

Induksi Kalus Tanaman Puspa (*Schima wallichii* (DC.) Korth) dengan Penambahan Beberapa Konsentrasi Benzyl Amino Purin (BAP) dan 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D)

Callus Induction of Puspa (*Schima wallichii* (DC.) Korth) with Several Concentrations Addition of Benzyl Amino Purine (BAP) and 2,4-Dichlorophenoxyacetid acid (2,4-D)

Husri Meli*, Zozy Aneloi Noli, Suwirmen

Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manih, Padang-25163
Koresponden* : husrimeli89@gmail.com

Abstract

The research about Callus Induction of Puspa (*Schima wallichii* (DC.) Korth) with several concentrations addition of Benzyl Amino Purine (BAP) and 2,4-Dichlorophenoxyacetid acid (2,4-D) had been done from October until November 2016 at Plant Physiology dan Tissue Culture Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Science, Andalas University. The aim of this research is to get the combination of 2,4-D and BAP to induce the best callus of *Schima wallichii*. This research used a Completely Randomized Design Method with 10 treatments and 3 replications. The result showed that combination of 2 ppm 2,4-D + 0,75 ppm BAP was the best concentration to induce callus of *Schima wallichii*.

Keywords : BAP, Callus, *Schima wallichii*, 2,4-D

Pendahuluan

Tanaman Puspa (*Schima wallichii* (DC.) Korth) dimanfaatkan untuk pembangunan rumah, penghasil kayu bakar, pembuatan kertas, penghasil zat pewarna, pakan ternak, dan bahan dalam pembuatan jamu. Di Indonesia, Puspa juga digunakan sebagai tanaman pelindung di hutan dan reklamasi lahan serta digunakan untuk reboisasi (Heyne, 1987). Menurut Widodo (2003), Puspa dapat dijadikan sebagai tanaman revegetasi karena mampu tumbuh pada berbagai kondisi tanah, iklim dan habitat. Puspa juga resisten terhadap kebakaran.

Mengingat potensi tanaman Puspa, maka perlu dilakukan upaya perbanyakan tanaman dalam jumlah besar dan waktu yang singkat. Menurut Aprianti (2013), perbanyakan bibit tanaman Puspa dilakukan dengan menggunakan biji ataupun anakan/semai alam. Teknik perbanyakan menggunakan anakan dapat dilakukan melalui teknik puteran atau cabutan. Teknik

ini membutuhkan waktu yang cukup lama dalam pengadaan bibit. Salah satu metode perbanyakan tanaman berkualitas tinggi adalah menggunakan teknik kultur jaringan yang salah satunya yaitu dengan cara induksi kalus.

Faktor penentu pembentukan kalus adalah rasio antara auksin dan sitokinin berada dalam keadaan seimbang. Apabila dosis auksin lebih tinggi dari pada sitokinin, akan memicu terbentuknya akar, sedangkan apabila dosis auksin lebih rendah dari pada sitokinin maka akan memicu untuk terbentuknya tunas (Hendaryono dan Wijayani, 2012).

Menurut Gunawan (1992), untuk merangsang pertumbuhan kalus digunakan auksin 2,4-D karena penambahan 2,4-D dalam media ternyata efektif untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Penambahan sitokinin ke media yang sudah mengandung auksin dapat merangsang

pertumbuhan kalus karena kedua ZPT tersebut bekerja secara sinergis.

Lizawati *et al.* (2012) melaporkan bahwa 2,4-D dan BAP dapat menginduksi kalus pada perlakuan 4 ppm 2,4-D dengan kombinasi 0,5 ppm BAP menghasilkan kalus eksplan *Durio zibethinus* yang paling cepat yaitu 8 hari setelah tanam. Luluk *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kombinasi 2,4-D dan BAP terbaik dalam menginduksi kalus *Acacia mangium* adalah 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP.

Berdasarkan uraian diatas maka telah dilakukan penelitian mengenai induksi kalus Puspa dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D dan BAP.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen, memakai Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 10

Hasil dan Pembahasan

Persentase hidup eksplan

Tabel 1. Persentase Hidup Puspa dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D dan BAP

Perlakuan	Persentase Hidup (%)
A. 2,4-D (0 mg/l) + BAP (0 mg/l)	100
B. 2,4-D (2 mg/l) + BAP (0,25 mg/l)	100
C. 2,4-D (2 mg/l) + BAP (0,5 mg/l)	100
D. 2,4-D (2 mg/l) + BAP (0,75 mg/l)	100
E. 2,4-D (3 mg/l) + BAP (0,25 mg/l)	100
F. 2,4-D (3 mg/l) + BAP (0,5 mg/l)	100
G. 2,4-D (3 mg/l) + BAP (0,75 mg/l)	100
H. 2,4-D (4 mg/l) + BAP (0,25 mg/l)	100
I. 2,4-D (4 mg/l) + BAP (0,5 mg/l)	100
J. 2,4-D (4 mg/l) + BAP (0,75 mg/l)	100

Persentase hidup eksplan nodus Puspa dengan pemberian kombinasi konsentrasi ZPT ataupun tanpa ZPT dapat menghasilkan persentase hidup eksplan 100% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi medium sudah memenuhi kebutuhan hidup eksplan. Namun penambahan ZPT auksin dan sitokinin juga diperlukan untuk meningkatkan persentase hidup karena bisa meningkatkan konsentrasi ZPT endogen didalam sel, sehingga menjadi faktor

perlakuan dengan 3 kali ulangan. Sumber eksplan yang digunakan adalah nodus *Schima wallichii*. Prosedur kerja sesuai prosedur kultur jaringan secara baku (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Parameter pengamatan yang diamati yaitu persentase eksplan yang tumbuh, persentase eksplan yang membentuk kalus, tekstur kalus, waktu muncul kalus, dan berat segar kalus.

