D dan BAP secara tunggal dan tanpa keduanya belum menghasilkan kalus hingga 56 hari pengamatan. Menurut Gunawan (1987) konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap induksi kalus. Kalus yang tidak muncul ini 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.

Pemberian konsentrasi ZPT yang tidak tepat dapat menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan. Terhambatnya pembentukan kalus dikarenakan hormon endogen dan eksogen yang terdapat pada eksplan tidak dapat merangsang pertumbuhan kalus dengan cepat (Indah dan Ermavitalini, 2013).

#### 4.2 Persentase Eksplan Berkalus Pada Akasia (*Acacia mangium*)

Berdasarkan hasil analisis variansi (ANAVA) 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 ( $\rho=0,00$ ) (Tabel 4.5).

Tabel 4.5 Hasil ANAVA pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus

SK	db	JK	KT	F hitung	Signifikansi
Ulangan	3	5955,36	25955,36	2,81	0,00
Perlakuan	11	29227,68	2657,06	274,76	0,00
Auksin	3	9722,00	3240,67	7,50	0,00
Sitokin	2	13023,94	6511,97	15,07	0,00
Auksin*Sitokinin	6	6481,74	1080,29	2,50	0,06
Galat	22	103,33	432,14		
Total	35				

Keterangan : nilai signifikansi ( $\rho \geq 0,05$ ) maka tidak ada pengaruh nyata

Dalam tabel 4.6 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 4.6 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 4.7 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.

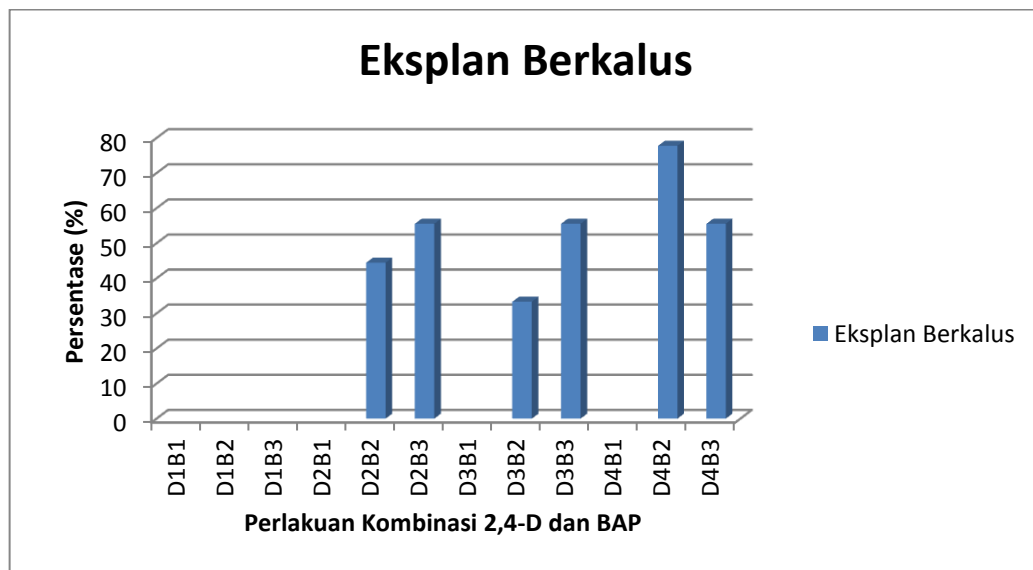
Tabel 4.7 Hasil uji DMRT 5% pengaruh BAP terhadap persentase eksplan berkalus

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

Keterangan : Angka yang didampingi 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.



