



BIOMETRIC

Journal of Biology Science and Biodiversity

Journal homepage:
<http://jurnalsaintek.uinsby.ac.id/mhs/index.php/biometric/index>



Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan Sitokinin (BAP) Terhadap Induksi Kalus Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides*)

Ziyadatul Mahmudah^{1*}, Saiku Rokhim², Hanik Faizah³

^{1,2,3}Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya

*Corresponding author: ziyadatulmahmudah14@gmail.com

ARTICLE INFO

Article history
Research Article

Keywords:
2,4-
dichlorophenoxyacetic,
benzyl amino purine,
indole acetic acid,
callus induction, iler
plant

ABSTRACT

Plectranthus scutellarioides or iler plant is a medicinal plant that has pharmacological activities such as anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial. Based on the benefits of Iler Plants, it is necessary to have plant propagation through tissue culture techniques with the addition of auxin and cytokinin growth regulators. The purpose of this study was to determine the effect of the combination of growth regulators auxin (IAA and 2,4-D) and cytokinins (BAP) on callus induction of iler plants. This study used a completely randomized design method with 7 treatments with 3 replications. Explants were grown on MS media, sucrose 30 g/L, and additional growth regulators IAA and 2,4-D (0,5; 1; 1,5 ppm) and BAP (0,5; 1; 1,5 ppm). After 5 weeks of planting, callus was subcultured on the same medium as before. After 4 weeks of subculture, harvesting and observation of callus morphology, fresh weight, and dry weight of callus. The results showed that the callus produced was white, greenish white, brownish white to brown with a compact texture. The highest average value in treatment (D) a combination of 1,5 ppm IAA and 0,5 ppm BAP, namely 20,6 HST at the time of callus formation, 0,2909 gram at callus fresh weight, and 0,0316 gram at callus dry weight.

© 2021 Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

PENDAHULUAN

Tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*) merupakan tanaman yang dibudidayakan sebagai tanaman hias dan tanaman obat tradisional. Tanaman iler termasuk dalam famili Lamiaceae yang memiliki warna daun menarik dan kesan estetika sehingga dapat digunakan sebagai tanaman untuk memperindah taman (Purnamaningrum dan Nihayati, 2019). Tanaman iler dijadikan sebagai obat tradisional karena dapat mengobati berbagai penyakit seperti wasir, gatal-gatal, diare, demam, radang telinga, dan sebagai penambah nafsumakan. Tanaman iler memiliki aktivitas farmakologis seperti antikanker, antioksidan, antidiabetik, dan antibakteri. Hal tersebut dikarenakan tanaman iler memiliki kandungan kimia yang terdapat pada bagian daun dan akar tanaman iler meliputi saponin, polifenol, minyak atsiri, dan flavonoid (Mustarichie *et al.*, 2017).

Berdasarkan manfaat yang dimiliki tanaman iler, maka diperlukan adanya perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan. Kultur jaringan adalah teknik yang digunakan dalam pertumbuhan sel atau jaringan tanaman dalam botol kultur yang mengandung media nutrisi dalam keadaan yang steril. Teknologi ini adalah cara terbaik untuk memperbanyak tanaman dalam kualitas tinggi, bebas dari penyakit, dan menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dengan waktu yang singkat dibandingkan dengan metode tradisional yang memakan waktu cukup lama (Baday, 2018). Salah satu teknik kultur jaringan yang umumnya digunakan untuk memperbanyak tanaman yaitu kultur kalus.

Kultur kalus adalah kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir yang berasal dari berbagai jaringan tanaman. Kultur kalus digunakan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali (Indah dan Ermavitalini, 2013). Keberhasilan kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya genotip tanaman, lingkungan tumbuh, kondisi eksplan, media kultur, dan zat pengatur tumbuh yang digunakan (Basri, 2016). Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang diberikan pada tanaman untuk mempengaruhi proses fisiologis di dalam organ tanaman (Surtinah, 2017). Zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin merupakan suplemen paling penting untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman (Evans *et al.*, 1981)

Zat pengatur tumbuh auksin yang biasa digunakan dalam kultur kalus yaitu *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan *2,4-dichlorophenoxyacetic* (2,4-D). IAA merupakan kelompok auksin yang mempengaruhi proses fisiologis tanaman termasuk pembesaran dan pembelahan sel, deferensiasi jaringan, dan respon terhadap cahaya dan gravitasi (Kholida dan Zulaika, 2015). Menurut penelitian, hormon IAA terbukti efektif digunakan dalam induksi kalus (Zulraufianti dan Paserang, 2019; Zuraidassanaaz, 2016). Selain itu, zat pengatur tumbuh 2,4-D adalah hormon turunan dari auksin yang biasa digunakan untuk menginduksi kalus karena sifatnya yang lebih stabil karena sulit terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun pemanasan pada proses sterilisasi (Sorentina *et al.*, 2013). Penggunaan zpt 2,4-D telah berhasil digunakan dalam menginduksi kalus (Bustami, 2011; Indah dan Ermavitalini, 2013).

