



Induksi Kalus dari Eksplan Daun *Tacca* (*Tacca chantrieri* Andre) pada Media Murashige and Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda Secara *In Vitro*

In Vitro Callus Induction in *Tacca* (*Tacca chantrieri* Andre) Leaf Explants on Murashige and Skoog Media with Different Concentrations of Sucrose

Melda Jannatul Salsabilla¹⁾, Mayta Novaliza Isda^{2)*)}

1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau,
Kampus Bina Widya, Jl. H. R. Soebrantas Km. 12,5 Simpang Baru, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru, Riau, 28293

SUBMISSION TRACK

Submitted : 2021-12-07
Revised : 2022-01-18
Accepted : 2022-01-31
Published : 2022-03-08

KEYWORDS

Tacca chantrieri,
sucrose,
callus,
Murashige and Skoog.

*CORRESPONDENCE

email:
mayta.isda@lecturer.unri.ac.id

ABSTRACT

Tacca chantrieri belongs to the family Taccaceae has black flowers and has a long filiform that looks like a bat. *T. chantrieri* contains phytochemicals in the form of spirostol saponins used as traditional medicine by the people of China and Thailand. The amount of land clearing, forest exploitation and habitat destruction resulted in a reduction in the number of *T. chantrieri*, so *T. chantrieri* was propagated to maintain its sustainability. One way that can be used is the *in vitro* culture technique, namely callus culture. Callus culture is an early stage of *in vitro* culture technique where this stage aims to produce and multiply callus cells. The purposes of the study were to determine the effect of different sucrose concentrations on callus induction from *T. chantrieri* leaf explants and determine the best sucrose concentrations for callus culture from *T. chantrieri* leaf explants on Murashige and Skoog (MS) media. This study used a single factor completely randomized design (CRD) and callus morphology and callus growth were visually observed and described descriptively. The namely sucrose concentrations 0, 10, 20, 30, 40, and 50 g. L⁻¹ with five replications. The results of this study showed that the additions of sucrose with different concentrations on MS media had an effect on increasing callus induction in *Tacca chantrieri* leaves. The best sucrose concentrations for callus induction of *Tacca chantrieri* leaves was the addition of 40 g. L⁻¹ sucrose at 20 days after planting, 60 % callus formation percentage, callus formed in the form of compact callus and produce yellow-white callus.

PENDAHULUAN

Bunga Kelelawar (*Tacca chantrieri* Andre) termasuk dalam famili Taccaceae. Tanaman ini merupakan herba tahunan dan tumbuh berumpun (Hastini dan Puspitaningtyas 2009). *Tacca chantrieri* dalam bahasa Inggris disebut *tiger whisker plant*, *bat head lily*, *bat plant*, dan *black bat flower*. Bunga Kelelawar ini berasal dari penamaan *black bat flower*. Penamaan ini berdasarkan bentuk bunga yang berwarna hitam dan memiliki filiform panjang sehingga tampak seperti kelelawar secara visual sehingga memiliki nilai estetika yang tinggi sebagai tanaman hias (Fayaz 2011). Di Indonesia *Tacca* terdapat di beberapa pulau seperti Kalimantan dan Sumatera.

Tanaman *T. chantrieri* digunakan sebagai obat tradisional di Cina dan Thailand.

Rimpang *T. chantrieri* memiliki kandungan fitokimia berupa spirostosol saponin yang dianggap efektif untuk mengobati leukemia. Senyawa yang terdapat pada rimpang *T. chantrieri* juga dapat mengurangi inflamasi dan menyembuhkan asam lambung dan duodenum (Zhang *et al.* 2005).

Tanaman *T. chantrieri* saat ini sulit ditemukan di habitat aslinya akibat kerusakan habitat, pembukaan lahan, dan eksploitasi hutan. Tanaman ini dapat diperbanyak dengan biji, pemisahan anakan atau rimpang (Zhang *et al.* 2006). Perkecambahan biji memerlukan banyak cahaya, kelembaban tanah tinggi 60-70%, suhu optimum 25-30°C (He *et al.* 2002). Salah satu kultur *in vitro* yang dapat dilakukan pada perbanyak tanaman *T. chantieri* adalah kultur kalus. Induksi kalus adalah suatu tahap awal dari teknik kultur *in vitro* dimana tahapan ini

bertujuan untuk menghasilkan dan memperbanyak sel kalus secara massal. Keberhasilan kultur kalus ditentukan oleh beberapa faktor seperti bagian eksplan, media dan zat pengatur tumbuh yang digunakan. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah golongan auksin dan sitokinin, penggunaan kedua zat pengatur tumbuh ini akan memberikan respons yang berbeda pada setiap tanaman.

