

Abstract. Rubber is known in Indonesia since the Dutch colonial period. Indonesia is the second largest natural rubber producer in the world after Thailand, rubber production contributes greatly to the Indonesian economy. Propagation of rubber seedlings to date is still done by grafting is by using the eyes of buds and seed plants, one of the alternatives to meet the demand for rubber seedlings that are increasing and not dependent on the season and to produce the clonal rootstock is homogeneous by tissue culture techniques. This study aims to find out the response of callus formation of young leaf rubber plant leaves (*Hevea brasiliensis* Muell, Arg) on MS medium with different concentration of ZPT (BAP and NAA). This research uses Cross Sectional type of observation research, with combination of MS and ZPT media used ie MS with BAP 1.5 ppm + NAA 0,05 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0,1 ppm, BAP 2.5 ppm + NAA 0.2 ppm. The parameters observed were the forming of callus, callus texture and callus color for 21 days. Based on the results of the study showed that MS treatment with ZPT concentration (BAP 1.5 ppm + NAA 0.05ppm) gave the best result for callus formation response with highest explanation percentage of 0,06%.

Keywords. Calli, Concentration ZPT, *Hevea brasiliensis* Muell.Arg.

Dwi Sucianingtyas Sukamto
IKIP PGRI Jember
Indonesia
Lila Maharani
IKIP PGRI Jember
Indonesia
Inget Puji Lestari
IKIP PGRI Jember
Indonesia

Perbandingan Konsentrasi ZPT (BAP dan NAA) Pada Media MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Muda Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg)

Dwi Sucianingtyas Sukamto
Lila Maharani
Inget Puji Lestari

Abstrak. Karet dikenal di Indonesia sejak masa kolonial Belanda. Indonesia merupakan negara produsen karet alam terbesar kedua di dunia setelah Thailand, produksi karet memberikan sumbangan besar bagi perekonomian indonesia. Perbanyakan bibit karet sampai saat ini masih dilakukan dengan cara okulasi yaitu dengan menggunakan mata tunas dan tanaman asal biji, salah satu alternatif untuk memenuhi permintaan bibit karet yang meningkat dan tidak bergantung dengan musim serta untuk menghasilkan batang bawah secara klonal yang homogen adalah dengan teknik kultur jaringan. penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pembentukan kalus eksplan daun muda tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) pada media MS dengan perbandingan konsentrasi ZPT (BAP dan NAA) yang berbeda. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian observasi type Cross Sectional, dengan kombinasi media MS dan ZPT yang digunakan yaitu MS dengan BAP 1,5 ppm+NAA 0,05 ppm, BAP 2 ppm+NAA 0,1 ppm, BAP 2,5 ppm+NAA 0,2 ppm. Parameter yang diamati yaitu hari terbentuk kalus, tekstur kalus dan warna kalus selama 21 hari. Berdasarkan hasil Penelitian menunjukkan bahwa perlakuan MS dengan konsentrasi ZPT (BAP 1,5 ppm + NAA 0,05ppm) memberikan hasil terbaik untuk respon pembentukan kalus dengan prosentase pembengkakkan eksplan tertinggi yaitu 0,56%.

Kata kunci: Kalus, Konsentrasi ZPT, *Hevea brasiliensis* Muell.Arg.

Pendahuluan

Karet dikenal di Indonesia sejak masa kolonial Belanda. Indonesia merupakan negara produsen karet alam terbesar kedua di dunia setelah Thailand, dimana pada tahun 2012 produksi karet alam Indonesia mencapai 3,27 juta ton dan bersama Thailand yang masing-masing menguasai $\pm 27\%$ dan $\pm 30\%$ kebutuhan karet alam dunia. Saat ini produk karet Indonesia hampir 100% berupa produk industri hulu setengah jadi seperti karet sit RSS (*Ribbed Smoked Sheet*), karet remah SIR (*Standard Indonesian Rubber*), sit angin, dan latex pekat. sehingga produksi karet memberikan sumbangan besar bagi perekonomian indonesia (Janudianto dkk, 2013; Siburian, 2013). Perbanyakan bibit karet sampai saat ini masih dilakukan dengan cara okulasi yaitu dengan menggunakan mata tunas dan tanaman asal biji. Namun, sifat heterozigot tanaman karet yang tinggi menjadi salah satu tantangan dalam proses persilangan buatan karena menghasilkan keturunan yang beranekaragam. Secara genetika agar dihasilkan keturunan dengan sifat yang seragam dibutuhkan tetua dengan genotipe homozigot (galur murni). Salah satu metode perbanyakan planlet dalam kultur *in vitro* adalah melalui kalus. Kalus adalah sekumpulan sel amorphous (belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* atau di dalam tabung. Kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman

seperti akar, batang dan daun. Secara histologi, kalus berasal dari pembelahan berkali-kali sel-sel parenkim di sekitar berkas pengangkut dan beberapa elemen penyusun berkas pengangkut kecuali xilem (Sudarmadji, 2003). Kultur *in vitro* dengan menumbuhkan kalus mempunyai keunggulan, yaitu peluang terjadinya mutasi lebih kecil, metodenya lebih mudah dan tidak memerlukan subkultur berulang sehingga tidak menurunkan daya regenerasi dari kalus (Purnamaningsih, 2006). Faktor penentu keberhasilan dalam kultur *in vitro* salah satunya ditentukan oleh keberadaan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam media (Sudarmadji, 2003).

Media yang sering digunakan pada hampir semua jenis kultur ialah media *Murashige* dan *Skoog* (MS) (Mariska dan Ragapadmi, 2001). Modifikasi media kultur jaringan dengan menambah zat pengatur tumbuh perlu dilakukan untuk menaikkan presentase keberhasilannya. Ada dua jenis hormon tanaman (auksin dan sitokinin) yang banyak dipakai dalam propagasi secara *in vitro*. Pemberian hormon BAP dan NAA pada perbanyakan tanaman karet secara *in vitro* telah banyak dilakukan sebelumnya. Sebuah penelitian menyatakan pemberian kombinasi BAP dan NAA pada media MS menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase munculnya tunas, jumlah tunas, panjang tunas dan umur munculnya tunas (Harahap, dkk, 2014).

Selain media, jenis eksplan juga sangat berpengaruh dalam keberhasilan proses kultur jaringan, penggunaan eksplan yang bersifat meristematik umumnya memberikan keberhasilan pembentukan kalus yang lebih tinggi (Vesco dan Guerra, 2001). Bagian tumbuhan seperti daun muda juga dapat dijadikan sebagai eksplan karena Jaringan yang muda mempunyai kemampuan berdiferensiasi dengan baik dan mempunyai potensi untuk dikulturkan (Irawati, 2005).

Metode Penelitian

Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif observasi dengan *type Cross Sectional* menggunakan media MS dengan konsentrasi BAP 1,5ppm +NAA 0,05 ppm, BAP 2 ppm+NAA 0,1 ppm, dan BAP 2,5 ppm+NAA 0,2 ppm

Alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* (LAF), tabung uji, botol jam, autoklaf, *steri box*, timbangan analitik, rak kultur, *hot plate* dengan magnetik stirer, Erlenmeyer, gelas ukur, kaca tebal, pipet ukur, pinset, gunting, scalpel, lampu bunsen, pH meter, oven, kertas plano, aluminium foil, kompor gas, minisar, pipet mikro, tip, dan pipet. eksplan daun muda tanaman karet, fungisida Dithane M-45, bakterisida Agrept, Tween, *detergen*, *clorox*, alkohol 96%, dan Aquadest. Bahan-bahan yang digunakan sebagai media kultur eksplan yaitu larutan *Murashige and Skoog*, BAP, NAA, gula, aquades, dan agar-agar. Bahan lain yang diperlukan adalah plastik, karet gelang, spirtus, dan *tissue*.

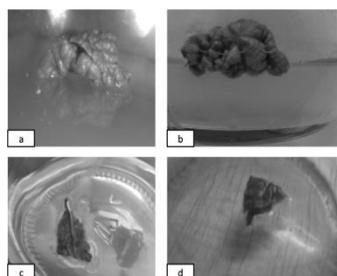
Prosedur Kerja

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 97 % alkohol setiap hari. Suhu ruang diatur 23-25°C dan diberi penyinaran dengan menggunakan lampu.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian induksi kalus pada eksplan daun muda tanaman karet ini dilakukan selama 21 hari. Kalus yang diinginkan diinduksi menggunakan zat pengatur tumbuh BAP (auksin) dan NAA (sitokinin) yang ditanam pada media MS. Salah satu indikator keberhasilan dalam kultur *in vitro* yaitu ditandai dengan munculnya kalus pada eksplan. Respon dari eksplan kultur yang ditanam

adalah kemampuan eksplan daun merespon dan beradaptasi dengan media sesuai dengan perlakuan yang digunakan (Sintinjak dkk, 2015).



