

**PEMBENTUKAN KALUS TANAMAN ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) PADA
PEMBERIAN NAFTALEN ACETYL ACID (NAA) DAN BENZYL AMINO PURIN
(BAP) SEBAGAI SUMBER BELAJAR KONSEP BIOTEKNOLOGI**

Imam Mahadi, Sri Wulandari dan Addarwida Omar
Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP
Universitas Riau Pekanbaru 28293

ABSTRACT

Has conducted research for a hand out submateri biotechnology high school students based on plant tissue culture research Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). The study includes two phases, namely: (1) Experiments to produce callus tissue culture experiments using completely randomized design (CRD) factorial. The first factor is the level of NAA treatment that is 0, 1, 1.5, 2 and 3 mg/l. The second factor is the level of BAP treatment with 0, 0.5, 1, and 1.5 mg/l. Each treatment was repeated 3 times; (2) Preparation of handouts from the research as a source of learning the ADDIE model (*Analysis, Design, Development, Implementation, and Evaluation*). Parameters measured were the percentage of growing explants, while appearing callus and callus texture. Analysis of data growing percentage of explants with advanced ANOVA and DMRT test at 5% level, while the current and emerging callus texture descriptively. In a growing percentage of explants parameter combination treatment showed a percentage of 100 % are in treatment $A_0B_{1,5}$, $A_1B_{0,5}$ - $A_3B_{1,5}$. For the current parameters appear callus treatment best combination found in treatment $A_3B_{1,5}$ with a mean time of 2 HSK appear callus (days after culture) and for the texture parameters of combination treatment showed callus crumb texture and white color found in treatment $A_2B_{0,5}$ - $A_3B_{1,5}$, the research on callus growth can be used as a learning resource in the form of handouts for high school level students

Keywords : *Handout*, Tanaman Rosella, Kultur kalus, Hormon NAA dan BAP

PENDAHULUAN

Tanaman rosella dikenal sebagai tanaman kesehatan. Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga rosella adalah pigmen antosianin yang membentuk flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan yang dimilikinya berupa vitamin C yang mencapai 2,444 mg/100g kelopak rosella kering. Maryani dan Kristiana (2005) menyatakan bahwa daun atau kelopak bunga yang direbus dengan air berkhasiat sebagai peluruh kencing dan merangsang keluarnya empedu dari hati, menurunkan tekanan darah, mengurangi kekentalan darah dan meningkatkan peristaltik usus. Bahkan ekstrak bunga rosella dapat meletakan bakteri penyebab TBC. Kelopak rosella mengandung antioksidan

yang dapat menghambat terakumulasinya radikal bebas penyebab penyakit kronis, seperti kerusakan ginjal, diabetes, jantung koroner dan kanker (darah). Antioksidan juga dapat mencegah penuaan dini.

Melihat komponen-komponen kimia alami yang terkandung pada rosella memiliki khasiat yang dapat mencegah berbagai penyakit pada manusia, untuk itu tanaman rosella perlu dibudidayakan salah satunya dengan teknik kultur jaringan. Pada kultur tanaman obat-obatan biasanya menggunakan kultur kalus. Kultur kalus merupakan langkah awal yang penting untuk mengidentifikasi zat metabolit sekunder pada proses kultur jaringan yang dapat memproduksi bibit dalam waktu yang relatif singkat. Dalam budidaya kultur jaringan ini memerlukan ZPT (zat pengatur tumbuh) NAA dan BAP.

Dari uraian diatas, maka dilakukan suatu penelitian tentang Kultur Jaringan Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk merancang sumber belajar dalam bentuk *handout* yang relevan pada konsep bioteknologi bagi siswa SMA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji rosella, aquades steril, larutan NaOH, dan HCl, stok hormon NAA (*Naftalen Acetyl Acid*) dan stok hormon BAP (*Benzyl Amino Purin*) *konsentrasi NAA dan BAP sesuai perlakuan.