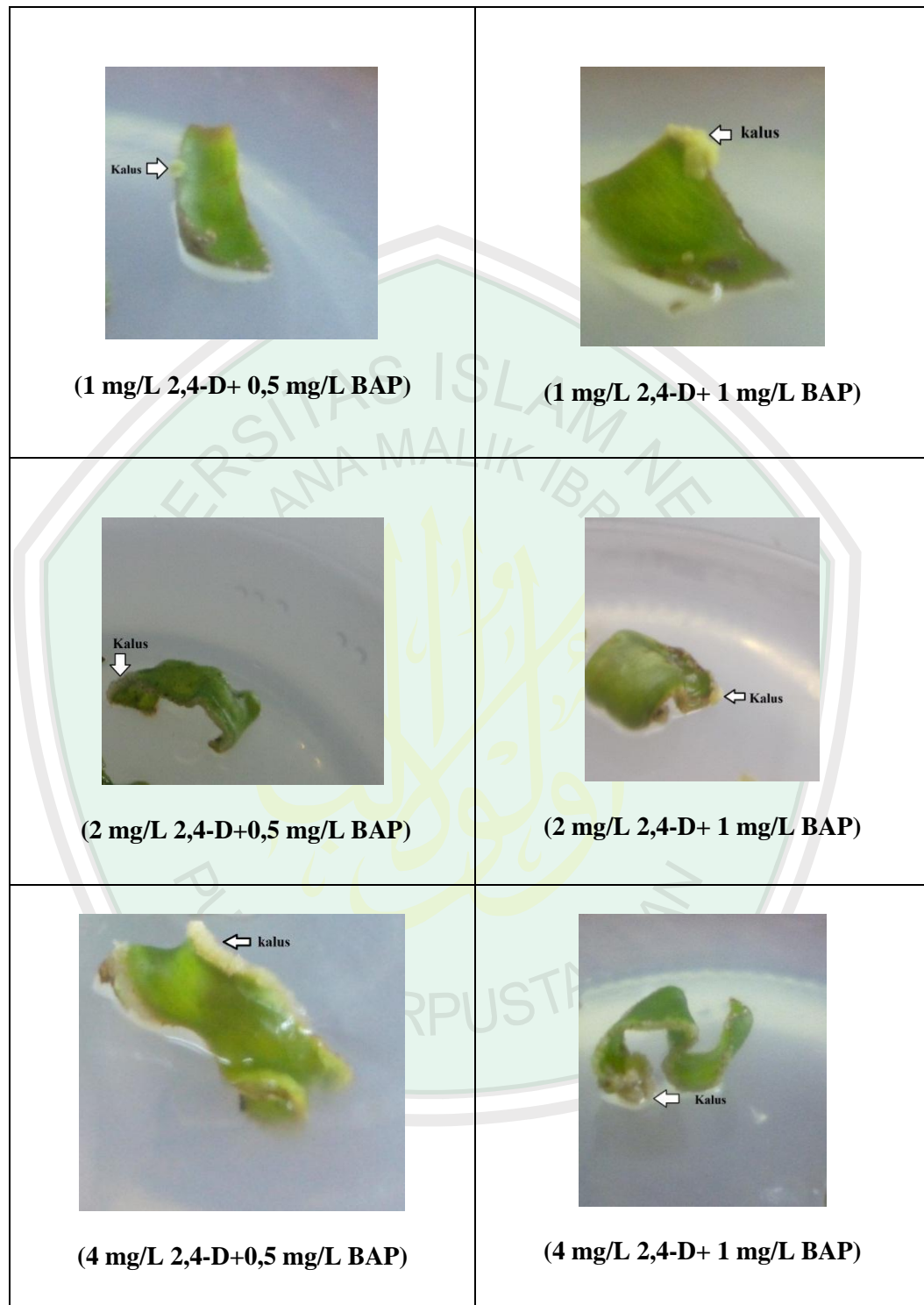
Gambar 4.2 Histogram persentase eksplan berkalus pada tiap perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP (D1= 0 mg/L, D2= 1 mg/L, D3 = 2 mg/L, D4 = 4 mg/L, B1= 0 mg/L, B2 = 0,5 mg/L, dan B3= 1 mg/L)

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 4.2). 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 perbanyakkan 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 dan Hadipoentyanti (2010), menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D 2 mg/L+ kinetin 0,5 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.

#### **4.3 Morfologi Kalus Akasia (*Acacia mangium*)**

Morfologi kalus merupakan bentuk fisik kalus yang dihasilkan dalam setiap perlakuan yang diamati berdasarkan warna dan tekstur kalus. Kalus yang tumbuh pada penelitian ini belum sempurna karena kalus masih tumbuh di ujung dan tepi eksplan dengan kata lain eksplan belum membentuk kalus sepenuhnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, warna kalus akasia yang terbentuk adalah putih dan hijau keputihan. Sedangkan tekstur kalus yang diperoleh adalah kompak dan remah. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Morfologi kalus akasia (*Acacia mangium*)

### 4.3.1 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 4.8.

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 4.8 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 penambahan konsentrasi sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama. Pembentukan 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.