Analisis yang diperoleh dari hasil penelitian ini, yaitu berupa persentase eksplan yang tumbuh, waktu muncul kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, dan tekstur kalus disajikan secara deskriptif sedangkan berat segar kalus di lakukan analisa statistik. Apabila hasil yang didapat berbeda nyata pada taraf 5% maka dilakukan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5 %.

pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan dari tanaman Puspa.

Menurut Hutami dan Purnamaningsih (2003), medium MS adalah medium dasar yang umumnya digunakan untuk perbanyakan tanaman. Medium ini kaya akan mineral yang merangsang terjadinya organogenesis. Menurut Wetter dan Constabel (1991), medium MS mempunyai kandungan nitrat, kalium dan ammonium yang sesuai untuk diferensiasi,

pertumbuhan dan perkembangan eksplan atau pembentukan organ pada eksplan secara *in vitro*. Pada medium MS juga terdapat sumber nitrogen yang merupakan komponen protein, asam nukleat, dan substansi penting lainnya yang diperlukan untuk pembentukan protoplasma yang berfungsi untuk memperbaiki pertumbuhan vegetatif.

Penambahan ZPT berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Peranannya untuk mengatur kecepatan pertumbuhan masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tanaman. Aktivitas ZPT di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotip serta fase fisiologi tanaman (Lestari, 2011).

Persentase Eksplan yang membentuk kalus dan waktu muncul kalus

Tabel 2. Persentase eksplan yang membentuk kalus dan waktu munculnya kalus Puspa dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D dan BAP selama 30 hari masa tanam

Perlakuan	Persentase Eksplan yang membentuk kalus (%)	Waktu muncul kalus (hst)
A. 2,4-D (0 ppm) + BAP (0 ppm)	0	-
B. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,25 ppm)	100	17-25
C. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,5 ppm)	100	16-27
D. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,75 ppm)	100	25-30
E. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,25 ppm)	100	16-17
F. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,5 ppm)	100	18-20
G. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,75 ppm)	100	19-20
H. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,25 ppm)	100	13-15
I. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,5 ppm)	100	13-14
J. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,75 ppm)	100	14-15

Keterangan : (-) Tidak munculnya kalus

Kalus tidak terbentuk pada perlakuan kontrol karena jumlah ZPT dalam eksplan belum mencukupi untuk terbentuknya kalus sehingga tambahan ZPT mutlak diperlukan dalam pembentukan kalus Puspa. Perlakuan lainnya kecuali kontrol dapat menghasilkan persentase eksplan yang membentuk kalus 100% (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ZPT auksin dan sitokinin diperlukan untuk meningkatkan persentase hidup kalus karena bisa meningkatkan konsentrasi ZPT endogen pada eksplan, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses pertumbuhan kalus.

Pembentukan kalus tercepat pada penelitian ini yaitu kombinasi konsentrasi 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,5 ppm), waktu muncul kalus pada hari ke 13-14 setelah tanam. Hasil yang sama dilaporkan Lizawati (2012), perlakuan 4 ppm 2,4-D dengan kombinasi 0,5 ppm BAP menghasilkan kalus eksplan *Durio*

zibethinus yang paling cepat yaitu 8 hari setelah tanam. Luluk *et al.*, (2014) juga melaporkan bahwa kombinasi 2,4-D dan BAP terbaik dalam menginduksi kalus *Acacia mangium* adalah 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP yaitu pada hari ke-33. Menurut Yelnitis (2012), induksi kalus dipengaruhi oleh konsentrasi ZPT yang digunakan, dimana semakin tinggi 2,4-D yang diberikan, induksi kalus akan semakin cepat.

Waktu kemunculan kalus terlama diperoleh pada perlakuan kombinasi konsentrasi 2,4-D (2 ppm) +BAP (0,75 ppm) yaitu hari ke 25- 30 hari setelah tanam. Hal ini disebabkan karena penggunaan kombinasi konsentrasi auksin dan sitokinin pada perlakuan tersebut diduga belum mampu menginduksi kalus dengan cepat sehingga menghambat pertumbuhan kalus eksplan Puspa.