Gambar 1. a) Perlakuan P1 menunjukkan pembengkakan; b) Perlakuan P2 menunjukkan pembengkakan ; c) dan d) Perlakuan P3 yang menunjukkan tidak terjadi pembengkakan.

Pada gambar 1 menunjukkan adanya pembengkakan pada beberapa perlakuan eksplan kultur yakni pada perlakuan P1, dan P2 yang ditandai dengan ciri daun seperti mengembang dan berwarna hijau, simbol (a) dan (b) . Sedangkan pada perlakuan P3 eksplan daun tidak mengalami pembengkakan yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan morfologi daun, simbol (c) dan (d).

Berdasarkan prosentase rata-rata pembengkakan eksplan, perlakuan terbaik terdapat pada P1 yakni dengan rata-rata prosentase 0,56%, perlakuan terbaik kedua terdapat pada P2 yakni sebesar 0,33% sedangkan perlakuan terendah terdapat pada P3 yakni 0,00 % yang berarti pada perlakuan P3 tidak terjadi pembengkakan. Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwasanya pada perlakuan P1 mempunyai nilai terbaik dalam merespon pertumbuhan kalus eksplan daun karet.

Respon pada eksplan daun karet diawali dengan perubahan warna potongan daun dan memberikan respon pembengkakan pada 17-21 hari setelah tanam (HST). Akan tetapi dalam kurun waktu 17-21 hari pertumbuhan kalus eksplan daun muda tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) dengan perbandingan konsentrasi ZPT (BAP dan NAA) pada media MS belum menunjukkan pertumbuhan kalus. Respon pembengkakan eksplan pada penelitian ini diduga karena penggunaan hormon auksin (NAA) lebih tinggi daripada hormon sitokinin (BAP) sehingga eksplan tidak dapat menumbuhkan kalus dan hanya sampai pada tahap pembengkakan, hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh (Intias, 2012) yang menyatakan bahwa sitokinin sebagai senyawa organik yang dikombinasikan dengan auksin akan mendorong pembelahan sel dan menentukan arah diferensiasi sel tanaman, jika konsentrasi auksin dalam jaringan tanaman tinggi maka akan membentuk kalus.

Faktor lain yang mempengaruhi diantaranya eksplan yang digunakan mengalami stagnasi mulai dari tanam hingga kurun waktu tertentu yang berarti eksplan tidak mati namun juga tidak tumbuh, selain stagnasi lingkungan kultur pada tahap inkubasi di ruang kultur pengendalian suhu, cahaya, dan tingkat kelembaban juga mempengaruhi keberhasilan eksplan untuk membentuk kalus, hal tersebut sesuai dengan penjelasan yang diungkapkan oleh (Yuliarti, 2010). Parameter-parameter yang akan diamati seperti waktu pembentukan kalus, warna kalus, tekstur kalus, dan panjang 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 perubahan warna pada eksplan.

Pembengkakan eksplan diamati berdasarkan ciri morfologi yang dibandingkan dengan eksplan sebelum dilakukan pengkulturkan yang tidak terjadi pembengkakan (Gambar 1). Presentase pembengkakan eksplan tertinggi terdapat pada perlakuan P1 dengan konsentrasi BAP 1,5 ppm dan NAA 0,05 ppm, rata-rata prosentase pembengkakan sebesar 0,56% sedangkan prosentase terendah terdapat pada perlakuan P3 dengan konsentrasi BAP 2,5 ppm dan NAA 0,2 ppm rata-rata

pembengkakan sebesar 0,00% yang berarti pada perlakuan tersebut tidak ada eksplan yang mengalami pembengkakan, pembahasan tersebut dapat dilihat pada gambar 2.

Pembengkakan eksplan pada penelitian ini dimulai pada hari ke- 17 setelah tanam dan diduga merupakan respon yang mengarah pada pembentukan kalus yang mengindikasikan adanya aktifitas sel pada eksplan. Pembesaran pada sel diduga karena penyerapan pada media sehingga mengakibatkan eksplan mengalami pembengkakan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pembengkakan pada eksplan adalah tahap awal pembentukan kalus yang mengindikasikan adanya aktifitas sel pada eksplan pembengkakan ini menandakan kondisi sel pada eksplan mengalami pembesaran namun tidak sampai ke pembelahan sel yang kemudian diikuti dengan munculnya kalus diujung dan tepi eksplan selain itu respon pembengkakan terjadi karena adanya interaksi antara eksplan terhadap lingkungan tumbuh dan zat pengatur tumbuh melalui penyerapan nutrisi yang dilakukan oleh eksplan (Ajjiah dkk, 2010, Sitinjak dkk, 2015).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Wahyuningtyas, 2014) pada induksi kalus akasia (*Acacia mangium*) dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP pada media MS yang menyatakan bahwa Perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang sama (1 mg/L) mampu menginduksi kalus paling cepat. Hal ini diduga karena kebutuhan eksplan akan zat pengatur tumbuh untuk menginduksi kalus sangat rendah, sehingga pada konsentrasi 1 mg/L, sudah cukup untuk menginduksi kalus. Menurut (Kaniyah, 2012) 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.

Penelitian (Admojo,2014) berhasil mendapatkan konsentrasi optimal dari kombinasi BAP 2 ppm dengan NAA 0,1 ppm dan mampu memberikan respon pertumbuhan kalus terbaik pada eksplan tangkai daun dan anak tangkai daun pada tanaman karet, namun pada penelitian ini konsentrasi BAP 2 ppm + NAA 0,1 ppm memberikan respon pembengkakan yang sedikit dan tidak terjadi induksi kalus pada eksplan daun muda tanaman karet, hal tersebut dikarenakan pertumbuhan mikropropagasi dipengaruhi oleh keadaan jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Sesuai dengan yang diungkapkan oleh (Fatimah, 2011) bahwa selain faktor genetik eksplan, kondisi eksplan yang mempengaruhi keberhasilan teknik mikropropagasi adalah jenis eksplan, ukuran, umur, dan fase fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Meskipun masing-masing sel tanaman memiliki totipotensi namun masing-masing jaringan memiliki kemampuan yang berbeda-beda untuk tumbuh dan beregenerasi dalam kultur jaringan. Penambahan zat pengatur tumbuh yang seimbang untuk meningkatkan kemampuan sel untuk membelah sangat diperlukan. Keberadaan BAP konsentrasi tinggi hanya mampu memberikan respon pembengkakan, karena itu diperlukan penambahan konsen-trasi sitokinin dan auksin yang seimbang yang diharapkan mampu memicu pembelahan sel lebih cepat.

Respon selanjutnya yang terjadi selama pengamatan adalah perubahan warna eksplan yang awalnya sebelum dikultur berwarna merah kecoklatan setelah hari ke-17 menjadi hijau yang diikuti dengan pembengkakan, namun tidak semua eksplan mengalami perubahan warna. Pada perlakuan P3 dengan konsentrasi BAP 2,5 ppm + NAA 0,2 ppm eksplan tidak mengalami perubahan warna (gambar 1). Perubahan warna eksplan diduga karna pengaruh zat pengatur tumbuh dan adaptasi terhadap media. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa adaptasi tersebut merupakan respon fisiologis eksplan untuk bertahan hidup. Perubahan seperti ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kandungan NH_4^+ media MS, dan keberadaan sitokinin dengan jumlah yang tinggi akan memacu perkembangan kloroplas (Salisbury & Ross, 1992, Ajjiah dkk,2010).

Kesimpulan

Pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA belum mampu membentuk kalus dari daun muda tanaman karet (*Hevea Brasilliensis* Muell. Arg) hingga hari ke 21 setelah tanam (HST), namun mampu memberikan respon pembengkakan dan perubahan warna. Perlakuan yang mampu memberikan respon pembengkakan pada eksplan daun muda tanaman karet yang paling banyak adalah perlakuan P1 (BAP 1,5 ppm + NAA 0,05 ppm), sedangkan perlakuan yang tidak memberikan

respon pembengkakan pada eksplan adalah perlakuan P3. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk memberikan konsentrasi hormon sitokinin (BAP) yang lebih rendah dan hormon auksim (NAA) yang lebih tinggi pada media MS yang digunakan untuk menginduksi kalus eksplan daun muda tanaman karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg).

