**Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Tacca**

**(*Tacca chantrieri* Andre) Pada Media Murashige And Skoog**

**Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda Secara *In Vitro***

**Callus Induction From Leaf Explants Of Tacca (*Tacca chantrieri* Andre) On Murashige And Skoog Media With Different Sucrose Concentrations**

***In Vitro***

**Melda Jannatul Salsabilla1, Mayta Novaliza Isda1\***

1 Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas, 28293

**\***Corresponding author : 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 spritosol 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 purpose of the study is 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), namely sucrose concentrations 0 g/l, 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l, 50 g/l with five replications. The results of this study showed that the administrations of sucrose with different concentrations on MS media had an effect on increasing callus induction in *Tacca chantrieri* leaves. The best sucrose concertations for callus induction of *Tacca chantrieri* leaves was the addition of 40 g/l sucrose at 20 days after planting, 60 % callus formation percentage, callus formed in the form of compact callus and produce yellow-white callus.

**Keywords**: *Tacca chantrieri*, sucrose, callus, *Murashige and Skoog*.

**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). Tanaman ini secara alamiah berasal dari hutan hujan tropika Thailand, India, Bangladesh, Burma, Thailand, China, Malaysia, dan Indonesia (Govaerts 2004). 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). Nuanla dan Sruamsiri (2000) menambahkan bahwa ekstrak senyawa kimia *T. chantrieri* efektif sebagai biopestisida.

Menurut Zhang *et al.* (2006) menyatakan bahwa *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. 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 perbanyakan tanaman *T. chantieri* adalah kultur kalus. Induksi kalus adalah suatu tahap awal dari teknik kultur *in vitro* dimanatahapan 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 gologan 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 40g/l+ 0,5 ppm IBA+ 0,4 ppm 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 lenglap (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 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°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 di amati secara visual dan di jelaskan secara deskriptif. Data yang diperoleh tidak dapat dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) karena data tidak memenuhi uji f hitung sehingga data selanjutnya dibahas 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 sebagai berikut.

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) | Persentase Eksplan Hidup (%) | Persentase PembentukanKalus (%) |
| S0 | 0 | 60 | 0 |
| S1 | 10 | 60 | 0 |
| S2 | 20 | 80 | 40 |
| S3 | 30 | 100 | 20 |
| S4 | 40 | 80 | 60 |
| S5 | 50 | 60 | 20 |

**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%. Sedangkan 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 peningakatan eksplan hidup hanya terjadi hingga penambahan sukrosa 30 g.

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 Srilestari (2005) yang menyatakan bahwa glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan, dalam hal ini konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus.

Menurut Yusnita (2003) glukosa merupakan sumber kekuatan bagi sel untuk tumbuh membentuk sel-sel baru tumbuh menjadi 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 pemberian sukrosa pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan pembelahan dan pembesaran sel, yang berarti meningkatkan pertumbuhan kalus (Husin *et al.* 2004). Hasil penelitian menunjukkan sukrosa dengan konsentrasi 40 g/L dalam media meupakan 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 Gunawan (1991) kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi tertentu, selain itu juga tergantung pada jenis tumbuhan. Faktor-faktor lain seperti jenis media, ketersedian unsur hara makro maupun mikro, karbohidrat seperti sukrosa, adanya bahan tambahan dan juga faktor fisik seperti cahaya, sterilisasi, suhu dan pH media. Perlakuan S2 (20 g sukrosa) mampu membentuk kalus sebesar 40%. Konsesntrasi 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* yangmemiliki 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**

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

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| KodePerlakuan | KonsentrasiSukrosa (g) | 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

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 nutrien 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) penambahann konsentrasi 40 g sukrosa memberikan hasil terbaik untuk tinggi tunas, panjang akar, bobot basah an 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.

**Morfologi 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*.

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

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Kode Perlakuan | KonsentrasiSukrosa (g) | 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.

Pada perlakan 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 pembelan 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 tektur 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*). Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan regenerasi yaitu kalus dengan tekstur remah (*friable*). Kalus remah memiliki struktur sel sel nya renggang dan mudah rapuh sedangkan kalus kompak memiliki susunan sel yang rapat dan membentuk tonjolan (Santoso dan Nursandi 2003).

