

PENGARUH MACAM EKSPLAN DAN KONSENTRASI 2,4 D TERHADAP INDUKSI KALUS KLUWEK (*Pangium edule* Reinw.) SECARA IN VITRO

The Effect of Kind of Explant and 2,4-D Concentration of Callus Induction at Football Fruit (*Pangium edule* Reinw.) In Vitro

Hendy Dwi Prabakti^{1)*}, Didik Pudji Restanto¹⁾, Sholeh Avivi¹⁾

¹⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

DOI: 10.21111/agrotech.v3i2.930

Terima 18 Juni 2017

Revisi 09 September 2017

Terbit 30 December 2017

Abstrak: Kluwek adalah tanaman asli Indonesia memiliki fungsi ekologi dalam perbaikan lingkungan dan potensial untuk dibudidayakan. Tanaman ini memiliki nilai konservasi dan ekonomi atau disebut jenis tanaman *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tanaman multi guna. Tanaman *MPTS* adalah tanaman serbaguna yang dapat diambil buah, bunga, kulit, dan daunnya. Kebanyakan pemakaian *Pangium edule* didasarkan pada adanya asam sianida. Perbanyakkan bibit lewat biji sangat terbatas karena keberhasilan perkecambahan hanya 10 %. Karena itu perlu pengadaan bibit kluwek siap tanam yang mencukupi diperoleh melalui perbanyakkan vegetatif kultur jaringan. Tujuan penelitian untuk mengetahui respon eksplan dan pengaruh konsentrasi pemberian 2,4 D Induksi Kalus *Pangium edule* Reinw. melalui kultur *in vitro*, serta interaksi macam eksplan dengan 2,4 D. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang tersusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu Macam eksplan terdiri dari 2 taraf: E1 = Daun; dan E2 = *Endosperm*. Faktor kedua yaitu taraf konsentrasi 2,4 D yang diberikan: D0 = 0,0 ppm; D1 = 0,2; D2 = 0,4 ppm; D3 = 0,6 ppm; D4 = 0,8 ppm; D5 = 1 ppm. Data dianalisis dengan anova dan apabila terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kepercayaan 95 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, terdapat interaksi yang sangat nyata antara macam

*

Korespondensi email: heroesoul@rocketmail.com

Alamat : Jalan Kalimantan 37, Kampus TegalBoto, Jember 68121

eksplan dan 2,4 D. Hasil terbaik, berturut-turut parameter kedinian kalus, pembentukan kalus, dan penambahan biomassa, ditunjukkan dengan penambahan 2,4 D 0,8 ppm, 1 ppm, dan 0,4 ppm pada 14 hari, 86,67% dan 66 mg. Parameter warna kalus pada 2,4 D 1 ppm dengan skor 4,2 skor dan tekstur kalus pada 0,8 ppm 2,4-D dengan skor 4.

Kata Kunci : Kluwek (*Pangium edule* Reinw.), MPTS, Asam Sianida

Abstract: Football Fruit is a native Indonesia tree with typical ecological function in improving the environment and it is a potential plant for cultivating. This plant has a conservation and economic value or Multi Purpose Tree Species (MPTS) or multi-use plant. MPTS plant is a versatile crop, the fruits, flowers, bark, and leaves of which can be taken. Most of the uses of *Pangium edule* are based on the presence of cyanide. The plant propagation through seed have low germination around 10% of germination. Therefore, it is deemed important to provide sufficient ready-to-plant seedlings of football fruit, which can be obtained from the vegetative explant for callus induction. The aim of the research is studying the response of kind of explants and the concentration effect of 2,4-D at *Pangium edule* Reinw for callus induction. The research was conducted at the Laboratory of Tissue Culture of the Department of Agronomy, the Faculty of Agriculture, at Jember University. The experiments applied complete randomized design (CRD), which was factorially arranged with two factors. The first factor was kind of explants, which consisted of 2 levels: E1 = Leaf; and E2 = endosperm. The second factor was concentration levels of 2.4 D such as: D0 = 0.0 ppm; D1 = 0.2; D2 = 0.4 ppm; D3 = 0.6 ppm; D4 = 0.8 ppm; D5 = 1 ppm. The obtained data were analyzed using ANOVA and if there were significant differences between the treatments, then data analysis would be continued by using Test of the Least Significant Difference with 95% confidence level. The results showed that there was a very significant interaction between kind of explant and 2.4-D concentration. Based on the observation parameters, the best explant, as indicated by beginning of callus induction, callus formation, biomass addition, callus color, and callus texture, was the one taken from leaf. The best result, at the parameters beginning callus induction, callus formation, and biomass addition, was shown in the addition of 2.4-D with a concentration of 0.8 ppm, 1 ppm and 0,4 ppm were 14 days, 86,67% and 66 mg, respectively. The parameters of callus color at 2,4-D 1 ppm with 4,2 score and the callus texture at 0.8 ppm of 2.4-D with 4 score.

