

**INDUKSI KALUS EKSPLAN DAUN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat Jambi)
PADA BEBERAPA KOMBINASI 2,4-D DAN BAP**

*(Callus Induction Explants Leaf Durian (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat Jambi) With 2,4-D
And Bap Combination)*

Lizawati¹⁾, Neliyati¹⁾ dan Retna Desfira²⁾
¹⁾ Lecturer and ²⁾ Student

Fakultas Pertanian, Universitas Jambi
Mendalo Darat, Jambi

email: liza1124_zain@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to obtain the best combination of 2,4-D and BAP in inducing callus from leaf explants durian cv. Selat Jambi. Experiment was arranged in completely randomized design with a growth regulators combination of treatment 2,4-D (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ppm) and BAP (0,0 ; 0.5 ppm). Each treatment consisted of 10 bottles each culture bottle were planted on explant culture. Explants were cultured on induction medium for 2 month. The parameter time of calli initiation were observed every day. Meanwhile the percentage of explant forming callus, callus structure and color of callus was observed at the end of the study. The results showed that, granting some combination of growth regulators 2,4-D and BAP are given to the culture medium was able to stimulate the formation of callus on leaf explants young durian CV. Selat Jambi. Time of the fastest callus initiation (8 days after cultur) was obtained on medium 4 ppm 2,4-D + 0.5 ppm BAP. In contrast, the highest percentage of explants forming callus was obtained on treatment of 5 ppm 2,4-D (30%).

Key words: *Exsplants, Durio zibethinus, callus, BAP, 2,4-D*

PENDAHULUAN

Provinsi Jambi mempunyai prospek yang cerah dalam pengembangan buah durian (*Durio zibethinus* Murr), mengingat iklim yang sesuai dan sumber daya lahan yang masih cukup tersedia. Durian Selat merupakan salah satu varietas lokal yang berasal dari Provinsi Jambi dan telah ditetapkan sebagai varietas unggul lokal berdasarkan keputusan Menteri Pertanian Nomor : 492/kpts/SR. 120/12/2005. Durian varietas Selat memiliki keunggulan yaitu; daging buah tebal, berwarna kuning dengan struktur halus dan sedikit berserat serta rasa manis legit. Umur tanaman durian selat yang ada pada saat ini berkisar antara 40-55 tahun dan merupakan tanaman durian yang telah dibudidayakan oleh masyarakat secara turun-temurun dengan produktivitas dan kualitas yang sangat beragam, sehingga nilai ekonomi harga jual perbuah sangat rendah (Departmen Pertanian, 2006).

Permasalahan utama dalam pengembangan durian varietas Selat adalah ketersediaan bibit yang masih terbatas. Saat ini tanaman durian varietas Selat hanya dapat diperoleh dari satu pohon induk yang terdapat di Desa Selat. Selain itu kondisi tanaman durian varietas Selat saat ini masih diperbanyak dengan teknik konvensional yaitu melalui biji dan penyambungan (*grafting*). Namun banyak hal yang harus dipertimbangkan dalam pelaksanaan perkembangbiakan dengan cara ini. Perbanyakannya melalui biji memiliki beberapa kekurangan diantaranya yaitu berbuahnya lama, kualitas buah dan ketahanannya terhadap hama penyakit baru bisa diketahui dalam jangka lama. Sedangkan melalui cara sambung (*grafting*) tingkat keberhasilannya rendah jika tidak cocok antara *scion* dan *rootstock*, perakarannya tidak dalam sehingga mudah roboh bila ada angin yang besar dan susah mendapatkan air bila tempat tumbuhnya mempunyai air tanah yang dalam (Aryanto, 2009).

Untuk mengatasi masalah tersebut dapat ditempuh melalui aplikasi kultur *in vitro*. Menurut Gunawan (1988) kultur *in vitro* merupakan alternatif penyediaan bibit dalam skala besar, seragam, cepat dan bebas penyakit. Perbanyakannya secara *in vitro* juga dapat diaplikasikan dalam pemuliaan tanaman dan preservasi plasma nutfah. Teknik perbanyakannya *in vitro* adalah suatu metoda penanaman protoplas, sel, jaringan dan organ pada media buatan dalam kondisi aseptik sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

Zat pengatur tumbuh memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Faktor yang perlu mendapat perhatian dalam penggunaan zat pengatur tumbuh antara lain jenis yang akan digunakan, konsentrasi, urutan penggunaan dan periode masa induksi kultur (Gunawan 1995). Menurut George dan Sherrington (1984), bahwa untuk induksi kalus tanaman dikotil diperlukan auksin dengan konsentrasi tinggi dan sitokinin pada konsentrasi rendah sedangkan pada tanaman monokotil pembentukan kalus hanya membutuhkan auksin yang tinggi tanpa sitokinin.

