

INDUKSI KALUS DARI EKSPLAN DAUN *IN VITRO* KELADI TIKUS (*Typhonium* sp.) DENGAN PERLAKUAN 2,4-D DAN KINETIN

Marlina Agustina Sitinjak, Mayta Novaliza Isda, Siti Fatonah

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Riau Pekanbaru

*Corresponding author: maytaisda@yahoo.com

Abstract

Rodent tuber (*Typhonium* sp.) belongs to Araceae that has a potential as medicinal plant. This procedure takes a long periode to produce a large quantity of plant. Therefore, an *in vitro* propagation using callus culture is necessary to solve this problem. This research aimed to determine the best concentration of 2,4-D and kinetin to induce callus of *in vitro* leaf rodent tuber explants. This research used *in vitro* leaf explants of rodent tuber with MS medium. The design used is Randomize Group Design with 10 treatment. The results showed that explants could not produce callus, the explants response just a swelling leaf explants. The treatment that could give up to 100% swelling response was 2,4-D 0.5 mg / L dan 1 mg / L and the combination treatment 0.5 mg / L 2,4-D + 0.3 mg /L kinetin, 0.5 mg / L 2,4-D + 0.5 mg / L kinetin and 1.5 mg / L 2,4-D + 0.5 mg / L kinetin. The treatments that could maintain 66.67% explants growth was the combination 0.5 mg / L 2,4-D + 0.5 mg / L kinetin and 1 mg /L 2,4-D + 0.5 mg / L kinetin.

Keywords: Callus, *in vitro*, kinetin, rodent tuber, 2,4-D

PENDAHULUAN

Keladi tikus (*Typhonium* sp.) tergolong famili Araceae, termasuk salah satu jenis tumbuhan liar yang berpotensi sebagai tanaman obat yang mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan steroid digunakan sebagai tanaman obat penyakit kanker (Mudahar *et al.*, 2006). Perbanyak tanaman keladi tikus hingga saat ini dilakukan melalui perbanyak vegetatif menggunakan umbi yang membutuhkan waktu lebih lama untuk memproduksi tanaman dalam jumlah banyak.

Salah satu solusi dari permasalahan tersebut adalah perbanyak tanaman dengan menggunakan metode kultur jaringan (*in vitro*) yang dapat dilakukan secara langsung dari organ tanaman ataupun melalui fase kalus. Kultur kalus sering digunakan untuk memperoleh tanaman bebas virus, embriogenesis somatik, regenerasi varian genetika dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Zulkarnain, 2009). Untuk itu dilakukan penelitian pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dalam beberapa taraf

perlakuan untuk menginduksi kalus pada eksplan daun *in vitro* keladi tikus.

Induksi kalus sangat berkaitan dengan zat pengatur tumbuh endogen dan eksogen. Zat pengatur tumbuh yang paling berpengaruh pada induksi kalus adalah auksin dan sitokinin. Penggunaan auksin (2,4-D) dan sitokinin (BA atau kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi "faktor pemicu" dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan (Lestari, 2011). Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* (Indah & Ermavitalini, 2013). 2,4-D efektif untuk merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus. Beberapa golongan sitokinin yang sering digunakan dalam metode kultur jaringan untuk menginduksi kalus adalah BA dan kinetin. Hasil penelitian Syahid & Kristina (2007)

mengatakan bahwa induksi kalus keladi tikus berhasil diperoleh dengan perlakuan 2,4-D 1,0 mg/L + kinetin 0,1 mg/L dan 2,4-D 1,0 mg/L + kinetin 0,3 mg/L dalam umur 8-10 minggu setelah kultur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi terbaik dari 2,4-D dan kinetin untuk menginduksi kalus pada eksplan daun *in vitro* keladi tikus.

MATERIAL DAN METODE

Alat yang digunakan antara lain: botol kultur, pipet tetes, gelas ukur, cawan petri, gelas kimia, tisu, plastik kaca, karet gelang, kertas saring, *aluminium foil*, *erlenmeyer*, timbangan analitik, *hot plate*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, pinset, *scalpel*, mata pisau, lampu bunsen, batang pengaduk, *sprayer* dan oven.

Bahan yang digunakan adalah eksplan daun *in vitro* keladi tikus, media MS, agar, sukrosa, 2,4-D, kinetin, 0,1N HCl, 0,1N NaOH, bakterisida, fungisida, deterjen, N-hipoklorit (Bayclin), 70% alkohol, dan akuades.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 10 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi yang diuji yaitu:

- A : Tanpa perlakuan (Kontrol)
- B : 0,5 mg/L 2,4-D
- C : 1 mg/L 2,4-D
- D : 1,5 mg/L 2,4-D
- E : 0,5 mg/L 2,4-D + 0,3 mg/L kinetin
- F : 1 mg/L 2,4-D + 0,3 mg/L kinetin
- G : 1,5 mg/L 2,4-D + 0,3 mg/L kinetin
- H : 0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L kinetin
- I : 1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L kinetin
- J : 1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L kinetin

Pelaksanaan penelitian meliputi persiapan dan sterilisasi alat, pembuatan media, persiapan dan penanaman eksplan. Pemeliharaan dilakukan di ruang inkubasi dengan menjaga agar kondisi selalu bersih dan steril dengan menyemprotkan 70 % alkohol 2 hari sekali. Suhu ruang diatur 23-25°C dan diberi penyiangan dengan menggunakan lampu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan penanaman eksplan daun *in vitro* keladi tikus

untuk menghasilkan kalus. Daun *in vitro* diperoleh dari planlet yang berasal dari nodus keladi tikus yang ditanam pada media MS kosong. Eksplan nodus keladi tikus menghasilkan satu tunas yang memiliki 3-4 helai daun pada umur 4 bulan (Gambar 1). Eksplan yang digunakan adalah daun *in vitro* keladi tikus yang sudah terbuka sempurna.

Penelitian induksi kalus ini dilakukan selama 70 hari. Kalus yang diinginkan diinduksi dengan menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin. Salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro* adalah munculnya kalus pada eksplan. Menurut Hendaryono & Wijayani (1994); Indah & Ermavitalini (2013) bahwa kalus merupakan proliferasi massa sel yang masih belum terdiferensiasi dan berupa kumpulan sel yang tidak teratur. Respon dari daun keladi tikus pada kultur yang ditanam adalah kemampuan eksplan daun merespon dan beradaptasi dengan media sesuai dengan perlakuan yang digunakan. Respon diawali dengan perubahan warna potongan daun dan memberikan respon pembengkakan pada eksplan daun keladi tikus. Namun eksplan daun keladi tikus sampai akhir penelitian pada umur 70 hari tidak terjadi induksi kalus.

Kebanyakan dari eksplan mengalami kematian pada umur 28-56 HST sedangkan eksplan yang masih hidup belum membentuk kalus oleh karena itu parameter-parameter yang akan diamati seperti waktu pembentukan kalus, persentasi terbentuknya kalus, warna dan tekstur kalus yang seharusnya diamati menjadi tidak bisa diperoleh. Pada penelitian ini hanya mengamati morfologi eksplan dan respon yang terjadi pada eksplan yaitu respon pembengkakan dan pinggiran eksplan yang terluka karena pemotongan mengalami perubahan warna menjadi coklat (pencoklatan). Respon eksplan yang terjadi selama kultur antara lain adalah pencoklatan pada potongan atau luka eksplan, pembengkakan pada eksplan daun dan respon perubahan warna pada permukaan eksplan. Persentase respon pencoklatan pada potongan atau luka eksplan dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semua perlakuan memberikan respon pen-

coklatan pada potongan atau luka eksplan hingga 100%. Hal ini menunjukkan bahwa dengan atau tanpa zat pengatur tumbuh, eksplan mampu memberikan respon pencoklatan luka atau potongan eksplan. Respon ini terjadi karena adanya interaksi yang terjadi antara eksplan dengan media pada waktu yang berbeda-beda. Respon pencoklatan pada potongan atau luka eksplan ini menandakan dua kemungkinan. Pertama adalah menunjukkan respon yang mengarah ke pembentukan kalus. Seperti dikatakan oleh Kartika *et al.*, (2014) pertumbuhan kalus diawali dengan mencoklatnya tepi daun. Kedua adalah respon menunjukkan kerusakan sel yang mengarah ke kematian sel. Diduga kemungkinan yang terjadi pada eksplan adalah kerusakan yang mengarah pada kematian sel.

