

Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum L.*) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin

(In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzigium aromaticum L.*) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations)

Yulianti Rasud*, Bustaman

(Diterima Agustus 2018/Disetujui Oktober 2019)

ABSTRAK

Cengkeh merupakan komoditas penting di Indonesia yang digunakan di bidang industri sebagai bahan baku pembuatan rokok kretek. Perbanyakan tanaman cengkeh dapat dilakukan secara generatif dengan menggunakan biji, namun membutuhkan waktu yang cukup lama untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Untuk mengatasi masalah tersebut salah satu cara yang dapat ditempuh ialah melalui aplikasi kultur jaringan. Upaya pembentukan kalus cengkeh dari eksplan potongan daun telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako pada bulan Juni–November 2016. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis dan konsentrasi auksin yang baik untuk induksi kalus daun cengkeh secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan enam level perlakuan, yaitu 0,25 ppm 2,4-D; 0,50 ppm 2,4-D; 0,75 ppm 2,4-D; 0,25 ppm NAA; 0,50 ppm NAA; dan 0,75 ppm NAA. Pengamatan dilakukan pada kecepatan atau saat muncul kalus, persentase eksplan berkalus, warna kalus, dan tekstur kalus. Data diolah menggunakan analisis ragam dan perbedaan antar-perlakuan ditentukan dengan *Duncan Multiple Ranges Test* (DMRT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi auksin yang lebih baik untuk induksi kalus daun cengkeh adalah 2,4-D pada konsentrasi 0,75 ppm. Pada jenis dan konsentrasi auksin tersebut diperoleh kecepatan atau saat muncul kalus yang paling cepat, yaitu rata-rata 4,22 minggu setelah tanam (MST) dengan persentase pembentukan kalus mencapai 100%. Umumnya warna kalus berwarna putih, putih kekuningan dan kecokelatan, sedangkan tekstur kalus yang terbentuk adalah remah, kompak, dan intermediet.

Kata kunci: hormon tumbuh, kultur jaringan, pembentukan kalus, *syzigium aromaticum*

ABSTRACT

Clove is an important commodity in Indonesia and it is used as a main material for cigarettes. Clove propagation can be conducted by generative method, but this method takes a long time to produce a considerable number of seedlings. To overcome such problem, it can be applied a tissue culture technique. An effort has been conducted to induce calli from sliced clove leaves and performed at Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, Tadulako University from June–November 2016. The aim of this experiment was to determine the most suitable type and concentration of auxins for callus induction of sliced clove leaves via *in vitro* culture. This experiment used a Completely Randomized Design with six treatments, namely 0.25 ppm 2.4-D; 0.50 ppm 2.4-D; 0.75 ppm 2.4-D; 0.25 ppm NAA; 0.50 ppm NAA; and 0.75 ppm NAA. Parameters observed consisted of the speed or time of appearance, the percentage, color, and texture of calli. Data were analyzed by using analysis of variance and differences between mean treatments were determined by *Duncan Multiple Range Test* at 5% level. The results of this experiment indicated that the type and concentration of auxin most suitable for callus induction of sliced clove leaves was culture medium supplemented with 0.75 ppm 2.4-D. In such medium composition, it was obtained the quickest callus formation, namely average 4.22 WAC with the percentage of callus formation was up to 100%. In general, the colors of calli were white, yellowish white, and brown; with the textures of formed calli were soft, compact, and intermediet.

Keywords: callus formation, clove, growth hormone, tissue culture

PENDAHULUAN

Prospek dan potensi tanaman cengkeh di Indonesia kedepannya akan semakin tinggi karena kebutuhan cengkeh dalam negeri maupun di pasar internasional meningkat. Saat ini Indonesia merupakan negara produsen sekaligus konsumen cengkeh terbesar di

dunia yang penggunaannya sebagian besar untuk memenuhi kebutuhan industri rokok kretek. Produksi cengkeh nasional dalam kurun waktu lima tahun terakhir cenderung meningkat (Dirjen Perkebunan 2016). Adanya kebijakan pemerintah tentang pengembangan cengkeh melalui program rehabilitasi, peremajaan, hingga penggantian bibit baru diharapkan mampu memacu peningkatan produksi cengkeh nasional. Selain peningkatan produksi, hal yang perlu mendapat perhatian adalah peningkatan kualitas hasil

Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Mujahidin Tolitoli, Jl. Dr. Samratulangi No. 51 Tolitoli Sulawesi Tengah 94515

* Penulis Korespondensi: Email: yulirasud.stip@gmail.com

yang ditempuh di antaranya melalui penyediaan benih atau bahan tanam bermutu.