Keywords: *Football Fruit (Pangium edule* Reinw.), MPTS, Cyanide

1. Pendahuluan

Kluwek adalah pohon asli Indonesia yang memiliki fungsi ekologi dalam perbaikan lingkungan dan patut untuk dibudidayakan. *Pangium edule* Reinw. berdasarkan status konservasi menurut Red List *International Union for Conservation of Nature* IUCN merupakan plasma nutfah hutan yang dikategorikan tumbuhan asli nusantara dan sedikit dibudidayakan (Gunawan dan Sugiarti, 2015). Prinsip pokok yang sama-sama harus dipahami Kluwek bukan sebagai tanaman pokok ekonomi, melainkan tanaman pendukung peningkatan ekonomi alternatif. Jenis ini memiliki nilai konservasi dan ekonomi atau disebut jenis tanaman *Multi Purpose Tree Species (MPTS)* atau tanaman multi guna. Tanaman *MPTS* adalah tanaman serbaguna yang dapat diambil buah, bunga, kulit, dan daunnya. Kebanyakan pemakaian *Pangium edule* didasarkan pada adanya asam sianida pada semua bagian tanaman mulai dari biji, buah, daun, kulit kayu atau akar. Daun segar, getah daun, tumbukan daun, dan tumbukan biji digunakan sebagai antiseptik dan disinfektan untuk membersihkan luka dari luar (Yohar, 2012). Bagi petani sekitar kawasan Taman Nasional Meru Betiri, pohon Kluwek selain sebagai bumbu dapur (daging biji yang sudah tua) banyak dimanfaatkan pula pucuk daun untuk pembuatan pestisida nabati berupa racun serangga (insektisida).

Kluwek memiliki beragam manfaat, namun nilai ekonominya masih diukur dari pasar lokal, belum ada upaya pengembangan untuk nasional apalagi internasional (Yohar, 2012). Pengembangan untuk nasional ataupun internasional perlu didukung dengan penyediaan bibit siap tanam yang mencukupi. Kebutuhan bibit tanaman tidak akan tercukupi bila hanya mengandalkan perbanyakan tanaman secara generatif karena terbatas adanya, musim berbuah, beragamnya sifat keturunan, membutuhkan tempat perbanyakan yang luas, dan bibit yang dihasilkan jumlahnya terbatas. Sehingga untuk itu diperlukan adanya alternatif perbanyakan tanaman. Pengadaan bibit lewat biji sangat terbatas karena keberhasilan perkecambahan hanya 10 %. Karena itu perlu pengadaan bibit kluwek siap tanam yang mencukupi diperoleh melalui perbanyakan vegetatif kultur jaringan. Kultur jaringan diharapkan menjadi salah satu alternatif perbanyakan kluwek yang dikembangkan dari eksplan tanaman dengan media khusus tanaman kayu *Woody Plant Medium* (WPM), dan perlakuan konsentrasi *2,4-dichlorophenoxyacetic* (2,4-D). 2,4-D ZPT dari golongan auksin.

2. Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-November 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Pengaruh Macam Eksplan Dan Konsentrasi 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) Secara In Vitro

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun muda tanaman kluwek (*Pangium edule* Reinw.), media *Woody Plant Medium* (WPM), Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D, aquades, tween, natrium hipoklorit, iodine, sukrosa, alkohol 70%.