Penelitian meliputi 2 tahap yaitu: (1) Percobaan kultur jaringan biji rosella menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah NAA dengan taraf perlakuan yaitu 0, 1, 1.5, 2 dan 3 mg/l. Faktor kedua adalah BAP dengan taraf perlakuan yaitu 0, 0.5, 1, dan 1.5 mg/l. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Parameter yang diamati adalah persentase tumbuh eksplan, saat muncul kalus, dan tekstur kalus. Analisis data persentase tumbuh eksplan dengan ANAVA dan uji lanjut DMRT pada taraf 5 %, sedangkan saat muncul kalus dan tekstur kalus secara deskriptif; (2) Pembuatan *handout* dari hasil penelitian sebagai sumber belajar dengan Model ADDIE yang terdiri dari 5 tahap yaitu: *Analysis, Design, Development, Implementation, dan Evaluation*. Dalam penelitian ini, pembuaran *handout* dari hasil penelitian menjadi sumber belajar hanya dilakukan sampai tahap *Development* yang divalidasi oleh 3 orang dosen (teman sejawat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Tumbuh Eksplan

Hasil persentase tumbuh eksplan didapatkan dari jumlah eksplan yang

tumbuh secara keseluruhan. Hasil analisis varian persentase tumbuh eksplan menunjukkan, bahwa pemberian hormon NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan. Hal ini disebabkan karena hormon endogen yang ada didalam eksplan sudah mencukupi untuk pertumbuhan eksplan rosella dan ditambah lagi dengan hormon eksogen yang dapat merangsang pertumbuhan eksplan dengan cepat.

Dari tabel 1 terlihat bahwa hampir semua perlakuan yaitu $A_0B_{1,5}$, dan $A_1B_{0,5}$ – $A_3B_{1,5}$ menunjukkan persentase tumbuh eksplan mencapai 100% hal ini disebabkan karena eksplan yang digunakan adalah jaringan muda yang memiliki sifat maristematik yang memiliki hormon endogen yang aktif membelah dan kemudian dikombinasikan dengan hormon eksogen dari kelompok auksin (NAA) dan sitokinin (BAP). Seperti yang dikemukakan oleh Hartman (dalam Zulkarnaen, 2009) bahwa jaringan-jaringan yang sedang aktif tumbuh pada awal masa pertumbuhan biasanya merupakan bahan eksplan yang paling baik. Ini berbeda nyata terhadap perlakuan A_0B_0, A_1B_0 yang persentase tumbuh hanya mencapai 50% dan pada perlakuan $A_0B_{0,5}$ dan A_0B_1 persentase tumbuh hanya mencapai 66,66%.

Hormon yang ditambahkan (NAA dan BAP) juga turut berpengaruh terhadap tumbuhnya eksplan sehingga menjadi planlet (eksplan yang telah menjadi tanaman lengkap). Faktor lain yang mendukung keberhasilan persentase tumbuh eksplan pada penelitian ini adalah karena penggunaan media MS yang mengandung komposisi lengkap untuk pertumbuhan eksplan. Pemberian hormon dengan beberapa konsentrasi pada media MS memberikan persentase tumbuh eksplan yang baik, karena pada media mengandung vitamin, unsur hara makro dan mikro, serta besi dan sukrosa sehingga cukup untuk memacu pertumbuhan eksplan. Pierik (dalam Andaryani, 2010) menyatakan bahwa pertumbuhan organ

vegetatif dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media, dan sumber nitrogen organik paling tinggi terdapat pada media MS dibandingkan dengan media lainnya.

Sementara pada perlakuan A_0B_0 dan A_1B_0 persentase tumbuh hanya mencapai 50%. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan A_0B_0 merupakan perlakuan kontrol ini berarti tidak ada penambahan hormon perangsang baik dari kelompok auksin (NAA) maupun dari kelompok sitokinin (BAP), karena NAA berfungsi sebagai pembentuk kalus, dan perpanjangan akar. Menurut Wattimena (1992) auksin mempunyai peranan terhadap pertumbuhan sel, dominasi apikal dan pertumbuhan kalus. Sedangkan BAP secara umum berfungsi menginduksi pembelahan sel dan pembentukan tunas. Pada perlakuan A_1B_0 persentase tumbuh juga mencapai 50% hal ini disebabkan karena pada perlakuan tersebut tidak dikombinasikan dengan BAP, yang mana BAP berfungsi menginduksi pembelahan sel. Menurut Gunawan (1988) salah satu

sitokinin yang aktif adalah BAP. Oleh karena itu pada perlakuan A_0B_0 dan A_1B_0 menunjukkan pertumbuhan eksplan yang lambat.

