

## Induksi Kalus Anggrek Lilin (*Aerides odorata* Lour.) dengan Pemberian beberapa Konsentrasi 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4 D)

### Callus Induction of *Aerides odorata* Lour. by Adding 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)

Azharia Khalida<sup>\*)</sup>, Suwirmen, Zozy Aneloi Noli

Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, UNAND

\*Koresponden: azhariakhalida03@gmail.com

#### Abstract

The research about callus induction of *Aerides odorata* L. by adding 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D), has been done from August to October 2018 in Plant Physiology and Tissue Culture Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Andalas University, Padang. The aim of this research was found the effective concentration of 2,4-D to induce somatic embryo of *A.odorata*. The research used Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 6 replications. The treatments were: 0 mg/L 2,4-D; 0,25 mg/L 2,4-D; 0,5 mg/L 2,4-D; 0,75 mg/L 2,4-D; 1 mg/L 2,4-D. The result showed that the treatment were able induction callus of *A.odorata*, with compact until the friable texture, color of the resulting callus is yellowish green and greenish yellow. 2,4-D 1 mg/L was the best concentration to increase fresh weight of callus.

*Keywords:* 2,4-D, *Aerides odorata*, callus

#### Pendahuluan

*Aerides odorata* Lour. merupakan salah satu spesies anggrek dari genus *Aerides* dalam famili Orchidaceae. Spesies ini dikenal dengan sebutan anggrek lilin dikarenakan tangkai bunga yang dilapisi dengan lapisan lilin. Di Indonesia, *A.odorata* sangat terkenal dan menjadi incaran para kolektor bunga karena warna dan wanginya yang khas. Pemanfaatan *A.odorata* sebagai obat sudah lama diketahui sejak dahulu kala, namun tidak sepopuler potensinya sebagai tanaman hias (Sulistiari, 2008). Hal ini menyebabkan terlalu banyak pengoleksian dari habitat aslinya dan dalam skala besar. Pada *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES) *A.odorata* terdaftar sebagai Appendix II yang artinya spesies ini boleh diperdagangkan tetapi masih dalam ketentuan dan jumlah yang terbatas.

Salah satu upaya konservasi untuk menjaga kelestariannya di alam dapat dilakukan secara *in vitro*. Konservasi *in vitro* merupakan teknik konservasi *exsitu*

yang paling sesuai untuk diterapkan karena mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan teknik lainnya, seperti penghematan area, tenaga kerja, biaya, dan waktu, juga jaminan terhindarnya kehilangan genotip karena cekaman biotik dan abiotik serta kemudahan dalam pertukaran plasma nutfah. Selain itu pelestarian tumbuhan secara *in vitro* mempunyai beberapa keuntungan, yakni dapat menyimpan tanaman langka yang hampir punah, dapat menyimpan tanaman yang tidak menghasilkan biji, bebas gangguan yang disebabkan oleh alam, dapat disimpan dalam keadaan bebas penyakit, dan cukup dikerjakan dalam ruangan yang relatif kecil (Zulkarnain, 2009).

Konservasi *in vitro* secara kultur jaringan menjadi alternatif yang paling aman dengan beberapa keuntungan yang berbeda untuk konservasi tanaman anggrek. Sebagaimana menurut Wulansari, Martin, Rantau dan Ermayanti (2013), teknik kultur jaringan dapat menghasilkan bibit bermutu dalam jumlah banyak, seragam, bebas penyakit dan waktu yang relatif singkat.

Terdapat beberapa cara yang dapat dilakukan dalam teknik kultur jaringan diantaranya yaitu kultur sel, kultur protoplas, kultur organ, embriogenesis somatik dan kultur kalus (George dan Sherrington, 1984).

Kalus adalah jaringan yang belum terdiferensiasi dan terbentuk ketika sel tanaman mengalami pembelahan yang tidak teratur, sebagai akibat dari perlukaan pada permukaan eksplan dan pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media kultur (Zulkarnain, 2009). Kalus merupakan sumber tumbuhan yang sangat penting dalam meregenerasi tumbuhan baru. Setiap selnya mampu membentuk tumbuhan baru. Selain itu, penggunaan kalus dapat menguntungkan karena pembentukan kalus bisa diinisiasi dari jaringan manapun dari tumbuhan (Wahyuningtiyas, Resmisari, Nashichuddin, 2014).

