

Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid terhadap Induksi Kalus pada Tiga Varietas Tebu secara In-Vitro

Effect of 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid Concentration Level for Callus Induction on Three Variety of Sugarcane

Nadya Wening Pranayadipta^{*)} dan Andy Soegianto

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
 Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur

^{*)}Email : nadyawening22@gmail.com

ABSTRAK

Tebu ialah salah satu tanaman perkebunan yang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bahan dasar gula sebagai bahan pokok utama. Produksi tanaman tebu penting dilakukan dengan cara penyediaan bibit melalui kultur jaringan. Induksi kalus merupakan tahapan penting dalam perbanyakan melalui kultur jaringan guna memperoleh tanaman baru dengan jumlah yang besar. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxyaceticacid (2,4-D) yang tepat dalam keberhasilan menginduksi kalus tebu yang dilaksanakan pada Februari 2019-Mei 2019 di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Sukosari PTPN XI, Lumajang, Jawa Timur. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 2 faktor. Faktor 1 yaitu konsentrasi 2,4-D 0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm. Faktor 2 yaitu varietas tebu NXI 1-3, CYZ 71/95, dan Bululawang (BL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D mampu menginduksi kalus pada varietas NXI 1-3, CYZ 71/95, dan Bululawang secara In-Vitro. Perbedaan konsentrasi 2,4-D 3 ppm dapat mempengaruhi hasil waktu muncul kalus, berat segar kalus, volume kalus, dan persentase keberhasilan pembentukan kalus serta menghasilkan tekstur kalus yang remah dan berwarna hijau keputihan dan hijau kekuningan pada tiga varietas tebu secara In-Vitro.

Kata Kunci: 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid, Kalus, Tebu, Varietas.

ABSTRACT

Sugarcane is one of the plantations that has the potential to be developed into sugar as a main staple. Sugarcane production is important to be done by supplying seedlings through tissue culture. Callus induction is an important step in propagation through tissue culture in order to obtain new plants with large numbers. The aim of this study was to obtain the right concentration of 2,4 Dichlorophenoxyaceticacid (2,4-D) in the success of inducing sugarcane callus which was carried out in February 2019 until May 2019 at the Network Culture Laboratory of the Sukosari Research Center of PTPN XI, Lumajang, East Java. The study used a completely randomized design with 2 factors. Factor 1 is the concentration of 2,4-D 0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm and 7 ppm. Factor 2 are sugar cane varieties NXI 1-3, CYZ 71/95, and Bululawang (BL). The results showed that 2,4-D concentrations were able to induce callus in NXI 1-3, CYZ 71/95, and Bululawang varieties. The difference of 2,4-D 3 ppm concentration can affect the results of callus emergence, fresh callus weight, callus volume, and the percentage of successful callus formation and produce crumb texture and whitish green and yellowish green on three varieties of sugarcane.

Kata Kunci: 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid, Callus, Sugarcane, Varieties.

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perkebunan yang dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pembuatan gula pasir guna memenuhi kebutuhan pokok masyarakat Indonesia dan dapat menambah devisa negara. Pentingnya usaha untuk meningkatkan produksi tebu di Indonesia dilakukan dalam upaya meningkatkan perekonomian negara (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011). Penyediaan bibit tebu dilakukan untuk meningkatkan produksi tanaman tebu dengan salah satunya menggunakan program pemuliaan tanaman melalui kultur jaringan. Terdapat program kultur jaringan yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Sukosari PT. Perkebunan Nusantara XI (PTPN XI) guna memperoleh bibit dalam jumlah yang besar dengan kebutuhan lahan budidaya yang relatif kecil, selain itu juga memperoleh bibit yang sifatnya sama seperti induknya. Keberhasilan dalam melakukan program kultur jaringan salah satunya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (ZPT). Induksi kalus ialah tahapan penting dalam perbanyakan melalui budidaya kultur jaringan karena dari eksplan akan membentuk kalus sehingga mampu beregenerasi dalam pembentukan akar, tunas, dan daun untuk menjadi tanaman baru. Induksi kalus dapat dipacu dengan penambahan ZPT auksin yaitu 2,4-D (Waryastuti *et al*, 2017). ZPT auksin dapat merangsang pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju pada diferensiasi. Konsentrasi 2,4-D yang diberikan dapat mempengaruhi induksi kalus pada setiap varietas tebu dikarenakan respon induksi kalus tebu tergantung pada masing-masing genotipe tebu. Beberapa varietas tebu yang terdapat di Pusat Penelitian Sukosari PTPN XI seperti NXI 1-3, CYZ 71/95, dan Bululawang (BL) memiliki respon genotip yang beda yaitu rendahnya keberhasilan dalam menginduksi kalus dengan penggunaan konsentrasi 2,4-D sebesar 2 ppm (mg l^{-1}). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian pada ke tiga varietas tebu dalam penggunaan konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah ataupun lebih tinggi dari