Selain zat pengatur tumbuh, komposisi media juga berperan penting dalam keberhasilan teknik kultur *in vitro* termasuk konsentrasi sukrosa pada media. Penelitian mengenai pemberian sukrosa yang berbeda dalam media MS telah dilakukan oleh Novaria *et al.* (2011) yang menggunakan sukrosa dalam media MS pada tanaman Binahong (*Basella rubra* L.) pada konsentrasi sukrosa $40 \text{ g. L}^{-1} + 0,5 \text{ mg. L}^{-1}$ IBA + $0,4 \text{ mg. L}^{-1}$ BAP didapat berat basah kalus maksimal yaitu 1,69 g dan waktu muncul kalus 4,8 HST

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Terpadu, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yaitu dengan 6 perlakuan diulang sebanyak 5 ulangan, sehingga diperoleh 30 unit percobaan yang berisi satu eksplan daun. Perlakuan pada penelitian ini adalah: kontrol; 10; 20; 30; 40; 50 g. L^{-1} sukrosa.

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari persiapan alat dan bahan, sterilisasi alat, pembuatan, penanaman eksplan (inokulasi) dan inkubasi selama 50 HST dengan pemeliharaan ruang inkubasi agar tetap aseptis. Perawatan selama inkubasi dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70% setiap hari dan suhu ruang inkubasi diatur $23-25^{\circ}\text{C}$ dan dilengkapi penyinaran menggunakan lampu neon.

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu persentase eksplan hidup (%), persentase pembentukan kalus (%), waktu muncul kalus (HST) morfologi kalus dan pertumbuhan kalus. Morfologi kalus dan

pertumbuhan kalus diamati secara visual dan dijelaskan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi sukrosa yang berbeda berpengaruh dalam meningkatkan persentase eksplan hidup, waktu muncul kalus, persentase pembentukan kalus, morfologi kalus dan pertumbuhan kalus, dapat dilihat pada Tabel 1 sampai Tabel 3.

Persentase eksplan yang hidup

Berdasarkan hasil penelitian persentase eksplan hidup (Tabel 1) dari eksplan daun *T. chantrieri* disetiap perlakuan berkisar antara 60% sampai dengan 100%. Semua perlakuan memberikan respon persentase hidup yang ditandai dengan eksplan berwarna hijau dan masih segar. Perlakuan dengan penambahan sukrosa 10 g (S1) dan 50 g (S5) memiliki persentase hidup yang sama dengan kontrol (S0) sebesar 60%. Penurunan persentase eksplan hidup pada kontrol (S0), perlakuan S1 (sukrosa 10 g) dan S5 (sukrosa 50 g) rata-rata disebabkan karena pada eksplan terjadi *browning* (pencokelatan pada daun *T. chantrieri*) hal ini diakibatkan oleh tanaman yang mengeluarkan senyawa berupa fenol. Pengeluaran senyawa fenol tinggi dapat mengakibatkan kematian pada eksplan.

Perlakuan dengan penambahan sukrosa 20 g (S2) dan sukrosa 40 g (S4) masing-masing memiliki persentase eksplan hidup yang sama yaitu 80%. Perlakuan dengan penambahan sukrosa 30 g (S3) memiliki persentase eksplan hidup paling tinggi yaitu 100%. Penambahan sukrosa pada konsentrasi tertentu mampu meningkatkan jumlah eksplan hidup. Adanya penambahan sukrosa 30 g mampu meningkatkan eksplan hidup dibanding kontrol dan perlakuan lainnya, eksplan hidup mampu mencapai 100% pada perlakuan ini. Seiring dengan pertambahan sukrosa, persentase eksplan hidup juga semakin meningkat, akan tetapi peningkatan eksplan hidup hanya terjadi hingga penambahan sukrosa 30 g.

Tabel 1. Persentase Eksplan Hidup (%) dan Persentase pembentukan kalus dari Eksplan Daun *T. chantrieri* dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda selama 50 HST.

Kode Perlakuan	Konsentrasi Sukrosa (g. L ⁻¹)	Persentase Eksplan Hidup (%)	Persentase Pembentukan Kalus (%)
S0	0	60	0
S1	10	60	0
S2	20	80	40
S3	30	100	20
S4	40	80	60
S5	50	60	20

Penambahan sukrosa 40 g dan sukrosa 50 g yang terlalu banyak dapat menurunkan eksplan hidup. Terlihat bahwa pada perlakuan S4 dan S5 persentase eksplan hidup semakin berkurang dibanding penambahan sukrosa 30 g. Kemungkinan hal ini diduga keseimbangan sukrosa dan komposisi media lainnya sudah tepat pada penambahan 30 g sukrosa sedangkan pada penambahan 50 g sukrosa telah melebihi kebutuhan nutrisi dari pertumbuhan eksplan. Pengaruh lain kemungkinan juga disebabkan karena terjadinya *browning* dan kontaminasi yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Persentase pembentukan kalus

Pada perlakuan kontrol (S0) kalus tidak terbentuk disebabkan karena eksplan daun *T. chantrieri* dikulturkan pada media tanpa penambahan sukrosa dan zat pengatur tumbuh, sehingga kebutuhan akan nutrisi dan ketersediaan hormon endogen belum mampu menginduksi kalus. Hal yang sama juga terjadi pada perlakuan dengan penambahan 10 g sukrosa (S1), eksplan daun *T. chantrieri* belum mampu membentuk kalus. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ketersediaan nutrisi dan hormon belum mampu mencukupi kebutuhan nutrisi dan hormon, sehingga eksplan daun *T. chantrieri* belum mampu membentuk kalus.

Perlakuan 60 g sukrosa (S4) mampu membentuk kalus dengan persentase 60%. Tingginya persentase pembentukan kalus pada perlakuan ini kemungkinan disebabkan karena tercukupinya nutrisi eksplan sehingga mampu meningkatkan pembentukan kalus. Sejalan

dengan penelitian Sitorus (2011) yang menyatakan bahwa sukrosa merupakan komponen penting yang harus tersedia dalam media kultur jaringan tumbuhan. Glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan, dalam hal ini konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus.

Dengan demikian, adanya sukrosa yang cukup dapat mendorong terjadinya pembelahan sel, pembesaran sel, dan diferensiasi sel secara baik. Jika ketersediaan nutrisi dan zat pengatur tumbuh di dalam medium kultur terbatas maka dapat menghambat pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan. Begitu juga jika ketersediaan nutrisi berlebihan akan menghambat pembelahan sel.

Pada proses pembesaran sel diperlukan bahan penyusun dinding sel. Oleh karena itu penambahan sukrosa akan menyediakan energi bagi pertumbuhan eksplan sehingga meningkatkan pembelahan dan pembesaran sel, yang berarti meningkatkan pertumbuhan kalus (Inayah 2015). Hasil penelitian menunjukkan sukrosa dengan konsentrasi 40 g. L⁻¹ dalam media merupakan konsentrasi terbaik dalam pembentukan kalus. Sesuai dengan penelitian Novaria *et al.* (2011) pemberian konsentrasi sukrosa 40 g/L pada induksi kalus Binahong kalus muncul lebih cepat yaitu 4,8 hari dan berat basah kalus 1,69 g.

Menurut Safitri *et al.* (2017) kecepatan sel membelah dapat dipengaruhi oleh kombinasi zat pengatur tumbuh tertentu dalam konsentrasi tertentu tergantung pada tanamannya, juga faktor luar seperti intensitas cahaya dan temperatur.

Perlakuan S2 (20 g sukrosa) mampu membentuk kalus sebesar 40%. Konsentrasi ini merupakan konsentrasi yang bagus dalam membentuk kalus namun belum mampu memaksimalkan pembentukan kalus. Akan tetapi hasil ini lebih baik dibanding perlakuan S3 dan S5 yang menghasilkan pembentukan kalus sebesar 20%. Rendahnya persentase pembentukan kalus pada perlakuan ini diduga pemberian sukrosa sebagai sumber karbohidrat belum merespon pembentukan awal kalus. Persentase pembentukan kalus yang berbeda-beda dipengaruhi oleh bagian eksplan daun *T. chantrieri* yang memiliki sifat berbeda dalam menyerap zat pengatur tumbuh pada media MS. Ketepatan pemberian nutrisi (sukrosa) dan zat pengatur tumbuh sangat berpengaruh terhadap besarnya persentase terbentuknya kalus. Perlakuan ini jelas berbeda dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan zat pengatur tumbuh yang belum mampu membentuk kalus.