Penggunaan zat pengatur tumbuh selain auksin, pemberian sitokinin juga memiliki peran penting dalam memicu pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat pertumbuhan kalus. Salah satu golongan sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan yaitu *Benzyl Amino Purine* (BAP). BAP merupakan sitokinin yang berfungsi dalam pembelahan sel

(Kusumawati *et al.*, 2015). BAP juga telah dilaporkan oleh banyak peneliti dalam penggunaannya untuk menginduksi kalus (Zaerr and Mapes, 1982). Penggunaan ZPT IAA, 2,4-D, dan BAP telah digunakan dalam penelitian Maya (2019), yang menunjukkan bahwa pemberian kombinasi konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D dan 2,5 mg/L BAP serta 1,0 mg/L 2,4-D dan 2,5 mg/L BAP menghasilkan kalus daun tapak liman bertekstur remah dan berwarna hijau muda. Penelitian lain yang dilakukan oleh Sudrajad dan Saryanto (2011) menunjukkan bahwa pemberian hormon BAP pada konsentrasi 3 dan 4 mg/L dapat membentuk kalus *Echinacea purpurea* L. sebesar 80% dengan rata-rata waktu induksi kalus 4,7– 5,6 hari.

Penggunaan zat pengatur tumbuh IAA, 2,4-D, dan BAP sejauh ini sudah pernah dilakukan pada beberapa penelitian untuk menginduksi kalus seperti penggunaan IAA untuk menginduksi kalus sirih hitam (*Piper betle* L.) (Zuraidassanaaz, 2016; Junairiah *et al.*, 2019), serta 2,4-D dan BAP untuk menginduksi kalus tanaman tapak liman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) (Maya, 2019). Namun, penggunaan hormon IAA, 2,4-D, dan BAP untuk menginduksi kalus tanaman iler masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini akan dilakukan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) untuk menginduksi kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*).

METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 sampai Maret 2021 yang bertempat di Laboratorium Terintegrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

Variabel dan jenis sampel penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dengan 7 perlakuan yang terdiri dari 1 perlakuan kontrol (A: tanpa IAA, 2,4-D, dan BAP), 3 kombinasi konsentrasi IAA dan BAP (B: 0,5 ppm IAA + 1,5 ppm BAP; C: 1 ppm IAA + 1 ppm BAP; D: 1,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP), serta 3 kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP (F: 0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BAP; G: 1 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP; H: 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

Prosedur penelitian

1) Tahap Sterilisasi Alat dan Ruang Kerja

Sterilisasi alat seperti botol kultur, cawan petri, scalpel, gelas ukur, erlenmeyer, dan pinset dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi ruang kerja dilakukan dengan membersihkan dinding dan lantai menggunakan desinfektan. Sedangkan, *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai tempat penanaman eksplan disterilkan menggunakan tissue yang sudah dibasahi alkohol 70%.

2) Tahap Pembuatan Media

Penelitian ini menggunakan media Murashige dan Skoog (MS). Media yang diperlukan yaitu 60 ml setiap perlakuannya. Media MS ditimbang sebanyak 0,26 gram dan gula sebanyak 1,8 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan akuades sampai volume larutan mencapai 60 ml. Kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh IAA, 2,4-D, dan BAP sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Selanjutnya, diukur pH larutan media sekitar 5,6 – 5,8, jika pH <5,6 maka ditambahkan NaOH dan jika pH >5,8 maka

ditambahkan HCl. Kemudian ditambahkan agar sebanyak 0,48 gram. Setelah itu, larutan media dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan dituang ke dalam masing-masing botol kultur yang sudah diberi label sebanyak 20 ml serta ditutup mulut botol menggunakan aluminium foil. Media yang telah dibuat disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3) Tahap Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan yaitu bagian daun muda (daun urutan kedua sampai keempat dari bagian pucuk) tanaman iler. Sterilisasi eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan cara membersihkan eksplan dengan merendam eksplan menggunakan detergen selama 5 menit kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya dilakukan perendaman menggunakan *clorox* 10% selama 15 menit. Kemudian eksplan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali setiap 10 menit. Setelah itu eksplan siap untuk ditanam.