Dalam proses perbanyakkan melalui kalus terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus, antara lain adalah medium yang digunakan, jenis eksplan, dan zat pengatur tumbuh (Trisnawarti dan Sumardi, 2000).

Beberapa zat pengatur tumbuh yang berperan dalam menginduksi kalus antara lain 2,4-D, picloram dan NAA (Purnamaningsih, 2002). Kelompok auksin yang umum digunakan untuk menginduksi kalus yaitu 2,4-D. 2,4-D merupakan auksin terbaik untuk menginduksi pembentukan kalus dibandingkan dengan tipe auksin lain. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Indah dan Ermavitalini (2013) bahwa asam 2,4-D memiliki sifat yang lebih stabil, mudah diserap sel tanaman, tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang di keluarkan sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi, dan berfungsi sebagai auksin yang kuat dan mampu mendorong aktivitas morfogenetika (perkembangan bentuk).

Penelitian menggunakan 2,4-D telah dilakukan pada *Coelogyne cristata* yang telah berhasil membentuk kalus (Naing, Chung, Lim., 2011). Penelitian induksi kalus dengan pemberian 2,4-D telah dilakukan Kaewubon, Sangdam, Thammasiri, dan Meesawat (2010), mampu

menginduksi kalus pada *Paphiopedilum niveum* dengan penambahan 2,4-D. Chaireok (2015) berhasil menginduksi kalus *P. niveum* pada konsentrasi 0,5 mg/l 2,4 D. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik 2,4 D dalam menginduksi kalus *A.odorata*.

### Metoda Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan yaitu : 0 mg/L 2,4-D; 0,25 mg/L 2,4-D; 0,5 mg/L 2,4-D; 0,75 mg/L 2,4-D; 1 mg/L 2,4-D. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 6 ulangan. Total unit percobaan adalah  $5 \times 6 = 30$ .

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah alat dan bahan yang standar digunakan dalam kultur jaringan. Eksplan yang digunakan adalah bagian pucuk dari daun *A.odorata*.

### Cara Kerja

Cara kerja terdiri dari beberapa tahap yaitu sterilisasi alat, pembuatan larutan stok, pembuatan media tanam, persiapan eksplan, penanaman eksplan, pengamatan, dan analisis data.

### Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah 12 minggu setelah tanam meliputi :

#### a. Persentase hidup eksplan

Pengamatan dilakukan setelah eksplan berumur 12 minggu setelah tanam (mst) dengan kriteria kalus yang tumbuh dan tidak mati pada masing-masing perlakuan, dihitung dengan menggunakan persamaan:

Persentase hidup

$$= \frac{\text{Jumlah eksplan yang hidup}}{\text{Jumlah ulangan}} \times 100 \%$$

#### b. Respon Tumbuh Eksplan

Pengamatan respon tumbuh dilakukan secara visual diakhir pengamatan 12 mst baik tunas, kalus embriogenik maupun kalus non embriogenik. Warna kalus diamati secara visual meliputi hijau kekuningan dan kuning kehijauan.

### c. Berat Segar Kalus

Berat segar kalus ditimbang dengan timbangan Ohaus pada akhir pengamatan 12 mst.

#### Analisis data

Analisis yang diperoleh dari hasil penelitian ini, yaitu berupa persentase eksplan hidup dan respon tumbuh disajikan secara deskriptif dengan mengamati penampilan kalus (tekstur dan warna) sedangkan berat segar kalus dilakukan analisa statistik.

### Hasil dan Pembahasan

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai induksi kalus *A.odorata* dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D) didapatkan hasil sebagai berikut.