Saat Muncul Kalus

Hasil pengamatan saat muncul kalus pada semua perlakuan menunjukkan respon yang berbeda-beda dan mampu membentuk kalus. Hal ini dikarenakan adanya interaksi dengan hormon endogen yang dikandung eksplan dalam mempengaruhi pembentukan kalus. Keadaan ini juga dipengaruhi oleh penambahan hormon eksogen yang dapat merangsang pertumbuhan kalus seperti penambahan hormon NAA dan BAP. Saat muncul kalus dinyatakan dalam HSK (hari setelah kultur) terlihat bahwa rerata saat muncul kalus berkisar antara 12,66 dan 2 HSK. Rerata saat muncul kalus tertinggi terdapat pada perlakuan A_0B_0 , $A_0B_{0,5}$, dan A_1B_0 yaitu 12,66 HSK yang jenis eksplannya adalah batang, ini berarti kalus muncul pada waktu yang lama.

Tabel 1. Rerata pengaruh pemberian Hormon NAA dan BAP terhadap pertumbuhan kalus tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*)

Perlakuan	Persentase Tumbuh Eksplan (%)	Saat Muncul Kalus (HSK)	Tekstur Kalus
A_0B_0 (kontrol)	50 c	12,66	Berair, berwarna bening
$A_0B_{0,5}$	66,66 b	12,66	Berair, berwarna bening
A_0B_1	66,66 b	11,66	Berair, berwarna bening
$A_0B_{1,5}$	100 a	11,66	Berair, berwarna bening
A_1B_0	50 c	12,66	Berair, berwarna bening
$A_1B_{0,5}$	100 a	9,66	Remah, berwarna putih
A_1B_1	100 a	9,66	Remah, berwarna putih
$A_1B_{1,5}$	100 a	9,33	Remah, berwarna putih
$A_{1,5}B_0$	100 a	9,33	Remah, berwarna putih
$A_{1,5}B_{0,5}$	100 a	8,33	Remah, berwarna putih
$A_{1,5}B_1$	100 a	8	Remah, berwarna putih
$A_{1,5}B_{1,5}$	100 a	6,33	Remah, berwarna putih
A_2B_0	100 a	6	Remah, berwarna putih
$A_2B_{0,5}$	100 a	5,66	Remah, berwarna putih
A_2B_1	100 a	4,33	Remah, berwarna putih
$A_2B_{1,5}$	100 a	2,33	Remah, berwarna putih
A_3B_0	100 a	3,66	Remah, berwarna putih
$A_3B_{0,5}$	100 a	3,33	Remah, berwarna putih
A_3B_1	100 a	2,33	Remah, berwarna putih
$A_3B_{1,5}$	100 a	2	Remah, berwarna putih

Ket: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap baris menunjukkan beda nyata pada taraf 5% pada uji wilayah berganda Duncan $\alpha = 0,05$ A = NAA B = BAP

Pada perlakuan A_0B_0 ini merupakan perlakuan kontrol yang berarti pada media tidak ditambahkan hormon baik dari kelompok auksin (NAA) maupun dari kelompok sitokinin (BAP) sehingga kalus muncul pada waktu yang lama dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya kalus muncul lebih cepat. Tetapi pada perlakuan A_1B_0 eksplan juga tidak menunjukkan tanda-tanda tumbuhnya kalus pada waktu yang cepat hal ini disebabkan karena pada media tidak dikombinasikan hormon dari kelompok sitokinin (BAP) hanya NAA saja, karena auksin berperan dalam merangsang pembentukan kalus dan BAP berperan dalam menginduksi pembelahan sel sehingga kalus yang muncul dalam waktu yang lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Santoso dan Nursandi (2004) yang menyatakan dalam aktivitas kultur jaringan auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu menginduksi terjadinya kalus, membentuk akar atau tunas dan auksin juga dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman.

Sedangkan pada perlakuan $A_3B_{1,5}$ yang jenis eksplannya adalah batang merupakan rerata saat muncul kalus yang paling rendah yaitu 2 HSK ini berarti kalus muncul pada waktu yang paling cepat yaitu sekitar 5 hari setelah hari pengkulturan eksplan (gambar 1). Hal ini disebabkan karena pengaruh pemberian hormon eksogen yang diberikan seimbang dengan hormon endogen yang ada pada eksplan yang bekerja secara sinergis hingga mampu membentuk kalus dengan waktu yang cepat. Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan interaksi antara eksplan dengan media tumbuh, zat pengatur tumbuh (ZPT) dan lingkungan tumbuh sehingga eksplan bertambah besar. Pengaruh konsentrasi pemberian hormon NAA tinggi yang berperan dalam menginduksi terjadinya kalus dan

pemberian hormon BAP yang cukup tinggi yang berperan dalam pembelahan sel.



Gambar 1. Kalus yang terbentuk pada eksplan batang pada perlakuan $A_3B_{1,5}$

Peningkatan kandungan sitokinin dalam jaringan dapat meningkatkan daya aktifitas auksin dalam memicu pembelahan sel untuk membentuk kalus. Hal ini sesuai dengan George dan Sherrington (1993) yang menyatakan bahwa pada kultur jaringan, sitokinin berperan dalam mendorong pembelahan sel dan merangsang perkembangan pucuk-pucuk tunas. Menurut Santoso dan Nursandi (2004), yang menyatakan bahwa dalam aktivitas kultur jaringan auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi terjadinya kalus. Pada konsentrasi rendah akan memacu akar adventif sedangkan pada konsentrasi tinggi mendorong terbentuknya kalus.

Tekstur Kalus

Berdasarkan hasil pengamatan, untuk tekstur kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan dengan kombinasi NAA dan BAP pada umumnya adalah bertekstur remah dan berwarna putih. Tetapi pada perlakuan A_0B_0 , $A_0B_{0,5}$, A_0B_1 , $A_0B_{1,5}$, dan A_1B_0 kalus yang tumbuh bertekstur berair dan berwarna bening. Hal ini disebabkan karena pada sel eksplan terdapat banyak vakuola yang mengandung air yang disebut juga dengan air bebas sehingga pada kalus teksturnya berair dan berwarna bening.

Pada perlakuan juga tidak dikombinasikan dengan konsentrasi hormon NAA maupun BAP artinya NAA saja atau BAP saja, oleh karena itu kalus yang dihasilkan tidak remah dan berwarna putih. Ini berarti tekstur kalus yang rapuh dihasilkan dari kombinasi hormon auksin dan sitokinin. Tekstur kalus yang remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Sel-sel kalus yang terbentuk bersifat remah memiliki ciri-ciri antara satu sel dengan sel lainnya berpisah. Bila kalus diambil dengan pinset, maka kalus tersebut akan menempel pada pinset.

Perubahan tekstur kalus yang semakin remah ini menunjukkan terjadinya proliferasi massa sel dalam kalus. Penggunaan NAA pada semua konsentrasi yang diaplikasikan menghasilkan kalus dengan tekstur remah (*friable*). Kalus dengan tekstur remah merupakan kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang mudah lepas. Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai (Fatimah, 2010). Tekstur kalus tergantung pada jaringan, umur kalus, dan kondisi pertumbuhan. Morfologi dan warna kalus biasanya tergantung dari jenis sumber eksplannya, dimana ada yang bertekstur remah (*friable*), kompak atau padat, sedangkan warna kalus biasanya mengikuti warna jenis sumber eksplan. Hal lain yang mempengaruhi morfologi dan pertumbuhan kalus diantaranya adalah sumber eksplan, komposisi media, ZPT yang digunakan, kondisi pertumbuhan seperti suhu dan cahaya, serta lamanya waktu pertumbuhan kalus. Menurut Dian (2004), warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik.

Pengembangan Hasil Penelitian sebagai Sumber Belajar Pada Konsep Bioteknologi bagi Siswa SMA

Proses penelitian merupakan serangkaian proses sains yang dimulai dari perumusan masalah sampai penarikan kesimpulan. Produk penelitian meliputi fakta-fakta yang diperoleh selama kegiatan penelitian yang selanjutnya digeneralisasikan menjadi konsep dan prinsip.

Berdasarkan jenis sumber belajar dari sisi perancangannya, maka hasil penelitian ini yang berupa *handout* termasuk dalam sumber belajar yang dirancang (*learning resources by design*) dalam bentuk pesan, bahan dan informasi, karena hasil penelitian merupakan informasi dalam bentuk fakta dan data. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber belajar dengan mengacu fakta – fakta yang diperoleh dari penelitian. Berdasarkan proses dan fakta-fakta yang ada dalam hasil penelitian pembuatan *handout* submateri bioteknologi pada siswa SMA berbasis riset kultur jaringan tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dijadikan sebagai sumber belajar yang berupa *handout* materi bioteknologi, submateri bioteknologi dengan menggunakan kultur jaringan tumbuhan untuk siswa SMA kelas XII.

Handout termasuk media cetakan yang meliputi bahan–bahan yang disediakan di atas kertas untuk pengajaran dan informasi belajar yang biasanya diambil dari beberapa literatur yang memiliki relevansi dengan materi yang diajarkan atau kompetensi dasar dan materi pokok yang harus dikuasai oleh peserta didik. Menurut Prastowo (2011), *handout* adalah bahan pembelajaran yang sangat ringkas. *Handout* ini bersumber dari hasil penelitian dengan beberapa literatur yang relevan terhadap kompetensi dasar dan materi pokok yang diajarkan kepada peserta didik. *Handout* ini diberikan kepada peserta didik guna

memudahkan mereka saat mengikuti proses pembelajaran. Dengan demikian *handout* ini tentunya bukanlah sesuatu bahan ajar yang mahal melainkan ekonomis dan praktis.

Hasil penelitian berupa fakta-fakta yang digunakan sebagai sumber belajar dianalisis agar terdapat kesesuaian dengan KTSP untuk tingkat SMA dan berhubungan erat dengan materi pokok bioteknologi pada kelas XII. Analisis kurikulum dilakukan dengan cara menentukan SK dan KD yang sesuai dengan hasil penelitian, selanjutnya menentukan indikator serta tujuan pembelajaran yang harus dicapai siswa dengan menggunakan model ADDIE.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian pengaruh NAA dan BAP terhadap pembentukan kalus tanaman Rosella (*Hibiscus subdariffa*) sebagai sumber belajar konsep bioteknologi dapat disimpulkan bahwa perlakuan kombinasi yang terbaik dalam penelitian ini adalah pada perlakuan A₃B_{1,5} (NAA 3 mg/l + BAP 1,5 mg/l) yang dapat membentuk planlet hingga mencapai 100%, dapat membentuk kalus dalam waktu 2 HSK (hari setelah kultur), dengan tekstur kalus remah (friable) dan berwarna putih dan fakta-fakta hasil penelitian ini dapat dikembangkan sebagai salah satu sumber belajar yang berupa *handout* yang dapat membantu peserta didik dalam belajar pada konsep bioteknologi bagi siswa SMA.

DAFTAR PUSTAKA

Andaryani. 2010. *Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (Jatropha curcas) Secara In Vitro*. Skripsi Faperta

Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Dian. Y. T. 2004. *Uji Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Pertumbuhan Kalus Dari Eksplan Kotiledon dan Hipokotil Kedelai (Glycine max)*. Malang. Jurusan Biologi Lingkungan Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang.

Fatimah. 2010. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kadar Tannin dari Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*) Secara *In Vitro*. Bogor : *Jurnal LITTRI*. Vol 16. no.1

George, E. F. & P. D. Sherrington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd. 709p.

Gunawan, L.W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Prastowo, A. 2011. *Panduan Kreatif Membuat Bahan Ajar Inovatif*. Yogyakarta: DIVA press

Santoso, U dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Madang.

Maryani, H & Kristiana, L. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosella*. Agro Media Pustaka. Jakarta

Wattimena, G. A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan IPB Bogor. Bogor.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta.