

PEMBENTUKAN KALUS PADA EKSPLAN *Pueraria javanica* DENGAN MODIFIKASI MEDIA

Fadhila Faiz Hafidzdien¹, Y. Th. Maria Astuti², Neny Andayani²

¹Mahasiswa Fakultas Pertanian INSTIPER

²Dosen Fakultas Pertanian INSTIPER

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi nyata antara auksin dan sitokinin dalam pengaruhnya terhadap pembentukan kalus *Pueraria javanica*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian Institut Pertanian Stiper Yogyakarta pada bulan Agustus sampai pada bulan November 2015. Penelitian yang digunakan berupa percobaan pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu pemberian 2,4-D dan BAP, faktor pertama adalah pemberian 2,4-D yang terdiri dari 3 aras yaitu Z0= 2,4-D 0 mg.L⁻¹, Z1= 2,4-D 1,5 mg.L⁻¹, Z2= 2,4-D 2 mg.L⁻¹. Faktor kedua adalah pemberian BAP yang terdiri dari 3 aras yaitu B0= BAP 0 mg.L⁻¹, B1= BAP 1,5 mg.L⁻¹, B2= BAP 2 mg.L⁻¹. Dari dua perlakuan tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan, setiap kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan dan setiap ulangan diisi 1 sampel eksplan dalam 1 botol kultur, sehingga jumlah eksplan yang dibutuhkan yaitu 3 x 3 x 3 x 1 = 27 eksplan. Hasil penelitian dianalisis dengan sidik ragam (*Analysis of Variance*) pada jenjang nyata 5%. Perlakuan yang berbeda nyata dicari dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D dan BAP menunjukkan adanya interaksi nyata terhadap parameter berat segar kalus, terbaik 2,4-D 1,5 mg.L⁻¹ + BAP 0 mg.L⁻¹. Pemberian 2,4-D dalam hal ini auksin dengan konsentrasi 1,5 mg.L⁻¹ menunjukkan adanya pengaruh terhadap berat kering kalus dan auksin dengan konsentrasi 0 mg L⁻¹ menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap tinggi planlet, jumlah daun, berat segar planlet, jumlah akar dan panjang akar. Sedangkan pemberian BAP dalam hal ini sitokinin memberikan pengaruh yang sama terhadap pembentukan kalus pada eksplan *Pueraria javanica*.

Kata kunci : Kalus *Pueraria javanica*, kultur jaringan, 2,4-D dan BAP

PENDAHULUAN

Dalam pengelolaan perkebunan, menjaga kualitas tanah merupakan hal penting. Salah satu caranya adalah dengan penanaman tanaman penutup tanah atau juga yang biasa disebut dengan legume cover crop (LCC). Tanaman penutup tanah tersebut berfungsi sebagai pengikat nitrogen dari udara bebas karena mampu bersimbiosis dengan bakteri rhizobium dengan cara menginfeksi akar. Rhizobium tersebut akan memfiksasi nitrogen dari udara sehingga menambah ketersediaan nitrogen di dalam tanah (Purwanto, 2007). Selain itu, Leguminosae mempunyai kemampuan untuk menyediakan bahan organik serta unsur hara buka hanya untuk tanaman itu sendiri tetapi juga untuk tanaman di sekitarnya. Dengan kemampuan seperti itu maka kita dapat mengambil manfaat ganda dari Leguminosae.

Salah satu tanaman Leguminosae yang sering dipakai adalah *Pueraria javanica*. *Pueraria javanica* banyak dibudidayakan di daerah yang mempunyai periode kering tegas seperti Jawa tengah dan Jawa timur (Angkapradipta, 1984). *Pueraria javanica* punya banyak sekali manfaat, yaitu sebagai penekan pertumbuhan gulma, mengurangi kemungkinan terjadinya erosi, sumber bahan organik, memperbaiki tata lanas tanah, serta menambah unsur hara. Selain manfaat-manfaatnya bagi tanah, *Pueraria javanica* juga bermanfaat di bidang peternakan. Dengan kandungan nutrisi berupa serat kasar 30-40%, N 2-5%, P 0,5-0,45% dan Ca 0,4-1,6% (Purwanto, 2007), tanaman ini bisa menjadi sumber pakan alternatif yang cukup baik bagi ternak.

Perbanyakan *Pueraria javanica* dapat dilakukan melalui cara vegetatif dan generatif.

Perbanyak generatif dilakukan dengan biji. Sedangkan perbanyak vegetatif pada umumnya dilakukan dengan cara stek. Perbanyak yang masih bersifat konvensional ini mengakibatkan ketersediaan benih yang terbatas. Salah satu solusi untuk permasalahan tersebut adalah menggunakan sistem perbanyak kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu diukur pada medium buatan yang steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Winata, 1987). Dengan kultur jaringan bisa diperoleh tanaman yang berkualitas serta kuantitasnya sesuai dengan yang dibutuhkan dalam satu waktu.

Di dalam kultur jaringan, peranan media tanam sangat penting karena di dalam media terkandung nutrisi yang sangat dibutuhkan untuk tumbuh kembangnya tanaman kultur. Tidak sedikit tanaman yang sudah terbebas dari kontaminasi, pertumbuhannya menjadi lambat, stagnan, tidak ada perubahan, tanaman berada pada posisi hidup dan mati. Ada yang tetap berupa kalus tanpa bisa menjadi embrio, tidak terjadi multiplikasi. Semua hal tadi merupakan permasalahan yang timbul dan berawal dari komposisi media kulturnya (Sandra, 2013).

Salah satu bahan yang menjadi komposisi penyusun media kultur adalah zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh ini sangat penting perannya. Pierik (1997) mengemukakan bahwa fitohormon adalah senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi secara endogen. Senyawa tersebut berperan merangsang dan meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu. Senyawa-senyawa lain yang memiliki karakteristik yang sama dengan hormon, tetapi diproduksi secara eksogen, dikenal sebagai zat pengatur tumbuh. Bahkan ada penegasan dari Pierik (1997) yang mengatakan bahwa sangat sulit menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh.

Beberapa zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin. Peranan auksin dan sitokinin sangat nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ (Zulkarnain, 2009). Proses morfogenesis dalam kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin, oleh karena itu dilakukan penelitian yang mengkaji interaksi antara auksin serta sitokinin dan pengaruhnya terhadap kalus.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2015 sampai dengan bulan November 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Institut Pertanian Stiper, kampus Maguwoharjo, Kecamatan Depok, Kabupaten Sleman, Yogyakarta.

Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan adalah, scalpel, pinset, gunting, botol kultur, gelas ukur, petridish, pipet ukur, kompor listrik, autoclave, Laminar Air Flow (LAF), pH meter, rak tempat kultur, hand sprayer dan lampu TL 40 watt.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah, planlet kecambah *Pueraria javanica*, media dasar Murashige and Skoog, zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin, air aquades, alkohol 70%, alkohol 95%, klorox dan betadine.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan berupa percobaan faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah media dengan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D yang terdiri dari 3 aras, yaitu:

$$Z_0 = 0 \text{ mg l}^{-1}$$

$$Z_1 = 1,5 \text{ mg l}^{-1}$$

$$Z_2 = 2 \text{ mg l}^{-1}$$

Faktor kedua adalah konsentrasi sitokinin (BAP) yang terdiri dari 3 aras, yaitu:

$$B_0 = 0 \text{ mg l}^{-1}$$

$$B_1 = 1,5 \text{ mg l}^{-1}$$

$$B_2 = 2 \text{ mg l}^{-1}$$

Dari dua faktor tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan dengan 3 ulangan. Sehingga jumlah eksplan yang dibutuhkan yaitu $3 \times 3 \times 3 = 27$ eksplan.

Hasil penelitian dianalisis dengan sidik ragam (*Analysis of Variance*) pada jenjang nyata 5%. Perlakuan yang berbeda nyata dicari dengan menggunakan uji jarak berganda duncan (UJBD).

Pelaksanaan Penelitian

1. Pemilihan Bahan Tanam

Bahan tanam yang akan digunakan terlebih dahulu dipilih yang benar-benar sehat, tidak ada gejala-gejala penyakit pada bahan. Dan bahan yang terpilih segera dicuci dengan deterjen dan dibilas dengan air mengalir kemudian digojlok dengan fungisida.

2. Pencucian Alat

Alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci menggunakan sabun deterjen kemudian dibilas dengan air mengalir, selanjutnya dikeringkan dan dipastikan jumlahnya tidak kurang dari kebutuhan.

3. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang sudah dicuci dan dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas payung dan selanjutnya dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilisasi. Temperatur yang digunakan untuk sterilisasi adalah 121 °C pada tekanan 1 atm selama 1 jam.

4. Pembuatan Media Tanam

Terlebih dahulu dalam pembuatan media biasanya ditambahkan stok vitamin, zat pengatur tumbuh dan asam amino untuk pembuatan media MS. Komposisi bahan kimia untuk pembuatan media MS dapat dilihat pada lampiran 1. Dari larutan stok diambil sejumlah konsentrasi yang dibutuhkan untuk diketahui mana jumlah yang terbaik, larutan yang diambil yaitu 2,4-D dan BAP sesuai perlakuan. Kemasaman media berkisar antara 5,0 – 5,5 yang diukur dengan pH meter. Setelah larutan sesuai dengan perhitungan maka

ditambahkan Agar 7,5 g/l, setelah itu dimasak hingga mendidih dan larutan terlihat bening, kemudian setelah agak dingin larutan dimasukan ke dalam botol media yang telah disterilisasi sebanyak 20 – 25 ml/botol. Selanjutnya botol ditutup rapat dan disterilisasi lagi dengan autoclave pada tekanan 1 atm, dengan suhu 121°C selama 30 menit. Media yang telah disterilisasi dapat disimpan dalam ruangan sebelum digunakan.

5. Persiapan Penanaman

a. Sterilisasi Lingkungan Kerja

Sebelum pekerjaan dilakukan, lingkungan kerja yang ingin digunakan terlebih dahulu harus dibersihkan dan disterilkan. Lingkungan kerja untuk teknik kultur jaringan dapat dibagi menjadi dua yaitu lingkungan umum dan lingkungan spesifik. Lingkungan umum adalah ruangan transfer secara keseluruhan, sedangkan lingkungan spesifik adalah lingkungan di dalam laminar air flow atau entkas dimana proses penanaman eksplan dapat dilakukan. Dalam membersihkan lingkungan umum biasanya hanya menggunakan disinfektan karbol, lysol dan clorox. Kemudian untuk mempertahankan agar lingkungan tetap steril biasanya dibatasi orang yang keluar masuk dan peralatan yang dibawa masuk. Sedangkan untuk lingkungan spesifik, LAF biasanya dibersihkan dan disterilkan dengan cara penyemprotan alkohol 70% ke permukaan kemudian dibersihkan menggunakan tisu atau kapas yang telah dicelupkan ke dalam alkohol 70% kemudian lampu ultraviolet dinyalakan minimal 60 menit untuk mematikan kontaminan di permukaan tempat kerja. Biasanya didalam laminar juga diberi formalin tablet yang dibiarkan

membuka ketika laminar atau enkas tidak digunakan, kemudian apabila laminar hendak digunakan biasanya lampu ultraviolet dihidupkan selama 60 menit.

b. Persiapan Alat

Alat-alat yang sudah disterilkan dan akan digunakan dimasukkan ke dalam laminar air flow atau enkas. Sebelum alat-alat tersebut dimasukkan, terlebih dahulu disemprot dengan alkohol 70% dan dilap dengan tisu bersih.

6. Penanaman biji *Pueraria javanica*

Pueraria javanica yang nantinya akan menjadi eksplan untuk dilakukannya penelitian sebelumnya diperbanyak dari biji yang telah dipilih dan dipisahkan yang memiliki kualitas baik, selanjutnya biji direndam dan digojlok dengan fungisida Dithame M-45 dengan konsentrasi yang digunakan 5 g/100ml selama 24 jam, selanjutnya biji ditanam di dalam botol kultur dan dilakukan di dalam LAF dengan jumlah biji dalam satu botol kultur kurang lebih 12 biji, selanjutnya botol ditutup rapat dan disimpan di ruang inkubasi.