#### Persentase Hidup Eksplan

Persentase hidup eksplan pada plb *A.odorata* pada medium ½ MS dengan pemberian 2,4-D diamati pada 12 minggu setelah tanam disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase hidup eksplan *A.odorata* pada medium ½ MS dengan pemberian 2,4-D pada 12 minggu setelah tanam (mst)

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Persentase hidup eksplan (%)
0	100
0,25	100
0,5	100
0,75	83,3
1	100

Berdasarkan Tabel 1, hasil pengamatan terhadap persentase hidup eksplan plb *A.odorata* dengan penambahan 2,4-D berbagai konsentrasi menunjukkan persentase hidup 100% kecuali pada pemberian 0,75 mg/L 2,4-D (83,3%). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi persentase hidup eksplan salah satunya yaitu media tumbuh. Pada penelitian ini media yang digunakan adalah ½ MS, dimana media tersebut telah memenuhi kebutuhan eksplan untuk tumbuh dengan baik. Media ½ MS juga digunakan oleh Devi dan Singh (2013) dalam penelitiannya

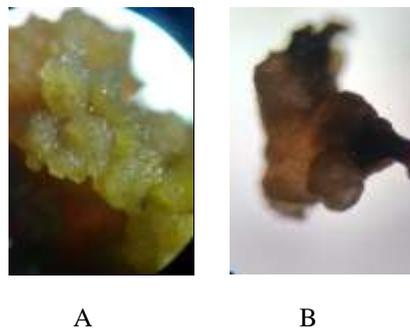
yang berhasil melakukan kultur *in vitro* terhadap anggrek *A.odorata*. Hal yang sama juga telah dilakukan oleh Azmi, Tubagus dan Wiendi (2013) yang mengatakan bahwa penggunaan media ½ MS cukup baik dalam perbanyak anggrek *Paphiopedilum glaucophyllum* secara *in vitro*.

Tingginya persentase hidup eksplan juga ditentukan oleh sumber eksplan yang digunakan. Pada penelitian ini sumber eksplan yang digunakan berasal dari plb tunggal yang masih muda dan bersifat meristematik. Sebagaimana Hardjo (2016) menyatakan bahwa salah satu yang menyebabkan keberhasilan dalam kultur *in vitro* tergantung dari sumber eksplan yang digunakan. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Purnamaningsih (2002) bahwa perkembangan dari suatu eksplan pada kultur jaringan dapat berbeda tergantung pada jenis eksplan yang digunakan. Penggunaan eksplan yang bersifat meristematik umumnya memberikan keberhasilan dalam kultur jaringan. Netty (2010) menambahkan bahwa hampir semua tumbuhan, bagian yang masih muda dimana keadaan selnya masih aktif membelah merupakan bagian tumbuhan yang paling baik untuk dijadikan eksplan. Oleh karena itu pemilihan eksplan yang meristematik merupakan salah satu langkah terbaik dalam kultur jaringan.

Pada perlakuan penambahan 0,75 mg/L 2,4-D tampak bahwa persentase hidup eksplan mengalami penurunan. Hal ini diakibatkan karena eksplan mengalami browning dan mengeluarkan senyawa fenol bersifat toksik yang menyebabkan eksplan mati. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Lerch (1981) bahwa pencoklatan jaringan terjadi karena aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga seperti polifenol oksidase dan tirosinase yang dilepaskan atau disintesis dan tersedia pada kondisi oksidatif.

Crassman (1978) menambahkan bahwa substrat untuk enzim ini ada bermacam-macam pada jaringan yang berbeda, yang umum adalah tirosin atau o-hidroksifenol seperti asam klorogenik. Enzim dan sustrat dalam keadaan normal akan tertahan dalam ruang berbeda didalam sel dan akan keluar bersama-sama pada saat sel dilukai atau hampir mati. Fenol mempunyai fungsi alami penting dalam mengatur oksidasi IAA. Apabila fenol yang terlarut dalam air digunakan pada eksplan maka pertumbuhan tunas dan kalus akan terpacu dan akan menjadi racun jika konsentrasinya meningkat. Hutami (2008) menyatakan toksisitas fenol kemungkinan dikibatkan oleh ikatan reversibel antara hidrogen dan protein. Penghambatan pertumbuhan yang tidak dapat diperbaiki terjadi ketika fenol teroksidasi menjadi

senyawa aktif quinon yang tinggi yang kemudian memutar, memolimerase dan mengoksidasi protein menjadi senyawa melanat yang makin meningkat.