Penyediaan benih cengkeh dapat ditempuh secara generatif dengan menggunakan biji. Selain itu, bahan tanam cengkeh juga dapat diperbanyak secara vegetatif konvensional dengan penyambungan. Namun, kedua cara ini membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Pemanfaatan bioteknologi diharapkan dapat membantu dalam perbanyakan tanaman cengkeh secara massal dan cepat, di antaranya melalui pemanfaatan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan dapat dimanfaatkan untuk tujuan perbanyakan klon unggul maupun perbaikan sifat tanaman melalui *in vitro* mutagenesis dan seleksi *in vitro*. Teknik kultur jaringan juga diperlukan dalam transformasi genetik untuk meregenerasikan sel tanaman yang telah ditransformasi. Oleh karena itu, ketersediaan metode induksi kalus dan regenerasi cengkeh yang efisien melalui kultur jaringan sangat diperlukan.

Induksi kalus merupakan tahap awal dari teknik kultur *in vitro* yang bertujuan untuk menghasilkan dan memperbanyak sel kalus secara massal. Kalus merupakan sumber bahan tanam yang sangat penting dalam meregenerasi tanaman karena setiap sel tanaman memiliki kemampuan membentuk individu baru. Oleh karena itu, upaya induksi kalus yang efisien merupakan tahap penting dalam rangka mendapatkan bibit cengkeh yang cepat dalam jumlah banyak. Strategi kultur jaringan melalui induksi kalus sangat efektif karena kalus dapat diinisiasi dari bagian tanaman manapun.

Propagasi tanaman cengkeh melalui kultur *in vitro* belum banyak dilaporkan, namun pengaruh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam pembentukan kalus telah banyak dilaporkan. Syahid *et al.* (2010) melaporkan bahwa media dengan pemberian 0,3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L Benzyl Adenin memberikan hasil terbaik dalam pembentukan kalus yang remah, berwarna putih kekuningan dengan diameter hingga mencapai 28,7 mm dan kadar tanin lebih tinggi pada daun jati belanda. Yelnitis (2012), melaporkan bahwa kalus dari daun ramin dapat diinduksi dengan pemberian 5,0 mg/L 2,4-D ke media kultur. Selanjutnya, Rasud (2012) menyatakan komposisi media terbaik untuk induksi kalus daun cengkeh adalah media MS yang ditambahkan 0,5 ppm 2,4-D dan diperoleh persentase eksplan berkalus mencapai 100%, serta waktu induksi kalus tercepat (enam minggu setelah tanam). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis dan konsentrasi auksin yang baik untuk induksi kalus daun cengkeh secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Tadulako Palu, pada bulan Juni–November 2016. Eksplan yang digunakan adalah daun cengkeh dari bibit

umur dua bulan. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan stok sesuai komposisi media dasar Murashige dan Skoog (MS), 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D), Naphthaleneacetic Acid (NAA), Kinetin 1 ppm, sukrosa, pematid media (agar-agar), akuades, alkohol 70%, spiritus, bayclin, betadine, kertas saring, tisu, kertas label, karet gelang, dan plastik 0,8 mm. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Laminar Air Flow Cabinet (LAFB), lemari pendingin, autoklaf, timbangan analitik, pemanas listrik, *magnetic stirrer*, *handsprayer*, micropipet, *scalpel*, *blade*, batang pengaduk, pH meter, labu semprot, cawan Petri, botol kultur, gelas stainless, gelas piala, pembakar Bunsen, pipet, pinset, detergen, corong, destilator, oven, dan alat tulis.

Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan, yaitu A1 = 0,25 ppm 2,4-D; A2 = 0,50 ppm 2,4-D; A3 = 0,75 ppm 2,4-D; B1 = 0,25 ppm NAA; B2 = 0,50 ppm NAA; dan B3 = 0,75 ppm NAA. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali menjadi 18 unit percobaan. Setiap unit percobaan menggunakan tiga eksplan yang menghasilkan 54 eksplan.

Media yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige & Skoog 1962) yang ditambahkan 30 g/L sukrosa, 1 ppm Kinetin serta zat pengatur tumbuh 2,4-D, dan NAA sesuai perlakuan yang dicobakan. Selanjutnya, ditambahkan akuades hingga volume larutan mencapai 1 L dan pH media ditepatkan 5,7–5,8. Media tersebut selanjutnya ditambahkan 8 g/L agar, lalu dipanaskan pada *hot plate* hingga suhu 80°C untuk melarutkan agar. Media kemudian dituang ke dalam botol kultur dengan volume 25 mL/botol. Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil dan diberi label, lalu disterilisasi dalam autoklaf pada tekanan 17,5 psi selama 15 menit.

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan cara mencuci eksplan dengan detergen selama 30 menit dan dibilas dengan air kran sebanyak tiga kali. Eksplan tersebut selanjutnya dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Eksplan lalu disterilisasi dengan larutan chlorox 5% selama 10 menit dan bayclin 5% selama 5 menit (dilakukan dalam *laminar air flow cabinet*) serta dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Eksplan selanjutnya ditanam pada media MS sesuai perlakuan yang dicobakan.

Semua botol kultur diberi label dan diletakkan di rak kultur pada ruang pemeliharaan. Ruang pemeliharaan dibersihkan setiap hari dengan cara mengepel lantai. Rak dan botol kultur disemprot alkohol 70% setiap hari untuk mencegah kontaminasi. Suhu dalam ruang kultur dipertahankan pada suhu 22–26°C, dan pemeliharaan dilakukan dalam rak kultur tanpa adanya pencahayaan (gelap). Sementara itu, peubah yang diamati meliputi: 1) Saat muncul kalus, diamati sejak pengkulturan hingga terbentuknya kalus pada setiap eksplan yang dikultur, 2) Persentase eksplan berkalus, dihitung berdasarkan formulasi Σ Eksplan berkalus dibagi Σ Eksplan dikultur dikali 100%, 3) Warna kalus; diamati secara visual sejak munculnya kalus hingga akhir pengamatan, dan

4) Tekstur kalus, diamati secara visual pada akhir pengamatan.

Data yang diperoleh ditabulasi kemudian dianalisis menggunakan analisis ragam guna mengetahui adanya pengaruh dari perlakuan yang diuji. Hasil analisis ragam yang menunjukkan pengaruh nyata, selanjutnya diuji lanjut dengan menggunakan *Duncan Multiple Ranges Test* (DMRT) pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata antar-perlakuan yang dicobakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Saat Muncul Kalus

Munculnya kalus pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Kalus merupakan kumpulan materi atau zat-zat amorf terbentuk pada eksplan yang sel-selnya membelah terus-menerus. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi auksin (2,4-D dan NAA) yang diuji berpengaruh sangat nyata terhadap saat muncul kalus. Rata-rata saat muncul kalus dari berbagai perlakuan yang diuji disajikan pada Tabel 1.

Sesuai hasil uji DMRT 5% (Tabel 1) diketahui bahwa pemberian berbagai jenis dan konsentrasi auksin memberikan pengaruh terhadap saat muncul kalus. Pembentukan kalus pada eksplan daun cengkeh tercepat diperoleh pada jenis auksin 2,4-D (0,75 ppm), yakni hanya 4,22 minggu setelah kultur (MSK). Pembentukan kalus menjadi lebih lambat pada konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah (0,50–0,25 ppm 2,4-D), yakni rata-rata 5,33–5,78 MSK. Kecepatan pembentukan kalus juga berbeda pada media yang ditambahkan NAA. Pembentukan kalus lebih cepat bila ditambahkan 0,75 ppm NAA, yaitu rata-rata 6,78 MSK. Pembentukan kalus juga menjadi lebih lambat ketika konsentrasi NAA lebih rendah (0,50–0,25 ppm NAA), yakni rata-rata 7,55–9,00 MSK.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata saat muncul kalus paling cepat diperoleh pada jenis auksin 2,4-D. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan (0,75 ppm), maka semakin cepat pembentukan kalus. Sebaliknya, semakin rendah konsentrasi 2,4-D yang diberikan (0,50–0,25ppm) semakin lambat pula terbentuk kalus. Demikian halnya pada jenis auksin NAA; semakin tinggi konsentrasi NAA yang diberikan (0,75 ppm), semakin cepat pemben-