4) Tahap Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF). Penanaman eksplan dilakukan dengan memotong sekeliling daun dengan ukuran 1x1 cm. Eksplan ditanam dalam media dengan pinset steril dan selanjutnya botol ditutup dengan aluminium foil dan dilapisi dengan plastik wrap. Semua botol diinkubasi dalam ruang kultur serta diamati setiap hari selama 5 minggu. Setelah 5 minggu, kalus yang tumbuh disubkultur pada media baru yang sama untuk menghindari terjadinya browning.

5) Tahap Pengamatan Kalus

Waktu pembentukan kalus dilakukan dengan pengamatan setiap hari dengan menghitung hari saat pertama kali terbentuk yang dinyatakan dalam hari setelah tanam (HST). Pengamatan morfologi kalus meliputi warna dan tekstur kalus yang dilakukan pada akhir pengamatan. Pengukuran berat segar kalus dengan cara menimbang kalus setelah akhir pengamatan. Setelah itu dilakukan penimbangan berat kering kalus yang sebelumnya telah dioven selama 48 jam dengan suhu 40°C

Teknik analisis data

Data yang didapatkan meliputi waktu pembentukan kalus, morfologi kalus, berat segar dan berat kering kalus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap waktu pembentukan kalus, morfologi kalus, berat segar dan berat kering kalus tanaman iler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh baik IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP mampu menginduksi terbentuknya kalus tanaman iler. Hasil penelitian yang dilakukan diuraikan sebagai berikut:

Waktu Pembentukan Kalus

Waktu pembentukan kalus diperoleh dari pengamatan yang dilakukan setiap hari setelah penanaman eksplan yang dinyatakan dengan Hari Setelah Tanam (HST). Pembentukan kalus diawali dengan melengkungnya eksplan dan pembengkakan eksplan, kemudian munculnya

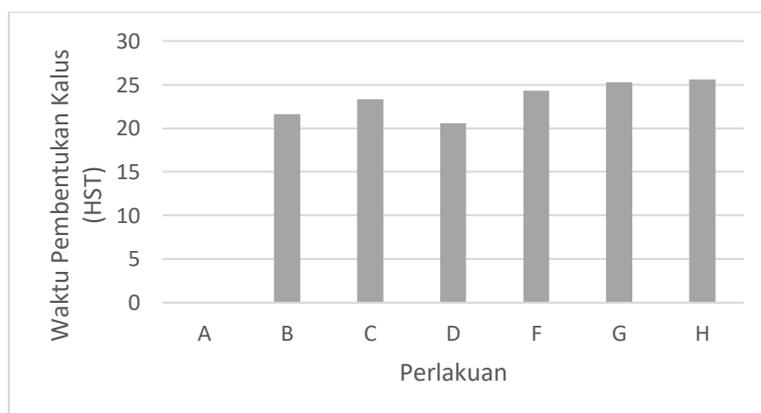
gumpalan berwarna putih pada bagian pelukaan eksplan. Data hasil rata-rata waktu pembentukan kalus dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata waktu pembentukan kalus

Perlakuan	Rata-rata ± Standar deviasi (HST)
A	0 ± 0
B	21,6 ± 0,57
C	23,3 ± 0,57
D	20,6 ± 0,57
F	24,3 ± 0,57
G	25,3 ± 0,57
H	25,6 ± 0,57

Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rata-rata waktu pembentukan kalus pertama kali pada perlakuan 1,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (D) yaitu 20,6 HST. Sedangkan waktu pembentukan kalus paling lambat pada perlakuan 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP. Sementara itu, pada perlakuan kontrol (A) tanpa pemberian zat pengatur tumbuh tidak terlihat adanya pertumbuhan kalus tanaman iler. Perbedaan waktu pembentukan kalus dipengaruhi oleh kecepatan tumbuh kalus setelah penanaman eksplan. Perbedaan tersebut dikarenakan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan berbeda-beda. Leopold (1963) dalam Nurlaeni dan Surya (2015), menjelaskan bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh pada setiap jenis tanaman berbeda-beda. Efektifitas zat pengatur tumbuh pada tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan, karena konsentrasi yang berbeda akan menimbulkan aktivitas yang berbeda pula.

Zat pengatur tumbuh yang efektif dalam kecepatan pertumbuhan kalus pada penelitian ini yaitu penambahan 1,5 ppm IAA yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm BAP. Penggunaan zat pengatur tumbuh auksin IAA yang tinggi dan sitokinin BAP yang lebih rendah pada penelitian ini mampu memacu pertumbuhan kalus paling cepat yaitu 20,6 HST yang dapat dilihat pada gambar 1.



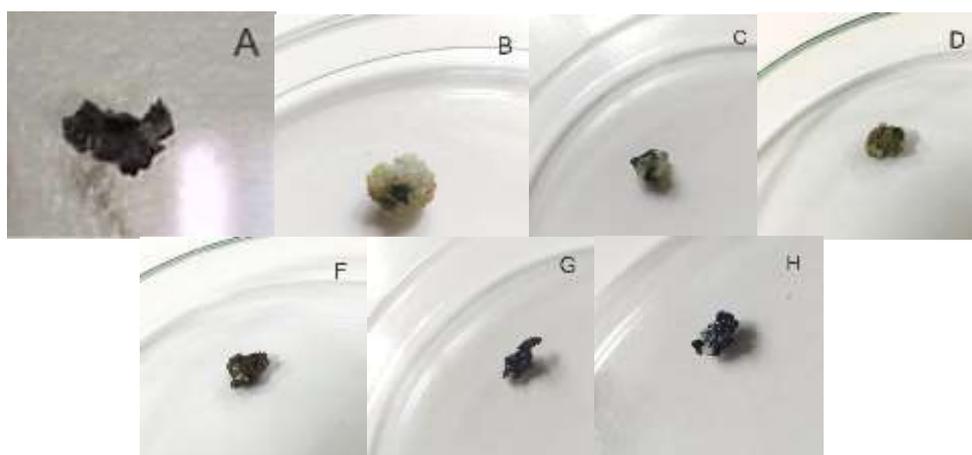
Gambar 1. Grafik Rata-Rata Waktu Pembentukan Kalus

Berdasarkan gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata waktu pembentukan kalus paling cepat pada perlakuan 1,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (D) yaitu 20,6 HST. Sedangkan waktu pembentukan kalus paling lambat pada perlakuan 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP. Kecepatan pembentukan kalus dipengaruhi oleh daya kerja zat pengatur tumbuh yang diberikan dan fitohormon yang terdapat dalam eksplan. Zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan

akan mengubah gradien fitohormon dalam sel-sel eksplan. Efektivitas dari zat pengatur tumbuh eksogen (auksin) bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Indah dan Ermavitalini, 2013).

Morfologi Kalus

Morfologi kalus dalam penelitian ini meliputi warna dan tekstur kalus. Pada beberapa perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP menunjukkan adanya respon yang bervariasi terhadap kalus yang dihasilkan. Warna dan tekstur kalus yang dihasilkan dapat dilihat pada (gambar 2, tabel 2).



Gambar 2. Kalus Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides*)

Tabel 2. Warna dan Tekstur Kalus

Perlakuan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
A	-	-
B	Putih	Kompak
C	Putih	Kompak
D	Putih Kehijauan	Kompak
F	Putih Kecoklatan	Kompak
G	Coklat	Kompak
H	Coklat	Kompak

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan IAA + BAP menghasilkan kalus cenderung berwarna putih dan putih kehijauan, sedangkan perlakuan 2,4-D + BAP menghasilkan kalus berwarna putih kecoklatan dan coklat. Perbedaan warna kalus yang dihasilkan disebabkan karena adanya perubahan pigmentasi. Kalus yang memiliki warna putih menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik, dan warna hijau pada kalus menunjukkan bahwa kalus tersebut mengandung klorofil (Wardani *et al.*, 2004).

Beberapa warna kalus yang dihasilkan dari kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP mengalami *browning* atau pencoklatan. Browning merupakan perubahan warna eksplan menjadi kecoklatan dan kemudian eksplan tidak dapat berkembang untuk tumbuh kalus.