Gambar 4. Respon eksplan plb *A. odorata* dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D: A. Eksplan hidup, B. Eksplan mati.

#### Respon Tumbuh Eksplan

Respon tumbuh eksplan plb *A. odorata* pada medium  $\frac{1}{2}$  MS dengan pemberian 2,4-D diamati pada 12 minggu setelah tanam disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Respon tumbuh eksplan plb *A. odorata* pada medium  $\frac{1}{2}$  MS dengan pemberian 2,4-D diamati pada 12 minggu setelah tanam (mst).

Perlakuan mg/L 2,4-D	Respon tumbuh	Tekstur kalus	Warna kalus
0	Kalus, tunas	Kompak	Hijau, hijau kekuningan
0,25	Kalus, tunas	Kompak	Hijau kekuningan
0,5	Kalus, tunas	Remah	Hijau kekuningan
0,75	Kalus	Remah	Hijau kekuningan
1	Kalus, tunas	Remah	Kuning kehijauan

Berdasarkan Tabel 2, hasil pengamatan terhadap respon tumbuh eksplan menunjukkan bahwa semua eksplan memberikan respon yang bervariasi terhadap pertumbuhan. Pemberian 2,4-D berbagai konsentrasi tidak mempengaruhi respon tumbuh eksplan terhadap pembentukan kalus dan tunas. Sebagaimana penelitian Utami, Sumardi, Taryono, Semiarti (2007) terhadap anggrek *Phalaenopsis amabilis* mampu membentuk kalus pada perlakuan kontrol. Sedangkan pada respon tumbuh eksplan terhadap tekstur dan warna kalus, penambahan

berbagai konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh pada pengamatan 12 minggu setelah tanam.

Semua perlakuan penambahan 2,4-D pada medium merangsang terbentuknya kalus pada eksplan. Sebagaimana pada penelitian Devi *et al.* (2013) menyatakan bahwa anggrek *A. odorata* mampu membentuk kalus pada penambahan auksin dengan konsentrasi 2 mg/L. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Astuti (2016) pada penelitian anggrek *Vanda sumatrana* eksplan mampu membentuk kalus pada pemberian 2 mg/L 2,4-D. Fadhillah (2015)

menyatakan pemberian 0,25 mg/L 2,4-D telah mampu membentuk kalus pada eksplan daun *Artemisia vulgaris*.

Mahadi (2016) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam medium menyebabkan laju pertumbuhan kalus semakin tinggi. Smith (1992) juga menyatakan konsentrasi auksin yang tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis. Menurut Samudin (2009) bahwa dalam kultur jaringan, terutama hormon auksin dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi terbentuknya kalus. Pada konsentrasi rendah hormon ini akan memacu munculnya akar, sedangkan pada konsentrasi tinggi mendorong terbentuknya kalus.

Pada penelitian ini pemberian 2,4D pada medium tidak menampakkan pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan eksplan membentuk kalus, tetapi tampak perbedaan pada tekstur dan warna kalus. Pada perlakuan kontrol dan 0,25 mg/L 2,4-D menampakkan tekstur kompak dan warna kalus hijau. Sedangkan pada perlakuan 0,5 mg/L 2,4-D sampai 1 mg/L 2,4-D menampakkan tekstur yang remah dan warna yang cenderung kekuningan. Sebagaimana pernyataan Mahadi, Wulandari dan Omar (2014), salah satu peranan zat pengatur tumbuh 2,4-D adalah membantu dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel. Semakin tinggi kandungan zat pengatur tumbuh 2,4-D maka akan semakin cepat terjadi proliferasi sel sehingga akan membentuk kalus. Kalus yang terbentuk adalah kumpulan sel-sel muda yang mudah terurai bersifat remah, hal inilah yang disebut kalus embriogenik.