Alat-alat yang digunakan diantaranya timbangan analitik, pengaduk magnetik, pH meter, *autoclave*, *Laminair Air Flow* (LAF), *nutcracker*, gelas ukur, botol kultur, cawan petri, pinset, gunting, skalpel.

Rancangan acak lengkap (RAL) yang tersusun secara faktorial. Percobaan yang dilaksanakan menggunakan 2 faktor perlakuan yaitu; Faktor Pertama: Macam Eksplan yang terdiri dari Daun = E1 dan *Endosperm* = E2. Faktor Kedua Konsentrasi 2,4 D yang terdiri dari 6 taraf: D0 = Kontrol; D1 = 0,2 ppm; D2 = 0,4 ppm; D3 = 0,6 ppm; D4 = 0,8 ppm; D5 = 1 ppm. Setiap kombinasi tersebut diulang 5 kali, sehingga dihasilkan 60 kombinasi perlakuan. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan analisis ragam ANOVA untuk mengetahui apakah ada pengaruh perlakuan terhadap parameter pengamatan. Apabila didapatkan hasil perbedaan yang nyata diantara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilakukan uji lanjutan dengan uji Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

Pembuatan Media. Media WPM yang telah ditambahkan sukrosa dan ZPT 2,4-D sesuai perlakuan, diukur derajat keasaman mediana hingga larutan menunjukkan angka 5,8. Media ditambah agar dan dipanaskan, kemudian dimasukkan dalam botol kultur dan dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121⁰C, tekanan 17,5 psi

selama 45 menit.

Sterilisasi Eksplan dan Penanaman Eksplan. *Sterilisasi daun,* daun yang digunakan usia 3-4 hari dibilas dengan air mengalir pada seluruh permukaan daun 5 menit. Eksplan dikeringkan dengan tisu, eksplan yang kering kemudian diisolasi dengan tisu yang sudah disemprot dengan alkohol 70 %, kemudian eksplan dimasukkan kedalam botol steril dan ditutup dengan tisu kering. Selanjutnya eksplan dibawa ke *Laminar Air Flow*. Berikutnya gojok eksplan dengan alkohol 70 % selama 30 detik, dilanjutkan dengan melarutkan natrium hipoklorit 20 mL dan air steril 80 mL dalam 100 mL larutan. Eksplan selanjutnya digojog dengan 50 mL larutan ditambah tween selama 3 menit dan membilasnya sebanyak dua kali selama 3 menit. Sisa larutan 50 ml digunakan untuk tahap kedua selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan pembilasan dengan aquadest steril sebanyak 3 kali selama 3 menit. Berikutnya eksplan dipotong dengan ukuran $\pm 0,5$ cm di dalam larutan iodine dan air steril, dilanjutkan penirisan. Potongan eksplan daun yang telah ditiriskan ditanam pada media yang telah disiapkan.

Sterilisasi *endosperm* berasal dari biji kluwek masak fisiologis. Sterilisasi terbagi menjadi dua macam bagian. Pertama sterilisasi kulit tebal, biji dicuci dengan air sabun dan sikat sampai permukaan biji terasa kesat. Selanjutnya sterilisasi dengan natrium hipoklorit dengan konsentrasi 20 mL sampai penampakan cangkang biji berwarna putih, kemudian dicelupkan dalam alkohol 96 % dan dibakar di atas bunsen.

Kedua memecahkan cangkang dengan *nutcracker* di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Cangkang yang telah dipecah diambil *Endosperm*-nya, eksplan disterilisasi dalam aquadest steril dan betadine. Selanjutnya membilas dengan *aquadest* steril sebanyak 2 kali selama 3 menit. Eksplan diangkat, ditiriskan, dan dibelah menjadi beberapa bagian kemudian menanamnya pada media.

Pemeliharaan. Eksplan disubkultur setiap 1 bulan sekali. Botol kultur disemprot dengan menggunakan alkohol 70% setiap hari untuk menghindari terjadinya kontaminasi lingkungan.