Browning dapat disebabkan karena adanya senyawa fenol dalam jaringan tanaman yang dioksidasi oleh enzim polyfenoloksidase ketika eksplan mengalami pelukaan (Dwiyani, 2015). Penggunaan zat pengatur tumbuh IAA menghasilkan kalus lebih bagus dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D, sehingga tidak terdapat eksplan yang mengalami browning. Hal ini dikarenakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sesuai dengan yang dibutuhkan oleh eksplan.

Selain itu, tekstur kalus yang dihasilkan pada penelitian ini yaitu kompak. Kalus yang bertekstur kompak dilihat dari ciri-ciri kalus yang dihasilkan yaitu padat dan keras. Kalus yang bertekstur kompak adalah efek dari kombinasi auksin dan sitokinin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal tersebut menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku (George, 1993). Tekstur kalus yang dihasilkan dalam penelitian ini sama yaitu bertekstur kompak, dikarenakan jenis eksplan, umur kalus, komposisi media, dan kondisi pertumbuhannya sama. Mahadi *et al.* (2014) mengatakan bahwa tekstur kalus dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti jenis eksplan, umur kalus, komposisi media, zat pengatur tumbuh yang digunakan, kondisi pertumbuhan seperti cahaya dan suhu, serta waktu pertumbuhan kalus.

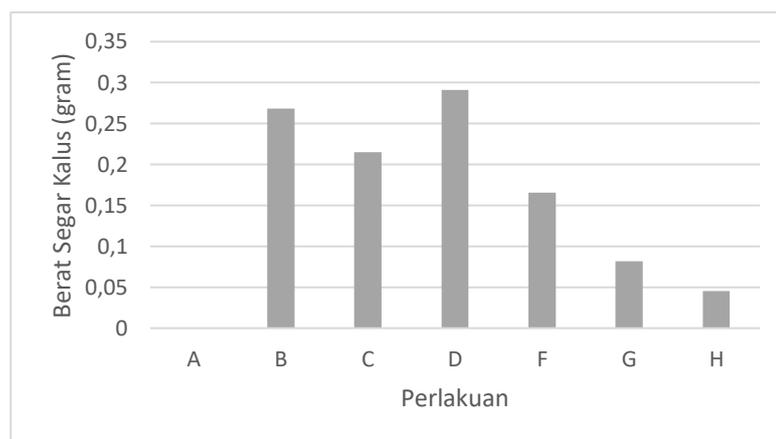
Berat Segar dan Berat Kering Kalus

Berat segar dan berat kering kalus merupakan salah satu parameter untuk mengetahui adanya pertumbuhan massa sel melalui proses pembelahan dan pembesaran sel (Asmono dan Sari, 2016). Hasil berat segar dan berat kering kalus data dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-Rata Berat Segar dan Berat Kering Kalus

Perlakuan	Rata-rata berat segar ± Standar deviasi (gram)	Rata-rata berat kering ± Standar deviasi (gram)
A	0 ± 0	0 ± 0
B	0,2684 ± 0,0818	0,0266 ± 0,0051
C	0,2149 ± 0,0874	0,0257 ± 0,0072
D	0,2909 ± 0,1261	0,0316 ± 0,0205
F	0,1653 ± 0,0458	0,0243 ± 0,0038
G	0,0815 ± 0,0498	0,0153 ± 0,0078
H	0,0450 ± 0,0073	0,0059 ± 0,0042

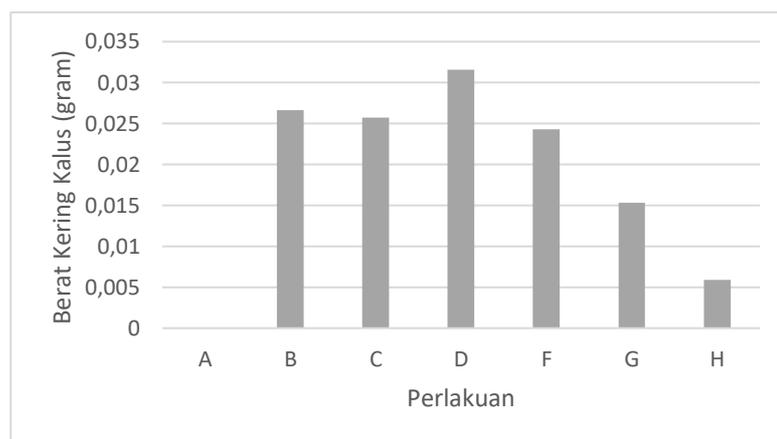
Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (A) tanpa penambahan zat pengatur tumbuh tidak terdapat adanya pertumbuhan kalus. Kalus yang memiliki berat segar dan berat kering tertinggi pada perlakuan kombinasi 1,5 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP (D) yaitu sebesar 0,2909 gr dan 0,0316 gr. Sedangkan kalus yang memiliki berat segar dan berat kering terendah pada perlakuan kombinasi 1,5 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,0450 gr dan 0,0059 gr. Grafik rata-rata berat segar kalus dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Grafik rata-rata berat segar kalus

Berdasarkan gambar 3, dapat dilihat bahwa rata-rata berat segar kalus tertinggi pada perlakuan D yaitu kombinasi 1,5 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP. Berat segar kalus yang tinggi dapat dikarenakan memiliki kandungan air yang tinggi. Berat segar yang dihasilkan tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri, dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus (Rahayu *et al.*, 2003). Berat segar kalus meningkat dipengaruhi oleh pembesaran sel. Zat pengatur tumbuh auksin menyebabkan pengenduran dinding sel yang mengakibatkan air dapat masuk secara osmosis (Asmono dan Sari, 2016). Zat pengatur tumbuh auksin berperan dalam terjadinya elongasi sel yang diikuti dengan pembesaran sel dan meningkatnya berat segar (Wattimena, 1991), sedangkan zat pengatur tumbuh sitokinin berperan dalam memacu pembelahan sel dalam jaringan meristematik. Sitokinin secara langsung berperan dalam proses transkripsi dan translasi RNA dalam proses sintesis protein (Catala *et al.*, 2000).

Penambahan zat pengatur tumbuh yang optimal terhadap berat segar kalus dalam penelitian ini yaitu kombinasi auksin (IAA) yang lebih tinggi (1,5 ppm) dan pemberian sitokinin (BAP) yang lebih rendah (0,5 ppm). Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Zuraidassanaaz (2016), yang menghasilkan berat segar kalus daun sirih hitam tertinggi pada perlakuan dengan penambahan ZPT auksin lebih rendah (1 ppm IAA) dibandingkan dengan penambahan sitokinin lebih tinggi (1,5 ppm BAP) yaitu sebesar $0,6596 \pm 0,1814$ gram. Perbedaan tersebut disebabkan oleh jenis tanaman dan konsentrasi ZPT yang digunakan berbeda. Pengaruh pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh pada setiap jenis tanaman berbeda-beda. Efektivitas zat pengatur tumbuh pada tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan, karena konsentrasi yang berbeda akan menyebabkan aktivitas yang berbeda pula (Nurlaeni dan Surya, 2015). Sedangkan berat kering kalus dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik rata-rata berat kering kalus

Berdasarkan gambar 4, rata-rata berat kering kalus tertinggi pada perlakuan D yaitu kombinasi 1,5 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP. Penelitian ini sama halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Zuraidassanaaz (2016) yang menghasilkan nilai rerata berat kering kalus daun sirih hitam tertinggi pada konsentrasi 0,5 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,0727 gram. Menurut Waering dan Phillips (1981), berat kering kalus dipengaruhi oleh kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri yang dilanjutkan dengan membesarnya sel. Kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media (Setiawati *et al.*, 2021). Kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh pemberian kombinasi auksin dan sitokinin dalam konsentrasi tertentu. Zat pengatur tumbuh auksin seperti IAA dan 2,4-D berperan dalam pembentangan sel, sedangkan sitokinin berperan dalam merangsang pembelahan sel.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa berbagai kombinasi auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin BAP berpengaruh terhadap waktu pembentukan kalus yaitu paling cepat pada 20,6 HST. Warna kalus yang dihasilkan yaitu putih, putih kehijauan, putih kecoklatan, dan coklat, serta kalus yang dihasilkan pada semua perlakuan bertekstur kompak. Selain itu, berat segar dan berat kering kalus tertinggi terdapat pada perlakuan (D) kombinasi 1,5 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,2909 gram dan 0,0316 gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Asmono, S. L. dan Sari, V. K. 2016. Induksi Kalus dari Beberapa Kultivar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Dataran Medium secara *In Vitro* Menggunakan Variasi Konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Ilmiah Inovasi* 1(2), 116-121.
- Baday, S. J. S. 2018. Plant Tissue Culture. *International Journal of Agriculture and Enviromental Research* 4(4), 977-990.
- Basri, A. H. H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia* 10(1), 64-73.

- Bustami, M. U. 2011. Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng* 4(2), 137-141.
- Catala, C., J. K. C. Rose, and A. B. Bennet. 2000. Auxin-Regulated Genes Encoding Cell Wall-Modifying Proteins are Expressed during Early Toato Fruit Growth. *Plant Physiology* 122(2), 527-534.
- Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawasari, Denpasar Barat.
- Evans, D. A., Sharp W.R. and Flick C.E. (1981). *Growth and Behavior of Cell Cultures: Embryogenesis and Organogenesis*. New York: Academic Press.
- George, E.F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition*. Exegetics Limited, England.
- Indah, P. N., dan 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 Semi Pomits* 2(1), 1-6.
- Junairiah, J., N. S. Amalia, Y. S. W. Manuhara, N. Ni'matuzzahroh, dan L.Sulistiyorini. 2019. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh IAA, BAP, Kinetin Terhadap Metabolit Sekunder Kalus Sirih Hitam (*Piper betle* L. Var Nigra). *Jurnal Kimia Riset* 4(2), 121-132.
- Kholida, F. T., dan Zulaika, E. 2015. Potensi *Azotobacter* sebagai Penghasil Hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). *Jurnal Sains dan Seni ITS* 4(2), 75-77.
- Mahadi, I., S. Wulandari, dan A. Omar. 2014. Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) pada Pemberian *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi. *Jurnal Biogenesis*, 11(1), 1-6.
- Maya, F. D. 2019. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) Terhadap Induksi Kalus dan Profil Metabolit Sekunder Kultur Kalus Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.). *Skripsi*. Universitas Airlangga, Surabaya
- Mustarichie, R., M. Moektiwardojo, and W. A. Dewi. 2017. Isolation, Identification, and Characteristic of Essential Oil of Iler (*Plectranthus scutellarioides* L.) R.Br Leaves. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9(11), 2218-2223.
- Nurlaeni, Y., dan Surya, M. I. 2015. Respon Stek Pucuk *Camelia japonica* Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Organik. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversifikasi Indonesia* 1(5), 1211-1215
- Purnamaningrum, A., dan Nihayati, E. 2019. Pengaruh Pemakaian Mulsa dan Dosis Nitrogen Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides* (L) R. Br.). *Jurnal Produksi Tanaman*, 7(1), 2186-2195.

Rahayu, B., Solichatun, dan E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1(1), 1-6.

Setiawati, T., A. L. Astuti, M. Nurzaman, dan N. Ratningsih. 2021. Analisis Pertumbuhan dan Kandungan Total Flavonoid Kultur Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Pemberian Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Air Kelapa. *Jurnal Pro-Life: Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun* 8(1), 32-34.

Sorentina, M. S. M., Haliani, Muslimin, dan I. N. Suwastika. 2013. Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu pada Medium MS dengan Penambahan 2,4-D (2,4-Asam Dikloropenoksi Asetat) dan Air Kelapa. *Online Journal of Natural Science*, 2(2), 55-63.

Sudrajad, H., dan Suryanto. 2011. Pengaruh Penambahan Sitokinin pada Senyawa Flavonoid Kalus (*Echinacea purpurea* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 102-107.

Surtinah. 2017. Potensi Hasil Jagung Manis (*Zea mays saccharata*, Strut) dengan Pemberian Paket Teknologi Pupuk dan Zat Pengatur Tumbuh. *Jurnal Bibiet*, 2(1), 37-44.

Wardani, D. P., Solichatun, dan A. D. Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) an Kinetin. *Biofarmasi*, 2(1), 35-43.

Wareing, P. F., and Phillips, I. D. J. 1981. *Growth and Differentiation in Plants (3rd edn)*. Pergamon Press, Oxford.

Wattimena, G. A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas, ITB Bogor.

Zaerr, J. B., and Mapes, M. O. 1982. Action of Growth Regulators. *Tissue Culture in Forestry*, 231-255

Zulraufianti, L., dan Paserang, A. P. 2019. Induksi Kalus Kentang Asal Desa Dombu (*Solanum tuberosum* L.) dengan ZPT Indole-3-Acetic Acid (IAA). *Journal of Science and Technology*, 8(2), 153-158.

Zuraidassanaaz, N. I. 2016. Induksi Kalus Eksplan Daun Sirih Hitam (*Piper betle* L.) dengan Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP). *Skripsi*. Universitas Airlangga, Surabaya.