7. Pemotongan dan penanaman Eksplan

Pueraria javanica yang sudah tumbuh dibotol selama satu bulan, selanjutnya dipotong dan pemotongan dilakukan di dalam LAF dengan posisi tanaman masih di dalam botol, selanjutnya pemotongan dilakukan pada bagian ruas dengan jarak 1 mm dari ketiak daun dengan posisi pemotongan miring dan dalam satu eksplan harus daunnya. Setelah semua tanaman di dalam botol telah dipotong, selanjutnya tutup rapat kembali botol tersebut dan botol masih tetap di dalam LAF. Penanaman eksplan dilakukan langsung setelah proses pemotongan selesai dan semua botol kultur yang akan menjadi tempat bahan tanam dipersiapkan sama-sama ketika proses pemotongan berlangsung, proses penanaman

dilakukan di dalam LAF dan peralatan dan bahan yang ada di dalam LAF adalah gunting, pinset, lampu bunsen, bahan tanam yang sudah dipotong, alkohol didalam botol, dan media tanam. Setelah semua peralatan sudah siap, pertama pinset dibakar terlebih dahulu di atas bunsen, selanjutnya bahan tanam diambil dari botol dan dimasukkan kedalam botol yang menjadi media selama proses penelitian dengan posisi eksplan tidur dan luka potongan harus menempel di permukaan media, selanjutnya botol ditutup rapat dan dilapisi plastik di tutup botol supaya tidak ada udara yang masuk. Dan dalam satu botol kultur hanya terdapat satu eksplan.

8. Pemeliharaan Kultur

Botol-botol kultur yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak kultur. Selain yang ada di dalam tabung selalu dalam kondisi steril, maka di luar tabung kultur pun harus dijaga kesterilannya, yaitu dengan memperhatikan cahaya, suhu dan kebersihan lingkungan botol kultur. Penyinaran dilakukan selama kurang lebih 16 jam setiap hari dengan menggunakan lampu TL 40 watt. Intensitas cahaya yang diterima oleh botol kultur kurang lebih 1300 lux, suhu ruangan berkisar antara 25°C – 28°C, kelembaban rata-rata 75 – 80%. Ruangan kultur tetap bebas dari bakteri dan cendawan serta hama lainnya, penyeterilan dilakukan dengan penyemprotan alkohol 70% setiap 2 kali sehari.

9. Pemanenan

Pemanenan dilakukan setelah planlet berumur 3 bulan. Diukur planlet sesuai dengan kebutuhan parameter yang akan di ukur.

Parameter yang diukur

Pengamatan dilakukan terhadap parameter-parameter meliputi:

1. Jumlah tunas (helai)
Dihitung jumlah tunas yang dihasilkan pada tiap eksplan.
2. Tinggi planlet (cm)
Dihitung panjang planlet dari pangkal planlet hingga ujung planlet.
3. Jumlah daun (helai)
Dihitung jumlah daun yang dihasilkan dari tiap-tiap tunas.
4. Berat segar planlet (g)
Dihitung berat planlet yang telah dipisahkan dari akar menggunakan timbangan analitik setelah panen.
5. Jumlah akar (helai)
Dihitung jumlah akar yang terdapat pada planlet
6. Panjang akar (cm)
Diukur panjang akar setiap planlet
7. Berat segar akar (g)
Dihitung berat segar akar menggunakan timbangan analitik setelah panen.
8. Berat kering akar (g)
Dihitung berat kering akar setelah dioven menggunakan timbangan analitik sampai berat konstan.
9. Berat kering kalus (g)

Dihitung berat kering kalus menggunakan timbangan analitik setelah dioven sampai berat konstan.

10. Berat kering planlet (g)
Dihitung berat kering planlet setelah dioven menggunakan timbangan analitik setelah panen.
11. Berat segar kalus (g)
Dihitung berat segar kalus menggunakan timbangan analitik setelah panen.

HASIL DAN ANALISIS HASIL

Hasil pengamatan jumlah tunas, panjang planlet, jumlah daun, berat segar planlet, jumlah akar, panjang akar, berat segar akar, berat segar kalus, berat kering kalus, berat kering akar dan berat kering planlet dianalisis menggunakan sidik ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA). Bila ada beda nyata dilakukan pengujian lanjut dengan menggunakan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada jenjang nyata 5 %.

Berat segar kalus

Hasil sidik ragam berat segar kalus (Lampiran 4) menunjukkan bahwa terdapat interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap berat segar kalus. Rerata berat segar kalus disajikan pada Tabel 1

Tabel 1. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat segar kalus (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	149,33 d	194,00 d	255,03 d	199,45
1,5	3228,67 a	516,57 bcd	380,67 cd	1375,30
2	1755,57 bc	1863,27 b	1463,33 bcd	1694,05
Rerata	1711,19	857,94	699,68	(+)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(+) : Significant (ada interaksi nyata)

Tabel 1 menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap berat segar kalus terbaik pada kombinasi 2,4-D konsentrasi 1,5 mg.L⁻¹ + BAP konsentrasi 0 mg.⁻¹. Berat kering kalus

Hasil sidik ragam berat kering kalus (Lampiran 5) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP. Rerata berat kering kalus disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat kering kalus (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	2,17	44,67	43,37	30,07 b
1,5	296,30	73,33	105,93	158,52 a
2	176,97	130,13	138,03	148,38 a
Rerata	158,48 p	82,71 p	95,78 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap berat kering kalus dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 1,5 mg.L⁻¹. Sedangkan konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap berat kering kalus.

Jumlah tunas

Hasil sidik ragam (Lampiran 6) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap jumlah tunas. Rerata jumlah tunas disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap jumlah tunas (helai).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	0,33	0,67	0,67	0,55 a
1,5	0,67	0,33	0,33	0,44 a
2	0,00	0,00	0,00	0,00 a
Rerata	0,33 p	0,33 p	0,33 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 3 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering kalus.

Tinggi planlet

Hasil sidik ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap panjang planlet. Rerata panjang planlet disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap tinggi planlet (cm).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	3,27	3,53	1,80	2,87 a
1,5	0,83	0,00	0,67	0,50 b
2	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Rerata	1,37 p	1,18 p	0,82 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 4 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap berat kering kalus dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 0 mg.L⁻¹ (tanpa 2,4-D). Jumlah daun

Hasil sidik ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap jumlah daun. Rerata jumlah daun disajikan pada Tabel 6.

Tabel 5. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap jumlah daun (helai).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	8,00	11,67	6,00	8,56 a
1,5	0,67	0,33	2,67	1,22 b
2	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Rerata	2,89 p	4,00 p	2,89 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 5 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap jumlah daun dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 0 mg.L⁻¹. Sedangkan konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap jumlah daun. Berat segar planlet

Hasil sidik ragam (Lampiran 9) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap berat segar planlet. Rerata berat segar planlet disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat segar tunas (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	194,00	192,97	373,33	253,43 a
1,5	16,33	0,00	9,50	8,61 b
2	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Rerata	70,11 p	64,32 p	127,61 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 6 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap berat segar tunas dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 0 mg.L⁻¹. Sedangkan konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap berat segar tunas.

Berat kering planlet

Hasil sidik ragam (Lampiran 10) menunjukkan bahwa ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap berat kering planlet. Rerata berat kering planlet disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat kering tunas (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	37,90	156,30	24,00	72,70 a
1,5	3,20	0,00	3,20	2,20 a
2	0,00	0,00	0,00	0,00 a
Rerata	13,70 p	52,10 p	9,10 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 7 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering tunas. Jumlah akar

Hasil sidik ragam (Lampiran 11) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP jumlah akar. Rerata jumlah akar disajikan pada Tabel 8

Tabel 8. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap jumlah akar (helai).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	5,67	4,33	2,00	4,00 a
1,5	0,00	0,00	1,00	0,33 b
2	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Rerata	1,89 p	1,44 p	1,00 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 8 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap jumlah akar dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 0 mg.L⁻¹. Panjang akar

Hasil sidik ragam (Lampiran 12) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap panjang akar. Rerata panjang akar disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap panjang akar (cm).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	3,87	5,83	2,50	4,07 a
1,5	0,00	0,00	0,33	0,11 b
2	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Rerata	1,29 p	1,94 p	0,94 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 9 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap panjang akar dan terbaik pada 2,4-D konsentrasi 0 mg.L⁻¹ (tanpa 2,4-D). Berat segar akar

Hasil sidik ragam (Lampiran 13) menunjukkan bahwa tidak ada interaksi nyata antara konsentrasi 2,4-D dan konsentrasi BAP terhadap berat segar akar. Rerata berat segar akar disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat segar akar (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	81,60	29,27	90,00	66,96 a
1,5	0,00	0,00	4,00	1,33 a
2	0,00	0,00	0,00	0,00 a
Rerata	27,20 p	9,76 p	30,13 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (ada interaksi nyata)

Tabel 10 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap berat segar akar. Berat kering akar

Hasil sidik ragam (Lampiran 14) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata antara 2,4-D dan BAP terhadap berat kering akar. Rerata berat kering akar disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Pengaruh 2,4-D dan BAP terhadap berat kering akar (mg).

Konsentrasi 2,4-D (mg.L ⁻¹)	Konsentrasi BAP (mg.L ⁻¹)			Rerata
	0	1,5	2	
0	10,60	3,53	9,97	8,03 a
1,5	0,00	0,00	1,00	0,33 a
2	0,00	0,00	0,00	0,00 a
Rerata	3,53 p	1,78 p	3,65 p	(-)

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada jenjang nyata 5 %.

(-) : Non significant (tidak ada interaksi nyata)

Tabel 11 menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering akar.

PEMBAHASAN

Hasil analisis sidik ragam pada berat segar kalus, menunjukkan ada interaksi nyata antara 2,4-D dan BAP dalam pengaruhnya terhadap berat segar kalus (Lampiran 3). Berat segar kalus terbaik pada konsentrasi 2,4-D $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ + BAP 0 mg.L^{-1} . Dengan didapatnya hasil terbaik dari konsentrasi tersebut, ini membuktikan bahwa 2,4-D mempunyai peranan penting pada pertumbuhan kalus. Sesuai dengan pernyataan Gunawan (Dalam Parmana, 2015), bahwa 2,4-D merupakan jenis auksin yang mempunyai potensi tinggi untuk menumbuhkan kalus. 2,4-D juga efektif untuk memacu pembentukan kalus karena aktivitasnya yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus. Berdasarkan hal ini pula dapat dinyatakan bahwa kalus terbentuk dengan optimal pada pemberian senyawa 2,4-D dengan konsentrasi yang tidak terlalu tinggi dan pula tidak terlampau rendah. Menurut Malik (Dalam Parmana, 2015), penggunaan 2,4-D pada konsentrasi tinggi menghambat poliferasi kalus dan pada konsentrasi rendah merangsang terjadinya morfogenesis.

Pembentukan kalus terjadi melalui tiga tahap perkembangan yaitu induksi, pembelahan sel dan diferensiasi sel (Zulkarnain, 2011). Induksi memegang peranan penting dalam pembentukan kalus. Jika proses induksi terganggu, maka proses selanjutnya pun akan terhambat. Hal ini pasti akan berimbas pula pada berat kalus yang dihasilkan. Menurut Sitorus (Dalam Parmana, 2015), bahwa pembelahan yang terjadi secara optimal pada akhirnya akan meningkatkan berat basah kalus.

Berdasarkan pernyataan Purmitasari (Dalam Parmana, 2015), mekanisme kerja auksin mendorong pembelahan sel yaitu dengan cara mempengaruhi dinding sel. Induksi auksin akan mengaktifasi pompa proton pada membran plasma sehingga menyebabkan pH pada bagian dinding sel

lebih rendah. Pompa proton yang aktif tersebut akan memutuskan ikatan hidrogen diantara serat selulosa dinding sel sehingga menyebabkan dinding sel mudah merenggang akibatnya tekanan dinding sel akan menurun dan dengan demikian terjadilah pelenturan sel. pH rendah ini juga dapat mengaktifasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein pada dinding sel yang lunak dan lentur sehingga terjadi pemanjangan, pembesaran dan pembelahan sel.

Pada pembentukan kalus, pemberian 2,4-D dengan konsentrasi $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ berpengaruh nyata terhadap berat kering kalus menghasilkan rata-rata tertinggi dengan 158,52 mg. Hal ini menunjukkan bahwa pembentukan kalus dipengaruhi oleh 2,4-D tersebut.

Pada tinggi planlet, jumlah daun dan berat segar planlet dengan pemberian 2,4-D konsentrasi 0 mg.L^{-1} (tanpa 2,4-D) menghasilkan rata-rata paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi auksin (2,4-D) yang lebih rendah dari sitokinin (BAP) dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan planlet. Sesuai dengan pernyataan Abidin (1985) dan Astuti dkk. (2012) yang menyatakan bahwa pada konsentrasi auksin yang lebih rendah daripada konsentrasi sitokinin (BAP) memacu pembentukan tunas. Sama halnya dengan pernyataan Gamborg *et al.* (1976), senyawa tersebut (2,4-D) dapat menekan organogenesis dan sebaiknya tidak digunakan pada kultur yang melibatkan inisiasi pucuk dan akar.

Pada hasil analisis data menunjukkan bahwa dengan pemberian 2,4-D berkonsentrasi 0 mg.L^{-1} (tanpa 2,4-D) berpengaruh nyata terhadap jumlah akar serta panjang akar dan menghasilkan rata-rata terbaik. Ini membuktikan bahwa pembentukan dan pertumbuhan akar dapat dipacu dengan pemberian auksin (2,4-D) yang lebih rendah dari sitokinin (BAP). Hal ini didukung oleh Smith (1992) yang menyatakan bahwa konsentrasi auksin (2,4-D) yang rendah akan meningkatkan pertumbuhan akar adventif, sedangkan auksin konsentrasi tinggi akan

merangsang pembentukan kalus dan menekan organogenesis.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis dan pembahasan pengaruh pemberian auksin dan sitokinin terhadap pembentukan kalus *Pueraria javanica* pada penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian 2,4-D dan BAP menunjukkan ada interaksi nyata dalam pengaruhnya terhadap berat segar kalus terbaik dengan konsentrasi 2,4-D 1,5 mg.L⁻¹ + BAP 0 mg.L⁻¹.
2. Pembentukan kalus terbaik pada media dengan konsentrasi 2,4-D 1,5 mg.L⁻¹.
3. Pembentukan planlet dan akar terbaik pada media dengan konsentrasi 2,4-D 0 mg.L⁻¹ (tanpa 2,4-D).

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, B. 2011. *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Alfabeta. Bandung.

Abidin, Z. 1985. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Angkasa. Bandung.

Astuti, Y. T. M, N. Andayani, Hendriana & S. Margaretha. 2012. *Pengaruh Kombinasi NAA dan BAP Terhadap Pembentukan Planlet (saccharum officinarum, L.) Dalam Kultur Jaringan*. Prosiding Seminar nasional pangan UPN "Veteran". 13 November 2012. Yogyakarta.

Fauzi, R *et al.* 2012. *Kelapa Sawit*. Peneber Swadaya. Jakarta

Harsanto, W. A *et al.* 2012. *Penggunaan Berbagai Jenis Legume Cover Crop (LCC) pada Pertanaman Kelapa*

Sawit (Elaeis guinensis Jacq) Di Lahan Gambut. PPKS. 17(2) : 45-50.

Hendaryono, D. P dan Ari Wijayani. 2012. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Kanisius. Yogyakarta.

Hopkins, W. G. A dan N. P. A. Huner. 2004. *Introduction. To Plant Physiology*. John Wiley dan Sons, Inc. New Jersey. 312p.

Parmana. D. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Hormon 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (Nicotina tabacum L.) Melalui Kultur In Vitro*. Universitas Jember. Tidak dipublikasikan.

Purwanto, I. 2007. *Mengenal Lebih Dekat Leguminosae*. Kanisius. Yogyakarta.

Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. IPB Press. Bogor.

Smith, R. H. 1992. *Plant Tissue Culture: Tehniques and Experiment*. Akademi Press Inc. New York.

Street, H. E. 1973. *Plant Tissue and Cell Cultures*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. London.

Weier, Elliot. C, R. Stocking and M G Barbour. 1974. *Botany; An Introduction to Plant biology*. Fith edition. Wiley International edition. 693 pp.

Zulkarnain, H. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara. Jambi.