Proses pelukaan yang diberikan pada eksplan diduga menjadi faktor yang mempengaruhi eksplan mengalami pencoklatan (Gambar 2). Kerusakan ini diakibatkan oleh senyawa fenol yang terakumulasi pada sel kemudian mengalami oksidasi. Hutami (2008) menjelaskan bahwa pencoklatan terjadi diakibatkan oleh enzim oksidase yang mengandung senyawa fenol yang disintesis dalam kondisi oksidatif ketika diberi pelukaan. Luka eksplan mengakibatkan terjadinya enzim dan substrat keluar dari sel kemudian terjadi ikatan antara hidrogen dengan protein yang diikuti dengan meningkatnya aktivitas fenilalanin amonia liase (PAL) yang memproduksi fenilpropanoid yang menyebabkan adanya pencoklatan.

Respon lain yang juga terjadi pada eksplan selama kultur adalah pembengkakan pada eksplan. Respon pembengkakan ini tidak tergantung pada pencoklatan potongan atau luka daun. Persentase tertinggi dari eksplan yang menunjukkan pembengkakan (100%) adalah perlakuan tunggal 2,4-D yaitu 0,5 mg/l dan 1 mg/l, kemudian untuk perlakuan kombinasi dengan konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin, 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin dan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin. Sedangkan persentase terendah adalah 1 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin yaitu 33,33%.

Konsentrasi 2,4-D tunggal yang tinggi pada perlakuan 1,5 mg/l dan kombinasi 1,5

mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin mampu memberikan respon hingga 66,67%. Respon pembengkakan mencapai 100% ketika konsentrasi 2,4-D yang diberikan tinggi (1,5 mg/l) dikombinasikan dengan 0,5 mg/l kinetin yaitu perlakuan J. Pada pemberian 2,4-D tunggal dengan konsentrasi rendah (0,5 mg/l) dan dikombinasikan dengan kinetin (konsentrasi rendah dan tinggi) memberikan respon hingga 100%. Konsentrasi 2,4-D 1 mg/l yang diberikan secara tunggal bisa mencapai respon pembengkakan hingga 100%. Apabila dikombinasikan dengan kinetin konsentrasi rendah 0,3 mg/l, respon pembekakan hanya 33,33%, namun jika dikombinasikan dengan kinetin konsentrasi tinggi (0,5 mg/l) persentase respon pembengkakan naik menjadi 66,67%.

Pembengkakan eksplan pada penelitian ini diduga merupakan respon yang mengarah ke pembentukan kalus. Ajjiah *et al.*, (2010) mengatakan bahwa pembengkakan pada eksplan adalah tahap awal pembentukan kalus yang mengindikasikan adanya aktifitas sel pada eksplan. Repon pembengkakan ini terjadi dalam waktu yang berbeda-beda dimana perlakuan yang memberikan waktu respon paling cepat adalah 0,5 mg/l 2,4-D. Diduga pembesaran pada sel yang terjadi sebagai aktifitas sel berupa penyerapan mengakibatkan eksplan mengalami pembengkakan (Gambar 3). Respon pembengkakan terjadi karena adanya interaksi antara eksplan terhadap lingkungan tumbuh dan zat pengatur tumbuh melalui penyerapan nutrisi yang dilakukan oleh eksplan. Penambahan 2,4-D secara tunggal pada penelitian ini sudah mampu memberikan respon pembengkakan. Apabila dikombinasikan dengan kinetin, maka perlu diperhatikan keseimbangan kedua zat pengatur tumbuh. Kombinasi dengan kinetin konsentrasi tinggi diduga lebih optimal untuk memberikan respon pembengkakan.

Respon selanjutnya yang terjadi selama pengamatan adalah perubahan warna pada eksplan menjadi hijau kekuningan atau hijau kecoklatan. Namun tidak semua eksplan mengalami perubahan ini. Respon eksplan terhadap perubahan warna eksplan dari setiap

perlakuan berbeda-beda. Perlakuan kontrol, 0,5 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin terjadi perubahan warna menjadi kekuningan dan tidak mengalami perubahan menjadi hijau kecoklatan. Perlakuan lain memberikan respon keduanya. Perlakuan 1,5 mg/l 2,4-D; 0,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin; 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin memberikan respon hijau kekuningan dan hijau kecoklatan sedangkan 1 mg/l 2,4-D; 1 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin memberikan respon yang dimulai dari hijau kekuningan dan hijau kecoklatan. Namun ada juga eksplan yang tidak mengalami perubahan warna. Seperti pada perlakuan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin yang hanya mengalami perubahan menjadi hijau tua 33,33%.

Perubahan eksplan daun *in vitro* menjadi hijau kekuningan dan hijau kecoklatan ini diduga menandakan eksplan mengalami kerusakan. Eksplan yang berwarna hijau kekuningan diduga memperlambat kematian eksplan. Perubahan warna eksplan mungkin dipengaruhi ukuran eksplan dan zat pengatur tumbuh. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini memiliki ukuran yang kurang besar untuk mengimbangi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Selain itu umur eksplan tentu juga mempengaruhi. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan berasal dari planlet umur sekitar 4 bulan yang ditanam pada media MS kosong. Eksplan yang berumur 4 bulan merupakan umur dimana planlet memiliki daun berjumlah 3-4 helai dan belum mengalami kerusakan daun (mati), apabila kurang dari 4 bulan planlet hanya memiliki 2-3 daun dan belum terbuka sempurna. Diduga pada umur 4 bulan, jaringan eksplan masih kurang tebal sehingga jumlah sel menjadi kurang banyak untuk menjadi meristematis kembali. Faktor lain juga dipengaruhi oleh konsentrasi sitokinin yang kurang mencukupi. Menurut Salisbury & Ross (1992) keberadaan sitokinin dapat menunda penuaan pada daun tanaman. Eksplan yang mengalami penuaan perlahan-lahan akan mati pada waktu yang tidak bersamaan. Perubahan menjadi hijau kecoklatan diduga menandakan eksplan mengalami kerusakan akibat akumulasi fenol yang

teroksidasi. Tanaman keladi tikus mengandung senyawa triterpenoid, alkaloid dan lignin (polifenol). Diduga hijau kecoklatan ini merupakan akibat dari oksidasi senyawa fenol yang terjadi pada eksplan. Hal ini terbukti dari perubahan eksplan menjadi coklat dan mati. Menurut Wahyudi (2014) ekspresi eksplan menjadi coklat merupakan dampak pelukaan yang diberikan pada eksplan, umumnya peencoklatan akan menghambat perkembangan jaringan. Adri (2012) menyatakan bahwa kematian eksplan yang mengalami pencoklatan diakibatkan oleh oksidasi senyawa fenol.

Beberapa perlakuan memberikan respon dengan pinggiran eksplan berubah warna menjadi putih transparan. Respon ini menunjukkan adanya kerusakan pada eksplan yaitu kehilangan zat hijau daun yang kemungkinan disebabkan oleh keberadaan zat pengatur tumbuh sitokinin yang tidak sesuai dan faktor adaptasi eksplan terhadap media. Sebagaimana dijelaskan oleh Ajijah *et al.*, (2010) hal ini menandakan bahwa eksplan kehilangan klorofil sebagai pertanda adanya adaptasi eksplan terhadap media. Diduga adaptasi tersebut merupakan respon fisiologis eksplan untuk bertahan hidup atau respon menuju kematian. Perubahan seperti ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kandungan NH_4^+ media MS, bisa juga diakibatkan oleh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin (Ajijah *et al.*, 2010). Keberadaan sitokinin yang kurang juga mungkin menyebabkan hal ini terjadi. Sebagaimana ditambahkan oleh Salisbury & Ross (1992) bahwa keberadaan sitokinin dengan jumlah yang cukup akan memacu perkembangan kloroplas. Pengamatan yang dapat dilakukan pada akhir pengamatan adalah eksplan yang masih bertahan hidup. Penambahan 2,4-D dan kinetin terhadap persentase eksplan yang masih hidup hingga hari ke 70 dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil penelitian ini menunjukkan sebanyak 7 (tujuh) dari 10 perlakuan yang diberikan mengalami pencoklatan (mati) pada saat memasuki umur ke 28-56 hst. Tiga perlakuan yang lain mampu mempertahankan eksplan tetap hidup dengan perubahan warna

eksplan menjadi hijau kekuningan namun tidak mampu menghasilkan kalus. Tiga perlakuan tersebut adalah perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin yaitu 33,33 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin dan I 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin masing-masing sebesar 66,67%. Perlakuan kombinasi antara 2,4-D dengan kinetin lebih mampu mempertahankan eksplan tetap hidup dibandingkan perlakuan tunggal dan kontrol. Hal ini mungkin dikarenakan adanya sinergis antara kedua zat pengatur tumbuh terhadap interkasi eksplan dengan media dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan tunggal. Induksi kalus pada penelitian ini hanya mampu memberikan respon pembengkakan yang mengarah ke pembentukan kalus. Pembengkakan ini menandakan kondisi sel pada eksplan mengalami pembesaran. Namun tidak sampai ke pembelahan sel yang nantinya akan membentuk kalus. Seharusnya setelah terjadi pembengkakan eksplan akan menghasilkan kalus. Menurut Lizawati *et al.*, (2012) pembengkakan pada eksplan daun akan disusul dengan terbentuknya kalus disekitar pinggiran daun (potongan daun). Namun hingga akhir pengamatan (hari ke 70) kalus yang diharapkan pada penelitian ini tidak muncul. Hal yang sama terjadi pada penelitian Manuhara (2012) yang menemukan bahwa eksplan daun *Anthurium plowmanii* tidak mampu menginduksi kalus hingga minggu ke 12 (84 hari) pada pemberian zat pengatur tumbuh yang sama. Diduga hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang belum optimal untuk menginduksi kalus keladi tikus. Berdasarkan penelitian Syahid & Kristina (2007) diperlukan konsentrasi auksin eksogen yang lebih tinggi untuk menginduksi kalus, namun ternyata berdasarkan hasil penelitian ini penambahan konsentrasi auksin yang lebih tinggi belum mampu untuk menginduksi kalus dari eksplan daun *in vitro* keladi tikus.

Induksi kalus tidak diperoleh pada penelitian ini diduga hal karena kondisi eksplan yang digunakan pada penelitian ini berasal dari daun *in vitro* yang memiliki ketebalan sangat tipis. Berdasarkan penelitian Fatonah dan Isda (2011) pemberian zat

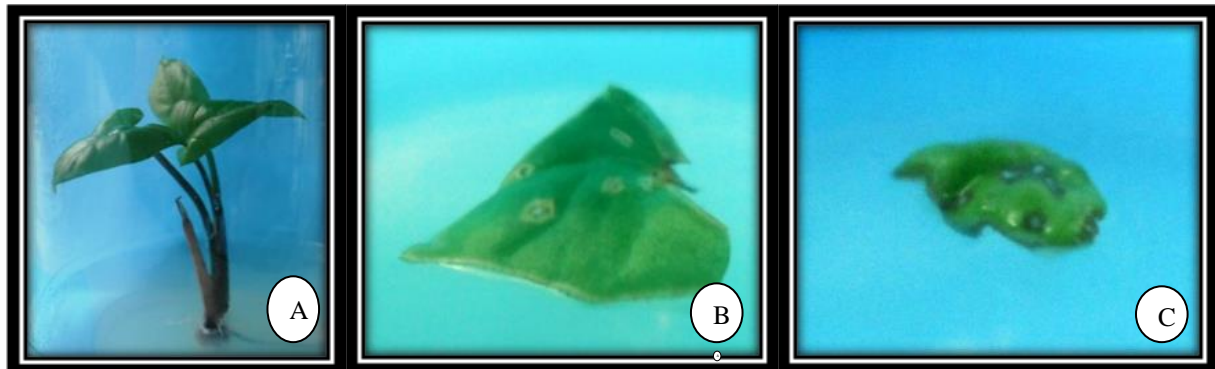
pengatur tumbuh tidak berbeda nyata terhadap kontrol untuk menginduksi tunas keladi. Pada penelitian ini digunakan eksplan yang ditumbuhkan pada media MS kosong untuk menyeragamkan sumber eksplan. Perlakuan tanpa zat pengatur tumbuh diduga menghasilkan planlet yang ketebalannya lebih tipis. Hal ini tentunya berpengaruh pada senyawa yang terkandung pada eksplan tersebut. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa daun planlet hasil kultur *in vitro* memiliki sel palisade yang lebih kecil dan jumlah yang lebih sedikit. Kondisi eksplan yang kecil dan tipis ini memiliki jumlah sel yang lebih sedikit. Diduga jumlah sel yang terdapat pada eksplan kurang mencukupi untuk membelah hanya mampu untuk beradaptasi dengan lingkungan sehingga meskipun ditambah dengan zat pengatur tumbuh akan lebih sulit merangsang pembelahan sel-sel untuk berdiferensiasi membentuk kalus.

Ukuran dan asal eksplan daun berpengaruh terhadap keberhasilan terbentuknya kalus. Eksplan yang berasal dari kultur *in vitro* memiliki keuntungan dan kelemahan. Salah satu keuntungannya adalah eksplan sudah dalam kondisi steril sehingga tidak membutuhkan sterilisasi eksplan kembali. Kelemahan dari eksplan yang berasal dari kultur *in vitro* adalah ukuran planlet berukuran lebih kecil baik batang, daun, dan akar. Selain itu, planlet juga tampak lebih lunak dan tidak kokoh. Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa ukuran eksplan dapat mempengaruhi repon hidup dari eksplan itu sendiri sehingga akan berpengaruh pada keberhasilan kultur *in vitro*. Ukuran eksplan yang kecil akan mempengaruhi fungsi fisiologis eksplan. Hal ini mungkin mengakibatkan eksplan tidak mampu bertahan lama. Ukuran eksplan yang terlalu kecil, memiliki kandungan senyawa metabolit yang tidak mencukupi untuk mengimbangi zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media sehingga hanya mampu beradaptasi dan memberikan respon pembengkakan saja dan pada akhirnya eksplan mengalami kematian.

Dibutuhkan alternatif yang diharapkan mampu menghasilkan kalus dari eksplan daun *in vitro* keladi tikus. Penambahan vitamin

sebagai nutrisi tambahan mungkin dibutuhkan agar eksplan mampu meningkatkan kemampuan

sel untuk bertahan hidup.



Gambar 1. Morfologi sumber eksplan yang berasal dari nodus keladi tikus (A), eksplan mengalami pencoklatan pada potongan atau luka pada perlakuan control (B) dan 1 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin (C)

Tabel 1. Persentase respon pencoklatan dan pembengkakan pada potongan atau luka eksplan

Perlakuan	Pelukaan (%)	Pembengkakan (%)
Kontrol	100	66,67
0,5 mg/l 2,4-D	100	100,00
1 mg/l 2,4-D	100	100,00
1,5 mg/l 2,4-D	100	66,67
0,5 mg/l 2,4 D + 0,3 mg/l kinetin	100	100,00
1 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin	100	33,33
1,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin	100	66,67
0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	100	100,00
1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	100	66,67
1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	100	100,00

Tabel 2. Persentase eksplan daun yang masih hidup

Perlakuan	% eksplan hidup
Kontrol	0,00
0,5 mg/l 2,4-D	0,00
1 mg/l 2,4-D	0,00
1,5 mg/l 2,4-D	0,00
0,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin	33,33
1 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin	0,00
1,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin	0,00
0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	66,67
1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	66,67
1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin	0,00

Hal serupa juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Syahid dan Kristina (2007) yang memberikan penam-

bahan vitamin pada media yang digunakan untuk menginduksi kalus daun *in vitro* keladi tikus. Hal tersebut akan membantu nutrisi

eksplan sehingga mampu bertahan dan menghasilkan kalus pada minggu ke-8 dan 10. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian 2,4-D konsentrasi tinggi (1,5 mg/l) dan dikombinasikan dengan kinetin konsentrasi tinggi (0,5 mg/l) memberikan peningkatan persentase respon pembengkakan. Dengan demikian perlu penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk keberhasilan induksi kalus keladi tikus.