Variabel Pengamatan. Variabel pengamatan diantaranya kedinian munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, berat kalus, warna kalus, dan tekstur kalus.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi macam eksplan dengan berbagai macam konsentrasi 2,4 D terhadap induksi kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) secara *in vitro* sebagai alternatif dalam upaya konservasi dan pengembangan kluwek di masa yang akan datang. Penggunaan macam eksplan dan penggunaan konsentrasi 2,4 D dirangkum dari tabel hasil anova seluruh variabel pengamatan yaitu, kedinian munculnya kalus, jumlah eksplan yang membentuk kalus, berat kalus, warna, dan tekstur kalus yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rangkuman F-hitung Semua Variabel Pengamatan

No	Pengamatan	Nilai F-hitung		
		Eksplan	2,4 D	Interaksi
1	Kedinian kalus	8,52**	8,31**	10,52**
2	Persentase kalus	6,53*	6,89**	9,16**
3	Berat kalus	56,42**	7,79**	8,24**
4	Warna kalus	28,74**	4,67**	6,32**
5	Tekstur Kalus	25,91**	4,21**	5,64**

Keterangan: **= berpengaruh sangat nyata, *= berpengaruh nyata, tn= tidak berpengaruh nyata

Hasil analisis ragam (Tabel 1) menunjukkan variabel seluruh pengamatan pengaruh sangat nyata pada macam eksplan, konsentrasi pemberian 2,4 D, dan interaksi macam eksplan dengan konsentrasi 2,4 D terdapat pada setiap variabel pengamatan. Sedangkan, pada nilai F-hitung macam eksplan dengan variabel pengamatan persentase terbentuknya kalus menunjukkan bahwa, F-hitung pada variabel tersebut berbeda nyata dan pada pemberian konsentrasi 2,4 D serta interaksi antara eksplan dengan 2,4 D menunjukkan pengaruh yang sangat nyata. Interaksi yang menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata di analisis dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui interaksi kedua faktor tersebut.

Pengamatan pada kedinian terbentuknya kalus terhadap macam eksplan dan penambahan berbagai konsentrasi 2,4 D dimulai setelah eksplan ditanam pada media perlakuan. Pertumbuhan kedinian kalus mulai tampak pada 14 HST. Pengaruh macam eksplan dan konsentrasi

Pengaruh Macam Eksplan Dan Konsentrasi 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) Secara In Vitro

2,4 D memiliki hubungan interaksi yang berpengaruh sangat nyata (Tabel 1) pada variabel kedininan terbentuknya kalus. Kemudian dari hasil tersebut dilakukan uji lanjut BNT.

Tabel 2. interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D antara E1D4 dan E1D5 memiliki nilai yang tidak berbeda nyata,

Tabel 2. Hasil Uji Lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap kedininan kalus

Eksplan	D0	D1	D2	D3	D4	D5
E1	90,00 aA	90,00 aA	44,40 bA	45,40 bA	14,00 cB	14,20 cB
E2	90,00 aA	62,20 abA	21,20 cA	48,20 bcA	90,00 aA	90,00 aA

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kepercayaan 95% huruf kecil dibaca arah horizontal dan huruf kapital dibaca vertikal

dan bila dibandingkan dengan nilai E2D2 nilai yang ditunjukkan berbeda nyata. Sedangkan, nilai interaksi pada E1D4 dan E1D5 bila dibandingkan dengan interaksi yang lain menunjukkan perbedaan nilai berbeda sangat nyata. Sehingga hasil secara keseluruhan bila dibandingkan, nilai persentase eksplan terbaik dalam kedininan kalus adalah eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 2,4 D sebesar 0,8 ppm.

Pengamatan persentase eksplan yang membentuk kalus pada Tabel 3. interaksi E1D5 dengan E1D4 memiliki pengaruh yang berbeda nyata. Sedangkan bila dibandingkan dengan nilai

interaksi yang lain pengaruh yang ditunjukkan akan sangat berpengaruh nyata.