Pengaruh zat pengatur tumbuh dalam pembentukan kalus telah banyak dilaporkan, seperti ; Riyadi dan Tirtoboma (2004) melaporkan bahwa induksi terbaik embrio somatik kopi Arabika varietas Kartika-1 secara langsung dari kultur daun muda diperoleh pada media MS standar yang diberi 4 mg L^{-1} 2,4-D dan dikombinasikan dengan $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ kinetin yang dapat menginduksi seluruh eksplan dalam waktu empat minggu setelah kultur. Abidin (2005) induksi kalus terbaik untuk tanaman gaharu diperoleh pada perlakuan 2,4-D $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ + BAP $1,2 \text{ mg L}^{-1}$. Jonwaldinson (2010) mendapatkan perlakuan yang paling banyak menginduksi pembentukan kalus adalah 3 mg L^{-1} 2,4-D yang diberikan pada eksplan kotiledon bagian tengah tanaman jarak pagar.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi 2,4-D dan BAP yang terbaik dalam menginduksi kalus dari eksplan daun muda durian varietas Selat. Aplikasi teknik *in vitro* pada tanaman durian varietas Selat ini diharapkan dapat membantu perbanyakannya tanaman dalam waktu cepat, sehat dan berkesinambungan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Mendalo Darat pada bulan Oktober sampai Desember 2010. Bahan tanaman

yang digunakan sebagai eksplan adalah daun muda dari tanaman durian varietas Selat umur 3-4 minggu setelah muncul daun. Media yang digunakan berupa media dasar MS (Murashige dan Skoog).

Eksplan daun dibilas dengan menggunakan air mengalir secara bersih kemudian dilakukan perendaman menggunakan bahan fungisida dan bakterisida masing-masing sebanyak 2 g yang dilarutkan dalam air steril sebanyak 250 ml selama \pm 1 jam, selanjutnya sterilisasi dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) menggunakan NaOCl dengan taraf 5% (15 menit) dan 20% (10 menit), kemudian direndam dalam larutan alkohol 70 % selama \pm 5 menit. Selanjutnya eksplan daun steril dipotong dan dibuang bagian ujung dan pangkalnya, bagian tengah daun yang berukuran \pm 1 cm dikulturkan dan ditumbuhkan pada ruang kultur pada suhu $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ dengan lama pencahayaan selama 16 jam pada intensitas cahaya 1500-2000 lux.

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan kombinasi 2,4-D (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ppm) dan BAP (0 ; 0,5 ppm), setiap perlakuan terdiri dari 10 botol kultur tiap botol kultur ditanam 1 *eksplan*. *Eksplan* dikulturkan pada media induksi selama 8 minggu. Pengamatan dilakukan terhadap waktu muncul kalus yang diamati setiap hari sedangkan untuk persentase eksplan berkalus, struktur kalus dan warna kalus diamati pada akhir penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan kalus diawali dengan terjadinya pembengkakan pada permukaan eksplan. Pembengkakan ini disusul dengan terbentuknya kalus pada pinggir daun atau dibagian tulang daun, karena pertulangan daun merupakan daerah penyalur makanan ke seluruh bagian permukaan daun sehingga sel yang terdapat dekat pertulangan daun dapat membelah dan membentuk kalus. Menurut Pierik (1987) dan Suryowinoto (1996), proses terjadinya kalus disebabkan adanya rangsangan luka, rangsangan tersebut menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir keluar sehingga mulai terbentuk kalus. Terbentuknya kalus juga disebabkan sel-sel kontak dengan media terdorong menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka.

Hasil pengamatan dan analisis data (rata-rata) menunjukkan bahwa pemberian beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP ke dalam media kultur sudah mampu memacu terbentuknya kalus pada *eksplan* daun muda. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang berbeda menghasilkan kecepatan eksplan membentuk kalus, persentase eksplan berkalus, warna dan struktur kalus yang dihasilkan berbeda pula. Pengaruh perbedaan kombinasi zat pengatur tumbuh terhadap kecepatan eksplan membentuk, persentase eksplan berkalus, warna dan struktur kalus disajikan pada Tabel 1

Tabel 1. menunjukkan bahwa waktu muncul kalus paling cepat yaitu 8 Hari Setelah Kultur (HSK) diperoleh pada perlakuan 2,4-D 4 ppm + BAP 0,5 ppm. Sedangkan waktu paling lama membentuk kalus yaitu 21 HSK yang diperoleh pada perlakuan 2,4-D 5 ppm. Khumaida dan Handayani (2010) melaporkan bahwa, eksplan kotiledon muda tanaman kedelai mulai berkalus pada umur 1-2 minggu setelah kultur (MSK) dengan persentase eksplan berkalus lebih dari 75%, pada perlakuan 10 mg L^{-1} 2,4-D + 10 mg L^{-1} NAA maupun pada media 40 mg L^{-1} 2,4-D.