tukan kalus dan semakin rendah konsentrasi NAA yang diberikan (0,50–0,25 ppm), pembentukan kalus semakin melambat pula. Marlin *et al.* (2012) menyatakan bahwa untuk pembentukan kalus diperlukan auksin dalam jumlah yang relatif tinggi. Konsentrasi auksin yang tinggi dibutuhkan untuk memacu pembentukan kalus dan menekan morfogenesis. Berdasarkan data tersebut, maka diketahui bahwa jenis auksin 2,4-D pada konsentrasi 0,75 ppm merupakan jenis dan konsentrasi yang baik untuk induksi kalus pada eksplan daun cengkeh dibandingkan dengan jenis auksin NAA. Hasil pengamatan ini berbeda dengan laporan sebelumnya (Rasud 2012), yaitu pemberian 2,4-D pada konsentrasi 0,50 ppm diperoleh pembentukan kalus daun cengkeh paling cepat, yaitu rata-rata 6 MSK.

Perbedaan hasil tersebut diduga disebabkan karena semua media yang digunakan dalam percobaan ini ditambahkan Kinetin (1ppm). Pemberian auksin sering menjadi lebih efektif saat dikombinasikan dengan sitokinin (Sitinjak *et al.* 2015), termasuk dalam memacu pembentukan dan pertumbuhan sel-sel kalus. Pada penelitian ini, suplai 2,4-D pada konsentrasi 0,75 ppm merupakan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang sesuai bagi induksi kalus dari daun cengkeh.

Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan (daun cengkeh) pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan respons dari eksplan terhadap zat pengatur tumbuh yang diuji. Kalus umumnya muncul pada bagian sayatan helai daun (tepi daun), lalu disusul pada bagian tengah daun. Kalus terbentuk ditandai dengan membengkaknya permukaan eksplan dan terbentuknya tonjolan-tonjolan putih yang berjejal pada permukaan eksplan. Khaniyah *et al.* (2012) menyatakan bahwa munculnya kalus ditandai dengan pembengkakan eksplan disertai munculnya bercak-bercak putih. Menurut Yelnititis (2012), induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan hasil interaksi antara eksplan dengan media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh sehingga eksplan bertambah besar. Dwipayana *et al.* (2016), menyatakan bahwa pembengkakan pada eksplan terjadi karena adanya pengaruh pemberian 2,4-D yang memacu pembelahan dan perbanyakan sel akibat penyerapan air, nutrisi dan zat pengatur tumbuh dari media. Kemunculan kalus merupakan respons pada pelukaan serta pengaruh dari fitohormon dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke media (Purba *et al.* 2017). Pelukaan pada eksplan (daun cengkeh) memudahkan difusi 2,4-D atau pun NAA ke dalam jaringan daun cengkeh.

Kecepatan pembentukan kalus ditentukan oleh daya kerja dari zat pengatur tumbuh yang diberikan dan fitohormon yang terdapat pada eksplan. Indah & Ermavitalini (2013) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh eksogen akan mengubah gradien fitohormon dalam sel-sel eksplan. Efektivitas zat

Tabel 1 Saat muncul kalus daun cengkeh pada berbagai konsentrasi auksin

Perlakuan	Saat muncul kalus (minggu)
A1 = 0,25 ppm 2,4-D	5,78 ^d
A2 = 0,50 ppm 2,4-D	5,33 ^d
A3 = 0,75 ppm 2,4-D	4,22 ^e
B1 = 0,25 ppm NAA	9,00 ^a
B2 = 0,50 ppm NAA	7,55 ^b
B3 = 0,75 ppm NAA	6,78 ^c

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

pengatur tumbuh (auksin) eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman. Pembentukan kalus pada media yang ditambahkan 0,75 ppm 2,4-D ditampilkan pada Gambar 1.

Persentase Eksplan Berkalus

Persentase pembentukan kalus menunjukkan tingkat responsif eksplan pada perlakuan yang diuji. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi auksin (2,4-D dan NAA) berpengaruh sangat nyata terhadap persentase eksplan berkalus. Persentase eksplan berkalus dari berbagai perlakuan yang diuji disajikan pada Tabel 2.

Indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro* salah satunya adalah pertambahan jumlah sel melalui pembentukan kalus. Menurut Rusdianto & Indrianto (2012), kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir yang terbentuk pada jaringan luka. Sel kalus terbentuk dari sel meristem atau pun sel yang telah mengalami diferensiasi, seperti sel parenchyma pada daun. Sesuai data yang ditampilkan pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa persentase pembentukan kalus dari berbagai perlakuan yang dicobakan berkisar antara 66,68–100%. Persentase pembentukan kalus tertinggi diperoleh pada jenis auksin 2,4-D, yaitu mencapai 100% untuk semua konsentrasi yang dicobakan. Sementara itu, pada jenis auksin NAA, per-

Tabel 2 Persentase pembentukan kalus

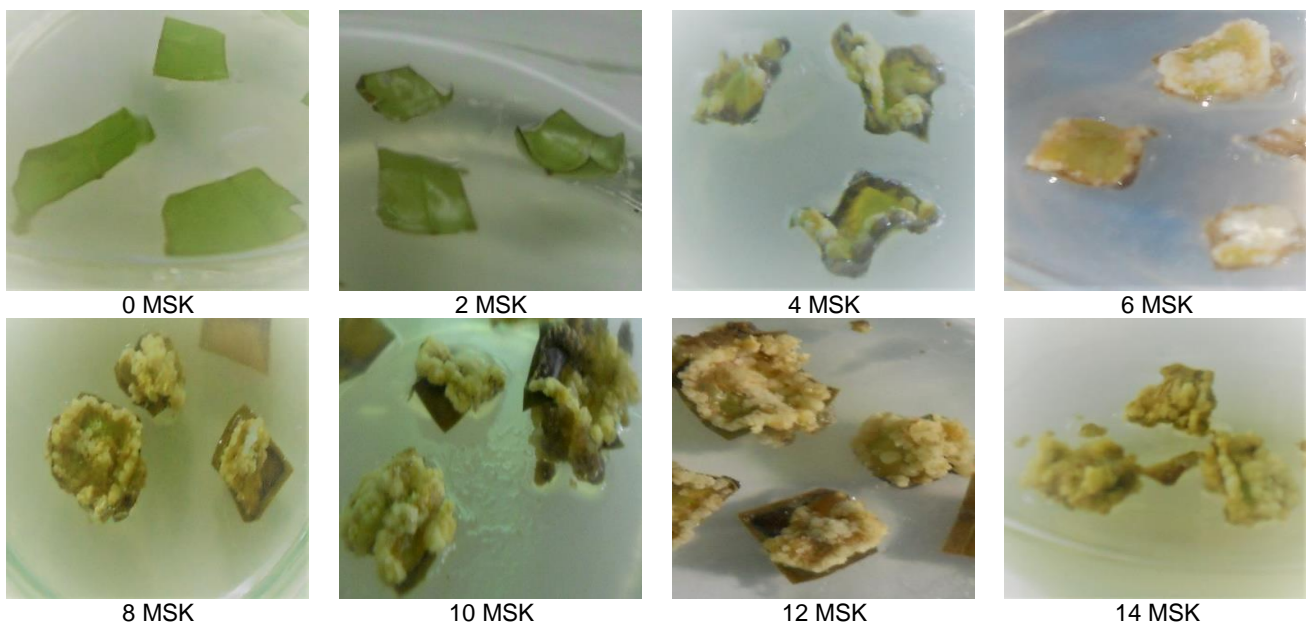
Perlakuan	Persentase pembentukan kalus (%)
A1 = 0,25 ppm 2,4-D	100,00 ^b
A2 = 0,50 ppm 2,4-D	100,00 ^b
A3 = 0,75 ppm 2,4-D	100,00 ^b
B1 = 0,25 ppm NAA	66,68 ^a
B2 = 0,50 ppm NAA	77,78 ^a
B3 = 0,75 ppm NAA	77,78 ^a