Warna kalus putih mengindikasikan bahwa kalus belum mengandung klorofil. 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.

Rahayu dkk (2003) menyatakan 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 dan menandakan adanya klorofil dan telah terjadi proses fotosintesis. Perbedaan warna kalus ini disebabkan adanya perubahan pigmentasi.

#### **4.3.2 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 4.9 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 4.9 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 4.3.

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 perbanyakkan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah.

#### 4.4 Perkembangan Makhluk Hidup Dalam Alquran

Kultur *in vitro* adalah suatu teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan dan sel tanaman. Jaringan dapat dikulturkan pada agar padat atau dalam medium cair. Jika ditanam dalam agar, jaringan akan membentuk kalus, yaitu massa atau sel-sel yang tak tertata (Wetter & Constabel, 1991). Surat al-An'am ayat 95 merupakan dasar penelitian kultur *in vitro*.

بِإِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَأَنَّى تُؤْفَكُونَ ﴿٩٥﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling*”. (QS.6:95)

Maksud dari ayat diatas menurut tafsir al-Maraghi (1992) adalah sesungguhnya Allah menumbuhkan apa yang kalian tanam, berupa benih tanaman

yang dituai dan biji buah; juga membelah dengan kekuasaan dan perhitungannya, dengan menghubungkan sebab dan musabab, seperti menjadikan benih dan biji dalam tanah, serta menyirami tanah dengan air.

Ayat ini menunjukkan kepada kesempurnaan kekuasaan, kehalusan buatan, dan keindahan kebijaksanaan Allah. Dia mengeluarkan tumbuh-tumbuhan yang tidak berbatang atau yang berbatang, sedang ia makan dan tumbuh, dari yang mati, yakni tidak makan dan tidak tumbuh, seperti tanah, biji, benih dan lain-lain dari jenis biji-bijian dan mengeluarkan hewan dari telur dan mani.

Eksplan adalah bahan tanam yang berasal dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Dalam penelitian ini eksplan yang digunakan adalah daun semu akasia. Daun semu akasia tersebut merupakan benda mati, dimana kita sebagai manusia hanya dapat menanam daun semu tersebut pada media MS dengan perlakuan zat pengatur tumbuh. Media tersebut mengandung nutrisi yang merupakan komponen kimiawi. Komponen-komponen kimiawi tersebut merupakan benda mati, namun mampu menunjang pertumbuhan eksplan daun semu akasia hingga membentuk kalus. Berdasarkan surat al-An'am ayat 95 diatas, menunjukkan bahwa dengan kehendak dan kekuasaan Allah SWT eksplan yang sebelumnya adalah benda mati dapat tumbuh dengan baik hingga membentuk kalus. Manusia hanya dapat berusaha dan berdoa untuk kesejahteraan manusia itu sendiri dan tidak hanya memanfaatkan kenikamatan yang diberikan oleh Allah melalui ciptaan-ciptaan-Nya namun harus mengupayakan kelestariannya juga.

Perkembangan eksplan daun semu akasia hingga menjadi kalus ditunjukkan dari beberapa perlakuan. Sebelumnya daun semu tersebut belum

memiliki kehidupan. Setelah ditanam pada media perlakuan, beberapa hari kemudian nampak adanya kehidupan dari eksplan tersebut atas kehendak Allah SWT. Pertumbuhan eksplan daun semu akasia hingga menjadi kalus diawali dengan adanya pembengkakan, kemudian eksplan mulai melengkung-lengkung hingga menggulung. Selanjutnya pada tepi eksplan muncul bintik-bintik putih yang disebut kalus. Kalus tersebut awalnya tumbuh pada bagian bekas pelukaan pada eksplan, sehingga tampak seperti kumpulan sel penutup luka yang berada di tepi eksplan. Melalui beberapa tahapan, kalus yang telah muncul dapat berkembang hingga menjadi tumbuhan baru.

Pertumbuhan kalus pada eksplan daun semu akasia menunjukkan bahwa segala sesuatu tidak dapat berkembang secara langsung, melainkan melalui proses perkembangan hingga menjadi dewasa. Kalus mengalami beberapa tahapan pertumbuhan, dimana kalus terbentuk karena adanya eksplan yang berasal dari jaringan meristematik yang mengalami luka, karena adanya zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. Sel pada eksplan tersebut akan mengalami pembelahan dan pemanjangan sel sehingga membentuk kalus. Setelah kalus terbentuk maka kalus tersebut beregenerasi menjadi embrio lalu muncullah planlet (tanaman dewasa). Alquran surat Ar-Ruum ayat 54 menjelaskan mengenai proses perkembangan dan pertumbuhan terjadi.