Kalus yang terbentuk pada perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yaitu kalus bertekstur remah, sedangkan pada perlakuan kontrol dan 0,25 mg/L 2,4-D menampakkan kalus dengan tekstur kompak. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan maka kalus yang terbentuk akan bertekstur remah (friabel). Hal ini menandakan adanya pengaruh zat pengatur tumbuh pada kualitas terbentuk kalus. Sebagaimana menurut Astuti (2016) pada

penelitian anggrek *V. sumatrana* menyatakan perbedaan tekstur kalus. Kalus yang bertekstur kompak ditandai dengan tekstur yang padat dan sel-selnya sulit dipisahkan, sedangkan kalus bertekstur remah ditandai dengan sel-selnya mudah dipisahkan. Menurut Fintarti (2010) adanya variasi tekstur dan warna kalus yang terbentuk disebabkan oleh pengaruh pemberian auksin yang di tambahkan kedalam medium.

Pada penelitian ini juga terbentuk tunas pada semua perlakuan (Gambar 5 F), kecuali pada pemberian 0,75 mg/L 2,4-D. Pada perlakuan kontrol juga terbentuk tunas. Hal ini dikarenakan eksplan yang digunakan adalah *plb*, jika tidak diberikan penambahan zpt tetap akan melanjutkan pertumbuhan membentuk akar dan tunas. Tetapi jika diberikan perlakuan zpt maka akan merespon berdasarkan zpt yang telah diberikan. Sedangkan penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus.

Sebagaimana menurut Mahadi (2016) bahwa pertumbuhan organ vegetatif dipengaruhi oleh aktivitas auksin dan nitrogen dalam media, dan sumber nitrogen organik paling tinggi terdapat pada media ½ MS dibandingkan dengan media lainnya. Hal inilah yang mendukung munculnya tunas khususnya pada perlakuan beberapa konsentrasi hormon 2,4-D. Menurut pernyataan Smith (1992) konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan tunas. Sebagaimana Balilashaki, Vahedi dan Karimi (2015) menyatakan pertumbuhan kalus dapat mengarah ke pembentukan tunas jika perlakuan mengarah pada tingginya konsentrasi sitokinin berbanding auksin dan ini dapat membentuk tunas. Netty (2010) menambahkan bahwa kalus dari jaringan muda (juvenil) ternyata lebih mudah membentuk tunas dari pada jaringan dewasa.

Pada penelitian penambahan 2,4-D berbagai konsentrasi belum mampu menginduksi terbentuknya ES. Hal ini disebabkan karena syarat terbentuknya ES pada anggrek *A. odorata* belum terpenuhi.

Zpt yang digunakan belum dapat menginduksi terbentuknya ES secara langsung. Pada penelitian ini baru sampai tahap terbentuknya kalus remah yang nantinya dapat memicu terbentuknya ES jika dilakukan sub kultur pada medium yang memiliki konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah. Kalus remah ini merupakan kalus yang dapat menginduksi terbentuknya ES secara tidak langsung. Sebagaimana pernyataan Purnamaningsih (2002) ES mulai terbentuk setelah dilakukan pemindahan pada media pendewasaan. Penggunaan media dasar  $\frac{1}{2}$  MS dan penambahan zpt dengan jenis dan konsentrasi yang tepat dapat menginduksi pembentukan ES.

Pada penelitian Rachmawati, Purwito, Wiendi, Mattjik dan Winarto (2014) terhadap anggrek *Dendrobium* dapat menginduksi ES pada penambahan zat pengatur tumbuh auksin 0,01 mg/L. Pada hasil penelitian Utami *et al.*, (2007) terhadap anggrek *Phalaenopsis amabilis* dapat menginduksi kalus pada auksin dengan pemberian konsentrasi 2 mg/L. Sebagaimana pernyataan Dzuraibak (2014) kalus diharapkan dapat membentuk embrio somatik bila kondisi yang diperlukan kalus terpenuhi. George, Hall, Klerk (2008) menambahkan bahwa embrio somatik tidak dapat berkembang lebih lanjut sebelum konsentrasi auksin dikurangi atau bahkan dihilangkan sama sekali dari media kultur. Berdasarkan uraian diatas, ES dapat terbentuk pada berbagai konsentrasi tergantung dari jenis tumbuhan dan zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Perbedaan warna kalus salah satunya disebabkan oleh perubahan pigmentasi (Harjoko,1999). Secara visual meningkatnya konsentrasi auksin yang