yang telah digunakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan berbagai konsentrasi 2,4-D dan mendapatkan konsentrasi 2,4-D yang tepat dalam keberhasilan menginduksi kalus tebu pada ketiga varietas secara *in-vitro*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2019 hingga Mei 2019, di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Penelitian Sukosari PT. Perkebunan Nusantara XI Dusun Sukosari, Desa Kalidilem, Kecamatan Randuagung, Kabupaten Lumajang, Jawa Timur. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol kultur, autoklaf, oven, neraca analitik, magnetic stirrer, Laminar Air Flow (LAF), rak kultur, pH meter, labu ukur, tabung ukur, tabung reaksi, gelas ukur plastik, pipet, cawan petri, pinset, scapel, tissue, sendok takar, spatula, bunsen, plastik, label kertas, isolasi bening, kompor gas, panci, dan spidol. Bahan penelitian terdiri dari eksplan pucuk tebu yang berumur 3,5 bulan varietas NXI 1-3, CYZ 71/95, dan BL, media MS (menggunakan larutan stok A hingga G), 2,4-D, aquades, agar-agar, sukrosa, alkohol 96%, dan spiritus. Rancangan perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, yaitu konsentrasi 2,4-D dan varietas tebu. Konsentrasi 2,4-D terdiri dari 5 taraf, yaitu A0 = 0 ppm, A1 = 1 ppm, A2 = 3 ppm, A3 = 5 ppm dan A4 = 7 ppm. Setiap kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Parameter pengamatan yang diamati pada penelitian ini meliputi pengamatan kuantitatif dan kualitatif. Pengamatan kuantitatif meliputi waktu muncul kalus, berat segar kalus, volume kalus dan persentase keberhasilan pembentukan kalus, sedangkan pengamatan kualitatif meliputi tekstur kalus dan warna kalus. Data pengamatan kuantitatif yang diperoleh di analisis dengan menggunakan analisis ragam (uji F) pada taraf 5% untuk mengetahui ada tidaknya interaksi maupun pengaruh nyata dari faktor perlakuan. Uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data

pengamatan kualitatif diperoleh dari data visual dengan menggunakan metode deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Kalus

Awal kalus terbentuk terdapat pada eksplan yang berkontak langsung dengan media. Munculnya kalus ditandai dengan munculnya sel berwarna putih bening yang membengkak pada permukaan eksplan yang akhirnya membentuk bulatan-bulatan kecil yang berjejal. Menurut Waryastuti *et al* (2017), mengatakan bahwa muncul kalus ditandai pada pembengkakan atau muncul jaringan putih bening seperti titik-titik air atau lendir pada bekas irisan dan sayatan permukaan eksplan yang berkembang membentuk bulatan kecil dan bergaregat jelas. Ketiga varietas tebu mempunyai kemampuan untuk memunculkan kalus sekitar 16 hingga 23 hari setelah tanam. Berdasarkan analisis ragam hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada faktor perlakuan konsentrasi 2,4-D dan varietas terhadap rerata waktu munculnya kalus akan tetapi tidak terdapat interaksi yang nyata antara faktor konsentrasi 2,4-D dengan varietas. Perlakuan konsentrasi 2,4-D 7 ppm menghasilkan rata-rata saat muncul kalus dengan waktu tercepat yaitu 17,9 hst yang tidak berbeda dengan konsentrasi 2,4-D 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm. Sedangkan waktu inisiasi kalus yang lebih lama terjadi pada perlakuan konsentrasi 2,4-D 0 ppm dikarenakan tidak memunculkan kalus pada 60 hst. Perlakuan dengan penggunaan ketiga varietas juga menghasilkan waktu muncul kalus yang tidak berbeda yaitu 13,9 hst, 14,3 hst, dan 17,1 hst. Berdasarkan Tabel 1 dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi 2,4-D yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm menghasilkan rerata waktu muncul kalus yang cepat akan tetapi konsentrasi 2,4-D yang dapat menginduksi kalus dengan tepat pada pengamatan waktu munculnya kalus ialah sebesar 3 ppm. Pemilihan konsentrasi 2,4-D 3 ppm dikarenakan dari waktu muncul kalus yang tidak berbeda jauh dengan 7 ppm dan berdasarkan pertimbangan dari segi

efisiensi. Meskipun konsentrasi 1 ppm juga lebih efisien dan memunculkan waktu kalus yang cepat tetapi selisih waktu yang relatif lama terjadi dibandingkan dengan perlakuan 3 ppm. Hal ini dapat diketahui semakin tinggi tingkat konsentrasi 2,4-D yang diberikan maka semakin cepat waktu munculnya kalus sama halnya seperti yang dikemukakan oleh Yelnititis (2012) dalam penelitiannya, bahwa untuk menginduksi kalus yang cepat dibutuhkan konsentrasi 2,4-D dengan konsentrasi yang relatif tinggi. Penelitian Suhesti *et al* (2015), mengenai pengaruh kombinasi 2,4-D dan Picloram pada kedua varietas tebu juga menunjukkan bahwa 2,4-D memberikan pengaruh yang kuat dalam pembentukan kalus tebu pada kedua varietas dibandingkan dengan picloram. Respon lama atau tidaknya kalus terbentuk tergantung dari bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan serta komposisi media induksi yang digunakan (Lizawati, 2012). Pemilihan konsentrasi dan jenis auksin ditentukan antara lain oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikehendaki karena perbedaan kemampuan masing-masing varietas dalam membentuk kalus serta formulasi media yang digunakan dalam menginduksi pembentukan kalus (Purmaningsih, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel kalus varietas NXI 1-3 dan CYZ 71/95 lebih cepat berinduksi daripada varietas BL pada tingkat konsentrasi 2,4-D yang tinggi.

Berat Segar Kalus

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor perlakuan tingkat konsentrasi 2,4-D dan varietas menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap rerata hasil berat segar kalus dan terdapat interaksi nyata pada kedua faktor. Perlakuan konsentrasi 2,4-D 5 ppm varietas CYZ 71/95 menghasilkan rata-rata berat segar kalus tertinggi yaitu 2,5049 g yang tidak berbeda dengan konsentrasi 2,4-D 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm pada ketiga varietas. Sedangkan berat segar kalus yang lebih rendah terjadi pada perlakuan varietas konsentrasi 2,4-D 0 ppm. pada ketiga dikarenakan menghasilkan berat segar sebesar 0 g. dengan

Tabel 1. Rerata Waktu Muncul Kalus (hst).

Perlakuan	Rerata Waktu Muncul Kalus (hst)
Tingkat Konsentrasi 2,4-D :	
0 ppm	0,0 a
1 ppm	20,0 b
3 ppm	19,3 b
5 ppm	18,2 b
7 ppm	17,9 b
BNJ 5%	5,69
Varietas Tebu :	
NXI 1-3	13,9 a
CYZ 71/95	14,3 a
Bulusawang	17,1 a
BNJ 5%	tn

Keterangan : Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5% ; hst = hari setelah tanam ; tn = tidak berpengaruh nyata.