Tabel 1. Waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus, warna kalus, dan struktur kalus durian varietas Selat pada beberapa kombinasi 2,4-D dan BAP secara *in vitro* pada umur 8 Minggu setelah kultur

Kombinasi Perlakuan (ppm)		Waktu muncul kalus (HSK)	Persentase eksplan berkalus (%)	Warna kalus	Struktur kalus	Keterangan
2,4-D	BAP					
1		-	-	-	-	Tidak ada gejala tumbuh
2		9	20	Krem	-	-
3	0,0	-	-	-	-	Tidak ada gejala tumbuh
4		14	20	Krem	-	-
5		21	30	Coklat	Remah	-
6		13	20	Krem	-	-
7		12,5	20	Krem	-	-
1		-	-	-	-	Tidak ada gejala tumbuh
2		15	20	Krem	Kompak	-
3		13	20	Krem	Kompak	-
4	0,5	8	10	Coklat	Kompak	-
5		15	10	Krem	Remah	-
6		-	-	-	-	Tidak ada gejala tumbuh
7		14	10	Coklat	Remah	-

Persentase *eksplan* berkalus paling tinggi diperoleh pada perlakuan 2,4-D 5 ppm tanpa pemberian BAP sebanyak 30%. Hal ini diduga tepatnya komposisi zat pengatur tumbuh yang digunakan, karena pembentukan kalus sangat dipengaruhi oleh jenis dan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang diberikan ke dalam media kultur. Konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin yang diberikan ke dalam media kultur tersebut mampu menginduksi sel-sel yang berpotensi untuk melakukan pembelahan secara terus-menerus dalam waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Selanjutnya kalus dapat memperbanyak dirinya (massa selnya) secara terus menerus. Sel-sel penyusun kalus berupa sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kultur jaringan, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin. Penggunaan auksin pada kultur jaringan adalah salah satu usaha untuk menghasilkan kalus pada eksplan. Auksin yang banyak digunakan untuk induksi kalus pada eksplan adalah 2,4-D. Pemberian 2,4-D pada medium dasar kultur dapat menginduksi pembentukan kalus dan menyebabkan pertumbuhan kalus terus berlangsung. Hal yang sama juga dihasilkan dari penelitian Collin dan Edward (1998) bahwa konsentrasi auksin sampai 5 ppm dapat menghasilkan pertumbuhan kalus secara optimal. Selanjutnya penelitian Fitriyanti (2006) pada eksplan daun sambiloto induksi kalus diperoleh pada perlakuan 2,4-D 5 ppm yang menghasilkan berat kalus tertinggi yaitu sebesar 0,69 g. Sedangkan pada perlakuan 2,4-D 1 ppm

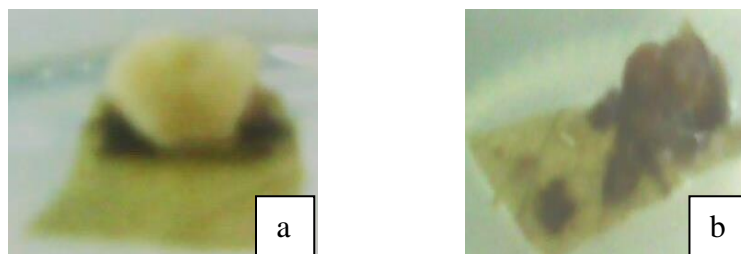
; 2,4-D 3 ppm ; 2,4-D 1 ppm + BAP 0.5 ppm; 2,4-D 6 ppm + BAP 0,5 ppm tidak terbentuk kalus.

Kegagalan eksplan membentuk kalus diduga adanya perbedaan kemampuan jaringan menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media induksi kalus tersebut. Selain itu *eksplan* yang tidak membentuk kalus mengalami perubahan warna dari hijau menjadi coklat kemudian mati, hal ini dapat disebabkan karena timbulnya senyawa fenolik yang keluar dari *eksplan* tersebut. Menurut Wattimena (1988) bahwa, asam-asam fenolik bersama-sama dengan asam absisik (ABA) merupakan inhibitor endogen yang menghambat terbentuknya kalus.

Berdasarkan hasil pengamatan diakhir penelitian, warna kalus yang terbentuk adalah krem dan coklat (Gambar 1). Riyadi dan Tirtoboma (2004), juga melaporkan bahwa kalus dari eksplan daun kopi Arabika varietas Kartika yang dikulturkan pada media 2,4-D 4 ppm warna yang terlihat ada dua macam yaitu putih dan coklat.



Gambar 1. Warna kalus yang terbentuk pada berbagai media perlakuan a. kalus berwarna coklat (2,4-D 5 ppm); b. kalus berwarna krem (2,4-D 3 ppm + BAP 0,5 ppm); dan c. kalus berwarna krem (2,4-D 5 ppm + BAP 0,5 ppm)



Gambar 2. Struktur kalus yang terbentuk, yaitu a. kalus struktur kompak (2,4-D 2 ppm + BAP 0,5 ppm) dan b. kalus struktur remah (2,4-D 2 ppm + BAP 0,5 ppm)

Perubahan warna yang terjadi pada kalus diduga sebagai tanggapan terhadap rangsangan cahaya yang diberikan. Menurut Mentary (2006) bahwa, banyaknya kalus yang berwarna coklat disebabkan oleh oksidasi senyawa fenolik. Hal ini menunjukkan bahwa kalus berwarna coklat mengandung senyawa fenolik dalam jumlah tertentu.

Struktur kalus yang dihasilkan dari eksplan daun muda durian var. Selat adalah kompak dan remah (Gambar 2), dimana struktur kompak permukaan kalus rata atau berupa gerigi halus yang mengkilap, sedangkan kalus remah memiliki struktur bergelombang tumbuh terpisah menjadi fragmen-fragmen kecil. Diduga perlakuan tersebut mengarah pada perkembangan kalus secara embriogenik. Kalus embriogenik dapat disebabkan oleh zat pengatur tumbuh 2,4-D yang terdapat di dalam medium (Chan *et al.* 1998). Wattimena *et al.* (1992) menyatakan 2,4-D

merupakan salah satu auksin yang mempunyai aktivitas tinggi dibandingkan dengan auksin alamiah IAA, selain itu 2,4-D lebih stabil karena tahan terhadap IAA oksidase.

KESIMPULAN

Pemberian beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang diberikan ke dalam media kultur sudah mampu memacu terbentuknya kalus pada *eksplan* daun muda durian varietas Selat. Waktu muncul kalus paling cepat yaitu 8 HSK pada perlakuan 2,4-D 4 ppm + BAP 0,5 ppm. Sedangkan persentase *eksplan* berkalus paling tinggi diperoleh pada perlakuan 2,4-D 5 ppm sebanyak 30%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanto. 2009. *Pengaruh batang bawah dan cara sambung terhadap keberhasilan sambung pucuk Durian (Durio zibethinus Murr)*. Surakarta. Universitas Muhammadiyah.
- Chan J. L, L. Saenz, C. Talavera , R. Hornung, M. Robert, C. Oropeza. 1998. *Regeneration of coconut (Cocos nucifera L.) from plumule explants through somatic embryogenesis*. Plant Cell Rep., 17:515-521.
- Collin, H.A.S, Edward. 1998. *Plant cell culture*. UK: BIOS Scientific Publisher. Pp. 103-1121.
- Departemen Pertanian. 2006. *Keputusan Menteri Pertanian Nomor: 492/Kpts/SR.120/12/2005. Tentang pelepasan durian selat sebagai varietas unggul*.
- Fitriyanti A. 2006. *Efektivitas asam 2,4-D dan kinetin pada medium MS dalam induksi kalus sambiloto dengan eksplan potongan daun*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
- George E.F, P. D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture : Handbook and Directory of Comercial Laboratories*. England: Exegetics Limited.
- Gunawan L.W. 1988. *Teknik kultur jaringan tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. IPB. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Depdikbud
- Gunawan LW. 1995. *Teknik kultur In Vitro dalam hortikultura*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Jonwaldinson. 2010. *Pengaruh 2,4-D Terhadap induksi embrio somatik pada berbagai tipe eksplan tanaman jarak pagar (Jatropha curcas L)*. Skripsi. Universitas Jambi. 50 Halaman.

- Khumaida N., T. Handayani. 2010. *Induksi dan proliferasi kalus embriogenik pada beberapa genotipe kedelai*. J. Agron. Indonesia 38 (1) : 19 - 24
- Mentary, M. 2006. *Induksi kalus dan tunas secara In Vitro tanaman mahkota dewa dengan manipulasi zat pengatur tumbuh dan eksplan*. Thesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 104 p
- Pierik R.L.M. 1987. *In vitro culture of higher plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Riyadi I, Tirtoboma. 2004. *Pengaruh 2,4-D terhadap induksi embrio somatik Kopi Arabika*. Buletin Plasma Nutfah Vol.10 (2): 82-89
- Suryowinoto M. 1996. *Pemuliaan tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wattimena G. A. 1988. *Zat pengatur tumbuh*. Pusat Antara Universitas. Institut Pertanian Bogor.
- Wattimena G. A. L.W. Gunawan, Mattjik, Samsudin, N.A. Wiendi, dan Ernawati. 1992. *Bioteknologi tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi