



**PERTUMBUHAN KALUS NANAS (*Ananas comosus L.*) SIPAHUTAR DENGAN
EKSPLAN DAUN *IN VITRO* HASIL PERLAKUAN ZAT PENGATUR
TUMBUH**

***GROWTH OF PINEAPPLE (*Ananas comosus L.*) CALLUS FROM
SIPAHUTAR WITH IN VITRO LEAF EXPLANT RESULTS PLANT
GROWTH REGULATORS TREATMENT***

**Fauziah Harahap^{1*}, Ely Djulia², Dirga Purnama³, Nusyirwan⁴, Suci
Rahayu⁵, Roedhy Poerwanto⁶, Kiki Rizki Ananda⁷**

1. Jurusan Biologi, FMIPA UNIMED, Jl. Willem Iskandar Pasar V Medan Estate, Medan, Indonesia, 20221, email: fauziahharahap@unimed.ac.id
2. Jurusan Biologi, FMIPA UNIMED, Medan.
3. Jurusan Biologi, FMIPA UNIMED, Medan.
4. Jurusan Biologi, FMIPA UNIMED, Medan.
5. Department Biologi, FMIPA Universitas Sumatera Utara.
6. Pusat Studi Hortikultura Tropis, Institut Pertanian Bogor, Bogor
7. Mahasiswa Jurusan Biologi, FMIPA UNIMED, Medan.

ABSTRACT

The combination of callus induction media for *in vitro* pineapple leaves has been developed using 2,4 D and Kinetin Plant growth regulators (PGR). This study aims to determine the effect of 2,4-D concentration, Kinetin and the interaction between both of them for induction of Sipahutar pineapple. *In vitro* pineapple leaves were grown on media with concentrations of 2,4 D (0, 1, 2 ppm) and Kinetin (0, 0.5 and 1 ppm). The research design used factorial complete random design with two way Anava. Parameters observed 1). When the callus emerges, 2). Callus color, 3) Callus biomass, 4) Callus height, 5) Callus texture, 6) Callus surface area. The results showed 1). The time of callus emergence starts on the 14 day (0.5 ppm Kinetin and 2 ppm 2,4 D), until the 17 day (without Kinetin and 2 ppm 2,4-D). Leaves treated with MS media without 2,4 D and Kinetin did not produce callus. 2). Callus color (observation on 28 days after induction), ranging from brown, brownish white, yellowish white to whitish green. 3). There is a significant effect of 2,4-D PGR while Kinetin has no significant effect, the interaction of both shows a significant effect on callus biomass. The highest callus biomass is 0.77 grams (1 ppm Kinetin and 2 ppm 2,4 D treatment), the lowest biomass is 0.71 grams (0 ppm Kinetin and 2,4 D respectively). 4). Kinetin, 2,4 D had no significant effect on the height of callus stack, but the interaction of both showed a very real effect (F -count 23, F table 4.05, at a 0.01). 5). Callus texture is compact with low dose treatment without kinetin or kinetin, with increased doses of kinetin and 2.4 D, crumb and stained callus texture, 6) There is a very real effect of ZPT 2,4-D treatment, Kinetin and the interaction of both to the area callus surface. The lowest area was obtained from the control, the highest area of 0.85 cm came from the treatment of 1 ppm Kinetin and 0 ppm 2,4D.

Keywords: callus, pineapple, *in vitro*, 2,4-D, Kinetin

ABSTRAK

Kombinasi media induksi kalus untuk daun nanas *in vitro* telah dikembangkan dengan menggunakan zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4 D dan Kinetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D, Kinetin dan interaksi keduanya untuk induksi kalus nanas Sipahutar. Daun nanas *in vitro* ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi zpt 2,4 D (0, 1, 2 ppm) dan Kinetin (0, 0,5 dan 1 ppm). Desain penelitian menggunakan RAL faktorial dengan Anava 2 jalur. Parameter yang diamati 1). Waktu munculnya kalus, 2). Warna kalus, 3) Biomassa kalus, 4) Tinggi tumpukan kalus, 5) Tekstur kalus, 6) Luas permukaan kalus. Hasil penelitian



menunjukkan 1). Waktu munculnya kalus mulai hari ke 14 (0,5 ppm Kinetin dan 2 ppm 2,4 D), sampai hari ke 17 (tanpa Kinetin dan 2 ppm 2,4-D). Daun yang diperlakukan dengan media MS tanpa 2,4 D dan Kinetin, tidak menghasilkan kalus. 2). Warna kalus (pengamatan pada 28 hari setelah induksi), mulai dari warna coklat, putih kecoklatan, putih kekuningan sampai hijau keputihan. 3). Ada pengaruh nyata ZPT 2,4-D sementara Kinetin tidak berpengaruh nyata, interaksi keduanya memperlihatkan pengaruh nyata terhadap biomassa kalus. Biomassa kalus tertinggi 0,77 gram (perlakuan 1 ppm Kinetin dan 2 ppm 2,4 D), biomassa terendah 0,71 gram (perlakuan masing masing 0 ppm Kinetin dan 2,4 D). 4). Kinetin, 2,4 D tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tumpukan kalus, namun interaksi keduanya memperlihatkan pengaruh sangat nyata (F hitung 23, F tabel 4,05, pada α 0,01). 5). Tekstur kalus bersifat kompak dengan perlakuan tanpa kinetin atau kinetin dosis rendah, dengan peningkatan dosis kinetin dan 2,4 D, tekstur kalus bersifat remah dan bernodul, 6) Ada pengaruh sangat nyata perlakuan ZPT 2,4-D, Kinetin dan interaksi keduanya terhadap luas permukaan kalus. Luas terendah diperoleh dari control, luas tertinggi 0,85 cm berasal dari perlakuan 1 ppm Kinetin dan 0 ppm 2,4D.

Kata Kunci : kalus, nanas, *in vitro*, 2,4-D, Kinetin

PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus* L.), pada mulanya hanya sebagai tanaman pekarangan, kemudian meluas dibeberapa negara untuk kebutuhan pangan. Saat ini ekspor sudah dilakukan untuk perluasan pemanfaatan nanas yang semakin meningkat. Nanas Sipahutar adalah nanas yang ditanam petani di daerah Sipahutar, Tapanuli Utara, Sumatera Utara, Indonesia (Harahap, 2015).

Salah satu permasalahan didalam budidaya nanas di Indonesia adalah belum adanya produsen bibit yang dapat menyediakan bibit bermutu dalam jumlah banyak, dalam waktu yang singkat. Teknik perbanyakan tradisional sangat tidak efisien, Penggunaan bagian vegetatif tanaman seperti *corwn* (mahkota buah), *slip, shoot* (tunas samping) dan *sucker* (anakan) memerlukan waktu lama, jumlah bibit yang dihasilkan sedikit dan tidak seragam. Teknik kultur jaringan akan sangat membantu untuk mengatasi permasalahan ini. Salah satu implementasinya adalah dengan menggunakan kultur kalus. Kultur kalus merupakan teknik budidaya kalus tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptik. Kultur kalus ini pada prinsipnya merupakan suatu upaya lanjutan mengembangkan atau memelihara kalus dari hasil kultur lainnya, (Urfiana dkk, 2013). Kultur kalus penting dilakukan untuk berbagai kepentingan, antara lain untuk mempelajari pola regenerasi, induksi variasi somaklonal, transformasi genetik, produksi metabolit sekunder. Membuat kalus berarti menginduksi kalus dari bagian tanaman tertentu, dengan jalan dirangsang secara hormonal (Harahap, 2011 2014). Kultur kalus juga digunakan untuk



perbanyak klon tanaman melalui pembentukan organ, embrio, dan regenerasi varian – varian genetik, mendapatkan tanaman bebas virus dan sebagai sumber untuk kreopresvasi (Ariati dkk., 2012).

Karjadi (2007) mengatakan, penggunaan teknik *in vitro* untuk menumbuhkan planlet tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya komposisi media yang digunakan, asal eksplan tanaman dan lingkungan tumbuh dari tanaman tersebut dan perlu penambahan ZPT.

Dalam menginduksi kalus diperlukan ZPT yang dikombinasikan dengan media dasar. Senyawa yang paling sering digunakan adalah asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D). ZPT 2,4-D memiliki kelebihan yaitu, lambat diuraikan oleh sel tumbuhan, dan stabil pada pemanasan dengan autoklaf. Sitokinin seperti kinetin dibutuhkan bersama 2,4-D untuk mendapatkan pertumbuhan kalus yang baik. Dalam penelitian ini, digunakan ZPT 2,4-D dan Kinetin untuk induksi kalus nanas Sipahutar.

Santoso dan Nursandi (2000), mencoba menginduksi kalus tanaman *Arthemisia vulgaris* menemukan bahwa media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP (1mg/liter) dan 2,4-D sebesar 1mg/liter terbukti telah menghasilkan kalus yang lebih baik dan tidak mudah mencoklat. ZPT 2,4-D, juga berperan dalam menghambat pembentukan klorofil, membentuk akar dan tunas (Kamal, 2011), juga berperan dalam embriogenesis, menghambat pembentukan tunas aksilar dan adventitious, serta menginduksi kalus jika dipakai dalam konsentrasi tinggi (Oggema, 2007; Rinanto, 2011; Yelnititis, 2012). Gati dan Mariska (1992); Chamandoosti (2013) juga menyatakan bahwa 2,4-D paling efektif merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus.

Beberapa penelitian telah dilakukan terkait pemberian kinetin untuk pertumbuhan tanaman seperti induksi tunas manggis *in vitro*. Untuk melakukan regenerasi, ZPT yang sering digunakan adalah golongan Sitokinin seperti Kinetin (Harahap, 2011b). Penambahan sitokinin dalam media pada umumnya sangat diperlukan pada tahap induksi. Penelitian ini meneliti lebih jauh pengaruh ZPT 2,4 D dan Kinetin dalam menginduksi kalus nanas Sipahutar dengan sumber eksplan daun nanas *in vitro*.



METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Jurusan Biologi UNIMED, Laboratorium Kultur Jaringan YAHDII, Jalan Lambung No. 18 Tanah 600 Medan Marelan.

Daun nanas *in vitro* bagian pucuk digunakan sebagai sumber eksplan untuk induksi kalus. Menggunakan media MS, aquades steril, alkohol (70% dan 90%), sukrosa, agar, ZPT 2,4 D dan Kinetin. Alat-alat kultur jaringan standart digunakan dalam penelitian ini.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, dengan faktor pertama adalah ZPT 2,4-D dengan taraf perlakuan (0, 1, 2) ppm, dan faktor kedua adalah Kinetin (0, 0.5, 1) ppm.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah a). Waktu terbentuknya kalus, diamati setiap dua hari sekali hingga akhir penelitian, b). Warna kalus, didasarkan pada skor yang telah dimodifikasi (Andaryani, 2011), yaitu berturut-turut skor 1 = warna coklat, 2 = warna putih kecoklatan, 3 = warna hijau kecoklatan, 4 = putih kekuningan, 5 = hijau kekuningan, 6 = warna hijau keputihan, 7 = warna hijau. c). Biomassa kalus, ditimbang setelah akhir pengamatan, d). Tinggi tumpukan kalus, diukur setelah akhir pengamatan (28 HSI) dengan menggunakan kertas millimeter.

Teknik analisis Anava faktorial (dua jalur) digunakan untuk menganalisis data hasil penelitian dan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Rate Test*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Terbentuknya Kalus. Kalus mulai terbentuk 14 hari setelah induksi (hasil perlakuan Kinetin 0,5 ppm + 2,4 D 2 ppm dan Kinetin 1 ppm + 2,4 D 1 ppm) sampai hari ke 17 setelah induksi (hasil perlakuan Kinetin 0 ppm + 2,4 D 2 ppm). Daun yang ditempatkan pada media MS tanpa pemberian ZPT 2,4 D dan Kinetin, tidak menghasilkan kalus sampai akhir penelitian.



Tabel 1. Waktu Terbentuknya Kalus dan Warna Kalus pada Nanas

Media	Hari setelah Induksi (HSI)	Media	Rataan Warna	Skor
K ₀ 2,4-D ₀	-	K ₀ 2,4-D ₀	-	-
K ₀ 2,4-D ₁	15	K ₀ 2,4-D ₁	Hijau Keputihan	6
K ₀ 2,4-D ₂	17	K ₀ 2,4-D ₂	Putih Kecoklatan	2
K _{0,5} 2,4-D ₀	15	K _{0,5} 2,4-D ₀	Hijau keputihan	6
K _{0,5} 2,4-D ₁	15	K _{0,5} 2,4-D ₁	Coklat	1
K _{0,5} 2,4-D ₂	14	K _{0,5} 2,4-D ₂	Putih kekuningan	4
K ₁ 2,4-D ₀	15	K ₁ 2,4-D ₀	Putih kecoklatan	2
K ₁ 2,4-D ₁	14	K ₁ 2,4-D ₁	Hijau keputihan	6
K ₁ 2,4-D ₂	15	K ₁ 2,4-D ₂	Hijau keputihan	6

Keterangan: K= kinetin (0, 0,5, 1) ppm, 2,4 D = 2,4 Dichlorophenoxyacetate acid (0, 1, 2) ppm



Gambar 1. Penampilan eksplan daun dalam pembentukan kalus (21 HSI)

Waktu terbentuknya kalus dimulai pada hari ke 14 setelah induksi. Dari penelitian ini diperoleh bahwa percepatan pembentukan kalus dengan eksplan daun *in vitro* sangat membutuhkan zat pengatur tumbuh, terutama auksin dalam hal ini 2,4 D sampai dosis 2 ppm dan perimbangan Kinetin dalam konsentrasi rendah yakni 0,5 ppm. Tanpa penambahan 2,4 D dan kinetin, daun *in vitro* tidak mampu membentuk kalus, daun hanya membengkak. Artinya, auksin dan sitokinin endogen pada daun *in vitro* nanas belum cukup untuk menginduksi terbentuknya kalus pada tanaman ini. Penelitian Nurrahmatin (2012)



mendapatkan hasil perlakuan kinetin dan 2,4 D menghasilkan kalus pada hari ke 5, 6 dan 7 setelah induksi dengan persentase kalus yang terbentuk 100 %

Dibutuhkan penambahan waktu untuk terbentuknya kalus walaupun dosis 2,4 sudah tinggi (2 ppm), jika media tumbuh tersebut tidak diberi penambahan kinetin, artinya keseimbangan auksin dan sitokinin didalam sel belum mencapai ratio yang seimbang.

Warna kalus.

Warna kalus yang muncul beragam. Kalus yang dihasilkan dari perlakuan Kinetin 0,5 ppm+2,4 D 1 ppm berwarna coklat (skor 1), diikuti dengan warna putih kecoklatan (perlakuan Kinetin 0 ppm+2,4 D 2 ppm, Kinetin 1 ppm+ 2,4 D 0 ppm (skor 2), hingga berwarna hijau keputihan (skor 6). Kalus putih kekuningan hanya dihasilkan dari perlakuan Kinetin 0,5 ppm + 2,4 D 2 ppm (skor 4). Tidak dihasilkan kalus yang berwarna putih kekuningan, hijau kekuningan dan hijau. Warna daun mengalami perubahan setelah 7 HSI. Seterusnya daun mengalami pembengkakan dan membentuk kalus mulai hari ke 14 setelah induksi.



Gambar 2. Penampilan eksplan daun dalam pembentukan kalus (28 HSI)



Warna daun semakin berubah menjadi coklat, beberapa daun membengkak dan membentuk kalus yang bergerombol setelah 28 hari induksi kalus. Warna kalus yang baik adalah putih kehijauan. Jika kalus berwarna coklat, ada banyak kemungkinan yang terjadi pada eksplan atau kalus tersebut. Dalam penelitian ini konsentrasi 1 ppm dan 2 ppm 2,4-D dapat menghasilkan warna kalus yang berbeda yaitu hijau keputihan (1 ppm) dan putih kecoklatan (2 ppm). Warna putih kecoklatan pada kalus dapat dikarenakan adanya senyawa fenol yang keluar dari kalus. Penyebab pencoklatan pada kalus dapat disebabkan karena perlakuan mekanik, pada saat pemotongan eksplan alat yang digunakan terlalu panas ketika di sterilisasi. Secara kimia, pencoklatan terjadi karena adanya rangsangan kimia yaitu pada lingkungan tertentu, eksplan akan mengeluarkan bahan-bahan kimia seperti senyawa fenol (Santoso dan Nursandi 2003). Warna kalus yang mengarah kehijau-hijauan adalah kalus yang bagus dikarenakan karena aktifitas pembelahan selnya yang tinggi (Tongga *dkk*, 2005). Dalam penelitian ini diperoleh warna kalus yang mengarah kehijau-hijauan yaitu pada perlakuan 0 ppm K + 1 ppm 2,4-D ($K_02,4-D_1$)

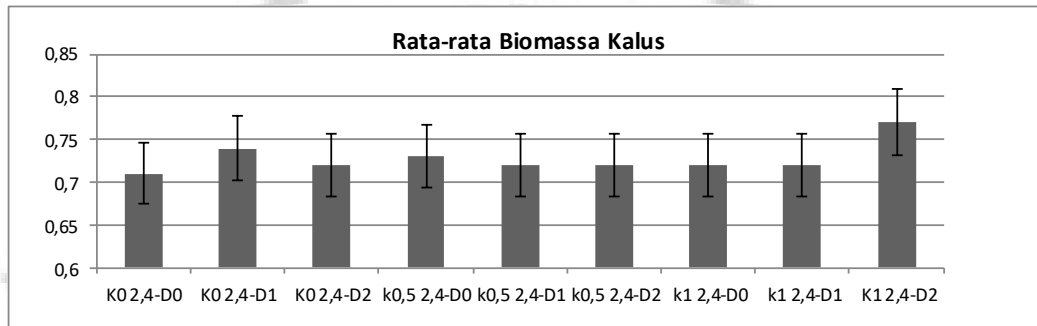
Menurut Reghavan (2004), pemberian 2,4-D dapat menghasilkan dan merangsang pembentukan kalus. Ada hubungan antara auksin (2,4-D) dengan terjadinya abnormalitas sel – sel akibat pertumbuhan yang tidak terorganisasi pada fase kalus. Terjadinya abnormalitas ini disebabkan karena terganggunya replikasi DNA pada saat pembelahan mitosis.

Dari hasil penelitian ini diduga konsentrasi 2,4-D 1 ppm sudah mampu meningkatkan parameter yang diamati. Ini dapat dilihat dari semua rataan parameter yang diamati.

Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya dan waktu pemanasan saat sterilisasi. Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam media dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia flavonoid. Interaksi kedua perlakuan berpengaruh nyata terhadap biomassa kalus dan tinggi tumpukan kalus.



Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium pertumbuhan dan differensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium maka pertumbuhan akan sangat terhambat dan mungkin tidak tumbuh sama sekali (Zulkarnain, 2009, Harahap, 2015).



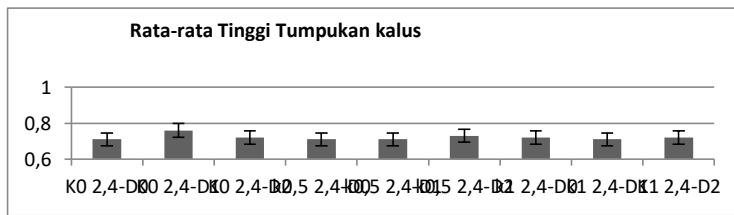
Gambar 3. Rata-rata biomassa kalus umur 28 hari setelah induksi

c. Biomassa Kalus.