Waktu muncul kalus

Berdasarkan hasil penelitian tidak semua ulangan di setiap perlakuan mampu menghasilkan kalus. Kalus yang terbentuk hanya terdapat pada perlakuan dengan penambahan 20 g, 30 g, 40 g dan 50 g sukrosa sedangkan perlakuan dengan penambahan 10 g sukrosa dan kontrol belum mampu membentuk kalus. Eksplan pada kontrol belum mampu membentuk kalus kemungkinan disebabkan karena eksplan dikulturkan pada media dengan komposisi nutrisi yang sangat rendah dan tidak adanya kandungan sukrosa sehingga kebutuhan eksplan akan nutrisi dan hormon belum mampu untuk menginduksi kalus. Begitu juga pada perlakuan dengan penambahan

sukrosa 10 g, konsentrasi yang rendah belum mampu menginduksi kalus.

Sukrosa dengan konsentrasi tertentu yang ditambahkan pada media mampu meningkatkan persentase pembentukan kalus. Pada konsentrasi 20 g sukrosa, terdapat dua ulangan kalus yang muncul yaitu pada ulangan satu dan pada ulangan tiga. Penambahan 30 g sukrosa kalus muncul hanya pada ulangan satu. Penambahan 40 g sukrosa, kalus yang muncul terdapat pada tiga ulangan yaitu pada ulangan satu, ulangan tiga dan ulangan lima dan penambahan 50 g sukrosa kalus hanya muncul pada ulangan satu. Dari beberapa konsentrasi sukrosa yang digunakan, penambahan 40 g sukrosa merupakan perlakuan yang berhasil membentuk kalus paling cepat yaitu 20 HST.

Sejalan dengan penelitian Wahyurini (2010) penambahannya konsentrasi 40 g sukrosa memberikan hasil terbaik untuk tinggi tunas, panjang akar, bobot basah dan bobot kering eksplan tanaman kedelai hitam (*Glycine soja*). Konsentrasi 40 g sukrosa yang ditambahkan pada penelitian ini menginisiasi kalus paling cepat dibandingkan dengan konsentrasi sukrosa lainnya yaitu 20 HST. Hal ini dikarenakan dalam laju fotosintesis pada kepekatan konsentrasi sukrosa 40 g/l dapat menjaga keasaman sel dan menginduksi H⁺, sehingga potensial air dalam sel turun dan akhirnya masuk kedalam sel terjadi pengembangan sel. Menurut Srilestari (2005), pada media yang banyak mengandung sukrosa akan lebih pekat dari pada yang sedikit mengandung sukrosa. Media yang memiliki konsentrasi yang pekat memiliki banyak molekul-molekul, sehingga arah gerakan difusi ke konsentrasi yang rendah.

Tabel 2. Waktu muncul kalus pada eksplan daun *T. chantrieri* dengan penambahan konsentrasi sukrosa yang berbeda secara *in vitro* selama 50 HST.

Kode Perlakuan	Konsentrasi Sukrosa (g. L ⁻¹)	Waktu muncul kalus (HST)				
		U1	U2	U3	U4	U5
S0	0	-	-	-	-	-
S1	10	-	-	-	-	-
S2	20	35	-	37	-	-
S3	30	35	-	-	-	-
S4	40	20	-	24	-	27
S5	50	30	-	-	-	-

Keterangan: tanda negatif (-) menunjukkan kalus tidak tumbuh

Morfologi kalus

Tabel 3. Morfologi kalus dari Eksplan Daun *T. chantrieri* dengan penambahan konsentrasi sukrosa yang berbeda selama 50 HST.

Kode Perlakuan	Konsentrasi Sukrosa (g. L ⁻¹)	Tekstur Kalus		Pertumbuhan Kalus	Warna Kalus
		Kompak	Remah		
S0	0	-	-	-	-
S1	10	-	-	-	-
S2	20	✓	-	+	Putih hijau
S3	30	✓	-	++	Putih hijau
S4	40	✓	-	+++	Putih kuning
S5	50	✓	-	++	Putih kuning

Keterangan: Tanda negatif (-) menandakan tidak terbentuk tekstur dan warna kalus, tanda positif (✓) menandakan terbentuk tekstur dan warna kalus.

Morfologi kalus adalah bentuk fisik kalus yang dihasilkan dari setiap perlakuan yang diamati berdasarkan warna dan tekstur kalus. Warna dan tekstur kalus merupakan indikator pertumbuhan kalus dalam kultur *in vitro*.

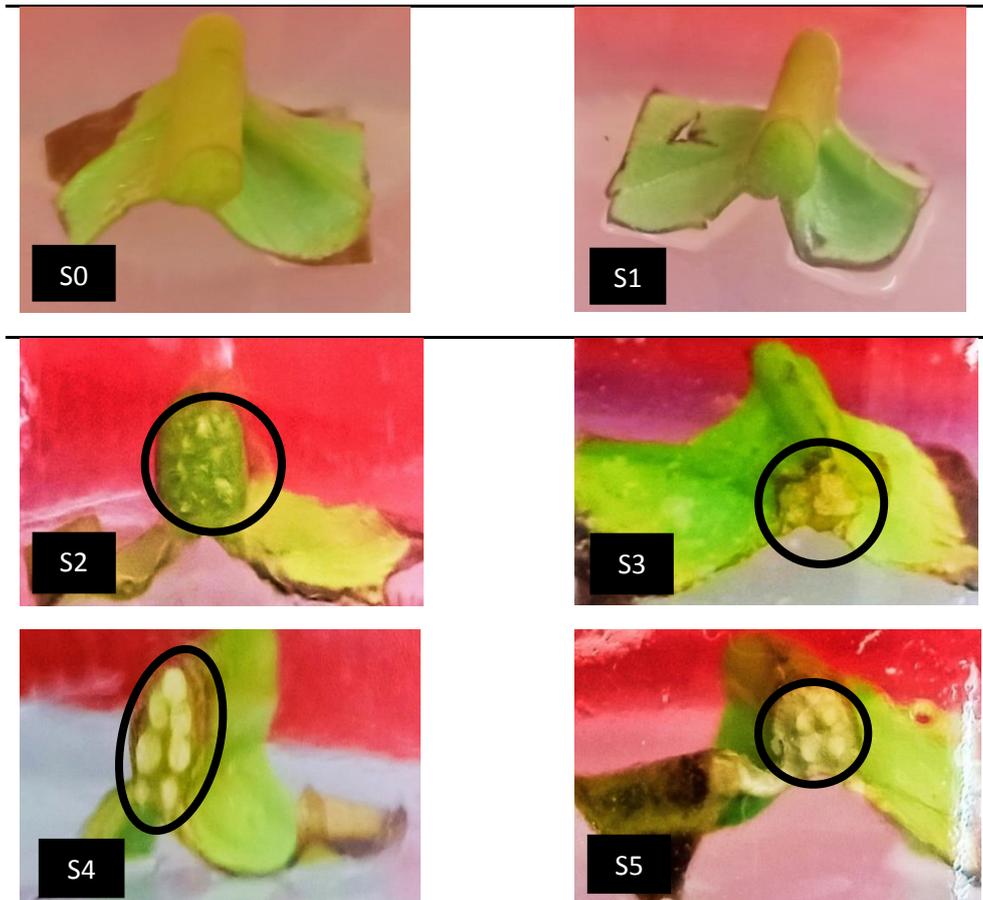
Pada perlakuan S0 dan S1 kalus tidak terbentuk, akan tetapi pada perlakuan S2, S3, S4, S5 kalus terbentuk dan menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. Tekstur kalus yang kompak ini di duga terbentuk karena konsentrasi zat pengatur tumbuh sitokinin baik endogen maupun eksogen yang ditambahkan mampu memacu pembelahan sel pada eksplan secara cepat. Sitokinin berperan dalam transport air dan zat hara melalui pembuluh angkut dan mempengaruhi potensial osmotik sel. Sukrosa yang terkandung dalam media kultur akan menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut muncul karena adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara dari media akan masuk kedalam sel melalui osmosis dan menyebabkan dinding-dinding sel menjadi kaku, dan membuat kalus menjadi kompak. Dwi *et al.* (2012) menyatakan bahwa taktur kalus 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.

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu: kompak

(*non friable*), intermediet, dan remah (*friable*). Menurut Mahadi *et al* (2016) bahwa tekstur kalus kompak di sebabkan oleh proses lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang lebih keras karena zat pengatur tumbuh yang ikut berperan dalam transport zat hara.

Warna kalus merupakan salah satu indikator dalam teknik kultur *in vitro* karena pada setiap eksplan akan menghasilkan warna kalus yang berbeda-beda dan dapat dipengaruhi oleh laju pertumbuhan kalus pada media. Respon pemberian konsentrasi sukrosa yang berbeda terhadap warna kalus ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Warna kalus merupakan gambaran visual yang dijadikan sebagai indikator perkembangan eksplan pada budidaya kultur *in vitro* sehingga dapat diketahui bahwa kultur kalus yang terbentuk sel-selnya masih aktif membelah atau sudah mati. Baik tidaknya kualitas kalus dapat ditentukan dengan melihat warna kalus. Berdasarkan hasil pengamatan secara visual kalus yang terbentuk adalah kalus berwarna putih hijau dan putih kuning. Kalus yang memiliki warna hijau menunjukkan bahwa kualitas kalus tersebut baik karena dapat menunjukkan adanya klorofil dalam jaringan. Kalus yang berwarna putih masih dapat dikatakan bahwa kalus tersebut memiliki kualitas yang baik.



Gambar 1. Pertumbuhan kalus eksplan daun *T. chantrieri* setelah 50 HST. Keterangan: S0 dan S1 Tidak terbentuk kalus (-) S2 Kalus sedikit (+) S3 dan S5 Kalus sedang (++) S4 Kalus banyak (+++).

Hasil pengamatan pada konsentrasi 20 g dan 30 g sukrosa menghasilkan warna kalus putih hijau pada eksplan *T. chantrieri*. Terbentuknya warna kalus putih hijau pada perlakuan S2 dan S3 di duga karena adanya pengaruh hormone endogen yang terdapat pada eksplan itu sendiri. Warna hijau pada kalus adanya akumulasi klorofil yang terbentuk. Menurut Wayastuti *et al* (2017), kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas akan tetapi memiliki kandungan butir pati yang banyak sedangkan warna kalus putih kehijauan terjadi karena butir pati sedikit demi sedikit tumbuh menjadi system membrane yang jelas yang akhirnya terbentuk butiran butiran klorofil.

Warna putih kuning yang dihasilkan pada perlakuan S4 (40 g sukrosa) dan S5 (50 g sukrosa) mengindikasikan bahwa kalus masih dalam keadaan cukup baik. Warna kalus putih hingga putih kekuningan mempunyai sel yang

masih aktif melakukan pembelahan dan belum mengandung klorofil. Menurut Yelnitis (2012) kalus yang berwarna putih hingga putih kekuningan merupakan ciri dari kalus embriogenik. Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Menurut Indah dan Dini (2013), bahwa warna dan tekstur kalus merupakan indikator perkembangan eksplan yang digunakan untuk menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui sel masih aktif membelah atau telah mati. Jaringan kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda-beda.

Mahadi *et al.* (2016) Warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik. Warna hijau disebabkan kalus memiliki klorofil, akibat interaksi zat pengatur tumbuh yang diberikan.

Pertumbuhan Kalus

Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan dan diikuti dengan munculnya kalus yang nampak putih di bagian perlukaan eksplan. Berdasarkan hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 3, respons eksplan daun *T. chantrieri* terhadap pertumbuhan kalus dengan konsentrasi berbeda memberikan respon yang berbeda-beda. Hasil penelitian menunjukkan terdapat pertumbuhan kalus yang sedikit ditandai dengan (+), pertumbuhan kalus yang sedang ditandai dengan (++), pertumbuhan kalus banyak ditandai dengan (+++), sedangkan untuk eksplan yang tidak membentuk kalus ditandai dengan (-). Pertumbuhan kalus pada eksplan daun *T. chantrieri* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Perlakuan dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda-beda pada media MS selain mampu mempercepat terbentuknya kalus pada eksplan daun *T. chantrieri*, juga mampu memicu pertumbuhan kalus. Perlakuan yang menghasilkan pertumbuhan kalus yang banyak adalah perlakuan S4 dimana kalus yang dihasilkan memiliki skor yang banyak (+++) secara penampilan visual dibandingkan dengan perlakuan S3 dan S5. Hasil jumlah kalus yang berbeda-beda dipengaruhi oleh bagian eksplan daun *T. chantrieri* memiliki sifat yang berbeda-beda dalam menyerap zat pengatur tumbuh pada media MS. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ariani *et al.* (2016), bahwa eksplan daun memiliki tingkat rangsangan fisiologi yang berbeda-beda dalam pembentukan kalus karena dipengaruhi oleh fisiologi eksplan tersebut.

Awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan yang diikuti dengan terbentuknya bulir bulir kecil berwarna bening pada luka bekas irisan eksplan terbentuk kalus. Pada penelitian ini terjadi pada perlakuan S2 sampai S5. Pada perlakuan S0 dan S1 hanya mengalami pembengkakan eksplan daun *T. chantrieri* dan pencoklatan (*browning*). Pembengkakan pada eksplan menandakan eksplan merespon media dalam menyerap nutrisi yang ada media dalam membentuk kalus. Menurut Wijaya *et al.* (2017) proses induksi

kalus diawali dengan terjadinya penebalan pada bagian potongan yang terluka dari eksplan. Hal ini disebabkan dari interaksi antara eksplan dan media kultur, zat pengatur tumbuh, dan lingkungan tumbuh sehingga menghasilkan ukuran eksplan semakin besar.

Eksplan yang tidak mengalami pertumbuhan kalus disebabkan karena pada jaringan eksplan tidak memiliki informasi dan perangkat fisiologis yang lengkap sehingga tidak dapat melakukan pembelahan sel. Kultur jaringan tanaman didasari oleh teori totipotensi sel yang menyebutkan bahwa setiap sel memiliki kapasitas untuk beregenerasi membentuk tanaman secara utuh serta tanaman yang dihasilkan bersifat identik dengan induknya (Dwiyani 2015). Menurut Ulfa (2011) kecepatan induksi kalus yang terjadi pada eksplan daun *T. chantrieri* berbeda pada setiap perlakuan, hal ini tergantung dari respons setiap eksplan, karena selain penambahan sukrosa dan zat pengatur tumbuh pada media, respons sel-sel eksplan juga dipengaruhi oleh hormon endogen eksplan.

Berdasarkan hasil penelitian, kalus muncul dari eksplan daun *T. chantrieri* pada pertulangan daun yang terluka ditandai dengan adanya butiran-butiran berwarna putih pada eksplan. Keseimbangan nutrisi (sukrosa) dan zat pengatur tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus. Hariyati *et al.* (2016) menjelaskan bahwa pertumbuhan kalus ditandai dengan adanya pembengkakan berwarna kuning keputihan atau bening di sekitar perlukaan eksplan dan akhirnya menutupi bagian perlukaan.

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan bahwa untuk perlakuan S0 (kontrol), dan S1 (10 g sukrosa), tidak menghasilkan kalus tetapi memiliki respons pada eksplan. Respon pada eksplan berupa pembengkakan pada eksplan dan mengalami pencoklatan pada bagian perlukaan eksplan. Pada perlakuan S0 dan S1 didapati bahwa bagian eksplan daun yang mengalami perlukaan mulai mengalami pencoklatan setelah 20 hari setelah tanam pada bagian daun yang terjadi perlukaan. Hal ini diduga terbentuknya

senyawa fenol yang berlebih pada eksplan sebagai respon akibat adanya pelukaan.

Menurut Isnaeni dan Yusnita (2019) bahwa respon terbesar tanaman ialah mengalami pencoklatan, ini terjadi akibat kadar fenol pada eksplan cukup tinggi. Bila terkena udara akan mempercepat reaksi fenol dan merubah warna tanaman menjadi coklat karena teroksidasi. Ini akan mengakibatkan warna coklat pada eksplan. Senyawa fenol yang tinggi akan menjadi racun bagi sel tanaman dan menghambat pertumbuhan eksplan. Menurut Ru *et al.* (2013) bahwa pelukaan pada organ tanaman dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme ROS (*Reactive Oxygen Species*), peroksidasi pada membran lipid, dan kehilangan integritas membran sel yang dapat memicu kelebihan akumulasi dari senyawa fenolik dan menyebabkan terjadinya pencoklatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi sukrosa yang berbeda berpengaruh dalam meningkatkan persentase eksplan hidup, waktu muncul kalus, persentase pembentukan kalus, morfologi kalus dan pertumbuhan kalus. Konsentrasi 40 g. L⁻¹ sukrosa merupakan perlakuan yang memberikan respon terbaik terhadap waktu muncul kalus yaitu 20 hst, persentase pembentukan kalus 60%, pertumbuhan kalus (+++), tekstur kalus terbentuk yaitu kalus kompak dan kalus berwarna putih kuning pada induksi kalus eksplan daun *T. chantrieri*.

DAFTAR PUSTAKA

Ariani R, YU Anggaraito dan ES Rahayu. 2016. Respon Pembentukan Kalus Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D Dan BAP. *Jurnal MIPA*. 39 (1): 20-28.

Dwiyani R 2015. *Kultur jaringan Tanaman*. Bali: Pelawa sari

Fatmawati A. 2008. Kajian Konsentrasi BAP Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Tanaman *Artemisia Annu* L. Secara *In Vitro*. [Skripsi]. UNS. Surakarta.

Fayaz A. 2011. *Encyclopedia Of Tropical Plants: Identification and Cultivation of Over 3,000 Tropical Plants*. Firefly Book. New Zealand.

Hariyati MI, Bachtiar dan P Sedijani. 2016. Induksi Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) Dengan Pemberian Benzyl Amino Purin (BAP) Dan Dichlorofenoksi Acetil Acid (2,4-D). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 2 (1).

Hartini S dan DM Puspitaningtyas. 2009. *Keanekaragaman Tumbuhan Pulau Sumatra*. LIPI Press. Jakarta.

Inayah T 2015, Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Pada Induksi Embrio Somatic Dua Kultivar Kacang Tanah (*Arachis hypogea*. L) Secara *In Vitro*. *Jurnal Agribisnis*. 9(1): 61-70.

Isnaeni S dan R. Yunita. 2019. Tingkat Pencoklatan Eksplan Salak Unggul Harapan Baru Asal Tasikmalaya. *J. Agrosintesa*. 2(1): 34-39.

Mahadi I, IW Syafii 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*. 21(2): 84-89.

Novaria ES, ED Hatuti dan N Setiari. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) Secara *In Vitro* Pada Media Murashige & Skoog Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda. *Bioma*. 13 (1).

Medicinal Plant Improvement in Thailand. *Prosiding. Office of the National Research Council of Thailand*. Bangkok 13-14 September.

Ru, Z Lai, Y Xu dan L Li. 2013. Poluphenol Oxidase (PPO) In Early Stage of Browning of Phalaenopsis Leaf Explants. *Journal Of Agricultural Science*. 5 (9): 57-64.

Safitri S K, L Siregar, K Lubis 2017. Induksi Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus*

- sabdariffa, L) Pada Jenis Eksplan Dan Konsentrasi Auksin Yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*. 5(3): 593-596.
- Sitorus M, ED Hastuti, N Setiari. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) secara *In vitro* pada Media Murashige & Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *Bioma* 13(1): 1-7.
- Ulfa MB. 2011. Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sukteng*. IV (2): 137-147.
- Wahyurini E.2010. Pengaruh Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Eksplan Tanaman Kedelai Hitam (*Glycine soja*) secara *In Vitro*. Di dalam *Prosiding seminar hasil penelitian aneka kacang dan umbi*. Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian. UPN. Yogyakarta.
- Wijaya NR, D. Suharto dan H. Sudrajad. 2017. Pengaruh Bap Dan 2,4 D Terhadap Inisiasi Dan Pertumbuhan Kalus Pulesari (*Alyxia reinwardtii* Blume). *Jurnal Pertanian Agros* Vol.19. No.1: 37-44.
- Yelnitis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Daun Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* Kurz). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6 (3): 181-194.
- Zhang L,SCH Barrett, JY Gao, J Chen, WW Cole, ZL Bai dan QJ Li. 2005. Predicting mating patterns from pollination syndromes: the case of "sapromyophily" in *Tacca chantrieri* (Taccaceae). *American Journal of Botany* 92(3): 517-524.
- Zhang L, QJ Li, HT Li, J Chen dan DZ Li. 2006. Genetic diversity and geographic differentiation in *Tacca chantrieri* (Taccaceae): an autonomous selfing plant with showy floral display. *Annals of Botany* 98: 449–457.