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

sentase pembentukan kalus tertinggi hanya mencapai 77,78% (0,50–0,75 ppm). Hasil ini menunjukkan bahwa 2,4-D lebih efektif dalam menstimulasi pembentukan kalus pada daun cengkeh dibanding NAA. 2,4-D merupakan auksin yang berperan dalam memacu pembelahan dan pembesaran sel sehingga terbentuk massa sel atau kalus. Menurut Rahardja *et al.* (2012), penambahan 2,4-D dalam media akan mendorong pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan yang selanjutnya akan memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. 2,4-D merupakan jenis auksin sintetik yang efektif mendorong pembelahan sel-sel yang telah mengalami diferensiasi untuk kembali menjadi terdediferensiasi.

Warna Kalus

Warna kalus menggambarkan penampilan visual sel-sel kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan sel-selnya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua kalus yang terbentuk mulanya berwarna putih. Warna kalus yang terbentuk dan tumbuh pada minggu keempat (4,22 minggu) hingga minggu ke-8 berwarna putih; dan setelah itu berubah perlahan-lahan menjadi putih kekuningan hingga kecokelatan. Perubahan warna pada kalus tersebut menunjukkan adanya perubahan fase pertumbuhan pada sel, dari sel-sel yang muda dan aktif membelah (putih) menjadi sel-sel yang dewasa atau *mature* (putih kekuningan). Perubahan warna pada kalus tersebut disebabkan oleh adanya sintesis zat-zat fenolik pada sel (kalus). Yelnititis (2012) menyatakan bahwa perubahan warna kalus dari putih hingga putih kekuningan merupakan salah satu ciri kalus yang dapat berkembang menjadi embrionik. Kalus yang berwarna putih merupakan sel embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi (Ariati 2012). Kalus yang berwarna putih merupakan massa sel yang sedang aktif



Gambar 1 pembentukan kalus dari daun cengkeh pada media ms yang ditambahkan 0,75 ppm 2,4-D.

membelah, sedangkan kalus yang telah berwarna putih kekuningan merupakan massa sel yang menuju fase akhir pembelahan aktif; dan sel-sel yang berwarna kecokelatan merupakan massa sel yang menuju fase penuaan (*senescence*).

Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas suatu kalus sehingga dapat diketahui sel masih aktif membelah atau telah mengalami stagnasi dalam pembelahan selnya (Ariani *et al.* 2016). Tekstur kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan yang dikultur sering berbeda. Tekstur kalus dibagi menjadi tiga macam, yaitu kompak (*compact* atau *nonfriable*), intermediet (*intermediate*), dan remah (*friable*). Tekstur kalus yang kompak baik digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder (Indah & Ermavitalini 2013). Mahadi *et al.* (2016) menyatakan bahwa tekstur kalus kompak disebabkan oleh proses lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur lebih keras yang disebabkan oleh efek dari zat pengatur tumbuh (dan fitohormon) yang turut berperan dalam transport zat hara.

Kalus yang baik memiliki tekstur yang remah (*friable*). Kalus yang bertekstur remah dikategorikan baik karena mudah dalam memisahkannya menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi; selain itu juga dapat meningkatkan aerasi oksigen antar-sel. Dengan demikian, kalus yang bertekstur remah memudahkan upaya perbanyak jumlah (massa) kalus melalui kultur suspensi. Yelnitis (2012) menyatakan kalus remah baik untuk kultur suspensi dalam upaya perbanyak massa sel. Secara visual, kalus remah yang terbentuk pada eksplan daun cengkeh mudah dipisahkan dan jika diambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan sebagian selnya menempel pada pinset. Sebaliknya, kalus yang kompak mempunyai

tekstur yang sulit untuk dipisahkan dan terlihat padat. Selanjutnya, kalus intermediet merupakan massa kalus yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan lainnya remah.

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian 2,4-D pada semua konsentrasi (0,25–0,75 ppm) menghasilkan kalus yang bertekstur remah, kompak dan intermediet. Sedangkan, pemberian NAA pada semua konsentrasi (0,25–0,75 ppm) menghasilkan kalus bertekstur kompak. Menurut Indah & Ermavitalini (2013), tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. Tekstur dan warna kalus pada tanaman cengkeh disajikan pada Gambar 2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka disimpulkan bahwa jenis dan konsentrasi auksin yang lebih baik untuk induksi kalus daun cengkeh adalah 2,4-D pada konsentrasi 0,75 ppm. Pada jenis dan konsentrasi auksin tersebut diperoleh saat muncul kalus paling cepat, yaitu rata-rata 4,22 MST dengan persentase pembentukan kalus mencapai 100%. Umumnya kalus yang terbentuk hingga 8 MST berwarna putih, putih kekuningan, dan kecokelatan dengan tekstur remah, kompak, dan intermediet.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan bantuan dana melalui dana hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2015 sehingga penelitian ini dapat terlaksana.



a



b

Gambar 2 Tekstur dan warna kalus dari daun cengkeh. a) Remah-putih, kompak-putih, intermediet-putih, dan kecokelatan dan b) kompak-putih kekuningan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariani R, Anggraito YU, Rahayu ES. 2016. Respons Pembentukan Kalus Koro Benguk (*Mucuna Pruriens L.*) pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP. *Jurnal MIPA*. 39(1): 20–28.
- Ariati S, Niken, Muslimin, Waeniati, Suwastika IN. 2012. Induksi Kalus Kakao (*Theobroma cacao L.*) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science*. 1(1): 74–78.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia 2015–2017: Cengkeh*. Direktorat Jenderal Perkebunan-Kementerian Pertanian. Jakarta (ID). Hal 1–52.
- Dwipayana GAJ, Yuswanti H, Mayun IA. 2016. Induksi Kalus Stroberi (*Fragaria spp.*) Melalui Aplikasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat Secara *In Vitro*. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 5(3): 310–321.
- Indah PN, Ermavitalini D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum Linn.*) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 1–6.
- Khaniyah S, Habibah NA, Sumadi. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens (Lour) Merr.*] dengan Kombinasi 2,4-Dichloropenoxyacetic Acid dan Kinetin Secara *In Vitro*. *Jurnal Biosantifika*. 4(2): 89–105.
- Mahadi I, Syafi'i 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. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Marlin, Yulian, Hermansyah. 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang Curup dengan Penambahan Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivor*. 11(2): 275–283.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue. *Physiologia Plantarum*. 15: 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Purba RV, Yuswanti H, Astawa ING. 2017. Induksi Kalus Eksplan Daun Tanaman Anggur (*Vitis vinivera L.*) dengan Aplikasi 2,4-D Secara *In Vitro*. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 6(2): 218–228.
- Rahardja BS, Purwitasari AT, Moch, Alamsjah A. 2012. Pengaruh ZPT Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal of Marine and Coastal Science*. 1(2): 71–75.
- Rasud Y. 2012. Induksi Kalus dan Inisiasi Tunas Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) Secara *In Vitro*. [Tesis]. Palu (ID): Universitas Tadulako.
- Rusdianto, Indrianto. 2012. Induksi Kalus Embriogenik pada Wortel (*Daucus carota*) dengan Menggunakan 2,4-D. *Jurnal Bionature*. 13(2): 136–140.
- Sitinjak MA, Isda MN, Fatonah S. 2015. Induksi Kalus dari Eksplan Daun *In Vitro* Keladi Tikus (*Typhonium sp.*) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Al-Kauniah Jurnal Biologi*. 8(1): 32–39.
- Syahid ST, Kristina NN, Seswita D. 2010. Pengaruh Komposisi Media terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kadar Tanin dari Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Litri*. 16(1): 1–5.
- YelNititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus (Miq) Kurz.*). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6(3): 181–194. <https://doi.org/10.20886/jpth.2012.6.3.181-194>