Hasil statistik menunjukkan bahwa ada pengaruh nyata perlakuan ZPT 2,4-D untuk biomassa kalus, dimana $F_{hitung} (4,68) > F_{tabel} (3,35)$. ZPT Kinetin tidak berpengaruh nyata terhadap biomassa kalus, sedangkan interaksi antara ZPT 2,4-D dan Kinetin berbeda nyata, $F_{hitung} 4,31 > F_{tabel} 2,73$. Biomassa tertinggi 0,77 gr dihasilkan dari perlakuan Kinetin 1 ppm + 2,4-D 2 ppm, kemudian diikuti dengan perlakuan Kinetin 0 ppm + 2,4 D 1 ppm dengan biomassa 0,74 gr, sedangkan pada perlakuan Kinetin 0 ppm + 2,4-D 2 ppm, Kinetin 0,5 ppm + 2,4 D 1 ppm, Kinetin 0,5 ppm + 2,4-D 2 ppm, Kinetin 1 ppm +2,4-D 0 ppm, Kinetin 1 ppm + 2,4-D 1 ppm, memiliki biomassa yang sama yaitu 0,72 gr dan selanjutnya biomassa terendah diperoleh dari perlakuan Kinetin 0 ppm + 2,4-D 0 ppm dengan biomassa (daun) 0,71 gr (gambar 1).

d. Tinggi tumpukan kalus

Hasil statistik menunjukkan bahwa perlakuan ZPT 2,4-D, Kinetin tidak berbeda nyata, $F_{Hitung} = -2 < F_{tabel} = 3,35$, interaksi 2,4-D dan Kinetin menghasilkan beda nyata terhadap tinggi tumpukan kalus pada $\alpha = 0,05$. Tinggi tumpukan tertinggi dihasilkan oleh kombinasi media Kinetin 0 ppm dan 2,4D 1 ppm, artinya tanpa pemberian kinetin, daun nanas mampu menghasilkan tumpukan kalus yang paling tinggi, disini terlihat bahwa tumpukan kalus nanas yang tinggi dipengaruhi oleh zpt 2,4-D.



Gambar 4. Rata – rata tinggi tumpukan Kalus umur 28 hari (*Hasil Transformasi*)

Tabel 2. Pengaruh Interaksi antara ZPT 2,4-D dan Kinetin Terhadap Tinggi Tumpukan Kalus

Konsentrasi Kinetin (K)	Konsentrasi 2,4-D			
	0 ppm	1 ppm	2 ppm	Total
0 ppm	2,84 d	3,04 a	2,9 c	8,78
0,5 ppm	2,86 d	2,87 d	2,95 bc	8,68
1 ppm	2,9 c	2,87 d	2,89 c	8,75
Total	8,6	8,87	8,74	26,21
Rata-rata	2,8	2,92	2,91	8,73

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan beda tidak nyata pada uji DMRT 5%

Berdasarkan hasil uji DMRT terlihat bahwa tinggi tumpukan kalus tertinggi diperoleh dari perlakuan Kinetin 0 ppm + 2,4-D 1 ppm dengan tinggi tumpukan 3,04 cm², diikuti dengan perlakuan Kinetin 0,5 ppm + 2,4 D 2 ppm dengan tinggi 2,95 cm², perlakuan Kinetin 1 ppm + 2,4-D 2 ppm, K 1 ppm + 2,4-D 0 ppm menghasilkan tinggi tumpukan yang sama yaitu 2,9 cm², tinggi tumpukan terendah diperoleh dari perlakuan Kinetin dan 2,4-D 0 ppm, karena daun hanya membengkak.

Tekstur Kalus

Tekstur kalus bersifat kompak dengan perlakuan tanpa kinetin atau kinetin dosis rendah, dengan peningkatan dosis kinetin dan 2,4-D, tekstur kalus bersifat remah dan bernodul.



Tabel 3. Tekstur kalus umur 28 hari pada Nanas

Media	Ulangan				Rataan tekstur
	I	II	III	IV	
K ₀ 2,4-D ₀	-	-	-	-	-
K ₀ 2,4-D ₁	Kompak	Remah (Vriable) tipe 2 seperti pasir	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)	Kompak
K ₀ 2,4-D ₂	Kompak bernodul	Kompak	Kompak	Kompak	Kompak
K _{0,5} 2,4- D ₀	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)	Remah (Vriable) bernodul	Kompak	Remah (Vriable) tipe 2 bernodul
K _{0,5} 2,4- D ₁	Kompak	Kompak	Remah (Vriable)	Kompak	Kompak
K _{0,5} 2,4- D ₂	Remah (Vriable)	Kompak bernodul	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)
K ₁ 2,4-D ₀	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)	Remah (Vriable)	Tunas	Remah
K ₁ 2,4-D ₁	Kompak bernodul	Remah (Vriable)	Kompak bernodul	Kompak	Kompak bernodul
K ₁ 2,4-D ₂	Remah (Vriable)	Kompak	Kompak bernodul	Kompak	Kompak

Luas Permukaan Kalus

Ada pengaruh sangat nyata perlakuan ZPT 2,4-D, Kinetin dan interaksi keduanya terhadap luas permukaan kalus. Luas terendah diperoleh dari kontrol, luas tertinggi 0,85 cm berasal dari perlakuan 1 ppm Kinetin dan 0 ppm 2,4-D. Luas permukaan kalus tertinggi dihasilkan dari perlakuan 1 ppm Kinetin dan 0 ppm 2,4 D, dari kondisi ini terlihat bahwa permukaan kalus yang dihasilkan lebar oleh pengaruh kinetin namun tidak diikuti dengan tinggi tumpukan kalus, performance (tekstur) kalus.

Tabel 4. Pengaruh ZPT 2,4-D dan Kinetin Terhadap Luas Permukaan Kalus

Perlakuan	Ulangan				Total	Rataan
	I	II	III	IV		
(K ₀ 2,4D ₀)	0,71	0,71	0,71	0,71	2,84	0,71
K ₀ 2,4D ₁	0,77	0,77	0,72	0,77	3,03	0,75
K ₀ 2,4D ₂	0,75	0,72	0,72	0,74	2,93	0,73
K _{0,5} 2,4D ₀	0,74	0,74	0,72	0,72	2,92	0,73



K _{0,5} 2,4D ₁	0,74	0,72	0,72	0,72	2,9	0,72
K _{0,5} 2,4D ₂	0,77	0,74	0,74	0,72	2,93	0,73
K ₁ 2,4D ₀	1,24	0,74	0,72	0,72	3,42	0,85
K ₁ 2,4D ₁	0,72	0,72	0,74	0,72	2,9	0,72
K ₁ 2,4D ₂	0,72	0,77	0,72	0,77	2,98	0,74
Total	7,16	6,63	6,51	6,59	26,85	6,68
Rataan	0,79	0,73	0,72	0,73	2,98	0,74

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan untuk menginduksi kalus dibutuhkan tidak hanya auksin, tetapi sitokinin dengan konsentrasi rendah dibutuhkan untuk memperoleh perimbangan ratio auksin dan sitokinin untuk terbentuknya kalus.

Waktu munculnya kalus mulai hari ke 14 sampai hari ke 17 daun yang diperlakukan dengan media MS tanpa 2,4-D dan Kinetin, tidak menghasilkan kalus. Warna kalus mulai dari warna coklat, putih kecoklatan, putih kekuningan sampai hijau keputihan. Ada pengaruh nyata ZPT 2,4-D sementara Kinetin tidak berpengaruh nyata, interaksi keduanya memperlihatkan pengaruh nyata terhadap biomassa kalus. Kinetin, 2,4-D tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tumpukan kalus, namun interaksi keduanya memperlihatkan pengaruh sangat nyata. Tekstur kalus bersifat kompak dengan perlakuan tanpa kinetin atau kinetin dosis rendah, dengan peningkatan dosis kinetin dan 2,4-D, tekstur kalus bersifat remah dan bernodul. Ada pengaruh sangat nyata perlakuan ZPT 2,4-D, Kinetin dan interaksi keduanya terhadap luas permukaan kalus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Simlitabmas Ristek Dikti atas Hibah Penelitian pada Skim Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Andaryani. S., (2010), *Kajian Penggunaan berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (Jatropha curcas L) secara In vitro*. FP UNS, Surakarta
- Ariati, S. N., Waeniati, Muslimin, Suwastika, I. N., (2012), *Induksi Kalus Tanaman Kakao (Theobroma cacao L.) Pada Media MS Dengan*



Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa, *Jurnal Natural Science* 1(1):74-84

Harahap, F., (2011), *Kultur Jaringan Tanaman*, FMIPA UNIMED, UNIMED Press, Medan

Harahap (2014). In Vitro Growth and Rooting Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) on Medium with Different Concentrations of Plant Growth Regulator. *Hayati Journal of Biosciences*, Vol 21 No 4, 151-158.

Harahap, F., Poerwanto, R. Suriani C., (2015). Sterilization Of Pineapple Explant From Sipahutar, North Sumatera, Indonesia (*Ananas Comosus* L.) And In Vitro Growth Induction, *Asian Jr. Of Microbiol. Biotech. Env. Sc* Vol. 17, No. (2) : 2015 : 469-478.

Kamal, G. B., (2011), The Study of callus induction in cotton (*Gossypium Sp*) under tissue culture conditions, *International Journal of agriculture and Crop Sciences* 3(1); 6-11

Karjadi, A.K., (2007), Pengaruh Pemberian kinetin, IAA, GA3 Terhadap Pertumbuhan Planlet Nanas, *Jurnal Agrivigor*, 6(2): 100-105, balai Penelitian Tanaman Sayuran IVEGRI Lembang

Nurrahmatin (2012), Induksi kalus dari eksplan daun Gandarusa (*Justica gendarussa* L) dengan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4 D, IBA dan Kinetin. Univ Airlangga.

Oggema, J. N., Kinyua, M. G., and Ouma, J. P., (2007), Optimum 2,4-D concentration suitable fo embryogenic callus induction in local Kenyan sweet potato cultivars, *Asian Journal of plant Sciences* 6(3); 484-489

Reghavan, V., (2004), Role Of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) In Somatic Embyogenesis on Cultured Zygotic Embryos of *Arabidopsis*: Cell Expansion, Cell Cycling, and Morpgogenesis During Continuous Exposure of Embryos to 2,4-D, *American journal of botany* 91(11): 1743-1756

Rinanto, Y., (2011), *Induksi Kalus dan Deteksi Kandungan Alkaloid Daun Jarak (Jatropha curcas L.) Menggunakan Hormon 2,4-D dalam Media MS*, *AGROVIGOR* 4(1): 1-6

Santoso, U. dan F. Nursandi, (2003), *Kultur Jaringan Tanaman*, UMM Press, Malang

Tongga I. B., Siregar, E. B. M dan Anna N., (2005), *Respon Eksplan Biji Gaharu (Aquilaria malacceinsis Lamk) terhadap Pemberian 2,4-D secara In vitro*. FP USU, Medan



Urfiana, Haliana, Muslimin, Nengah Suwastika , (2013), Induksi Kalus Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Sulawesi 2 Pada Medium MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP Dan Air Kelapa, *Journal Agrobiongen* 6(2) : 65-74

Yelnititis, (2012), friable callus induction from leaf explant of ramin (*Gonystylus bancanus* Miq. Kurz), *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 6 (3) : 181-194

Zulkarnain, H., (2009), *Kultur Jaringan Tanaman*, Bumi Aksara, Jakarta.



THE
Character Building
UNIVERSITY