diberikan menyebabkan warna kalus semakin menguning. Hal ini berkaitan dengan berkurangnya pigment klorofil pada kalus (Rahayu,2003). Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan dalam medium mempengaruhi penurunan klorofil dan karotenoid. Beberapa penelitian menyebabkan bahwa kenaikan kadar auksin akan menurunkan kandungan klorofil (Krismonohadi, 1989).

Pada pengamatan terhadap tekstur kalus, tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan maka tekstur kalus terlihat semakin remah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yelnitis (2012) Semakin tinggi 2,4-D yang diberikan pada media maka kalus akan terbentuk semakin remah. Sedangkan kalus kompak terbentuk pada konsentrasi 2,4-D yang relatif rendah. Sedangkan jika 2,4-D terlalu tinggi maka akan mengakibatkan eksplan mati karena bersifat herbisida bagi tumbuhan.

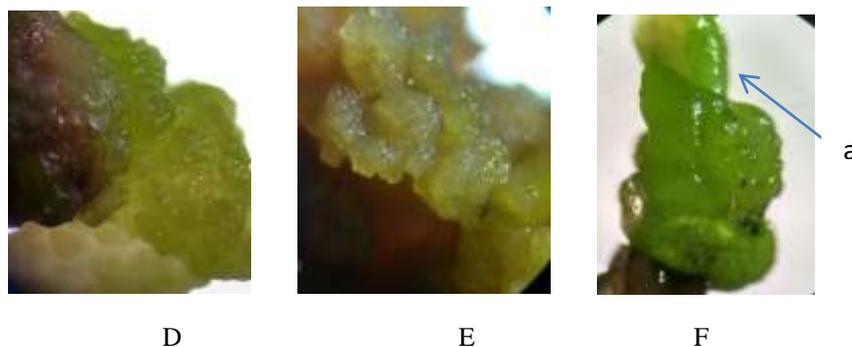
Mekanisme kerja terbentuknya kalus pada penambahan 2,4-D pada media yaitu ketika terjadi luka, menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah, sebaian protoplas mengalir keluar sehingga mulai terbentuk kalus yang berisi sel-sel aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka (Pierik,1987). 2,4-D berdifusi kedalam eksplan sehingga merangsang mengaktifkan hormon endogen dari eksplan yang megakibatkan terjadinya pembelahan pada eksplan. Setelah itu hormon endogen dalam eksplan menjadi seimbang sehingga terbentuklah kalus. Kalus juga terbentuk diakibatkan karena perlukaan, kemudian eksplan memperbaiki sel dengan membentuk kalus pada sekitar luka sebagai upaya jaringan penutup luka.



A

B

C



Gambar 5. Respon tumbuh eksplan pada medium  $\frac{1}{2}$  MS terhadap pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D 12 minggu setelah tanam (mst).

Keterangan: Respon tumbuh kalus (A-E) dan respon tumbuh tunas (F) (→).