Selanjutnya penambahan zat pengatur tumbuh yaitu sitokinin juga diperlukan untuk meningkatkan kemampuan sel untuk membelah. Keberadaan 2,4-D konsentrasi tinggi hanya mampu memberikan respon pembengkakan, karena itu diperlukan penambahan konsentrasi sitokinin yang diharapkan mampu memicu pembelahan sel lebih cepat. Menurut Kaniyah *et al.*, (2012) bahwa kemungkinan berhentinya respon eksplan diakibatkan oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan, jika konsentrasi zat pengatur tumbuh terlalu rendah maka tidak mampu menginduksi kalus, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan dan jika konsentrasi yang diberikan tidak seimbang maka interaksi kedua zat pengatur tumbuh tidak cocok untuk merangsang pembentukan kalus.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin belum mampu menginduksi pembentukan kalus dari daun *in vitro* keladi tikus hingga hari ke 70 hst namun mampu memberikan respon pembengkakan dan perubahan warna.
2. Perlakuan yang mampu memberikan respon pembengkakan pada eksplan daun *in vitro* hingga 100 % adalah perlakuan tunggal 2,4-D yaitu konsentrasi 0,5 mg/l dan 1 mg/l, untuk perlakuan kombinasi pada konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D + 0,3 mg/l kinetin, 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin dan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin.
3. Perlakuan yang mampu mempertahankan eksplan tetap hidup hingga 66,67 %

adalah perlakuan kombinasi yaitu 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin dan 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l kinetin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan dana PNPB Universitas Riau tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Adri, R. F. (2012). *Pengaruh 2,4-D Terhadap Pembentukan Embrio Somatik Tanaman Gambir (Uncaria gambir Roxb.) dan Uji Responnya Terhadap PE6 dalam UPaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan* (artikel). Universitas Andalas: Padang (diakses 4 Januari 2015).
- Ajjah, N., Tasma, I. M., Hadipoentyanti, E. (2010). Induksi Kalus Vanilli (*Vanilla planifolia* ANDREW.) Dari Eksplan Daun dan Buku. *Buletin RISTR*. 1(5).
- Fatonah, S., Isda, M. N. (2011). Induksi Tunas dari Eksplan Nodus Keladi Tikus dengan Perlakuan BAP. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Pekanbaru. (belum dipublikasikan).
- Hendaryono, D., Wijayani, A. (1994). *Teknik kultur jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Kanisius. Yogyakarta.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobien*. 4(2), 83-88.
- Indah, P.N., 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), 2337-3520.
- Kartika L., Atmojoyo, P.K., Purwijantingsih, L. M. E. (2014). Kecepatan induksi kalus dan kandungan eugenol sirih merah (*piper crocatum* ruiz and pav.) yang diperlakukan menggunakan variasi jenis dan konsentrasi auksin (makalah). Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.

- Khanayah, S., Habibah, N. A., & Sumadi. (2012). Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura procumbens* [Lour] Merr.) Dengan Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan Kinetin Secara *in vitro*. *Biosaintifika*. 4 (2).
- Lestari, E. G. (2011). Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agro-Biogen*. 7(1), 63-68.
- Lizawati, Neliyati, R. Desfira. (2012). Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Zurio zibethinus* murr. Cv. Selat Jambi) pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. Jambi.
- Manuhara, Y. S. W. (2012). Perbanyak *Anthurium plowmanii* Croat Menggunakan Eksplan Daun dan Tangkai Daun Secara *In Vitro* (artikel). Universitas Airlangga: Surabaya (diakses 20 Maret 2015).
- Mudahar H., Widowati, L., Sundari, D. (2006). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50 % Umbi Keladi Tikus (*Thyphonium flagelliforme* (Lood) BI) terhadap Sel Kanker Payudara (MCF -7 Cell line) secara *In Vitro*. *Puslitbang Biomedis dan Far-masi*, Badan Litbang Kesehatan (diakses 4 Desember 2013).
- Salisbury, F. S., Ross, C. W. (1992). *Fisiologi Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- Syahid, S. F., Kristina, N. N. (2007). Induksi dan Regenerasi Kalus Keladi Tikus (*Typonium flagelliforme*. Lodd.) Secara *In vitro*. *Jurnal Littri*. 13(4), 142-146.
- Wahyudi, S. (2014). Induksi Tunas dari Eksplan Mahkota Buah Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merrill) Asal Kampar Secara *In Vitro* dengan penambahan 6-benzilaminopurine (BAP) [skripsi]. Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau. Pekanbaru.
- Zulkarnain, H. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara. Jakarta.