Referensi

- Admojo, L, Ari Indrianto, Hananto Hadi. (2014). Perkembangan penelitian induksi kalus embriogenik Pada jaringan vegetatif tanaman karet klonal(*hevea brasiliensis* muell. Arg). Fakultas Biologi. *Warta Perkaretan*. Universitas Gadjah Mada.
- Ajjah, N., Tasma, I. M., Hadipoentyanti, E. (2010). Induksi Kalus Vanilli (*Vanilla planifolia* ANDREW.) Dari Eksplan Daun dan Buku. *Buletin RISTRI*. 1 (5).
- Harahap, P. S., L. A. M. Siregar, & Y. Husni. (2014). Kajian Awal : Respon Eksplan Nodus dalam Inisiasi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) dalam Medium MS. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3 (1).
- Haris, N. (2013). Batang Bawah Klonal Apakah Mungkin pada Tanaman Karet?. www.ibriec.org. diakses 18 Mei 2017.
- Indah, P, Ermavitalini, D. (2013.) Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) pada beberapa Kombinasi Konsentrasi 6 BAP dan 2,4-D. *Jurnal Sains dan seni pomits*. 2.
- Intias, S. (2012). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D Dan BAP Terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella prudjan*) Secara In- Vitro. *Skripsi*. Fakultas pertanian Univesitas Sebelas Maret Surakarta.
- Irawati. (2005). Pembentukan Kalus Dan Embriogenesis Kultur Pelepah Daun Dan Daun *Caladium* Hibrida. *Berita Biologi*, Volume 7.
- Janudianto, P, A., Napitupulu, H., & Rahayu. S. (2013). Panduan Budidaya Karet Untuk Petani Skala Kecil. *Rubber cultivation guide for small-scale farmers*. Lembar Informasi AgFor 5. Bogor, Indonesia: *World Agroforestry Centre (ICRAF) Southeast Asia Regional Program*.
- Mariska, I., & Ragapadmi, P. (2001). Perbanyak Vegetatif Tanaman Tahunan Melalui Kultur *In Vitro*. *J. Litbang Pertanian*. 20 (1).
- Nayanakantha NMC & P Seneviratne. (2007). Kultur jaringan karet masa lalu, sekarang dan prospek masa depan. *Jurnal Ceylon Sci*. 36.
- Purnamaningsih R. (2003). Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik Dan Beberapa Gen Yang Mengendalikannya. *Buletin Agrobio* 5 (2).
- Salisbury, F. S., Ross, C. W. (1992). *Fisiologi Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- Sitinjak, M, Mayta N, I, Fatonah, S. (2015). Induksi Kalus Dari Eksplan Daun *In Vitro* Keladi Tikus (*Typhonium* Sp.) Dengan Perlakuan 2,4-D Dan Kinetin. *Jurnal Biologi*. 8 (1).
- Sudarmadji. (2003). Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*. 8 (1).

Venkatachalam, P., P. K. Jayasree, Sushmakumari, S, Jayashree, R, Rekha, K, Sobha, S, Priya, P, R. G. Kala, & A.Thulaseedharan. (2007). Perspektif saat ini tentang penerapan bioteknologi untuk membantu perbaikan genetik pohon karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): Sebuah ikhtisar. Tumbuhan fungsional dan Bioteknologi. *Buku Ilmiah Global*.

Wahyuningtyas, l. ruri s, r, nashichuddin, m. a. (2014). Induksi Kalus Akasia (*Acacia Mangium*) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP Pada Media MS. Fakultas Sains Dan Teknologi. *Jurnal*.

Yuliarti, N. (2010). *Kultur jaringan Skala rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily publisher.

Dwi Sucianingtyas Sukamto	Program Studi Pendidikan Biologi, FP MIPA IKIP PGRI Jember, Indonesia E-mail: lilarani82@gmail.com
Lila Maharani	S.P., M.P., Dosen, Program Studi Biologi, FP MIPA, IKIP PGRI Jember, Indonesia E-mail: lilarani82@gmail.com
Inget Puji Lestari	Program Studi Pendidikan Biologi, FP MIPA IKIP PGRI Jember, Indonesia E-mail: lilarani82@gmail.com