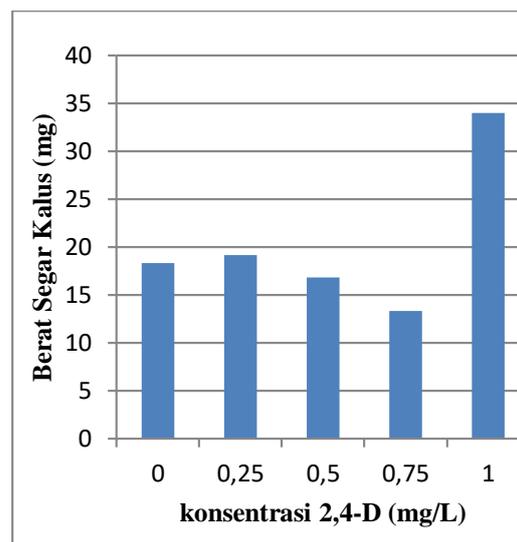
#### Berat Segar Kalus

Berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada rata-rata berat segar kalus. Rata-rata berat segar kalus hampir sama pada semua perlakuan, kecuali pada konsentrasi 1 mg/L 2,4-D menampilkan berat segar yang lebih tinggi dari pada konsentrasi lainnya. Ini menunjukkan pemberian 2,4-D pada konsentrasi 0,25 mg/L sampai 0,75 mg/L belum mampu meningkatkan berat segar kalus, sedangkan konsentrasi 1 mg/L 2,4-D merupakan kondisi yang cenderung lebih baik menambah berat segar kalus dibandingkan konsentrasi lain. Hal ini dikarenakan zat pengatur tumbuh yang digunakan telah mampu mempengaruhi pertumbuhan kalus.

Pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal sehingga menambah berat segar kalus terutama pada perlakuan 1 mg/L 2,4-D. Sebagaimana Robles, Gueroud, Negre, Rossognol, Santos-Diaz (2016) menyatakan bahwa penggunaan auksin 2,4-D dapat mempercepat pertumbuhan kalus, menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas, dan pengembangan dinding sel.

Pada penelitian Astuti (2016) perlakuan terbaik untuk peningkatan berat segar kalus terdapat pada konsentrasi 3,00 mg/L 2,4-D terhadap kalus *V.sumatrana*. Fadhilah (2015) juga menyatakan bahwa penambahan berbagai konsentrasi 2,4-D

memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap peningkatan rata-rata berat segar kalus *A. vulgaris*. Perlakuan tanpa 2,4-D memberikan hasil yang berbeda dengan perlakuan yang ditambahkan 2,4-D. Perlakuan yang meningkatkan berat segar kalus terdapat pada konsentrasi 1,25 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L 2,4-D. Hal ini menandakan semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka berat segar kalus semakin bertambah sampai titik optimalnya.



Gambar 6. Rata-rata berat segar kalus dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D.

#### Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai induksi kalus *A.odorata* dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D dapat disimpulkan bahwa pemberian 2,4-D

1 mg/L dapat menginduksi kalus secara efektif.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Kepala Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Tim Penguji (Ahmad Taufiq, M.Si, Zuhri Syam, MP dan Solfiyeni, MP) yang telah memberi banyak masukan dan saran dalam penulisan artikel ini.

### Daftar Pustaka

- Astuti, A.T. 2016. Induksi Embriogenesis Somatik Pada *Vanda sumatrana* Schltr. dengan Berbagai Konsentrasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- Azmi, T.K.W dan N.M.A. Wiendi. 2013. Perbanyak anggrek spesies *Paphiopedilum glaucophyllum* J.J.Smith melalui Proliferasi Tunas Adventif Secara *In vitro*. *J.Hort Indonesia* 4(3): 115-123.
- Balilashaki, K., M.Vahedi., dan R. Karimi. 2015. *In vitro* direct regeneration from node and leaf explant of *Phalaenopsis* cv. Surabaya. *Plant Tissue Culture & Biotechnology* 25(2): 193–205.
- Chaireok, S. 2015. Cryopreservation of Protocorm Like Bodies and Callus of Lady's slipper orchids (*Paphiopedilum niveum* (Rchb.f.) Stein) by vitrification and encapsulation vitrification. [Thesis]. Songkla University.
- Devi, H.S., S.I. Devi dan T.D. Singh. 2013. High Frequency Plant Regeneration System of *Aerides odorata* Lour. Through Foliar And Shoot Tip Culture. *Horti Agrobo* 41(1):169-176.
- Dzuraibak, R.F. 2014. Inisiasi Dan Proliferasi Kalus Serta Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Antera Kedelai (*Glycine max* L. Merrill). [Thesis]. Program Studi Biologi Tumbuhan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fadhilah, N., Z.A. Noli dan Suwirman. 2015. Induksi Kalus *Artemisia vulgaris* L. dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4 *Dichloro-phenoxyacetic Acid* (2,4-D). *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 4(4): 216-222.
- Fintarti, M. 2010. Embriogenesis Somatik dari Kalus Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dengan Pemberian 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- George, E. F. dan Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. Reading Berks.
- George, E.F., M.A. Hall dan G.J. De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition vol 1*. Springer. Netherlands.
- Hardjo, P.H. 2016. Proliferasi PLBs *Vanda tricolor* Lindl. var. *Pallida*. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. ISBN: 978-602-951-11-9.
- Indah, P.N dan D. Ermavitalini. 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).
- Kaewubon, P., S.Sangdam, Thammasiri, Kanchit dan U.Meesawat. 2010. Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis from Callus-derived PLBs of Tropical Slipper Orchid (*Paphiopedilum niveum* (Rchb.f.) Pfitz.). *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 4(1) 29-35.
- Lerch, K. 1981. Tyrosinase Kinetics A Semi Quantitative Model of Mechanism Of Oxidation of Monohydric And Dihydric Phenolic Substrates. Dalam Hutami, S. Ulasan Masalah Pencolatan Pada Kultur Jaringan. *AgroBiogen* 4(2):83-88.
- Mahadi, I., S. Wulandari dan A. Omar. 2014. Pengaruh Naftalen Acetyl Acid (NAA) dan Benzyl Amino Purin (BAP) Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*). *Jurnal Biogenesis* 11(1): 1-7.
- Mahadi, I., W.Syafi'i dan Y.Sari .2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan

- Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)* 21 (2): 84–89.
- Naing, A.H., J.D.Chung dan Ki B. Lim. 2011. Plant Regeneration Through Indirect Somatic Embryogenesis in *Coelogyne cristata* Orchid. *American Journal of Plant Sciences* 2. 262-267.
- Netty, WS. 2010. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Universitas Andalas. Padang.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embrio Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. *Buletin Angrobio* 5(2):51-58.
- Samudin, S. 2009. Pengaruh Kombinasi Auksin-Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Buah Naga. *Media Litbang Sulawesi Tengah*. Vol II. No. 1. Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah Provinsi Sulawesi Tengah.
- Smith, R.H. 1992. *Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments*. Academic Press Inc. New York.
- Sulistiarini, D. 2008. Keanekaragaman Jenis Anggrek Pulau Wawonii. *Berk. Penel. Hayati*. 14:21–27.
- Robles-Martinez, M., A.P. Barba-de la Rosa, F.Gueroud, A.Negre-Salvayre, M.Rossognol, M.S.Santos-Diaz. 2016. Establishment of Callus and Cell Suspensions of Wild and Domesticated *Opuntia* Species: Study on Their Potential as A Source of Metabolite Production. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 124(1): 181–189.
- Rachmawati., Purwito., Wiendi., Mattjik dan Winarto. 2014. Perbanyakan Massa Anggrek *Dendrobium Gradita* 10 Secara *In Vitro* Melalui Embriogenesis Somatik. *J. Hort* 24(3):196-209.
- Trisnawarti, N dan N.I. Sumardi. 2000. Kultur Ovule Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Keberhasilan Embriogenesis Somatik. Balai Penelitian Buah. Solok.
- Utami, E.S.W., I. Sumardi, Taryono, dan E. Semiarti. 2007. Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan (*Phalaeonopsis amabilis* L.) Struktur dan Pola Perkembangan. *Berk. Penel. Hayati* 13(33-38).
- Wahyuningtiyas, L., R. S. Resmisari, Ach. Nashichuddin. 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP Pada Media MS. *Jurnal Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*.
- Wulansari, A., A.F. Martin., D.E. Rantau dan T.M. Ermayanti .2013. Perbanyakan Beberapa Aksesori Talas (*Colocasia esculenta* L.) Diploid Secara Kultur Jaringan dan Konservasinya Mendukung Diversifikasi Pangan. *Seminar Nasional Riset Pangan, Obat-Obatan Dan Lingkungan Kesehatan*. LIPI.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari eksplan daun ramin (*gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal pemuliaan tanaman hutan*.
- Zulkarnain, H. 2009. *Kultur Jaringan Tanamans: Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya*. PT Bumi Aksara. Jakarta.