﴿اللَّهُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ ضَعْفٍ ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ ضَعْفٍ قُوَّةً ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ قُوَّةٍ ضَعْفًا وَشَيْبَةً يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ وَهُوَ الْعَلِيمُ الْقَدِيرُ ٥٤﴾

Artinya : “ Allah, dialah yang menciptakan kamu dari keadaan lemah. Kemudian dia menjadikan (kamu) sesudah keadaan lemah itu menjadi kuat. Kemudian dia menjadikan (kamu) sesudah Kuat itu lemah (kembali) dan beruban. Dia menciptakan apa yang dikehendaki-Nya dan Dia-lah yang Maha mengetahui lagi Maha Kuasa’. (Qs. Ar-Ruum(3) : 54).

Menurut Muhammad (2000), ayat tersebut menjelaskan mengenai pada awalnya kita adalah seorang anak kecil yang mungkin kedua kaki dan tangan bisa digenggam dengan satu tangan, engkau di gendong dengan tangan tersebut dalam keadaan lemah. Kemudian lambat laun kita menjadi kuat hingga tumbuh menjadi seorang pemuda yang gagah dan kuat. Kemudian apabila kekuatan itu sudah sempurna kita menjadi lemah kembali. Seperti halnya manusia, pertumbuhan eksplan dimulai dalam keadaan lemah yang kemudian ditumbuhkan dalam media yang kaya nutrisi sehingga eksplan tersebut menjadi kuat sehingga dapat berkembang menjadi kalus dan lama-kelamaan akan mengalami penurunan pertumbuhan dalam hal ini diartikan menjadi lemah kembali.

Menurut Zulkarnain (2009), fase pertumbuhan kalus, yaitu : (1) fase lag, dimana sel-sel mulai membelah, (2) fase eksponensial, dimana laju pembelahan sel berada pada puncaknya, (3) fase linier, pembelahan sel mengalami perlambatan tetapi laju ekspansi sel meningkat, (4) fase deselerasi, laju pembelahan dan pemanjangan sel menurun, dan (5) fase stasioner, dimana jumlah dan ukuran tetap.

Seperti yang dijelaskan pada ayat di atas bahwa kehidupan dimulai dari keadaan lemah dan lambat laun akan menjadi kuat dan kokoh setelah itu menjadi lemah kembali. Keadaan ini digambarkan pada keadaan manusia yang lemah pada saat kecil hingga menjadi kuat ketika dewasa dan lemah kembali ketika

sudah tua. Fase kehidupana manusia tersebut juga terjadi pada fase pertumbuhan eksplan. Eksplan yang sebelumnya hanya sebuah potongan bagian kecil tumbuhan yang lemah menjadi kokoh dengan pertumbuhan dan perkembangannya. Pada akhirnya melemah kembali ditandai dengan adanya penurunan pertumbuhan hingga tidak mampu tumbuh lagi. Seperti halnya pada penelitian ini, eksplan hanya berupa potongan kecil daun semu akasia yang lemah. Setelah tampak bintik putih yang tumbuh, maka menajadi awal pertumbuhannya menjadi kokoh. Sel-sel pada eksplan tersebut terus membelah hingga menjadi kumpulan sel yang tidak terdiferensiasi yang disebut kalus. Kalus terus mengalami pertumbuhan namun tidak mengalami penambahan jumlah sel. Pada waktu tertentu, kalus akan mengalami penurunan laju pertumbuhan ditandai dengan adanya perubahan warna dan tidak mengalami penambahan massa sel. Lambat laun kalus akan mati bila tidak dikondisikan dengan lingkungan tumbuh yang mendukung pertumbuhannya.

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana kita dapat melihat bagaimana Allah menumbuhkan tanaman yang sebelumnya mati hingga menjadi subur kembali dan bagaimana Allah menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Seperti yang ditunjukkan oleh eksplan daun semu akasia yang dapat tumbuh hingga membentuk kalus. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai manusia untuk semakin mendekatkan diri kita kepada Allah SWT.