kondisi eksplan yang tidak memunculkan kalus (mati). Bertumbuhnya kalus ialah bertambahnya berat segar kalus sehingga pengukuran berat tersebut dapat mewakili variabel pertumbuhan kalus yang berasal dari eksplan pucuk tanaman. Menurut Rahayu *et al* (2003), menyatakan bahwa berat segar secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Berat segar kalus yang besar ini disebabkan karena kandungan air nya yang tinggi. Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi 2,4-D yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm dapat menghasilkan rerata berat segar kalus terhadap induksi kalus pada ketiga varietas. Akan tetapi, konsentrasi 2,4-D yang dapat menginduksi kalus dengan tepat pada pengamatan berat segar kalus ialah sebesar 5 ppm dan 7 ppm pada varietas CYZ 71/95 dan NXI 1-3 serta 1 ppm pada varietas BL. Alasan memilih konsentrasi tersebut dikarenakan dari hasil rerata berat segar kalus yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 2,4-D lainnya. Meskipun jika dipertimbangkan dari segi efisiensi lebih tepat konsentrasi 2,4-D 1 ppm untuk ketiga varietas akan tetapi berat segar kalus yang dihasilkan pada varietas NXI 1-3 dan CYZ 71/95 lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 2,4-D 5 dan 7 ppm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa respon setiap genotip tebu memiliki perbedaan pada penggunaan konsentrasi 2,4-D yang berbeda pada pengamatan berat segar kalus. Meningkatnya berat

segar kalus menunjukkan berlangsungnya proses pertumbuhan sel dalam embrio somatik yang membesar sebagai respon terhadap perubahan tekanan turgor saat dinding sel meningkatkan plastisitas maka air dapat berdifusi masuk ke dalam sel (Farida dan Muslihatin,2017). 2,4-D bersifat stabil dan tidak mudah rusak oleh cahaya ketika sterilisasi serta mampu merangsang pemecahan dan pembesaran sel (Maulana,2019). Meningkatnya berat segar kalus juga ditandai dengan volume kalus yang meningkat. Hal ini dapat diketahui terdapat korelasi positif antara berat segar kalus dan volume kalus pada ketiga varietas tebu secara *in vitro*.

Volume Kalus

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor perlakuan tingkat konsentrasi 2,4-D dan varietas menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap rerata hasil volume kalus dan terdapat interaksi nyata pada kedua faktor. Perlakuan konsentrasi 2,4-D 5 ppm varietas CYZ 71/95 menghasilkan rata-rata volume kalus tertinggi yaitu 2,3 ml yang tidak berbeda dengan konsentrasi 2,4-D 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm pada ketiga varietas. Sedangkan volume kalus yang lebih rendah terjadi pada perlakuan konsentrasi 2,4-D 0 ppm pada ketiga varietas dikarenakan menghasilkan rerata volume kalus sebesar 0 ml dengan kondisi eksplan yang tidak memunculkan kalus (mati). Berdasarkan Tabel 3 dapat disimpulkan bahwa penam-

Tabel 2. Rerata Berat Segar Kalus pada Umur 60 hari setelah tanam (hst) dengan Perlakuan Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan Varietas.

Perlakuan	Rerata Berat Segar Kalus (g) pada berbagai varietas		
	Varietas NXI 1-3	Varietas CYZ 71/95	Varietas BL
Konsentrasi 2,4-D (ppm)			
0	0,0000 a	0,0000 a	0,0000 a
1	1,1836 b	1,2038 b	1,5384 b
3	1,2057 b	1,4832 b	1,0606 b
5	1,5920 b	2,5049 b	0,9395 b
7	1,8811 b	2,2715 b	1,2442 b
BNJ 5%		0,87	

Keterangan : Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5%

Tabel 3. Rerata Volume Kalus pada Umur 60 hari setelah tanam (hst) dengan Perlakuan Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan Varietas.

Perlakuan	Rerata Volume Kalus (ml) pada berbagai varietas		
	Varietas NXI 1-3	Varietas CYZ 71/95	Varietas BL
Konsentrasi 2,4-D (ppm)			
0	0,0 a	0,0 a	0,0 a
1	1,2 b	1,3 b	1,5 b
3	1,2 b	1,5 b	1,0 b
5	1,7 b	2,3 b	1,0 b
7	1,9 b	2,1 b	1,2 b
BNJ 5%		0,9	

Keterangan : Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5%.

bahan konsentrasi 2,4-D yaitu 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm dapat menghasilkan rerata volume kalus terhadap induksi kalus pada ketiga varietas. Akan tetapi, konsentrasi 2,4-D yang dapat menginduksi kalus dengan tepat pada pengamatan volume kalus ialah sebesar 5 ppm dan 7 ppm pada varietas CYZ 71/95 dan NXI 1-3 serta 1 ppm pada varietas BL. Alasan memilih konsentrasi tersebut dikarenakan dari hasil rerata volume kalus yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 2,4-D lainnya. Meskipun jika dipertimbangkan dari segi efisiensi lebih tepat konsentrasi 2,4-D 1 ppm untuk ketiga varietas akan tetapi volume kalus yang dihasilkan pada varietas NXI 1-3 dan CYZ 71/95 lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 2,4-D 5 dan 7 ppm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa respon setiap genotip tebu memiliki perbedaan pada penggunaan konsentrasi 2,4-D yang berbeda pada pengamatan volume kalus.

Pertumbuhan kalus yang baik ditandai dengan penambahan volume sel-sel kalus. Penggunaan konsentrasi 2,4-D yang tinggi mampu menghasilkan volume kalus yang tinggi diantara masing - masing varietas. Semua jaringan atau eksplan memiliki kemampuan menyimpan air yang tidak sama tergantung pada kecepatan sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan pembesaran kalus (Maulana,2019).

Persentase Keberhasilan Pembentukan Kalus

Keberhasilan pertumbuhan kalus dinyatakan dengan presentase banyaknya eksplan yang membentuk kalus yang baik Dengan adanya auksin dalam media maka terjadi peningkatan pembelahan dan pertumbuhan sel dalam pembentukan kalus (Suesti *et al*, 2015). Keberhasilan pembentukan kalus dapat mengindikasikan bahwa kalus tebu terbentuk dengan baik.

Tabel 4. Rerata Persentase Keberhasilan Pembentukan Kalus (%) pada 60 hst.

Perlakuan	Rerata Persentase Keberhasilan Pembentukan Kalus (%)
Tingkat Konsentrasi 2,4-D :	
0 ppm	0,00 a
1 ppm	81,60 b
3 ppm	92,70 c
5 ppm	96,30 c
7 ppm	85,30 b
BNJ 5%	7,11
Varietas Tebu :	
NXI 1-3	73,40
CYZ 71/95	71,10
Bululawang	68,90
BNJ 5%	tn

Keterangan : Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNJ 5% ; tn = tidak berpengaruh nyata.

Pengamatan keberhasilan pembentukan kalus ini dilihat dari warna kalus yang hijau dikarenakan kalus tersebut dapat bertahan hidup dan masih aktif membelah dan tekstur yang remah. Sedangkan kalus dikatakan mati adalah jika kalus yang berwarna coklat hingga coklat kehitaman maka dinyatakan kalus tersebut tidak dapat terbentuk. Selain itu juga diamati dari bentuk kalus yang besar atau dengan kata lain berat segar kalus yang tinggi dikarenakan sel-sel yang terbentuk sangat banyak dan aktif membelah. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada faktor perlakuan konsentrasi 2,4-D dan varietas akan tetapi tidak terdapat interaksi yang nyata antara konsentrasi 2,4-D dengan varietas. Perlakuan konsentrasi 2,4-D 3 ppm dan 5 ppm menghasilkan rata-rata persentase keberhasilan pembentukan kalus tertinggi yaitu 92,7% dan 96,3%. Sedangkan persentase keberhasilan pembentukan kalus terendah terjadi pada perlakuan konsentrasi 2,4-D 0 ppm dikarenakan tidak memunculkan kalus pada 60 hst yaitu sebesar 0%. Perlakuan dengan penggunaan ketiga varietas juga menghasilkan persentase keberhasilan pembentukan kalus yang tidak berbeda. digunakan dikarenakan kemampuan sel dan jaringan setiap varietas memiliki perbedaan respon tumbuh pada penggunaan ZPT. Dalam penelitian Gandonou *et al* (2005), pada penelitian sebelumnya yang menggunakan tiga kultivar tebu telah melaporkan bahwa kemampuan produksi

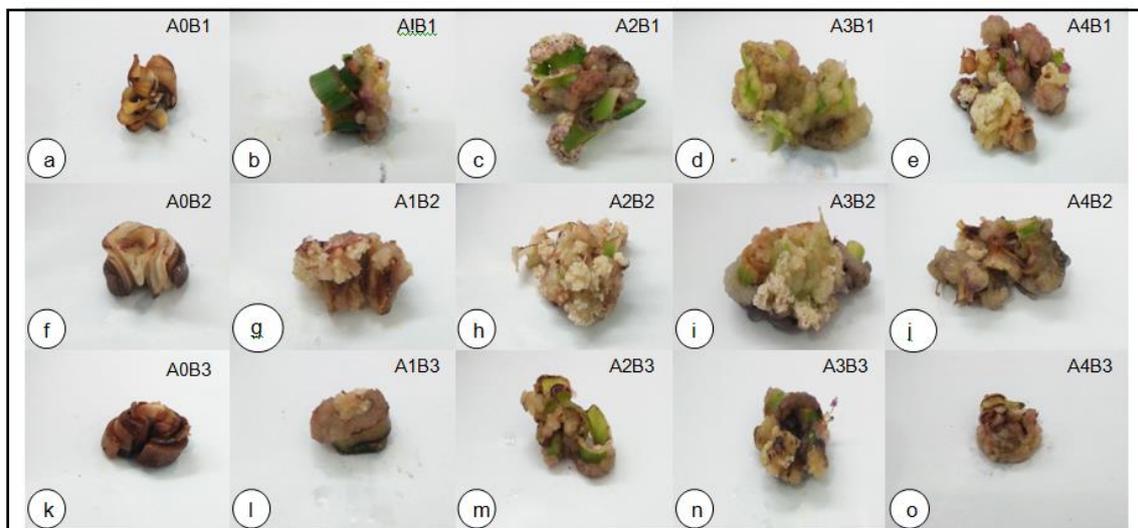
kalus dalam tebu bergantung pada genotipe masing-masing tebu. Kemampuan pembentukan kalus dari jaringan tergantung pada beberapa hal antara lain: (1) umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi; (2) musim pada waktu bahan tanam diisolasi; (3) bagian tanaman yang dipakai dan (4) jenis tanaman (Rashid *et al*, 2009).

Tekstur dan Warna Kalus

Eksplan yang berwarna segar, tidak kontaminasi, dan tidak terjadi browning (pencoklatan) merupakan eksplan yang bertahan hidup dan memiliki sel aktif yang dapat membelah. Hasil deskripsi pada variabel - variabel yang bersifat kualitatif terhadap pemberian konsentrasi 2,4-D menunjukkan hasil kualitas kalus yang baik dikarenakan dari segi warna kalus yang sesuai dan tekstur kalus yang memudahkan untuk melakukan perbanyakan individu sel yang bakal menjadi calon individu baru yang utuh. Konsentrasi 2,4-D yang diberikan menghasilkan tekstur kalus yang remah (*friable*) dan warna yang berbeda-beda. Rata-rata warna yang terbentuk adalah hijau keputihan hingga hijau kekuningan. Purnamaningsih (2006), berpendapat bahwa tekstur kalus yang bersifat remah (*friable*) memiliki kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas dibandingkan dengan kalus yang kompak (*non friable*). Terbentuknya tekstur kalus yang remah dipacu oleh adanya auksin dalam konsentrasi tinggi. Auksin menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan

plastisitas dinding sel menjadi longgar yang menyebabkan air dapat masuk ke dalam dinding sel dan tidak mengalami lignifikasi dinding sel dan antara kumpulan sel yang satu dengan lain mudah untuk dipisahkan (Farida dan Muslihatin, 2017). Warna kalus yang hijau memiliki banyak pigmen klorofil sehingga kalus beregenerasi dengan baik. Tidak hanya mengandung banyak klorofil, menurut Lizawati (2012), kalus yang terbentuk juga memiliki ukuran yang cukup besar sehingga menandakan bahwa kalus beregenerasi dengan baik dan sel-sel masih membelah aktif. 2,4-D mampu membentuk kalus pada tiga varietas tebu. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang

digunakan maka induksi kalus semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman akibat adanya luka irisan sehingga 2,4-D yang ditambahkan akan membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel terutama sel disekitar area pelukaan (Yelnititis, 2012). Media yang mengandung auksin dapat meningkatkan keberhasilan pembentukan kalus embriogenik karena didalam kloroplas asam amino dapat berperan sebagai prekursor untuk pembentukan asam nukleat dan proses selular lainnya (Purnamaningsih, 2006).



Gambar 1 Warna dan tekstur kalus terhadap penggunaan beberapa konsentrasi 2,4-D pada tiga varietas tebu

Keterangan: a) tidak muncul kalus ; b) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; c) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; d) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; e) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; f) tidak muncul kalus ; g) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; h) kalus berwarna hijau keputihan, tekstur remah ; i) kalus berwarna hijau keputihan, tekstur remah ; j) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; k) tidak muncul kalus ; l) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; m) kalus berwarna hijau kekuningan, tekstur remah ; n) kalus berwarna kuning kecoklatan, tekstur remah ; o) kalus berwarna kuning kecoklatan, tekstur kompak. Keterangan : A0 = 0 ppm; A1 = 1 ppm; A2 = 3 ppm; A3 = 5 ppm; A4 = 7 ppm; B1 = varietas NXI 1-3; B2 = varietas CYZ 71/95; B3 = varietas BL.

KESIMPULAN

Penggunaan konsentrasi 2,4-D mampu menginduksi kalus tebu pada varietas NXI 1-3, CYZ 71/95, dan Bululwang secara *in-vitro*. Perbedaan konsentrasi 2,4-D dapat mempengaruhi waktu muncul kalus, berat segar kalus, volume kalus, dan persentase pembentukan kalus. Konsentrasi 2,4-D 3 ppm memberikan hasil tekstur kalus yang remah dan warna kalus yang didominasi hijau keputihan dan hijau kekuningan pada varietas NXI 1-3, CYZ 71/95, dan Bululwang secara *in-vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Pusat Penelitian Sukosari PT. Perkebunan Nusantara XI (PTPN XI) yang telah memberikan izin dan fasilitas demi kelancaran pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Farida, F. I., dan W. Muslihatin. 2017.** Induksi Perakaran Teh (*Camellia sinensis* L.) secara In Vitro pada Klon yang Berbeda. *Journal Sains dan Seni ITS*. 6(2):E74-E78.
- Gandonou, C. H., T. Errabii, J. Abrini, M. Idaomar, F. Chibi, and S. Senhaji. 2005.** Effect of Genotype on Callus Induction and Plant Regeneration from Leaf Explants of Sugarcane (*Saccharum* sp.). *African Journal of Biotechnology*. 4(11):1250-1255.
- Lizawati, N. 2012.** Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Journal Bioplantae*. 1(2):75-87.
- Maulana, M. R., D. P. Restanto, dan Slameto. 2019.** Pengaruh Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyaceticacid (2,4-D) terhadap Induksi Kalus Tanaman Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) moench). *Journal Bioindustri*. 1(2): 138-148.
- Purnamaningsih, R. 2016.** Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur In Vitro. *Journal AgroBiogen*. 2(2):74-80.
- 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. *Journal Biofarmasi*. 1(1):1-6.
- Rashid, H., S. A. Khan, M. Zia, M. F. Chaudhary, Z. Hanif, and Z. Chaudary. 2009.** Callus Induction and Regeneration in Elite Sugarcane Cultivar HSF-240. *Pakistan Journal of Botany*. 41(4):1645-1649.
- Suhesti, S., N. Khumaida, G. Wattimena, M. Syukur, A. Husni, E. Hadipoentyanti, dan R. S. Hartati. 2015.** Induksi Kalus dan Regenerasi Dua Varietas Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) secara In Vitro. *Journal of Industrial Crops Research*. 21(2): 77-88.
- Sukmadjaja, D., dan A. Mulyana. 2011.** Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) secara In Vitro. *Journal AgroBiogen*. 7(2):106-118.
- Waryastuti, D. E., L. Setyobudi, dan T. Wardiyati. 2017.** Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan BAP pada Media MS terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb.*). *Journal Produksi Tanaman*. 5(1):140-149.
- Yelnititis. 2012.** Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). *Journal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6 (1):181-194.