Tabel 3. Hasil Uji Lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap persentase terbentuknya kalus

Eksplan	D0	D1	D2	D3	D4	D5
E1	00,00 aA	00,00 aA	33,33 bA	40,00 bA	53,33 bcB	86,67 cB
E2	00,00 aA	20,00 aA	73,33 bA	20,00 aA	00,00 aA	00,00 aA

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kepercayaan 95% huruf kecil dibaca arah horizontal dan huruf kapital dibaca vertikal

Interaksi terbaik ditunjukkan pada perlakuan E1D5 dengan nilai 86,67 cB. Sehingga hasil secara keseluruhan bila dibandingkan, nilai persentase eksplan terbaik dalam membentuk kalus adalah eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 2,4 D sebesar 1 ppm.

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap berat kalus

Eksplan	D0	D1	D2	D3	D4	D5
E1	00,00 aA	38,00 bA	66,00 cA	24,00 aA	38,00 bB	58,00 cB
E2	00,00 aA	06,00 aA	6,00 aA	32,00 bA	00,00 aA	00,00 aA

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kepercayaan 95% huruf kecil dibaca arah horizontal dan huruf kapital dibaca vertikal

Pengaruh Macam Eksplan Dan Konsentrasi 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) Secara In Vitro

Pengamatan berat kalus pada Tabel 4. interaksi E1D2 memiliki nilai 66,00 cA yang berbeda nyata dengan E1D5 dengan nilai 58,00 cB, sedangkan interaksi yang lain bila dibandingkan menunjukkan perbandingan yang sangat berbeda nyata. Interaksi terbaik ditunjukkan pada perlakuan E1D2. Sehingga hasil secara keseluruhan bila dibandingkan, nilai penambahan biomassa (berat kalus) eksplan terbaik adalah eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 2,4 D sebesar 0,4 ppm diikuti pemberian konsentrasi 2,4 D 1 ppm.

Tabel 5. Hasil Uji Lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap warna kalus

Eksplan	D0	D1	D2	D3	D4	D5
E1	00,00 aA	00,00 aA	02,40 bA	02,40 bA	04,00 bcB	04,20 cB
E2	00,00 aA	00,80 aA	00,80 aA	00,80 aA	00,00 aA	00,00 aA








Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kepercayaan 95% huruf kecil dibaca arah horizontal dan huruf kapital dibaca vertikal

Pengamatan warna kalus pada Tabel 5. interaksi terbaik ditunjukkan pada perlakuan E1D5 dengan nilai 4,20 cB, dan berbeda nyata bila dibandingkan dengan nilai interaksi E1D4 yang memiliki nilai 4,00 bcB, sedangkan interaksi secara keseluruhan bila dibandingkan dengan interaksi E1D5 akan menunjukkan perbandingan yang berbeda sangat nyata. Sehingga hasil secara keseluruhan bila dibandingkan, eksplan terbaik dalam warna kalus

adalah eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 2,4 D sebesar 1 ppm.

Warna kalus berdasarkan *Munsell Color Chart* dikelompokkan menjadi tiga kategori *hue*, *value*, dan *chroma*. Tabel 6 warna kalus pada eksplan daun dan warna kalus pada eksplan *Endosperm* ditunjukkan dengan nilai, D1 (2,4 D 0,2 ppm), pada eksplan *Endosperm* yang memiliki kategori warna 2,5Y 8/8 (kuning, *value*

Tabel 6. Warna kalus terbaik berdasarkan *Munsell Color Chart*

Perlakuan		Visual	Munsell	Skor
2,4 D	Macam Eksplan	Warna	Color Chart	
0	Daun	-	-	0
ppm	Endosperm	-	-	0
0,2 ppm	Daun	-	-	0
	Endosperm		2,5 Y 8/8	4
0,4 ppm	Daun		5 Y 8/8	4
	Endosperm		5 Y 8/6	4
0,6 ppm	Daun		5 Y 7/4	4
	Endosperm		5 Y 7/10	4
0,8 ppm	Daun		5 Y 8/6	4
	Endosperm	-	-	0
1	Daun		2,5 GY 7/8	6
ppm	Endosperm	-	-	0