Tekstur dan Berat segar kalus

Tabel 3. Tekstur dan berat segar kalus Puspa dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D dan BAP pada hari ke 30

Perlakuan	Tekstur Kalus	Berat Segar (g)
A. 2,4-D (0 ppm) + BAP (0 ppm)	-	0,0000 f
B. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,25 ppm)	Remah	0,2571 b
C. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,5 ppm)	Remah	0,0634 def
D. 2,4-D (2 ppm) + BAP (0,75 ppm)	Remah	0,6626 a
E. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,25 ppm)	Remah	0,0443 ef
F. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,5 ppm)	Remah	0,0907 cde
G. 2,4-D (3 ppm) + BAP (0,75 ppm)	Remah	0,1487 c
H. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,25 ppm)	Remah	0,1246 cd
I. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,5 ppm)	Kompak	0,2214 b
J. 2,4-D (4 ppm) + BAP (0,75 ppm)	Kompak	0,1149 cd

Keterangan : Angka-angka pada kolom yang tidak diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda nyata pada taraf uji DNMRT 5%

Pemberian konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus, baik tekstur maupun berat segar kalus yang dihasilkan (Tabel 3). Tekstur kalus yang dihasilkan dominan remah. Menurut Thomy (2012), tekstur kalus yang remah dianggap baik karena dapat meningkatkan aerasi oksigen sehingga mudah untuk perbanyakan. Kalus yang remah menunjukkan bahwa kalus tersebut banyak mengandung air (Sumadji, 2015).

Kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP pada perlakuan B, D, F, G, H, I, J memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap berat segar kalus Puspa dibandingkan kontrol. Sedangkan perlakuan C dan E memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap berat kalus Puspa dibandingkan kontrol (Tabel 3). Hasil terbaik diperoleh dari perlakuan D yaitu 2,4-D 2 mg/l 2,4-D + 0,75 mg/l BAP yang menghasilkan berat segar kalus 0,66 kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol.

Menurut Rahayu dan Anggarwulan (2003), berat segar kalus yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Zat Pengatur tumbuh Auksin dan Sitokinin yang diberikan pada perbandingan yang tepat dapat menginisiasi pembelahan sel dan meningkatkan pertumbuhan sel.

Menurut Wattimera (1988), mekanisme kerja auksin salah satunya adalah pemanjangan sel. Auksin

mendorong pada ruas-ruas tanaman. Elongasi sel terutama terjadi pada arah vertikal dan diikuti dengan pembesaran sel dan peningkatan bobot basah. Rahayu dan Anggarwulan (2003), pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan diduga menginduksi sekresi ion H⁺ keluar melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K⁺ diambil. Pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel, akibatnya air mudah masuk kedalam sel dan sel akan membesar sehingga mempengaruhi pertambahan berat segar kalus.

Kesimpulan

Pemberian konsentrasi 2 ppm 2,4-D + 0,75 ppm BAP merupakan kombinasi konsentrasi terbaik untuk induksi kalus tanaman *Schima wallichii* dengan tekstur kalus yang dihasilkan yaitu remah dan memiliki berat segar kalus 0,66 kali lebih besar dari kontrol.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Prof. Dr. Mansyurdin, Dr. Tesri Maideliza, dan Mildawati, M.Si. atas saran dan masukannya dalam penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

Aprianti, F. 2013. *Teknik Pemanfaatan Anakan Alam Puspa (Schima wallichii (Dc) Korth) di Hutan Pendidikan Gunung Walat (HPGW) Sukabumi*. Departemen Silviculture

- Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hendaryono, D. P. S dan A. Wijayani, 1994. *Teknik kultur jaringan, pengenalan dan petunjuk perbanyakan tanaman secara vegetatif modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hendaryono, D. P dan A. Wijayani. 2012. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*: 1367-1368. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Hutami, S dan R. Purnamaningsih. 2003. Perbanyakan klonal Temu Mangga (*Curcuma mangga*) melalui Kultur *In vitro*. *Buletin Plasma Nutfah*, 9(1) : 39-44.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Institut Pertanian Bogor, 7(1) : 63-68.
- Lizawati, Neliyati, Desfira. 2012. Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Durio zibethinus Murr.cv. Selat Jambi*) Pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP. *Jurnal Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi*, 1(1): 2302-6472.
- Luluk ,W, Ruri S.R, Nashichuddin. 2014. *Induksi Kalus Akasia (Acacia mangium) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP pada Media MS*. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rahayu, R., S dan E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-D terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*, 1 (1) : 1-6.
- Sumadji, A. R. 2015. *Induksi Kalus Padi (Oryza sativa) Varietas IR64, Mentik Wangi dan Rojolele Melalui Kultur In Vitro*. [Skripsi]. Universitas Katolik Widya Mandala, Madiun.
- Thomy, Z. 2012. *Effect of Plant Growth Regulator 2,4-D and BAP on callus Growth of Plants Producing Gaharu*. Prosiding Seminar Hasil Nasional Biologi. Medan, 11 Mei 2012.
- Wattimera, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh pada Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Bogor
- Wetter, L. R dan F. Constabel. 1991. *Metode kultur jaringan Edisi 2*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Widodo A. 2003. *Permasalahan dan Pengendalian Kebakaran Hutan di Indonesia*. Review Hasil Litbang. Bogor (ID): Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan, Departemen Kehutanan.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6 (1):181-194