

PENGARUH PEMBERIAN HORMON 2,4-D DAN BAP TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS JERUK KASTURI (*Citrus microcarpa*)

Imam Mahadi, dan Wan Syafi'i, Yeni Sari

e-mail: i_mahadi@yahoo.com, wansya_ws@yahoo.com, yensari@gmail.com,

phone: +6285263990322

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Riau

ABSTRACT

*The aims of this research to determine the effect of the hormone 2,4-D and BAP on callus growth Kasturi Orange (*Citrus microcarpa*). This research consisted of research using experimental method completely randomized design factorial. Parameters observed is percentage of explants, while appearing callus, callus width and texture of the callus. Research results and a growing percentage of the width callus explants were analyzed by ANOVA and a further test DMRT at 5% level, when it appears callus and callus texture done by descriptively. The result shows that a combination of hormones D_4B_1 and D_4B_2 produces a callus emerged fastest of 3.3 HSK. The highest percentage of callus formation that is 100% contained in the treatment of D_2B_0 , $D_2B_{0.5}$ - D_4B_0 . The mean width of callus was highest in treatment D_4B_2 with a width of 0.97cm. Embryogenic callus resulting by treatment of D_2B_1 , D_2B_2 , and D_3B_0 .*

Keywords: Hormones, Callus, Orange Kasturi

PENDAHULUAN

Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) adalah salah satu spesies dari genus citrus yang memiliki kandungan vitamin C, juga antioksidan yang tinggi. Selain itu, Jeruk kasturi memiliki komponen penyusun dari berbagai senyawa kimia hasil metabolit sekunder antara lain asam sitrat, asam amino, dan minyak atsiri (Ball, 1997). Seiring dengan kebutuhannya yang semakin tinggi, sintesis senyawa minyak atsiri secara alami belum mencukupi kebutuhan masyarakat karena produksinya masih sangat rendah. Sementara itu lahan dan plasma nutfah semakin menyusut, sehingga diperlukan alternatif pemecahan.

Salah satu metoda yang sering digunakan untuk memproduksi metabolit

sekunder tumbuhan adalah kultur suspensi sel. Teknik ini dapat menghasilkan metabolit sekunder dalam jaringan tanaman yang diperoleh melalui kalus. Metabolit yang dihasilkan dari kalus sering kali kadarnya lebih tinggi dari pada metabolit yang diambil langsung dari tanamannya. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan kalus adalah dengan penambahan hormon. Senyawa yang sangat sering digunakan serta sangat efektif adalah 2,4-D. konsentrasi 2,4-D pada tanaman dikotil yang menunjukkan pertumbuhan kalus adalah 0,001-2,0 mg/L (George dan Sherrington, 1984 dalam Imam Mahadi 2014). Dan untuk kelompok sitokinin biasanya menggunakan BAP (*Benzyl amino purin*) yang berfungsi menstimulasi pembelahan sel dalam jumlah yang sangat

kecil (0,01 – 0,05 mg/l) (Campbell *et al*, 1999).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Islam Riau pada bulan April – Juni 2015. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang Faktor pertama adalah 2,4-D dengan taraf perlakuan yaitu 0, 0,5, 1, dan 2 mg/l. Faktor kedua adalah BAP dengan taraf perlakuan yaitu 0, 1, 2, 3, dan 4 mg/l. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Parameter yang

diamati adalah persentase tumbuh eksplan, saat muncul kalus, lebar kalus dan tekstur kalus. Hasil penelitian persentase tumbuh eksplan, dan lebar kalus dianalisis dengan ANAVA dan uji lanjut DMRT pada taraf 5 %, sedangkan saat muncul kalus dan tekstur kalus dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian Hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus tanaman Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata pengaruh pemberian Hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus tanaman Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*)

Kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l)	Rerata saat muncul Kalus (HSK)	Rerata Presentase jumlah Kalus yang terbentuk (%)	Rerata lebar kalus (cm)	Tekstur kalus
D ₀ B ₀	12	16,67 d	0,40 e	kompak, berwarna hijau
D ₀ B _{0,5}	12,33	25 c	0,37 d	kompak, berwarna hijau
D ₀ B ₁	12,33	25 c	0,37 d	kompak, berwarna hijau
D ₀ B ₂	12,67	33,33 c	0,30 d	kompak, berwarna hijau
D ₁ B ₀	7,33	58,33 b	0,60 c	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₁ B _{0,5}	7,67	66,67 b	0,63 c	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₁ B ₁	8	75 b	0,67 c	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₁ B ₂	8,67	83,33 b	0,63 c	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₂ B ₀	6,33	100 a	0,67 c	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₂ B _{0,5}	6	100 a	0,73 b	Remah, berwarna putih kehijauan
D ₂ B ₁	6	100 a	0,77 b	Remah, berwarna putih kekuningan
D ₂ B ₂	6,67	100 a	0,70 b	Remah, berwarna putih kekuningan
D ₃ B ₀	5,67	100 a	0,73 b	Remah, berwarna putih kekuningan
D ₃ B _{0,5}	5,33	100 a	0,80 a	Kompak, berwarna kuning
D ₃ B ₁	5	100 a	0,83 a	Kompak, berwarna kuning
D ₃ B ₂	4,67	100 a	0,87 a	Kompak, berwarna kuning
D ₄ B ₀	4	100 a	0,87 a	Kompak, berwarna coklat
D ₄ B _{0,5}	3,67	100 a	0,90 a	Kompak, berwarna coklat
D ₄ B ₁	3,33	100 a	0,93 a	Kompak, berwarna coklat
D ₄ B ₂	3,33	100 a	0,97 a	Kompak, berwarna coklat

Saat Muncul Kalus

Hasil pengamatan saat muncul kalus pada tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap saat muncul kalus yang terbentuk

pada eksplan. Pada perlakuan D₄B_{0,5} dan D₄B₁ merupakan rerata saat muncul kalus yang paling cepat yaitu 3,33 HSK. Semakin tinggi kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam medium menyebabkan laju pertumbuhan kalus

semakin tinggi, hal ini sesuai menurut Gunawan dkk (1992) penggunaan auksin 2,4-D dapat memacu pertumbuhan kalus, auksin berupa 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1982). Plastisitas dan pengembangan dinding sel didorong oleh pemberian auksin, karena auksin mengeluarkan H^+ ke dalam dinding sel dan H^+ ini menyebabkan pH dinding sel menurun sehingga terjadi pelonggaran struktur dinding (berarti peningkatan plastisitas) dan terjadi pertumbuhan. Penambahan sitokinin dalam media sangat dibutuhkan untuk meningkatkan pembelahan sel, karena sitokinin berperan dalam pembentukan benang gelendong pada tahap metafase. Perbedaan laju pertumbuhan kalus selain dipengaruhi oleh peningkatan kecepatan pembelahan sel karena pengaruh pemberian 2,4D dan BAP juga dipengaruhi oleh kondisi genetik, umur jaringan dan jenis tanaman serta faktor lingkungan yang meliputi cahaya, kandungan O_2 , suhu dan kelembaban udara serta kemampuan jaringan untuk menyerap zat-zat hara yang tersedia, hal ini banyak dipengaruhi oleh aerasi dan tekstur kalus (Gunawan dkk., 1992).

Persentase Jumlah kalus

Hasil analisis varian persentase tumbuh eksplan menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan. Hal ini disebabkan karena hormon endogen yang ada didalam eksplan sudah mencukupi untuk pertumbuhan eksplan Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) dan ditambah lagi dengan hormon eksogen yang dapat merangsang pertumbuhan eksplan dengan cepat. Dari tabel 1 terlihat bahwa hampir semua perlakuan yaitu D2B0 – D4B2 menunjukkan persentase tumbuh eksplan mencapai 100% hal ini disebabkan karena

eksplan yang digunakan adalah jaringan muda yang memiliki sifat meristematik yang memiliki hormon endogen yang aktif membelah dan kemudian dikombinasikan dengan hormon eksogen dari kelompok auksin (2,4-D) 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. 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.

Lebar Kalus

Berdasarkan tabel 1 kombinasi perlakuan dengan lebar kalus tertinggi terdapat pada perlakuan D4B2 dengan lebar kalus 0,97 cm, hal ini disebabkan karena perbedaan konsentrasi hormon auksin dan sitokinin yang diberikan. Menurut Kramut dan Te-chato (2010), salah satu peranan hormon 2,4-D adalah membantu dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel. Penggunaan batang muda yang mengandung sel-sel meristematik mempercepat pembelahan sel baru sehingga semakin tinggi kandungan hormon 2,4-D maka akan semakin cepat terjadi pembentukan kalus.

Faktor lain yang juga mempengaruhi pembelahan sel-sel kalus adalah sumber karbon yang terdapat pada media MS yaitu berupa sukrosa. Karbon merupakan komponen penting bagi senyawa-senyawa penyusun sel seperti karbohidrat, lipid, protein dan asam nukleat (Campbell et al., 2003). Jika sumber karbon mencukupi maka komponen-komponen sel ini akan terbentuk

cepat, waktu inisiasi kalus pun akan lebih cepat sehingga sel akan mempunyai kesempatan untuk membelah lebih optimal. Pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal.

Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu : kompak (*non friable*), intermediet dan remah (*friable*) (Turhan, 2004). Berdasarkan hasil pengamatan, dilihat dari tabel 1 tekstur kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan umumnya adalah bertekstur remah dan dengan warna yang bervariasi.

Kalus dengan tekstur remah dihasilkan pada perlakuan D1B0, D1B0,5, D1B1, D1B2, D2B0, D2B1, D2B2, dan D3B0, dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Tekstur kalus yang remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Menurut Dian (2004), warna pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik. Warna hijau disebabkan kalus mengandung klorofil, hal ini sesuai dengan pendapat Leupin (2000) dalam Daniar Robbiani, dkk (2010) bahwa perubahan warna kalus menjadi putih kehijauan, kemungkinan pada sel kalus sudah mulai terbentuk klorofil.

Pertumbuhan kalus semakin menurun pada minggu ke 7 yang diawali dengan gejala perubahan warna menjadi coklat (*browning*), hal ini diduga karena sel mengalami degradasi fisiologis akibat kekurangan unsur hara atau hormon tumbuhnya sehingga kalus menunjukkan ciri ketuaan. Menurut Yusnita 2004, warna kecoklatan pada kalus (*browning*) ini akibat adanya metabolisme senyawa fenol bersifat toksik, yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan,

yang menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan.

Kalus yang Terbaik untuk Dikembangkan ke Kultur Suspensi Sel

Agar kalus dapat digunakan sebagai bahan awal suspensi adalah sel kalus yang Embrionik mempunyai ciri-ciri tekstur kalus remah dan mudah terurai, warna kalus putih hingga kuning, tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik, dan sel-selnya mudah berkembang biak (Imam Mahadi, 2011 dan Elisa, 2009). Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai (Fatimah, 2010). Untuk mendapatkan kalus yang Embrionik, kita dapat melakukan subkultur secara berulang sehingga akan didapat kalus yang memiliki struktur yang lebih remah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan 2 mg/l 2,4-D dikombinasikan dengan BAP (1 dan 2 mg/l) menghasilkan kalus remah dengan visual yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus pada kultur jaringan Jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*). Kombinasi D₄B₁ dan D₄B₂ menghasilkan waktu muncul kalus tercepat yaitu 3,3 HSK. Persentase pembentukan kalus tertinggi yaitu 100% pada perlakuan D₂B₀, D₂B_{0,5},-D₄B₀. Rerata lebar kalus tertinggi yaitu 0,97cm pada perlakuan D₄B₂. Kalus yang berwarna putih kekuningan, mengkilat dan remah merupakan ciri kalus Embrionik yang dihasilkan pada perlakuan D₄B₁, D₂B₂, dan D₃B₀. Disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan menggunakan kultur suspensi sel untuk

menghasilkan metabolit sekunder yang diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 1982. *Dasar – dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Angkasa. Bandung.
- Ball. 1997. *Fruit Growing*. Kalyani Publishers. New Delhi. Diakses pada tanggal 16 Maret 2015.
- Campbell, N.A., J.B., Reece, L.G., Mitchell. 1999. *Biologi*. Terjemahan: Wasmen Manalu. 2003. Erlangga. Jakarta.
- Dian Pramita Wardani, Solichatun, Ahmad Dwi Setyawan, 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum Gaertn* Pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin, *Biofarmasi* 2 (1); 35-43.
- Elisa, 2009. *Penumbuhan Dan Pemeliharaan Kalus Dan Kultur Suspensi Sel*. <http://elisa.ugm.ac.id/user/archive/download/24119/42e5aebbedba446d894559e8997c3dee>. Diakses pada tanggal 25 Oktober 2015.
- Gunawan. 1992. *Tekhnik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Imam Mahadi, Sri Wulandari dan Addarwida Omar. 2014. Pengaruh *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi Bagi Siswa SMA. *Jurnal Biogenesis* 11(1).
- Peterson, G., R. Smith. 1991. Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of American and international rice varieties. *Plant Cell Rep* (1)10: 35-38.
- Rachmawati, S. 2007. Studi Makroskopi, Dan Skrining Fitokimia Daun Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis. Skripsi Tidak Diterbitkan Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya.
- Suci Agustiani, 2015. Kultur Jaringan Jeruk Kasturi (*Citrus Microcarpa*) dengan Menggunakan Hormon Kinetin dan *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) Sebagai Pengembangan Lembar Kerja Siswa Berbasis *Virtual Laboratory* Pada Konsep Bioteknologi Modern di SMA. Skripsi tidak dipublikasikan. Pendidikan Biologi. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara memperbanyak Tanaman secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jakarta.