8 dan *chroma* 8). D2 (2,4 D 0,4 ppm) eksplan daun memiliki kategori warna 5Y 8/8 (kuning, *value* 8 dan *chroma* 8) dan *Endosperm* memiliki kategori warna 5Y 8/6 (kuning, *value* 8 dan *chroma* 6). Berikut pada D3 (2,4 D 0,6 ppm) eksplan daun memiliki kategori warna 5Y 7/4 (kuning, *value* 7 dan *chroma* 4) dan eksplan *Endosperm* memiliki kategori warna 5Y 7/10 (kuning,

value 7 dan *chroma* 10). Selanjutnya pada D4 (2,4 D 0,8 ppm) eksplan daun memiliki kategori warna 5Y 8/6 (kuning, *value* 8 dan *chroma* 6) dan D5 (2,4 D 1 ppm) eksplan daun memiliki kategori warna 2,5Y 7/8 (kuning, *value* 7 dan *chroma* 8). Sisanya, beberapa eksplan tidak memiliki kategori warna, karena kalus tidak muncul.

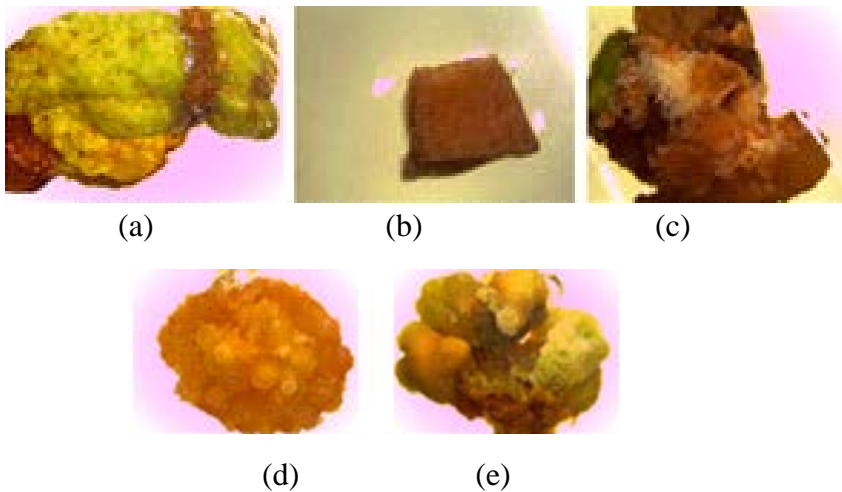
Pengamatan tekstur kalus pada Tabel 6. interaksi terbaik ditunjukkan pada perlakuan E1D4 dengan nilai 4,00 bB. Sehingga hasil secara keseluruhan bila dibandingkan, eksplan terbaik dalam membentuk kalus adalah eksplan daun dengan pemberian konsentrasi 2,4 D sebesar 0,8 ppm.

Persemaian yang dilaksanakan dalam proses persemaian biji kluwek rata-rata memerlukan waktu semai sampai berkecambah \pm 2 bulan. Biji kluwek sangat mudah kehilangan kadar air dan mengalami penyusutan pada daging biji, sehingga pada akhirnya warna daging biji berubah menjadi hitam. Pengamatan tersebut membuktikan bahwa, daya hidup dan daya tumbuh biji kluwek sangatlah rendah. Yohar (2012) menyatakan, kluwek juga merupakan benih semi rekalsitran yang viabilitas benihnya sangat rendah. Benih rekalsitran yaitu benih yang tidak dapat disimpan dalam waktu lama, tidak tahan atau mati jika disimpan pada suhu dingin, dan tidak tahan disimpan bila kadar airnya diturunkan sampai di bawah kadar air kritis. (Hasanah, 2006).

Tabel 7. Hasil Uji Lanjut BNT 5% interaksi antara macam eksplan dan konsentrasi 2,4 D terhadap tekstur kalus

Eksplan	D0	D1	D2	D3	D4	D5
E1	00,00 aA	00,00 aA	02,40 bA	02,40 bA	04,00 bB	03,60 bB
E2	00,00 aA	00,80 aA	00,80 aA	00,80 aA	00,00 aA	00,00 aA

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kepercayaan 95% huruf kecil dibaca arah horizontal dan huruf kapital dibaca vertikal