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

|  |  |
| --- | --- |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_093818.jpgS0 | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_094112.jpgS1 |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_042937.jpgS2 | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_042600.jpgS3 |
| C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_042804.jpgS4 | C:\Users\HP\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\IMG_20210709_042507.jpgS5 |

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 (+++).

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.

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 Fatmawati (2008), warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil pada jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofil sedangkan kalus yang berwarna putih mengindikasikan bahawa pertumbuhan kalus cukup baik. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya pigmentasi dari klorofil yang mengalami degradasi.

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. Menurut Wardani *et al.* (2004), perubahan warna kalus menjadi putih kehijauan, pada sel kalus sudah mulai terbentuk klorofil sebagai reaksi pencahayaan sehingga kloroplas melakukan fotosintesis.

**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 pembengkakkan 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)*. Astutik (2007) mengatakan pembentukan kalus diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua. Tanaman yang dilukai akan membentuk kalus akibat selnya mengalami kerusakan dan terjadi autolisis, dan dari sel yang rusak tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel di lapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdiferensiasi.

Eksplan yang tidak mengalami pertumbuhan kalus disebabkan kerena pada jaringan eksplan tidak memiliki informasi dan perangkat fisiologis yang lengkap sehingga tidak dapat melakukan pembelahan sel. Menurut Yusnita (2003) karena adanya totipotensi sel, yaitu setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang. 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 pelukaan mulai mengalami pencoklatan setelah 20 hari setelah tanam pada bagian daun yang terjadi pelukaan. Hal ini diduga terbentuknya senyawa fenol yang berlebih pada eksplan sebagai respon akibat adanya pelukaan.

Menurut Hutami (2008), menyatakan bahwa pencoklatan dapat terjadi karena adanya enzim oksidase yang mengandung senyawa fenol. Pencoklatan umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi ketika eksplan dilukai, biasanya disebabkan oleh aktivas enzim polifenol oksidase. Perlukaan organ 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 (Ru *et al*. 2013).

**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 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.

Astutik S. 2007. Pengaruh Varietas Kedelai (*Glycine max*) Terhadsp Pertumbuhan Kalus Dan Kandungan Senyawa Isoflavon (*Daidzein dan Genistein*). [Skripsi]. Malang. Universitas Islam Malang.

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

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

Govaerts R. 2004. World Checklist of Monocotyledons Database in ACCESS: 1- 54382. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.

Hariyati MI, Bachtiar dan P Sedijani. 2016. Induksi Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemun 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.

Husin A, CJ Soegihardjo dan S Wahyuno. 2004. Pengaruh Kombinasi Kadar Sukrosa Dan Kalium Nitrat Dalam Medium Murashige And Skoog (MS) Terhadap Kadar Atropina Atau Hiosiamina Pada Kultur Kalus *Datura stramonium* L. *Var. stramonium*. *Jurnal Sains Dan Sibernika.* XVII (3): 1-7.

Hutami S. 2008. Ulasan Masalah Pencokelatan Pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agro Biogen.* 4 (2): 83-88.

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).

Nuanla R dan P Sruamsiri. 2000. Insecticidal activity of bat flower plant crude extraction against common cutworm. pp. 200-209. In Seminar Report on Tendency of the Medicinal Plant Improvement in Thailand. *Prosiding. Office of the National Research Cousncil 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.

Santoso dan Nursandi. 2003. *Kultur jaringan tanaman*.Malang: UMM Press.

Srilestari R. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah Pada Berbagai Macam Vitamin Dan Sukrosa. [Skripsi]. Yogyakarta: UGM.

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.

Wardani DP, Solichatun dan DS Ahmad. 2004. Pertumbuhan Dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talium paniculatum* G. Pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat dan Kinetin. *Biofarmasi.* 2 (1): 35-43.

Yelnitis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Daun Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* Kurz). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* . 6 (3): 181-194.

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan “Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien”. PT Agro Media Pustaka. Bogor.*

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 "sapromyiophily" 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.