Gambar 1. (a) Eksplan daun mati/tidak terbentuk kalus, skor = 0; (b) Eksplan *Endosperm* mati/tidak terbentuk kalus, skor = 0; (c) Eksplan daun dengan kalus friabel type 2, kalus yang teksturnya mudah pecah, skor = 4; (d) Eksplan *Endosperm* dengan kalus friabel type 2, kalus yang teksturnya mudah pecah, skor = 4; (e) Eksplan daun dengan kalus kompak, skor = 2

Pengaruh Macam Eksplan Dan Konsentrasi 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium edule* Reinw.) Secara In Vitro

Kultur *in vitro* daun dan *Endosperm* kluwek menghasilkan beberapa kalus. Pembentukan kalus terbentuk secara acak dan beberapa diantaranya tidak merata. Pembentukan kalus terjadi melalui beberapa tahapan yaitu, induksi, pembelahan sel, dan diferensiasi sel (Zulkarnain, 2011). Kalus merupakan jaringan yang mengalami proses diferensiasi, dimana kalus banyak muncul bila dilakukan perluasan permukaan melalui irisan pada eksplan, sehingga nantinya kalus yang terbentuk akan semakin banyak (Wattimena, 1992). Kalus yang terbentuk selain karena irisan dan pengaruh media WPM, dipengaruhi pula oleh zat pengatur tumbuh.

Kedinian terbentuknya kalus, interaksi terbaik ditunjukkan pada eksplan daun dengan konsentrasi 2,4 D 0,8 ppm dan persentase terbentuknya kalus interaksi terbaik ditunjukkan pada eksplan daun dan pemberian 2,4 D 1 ppm. Perbedaan kedinian terbentuknya kalus dipengaruhi adanya beberapa perlakuan yang tidak membentuk kalus. Menurut Indah dan Ermavitalini (2013), kalus yang tidak muncul ini dimungkinkan karena kombinasi ZPT pada media belum mampu menginduksi kalus dan terhambatnya pembentukan kalus dikarenakan hormon endogen dan eksogen yang terdapat pada eksplan tidak dapat merangsang pertumbuhan kalus dengan cepat.

Konsentrasi 2,4 D 0 ppm dan konsentrasi 0,2 ppm tidak mampu untuk memunculkan kalus, hanya pada beberapa eksplan

endosperm konsentrasi 0,2 ppm dapat memacu kemunculan kalus. Hal ini diduga karena tidak adanya zat pengatur tumbuh dan rendahnya zat pengatur tumbuh untuk memacu kemunculan kalus pada eksplan. Menurut Malik (2003), penggunaan 2,4 D pada konsentrasi tinggi akan menghambat poliferasi tunas dan pada konsentrasi rendah akan merangsang terjadinya morfogenesis, sehingga pada konsentrasi 0 ppm kalus tidak terbentuk, sedangkan pada konsentrasi 0,2 ppm 2,4 D beberapa eksplan yang membentuk kalus dan beberapa tidak muncul kalus namun eksplan memiliki nilai penambahan biomassa yang mengindikasikan eksplan hidup dan mengalami proses pertumbuhan.

Berat kalus terbaik ditunjukkan oleh eksplan daun dengan konsentrasi pemberian 2,4 D 0,4 ppm berdasarkan nilai kuantitas, sedangkan berdasarkan interaksi yang memiliki hubungan terbaik terdapat pada interaksi pengaruh macam eksplan dan konsentrasi eksplan daun dengan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4 D sebesar 1 ppm. Peningkatan berat kalus dan penambahan massa sel merupakan bagian dari bukti adanya pertumbuhan pada eksplan.

Interaksi eksplan dengan konsentrasi 2,4 D secara visual menunjukkan hasil warna berbeda. Warna kalus disebabkan adanya perubahan pigmen kalus karena pengaruh cahaya yang sangat baik sehingga klorofil yang terdapat pada media perlakuan

dan hormon yang diberikan di media perlakuan membuat pertumbuhan kalus dengan cepat (Nofanda dkk., 2016).

Kalus dibedakan menjadi beberapa tipe, tipe kompak, intermediet, dan juga tipe remah. Kalus tipe terbaik memiliki tipe remah, karena mudah untuk berkembang untuk menjadi sel-sel baru. Sel-sel tersebut dalam prosesnya terus tumbuh dan berkembang sampai membentuk jaringan baru yang pada akhirnya membentuk sebuah kalus dengan bentuk yang tidak beraturan. Bentuk-bentuk tersebut digolongkan menjadi beberapa tipe dan ditentukan nilainya. Thomy, 2012 dalam Gultom, dkk. (2015), membagi tekstur kalus dalam beberapa bentuk nilai diantaranya, Nilai 0 untuk eksplan mati dan tidak terbentuk kalus. Nilai 1 untuk terbentuk kalus friabel type 1 yaitu kalus yang teksturnya seperti kapas. Nilai 2 untuk terbentuk kalus kompak kalus kompak. Nilai 3 untuk terbentuk kalus kompak bernodul. Nilai 4 untuk terbentuk kalus friabel type 2 yaitu kalus yang teksturnya mudah pecah. Nilai 5 untuk terbentuk kalus friabel type 2 dan diikuti dengan pembentukan nodul. Nilai skoring terbaik tekstur kalus ada pada skor 4, yang menandakan bahwa nilai skor 4 adalah tipe tekstur kalus yang pertumbuhannya terbaik. Menurut Kartika dkk. (2014), perbedaan laju pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kemampuan jaringan untuk menyerap zat-zat hara yang tersedia, hal ini banyak dipengaruhi oleh aerasi dan tekstur kalus. Kalus yang terlalu padat

dan kompak mempunyai kemampuan menyerap zat hara lebih rendah daripada tekstur kalus yang tidak terlalu padat.

4. Kesimpulan

Interaksi antara eksplan dengan 2,4 D berpengaruh sangat nyata terhadap semua pengamatan. Hasil terbaik, berturut-turut pada parameter kedininian kalus, pembentukan kalus, dan penambahan biomassa, ditunjukkan dengan penambahan 2,4 D 0,8 ppm, 1 ppm, dan 0,4 ppm yang terbentuk pada 14 hari, 86,67%, dan 66 mg. Parameter warna kalus pada pemberian 2,4 D konsentrasi 1 ppm dengan skor 4,2 dan tekstur kalus pada 0,8 ppm 2,4 D dengan skor 4.

5. Referensi

- Gultom, M.S., Anna, N., dan Siregar, E.B.M. 2012. Respon Eksplan Biji Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap Pemberian IAA secara *In Vitro*. *Peronema Forestry Science Journal*, 1 (1): 1-6.
- Gunawan, H., dan Sugiarti. 2015. Pelestarian Keanekaragaman Ex Situ Melalui Pembangunan Taman Kehati oleh Sektor Swasta: *Lesson learned* dari Group Aqua Danone Indonesia. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(3): 565-573.

- Hasanah, M., dan Rusmin, D. 2006. Teknologi Pengelolaan Benih Beberapa Tanaman Obat di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25 (2): 68-73.
- Indah, P.N., dan Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus 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): 1-6.
- Kartika, L., Atmodjo, P.K., dan Purwijantiningsuh, L.M.E. 2014. Kecepatan Induksi Kalus dan Kandungan Eugenol Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) yang diperlakukan Menggunakan Variasi Jenis dan Konsentrasi Auksin. *e-journal uajy*, 1 (1): 1-15.
- Malik, S. I., Rashih, T., Yasmin, dan N. M. Minhas. 2003. Effect of 2,4 Dichlorophoxyacetic acid on Callus Induction from Mature Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds. *Ints. Agri. Bid*, 6 (1).
- Nofanda, H., Rahayu, T., dan Hayati, A. 2016. Peranan Penambahan BAP dan NAA pada Pertumbuhan Kalus Kedelai (*Glycine max*) Menggunakan Media B5. *e-Jurnal Ilmmiah Biosaintropis (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 2 (1): 35-45.
- Wattimena, GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Departemen P dan K. Dirjen Pendidikan Tinggi. PAU Bioteknologi Bogor.

Yohar, Supintri. 2012. *Kepayang Tanaman Konservasi Bernilai Ekonomi*. Yayasan Genesis, Mukomuko.

Zulkarnain, dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jathropa curcas* L.) pada Pemberian 2,4 D. *Jurnal Natur Indonesia*, 14 (1): 19-25. ISSN 1410-9.