

**PROLIFERASI KALUS DAN EMBRIOGENESIS SOMATIK JARAK PAGAR
(*JATROPHA CURCAS L.*)
DENGAN BERBAGAI KOMBINASI ZPT DAN ASAM AMINO
(*Callii Proliferation and Somatic Embryogenesis of Physic Nut (Jatropha curcas L.)
Various Combination with PGR's and Amino Acids*)**

Lizawati

Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, Mendalo Darat, Jambi

e-mail : liza1124_zain@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this study was to reveal a combination of plant growth regulators (PGR's) and amino acids best callii proliferation and somatic embryogenesis physic nut. The experiment was arranged in completely randomized design with combination of plant growth regulators (PGR's) and amino acids, i.e. 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm glutamine; 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4 - D + 100 ppm glutamine; 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH (Casein hydrolyzate); 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH (casein hydrolyzate); 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D; 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D; Mannitol 3%; proline 5,75 ppm; proline 2.875 ppm. The parameters observed were callii weight, callii diameter, callii characteristics (colour and structure) and the number of embryogenic callii. *The result showed that some treatment combinations of plant growth regulators and amino acids can increase the callii weight and callii diameter.* The color of cellii was dominated by green and cream with mostly compact structure. Meanwhile, cellii friable structure as in treatment 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D; proline 5.75 ppm and 2.875 ppm.

Key words : casein hydrolyzate, BAP, glutamine, proline, TDZ

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber hayati sebagai bahan baku untuk bahan bakar nabati (BBN) yang berlimpah. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan bakar nabati adalah tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas L.*). Biji jarak pagar sangat prospektif sebagai pengganti bahan bakar minyak (BBM) yang merupakan bahan baku biodiesel. Jarak pagar dipandang menarik sebagai sumber biodiesel karena kandungan minyak bijinya yang tinggi karena biji jarak pagar terdiri dari 58-65 % daging biji yang banyak mengandung minyak, tidak berkompetesi dengan pangan. Kandungan minyak biji jarak pagar adalah 32-35 % dari biji berbobot 0.4-0.6 g, jumlah itu lebih banyak dibandingkan buah kelapa sawit yang hanya 24 % serta dari segi ekonomi minyak jarak jauh lebih murah dibanding CPO. Biodiesel jarak pagar bersifat ramah lingkungan

(*environmental friendly*), berkelanjutan (*sustainable*) dan dapat diperbaharui (*renewable*).

Permasalahan utama yang dihadapi dalam agribisnis tanaman jarak pagar saat ini adalah ketersediaan jumlah benih dan belum adanya varietas atau klon unggul pohon induk yang tersedia sangat terbatas. Pada sisi lain bibit jarak yang digunakan tersebut belum terjamin keunggulannya dan diduga berkualitas rendah terutama produksi biji jaraknya. Hal ini akan berakibat pada produktivitas lahan menjadi rendah yang pada akhirnya dapat mengakibatkan kurangnya pendapatan petani serta rendahnya produksi biodiesel yang berasal dari biji jarak tersebut.

Untuk mengatasi masalah tersebut dapat ditempuh melalui aplikasi kultur *in vitro*. Regenerasi tanaman dengan menggunakan teknik *in vitro* ini dapat dilakukan melalui jalur organogenesis (melalui pembentukan organ langsung dari eksplan) dan embriogenesis somatik (melalui pembentukan embrio somatik). Perbanyak tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan melalui jalur embriogenesis somatik lebih menguntungkan dibandingkan melalui organogenesis karena dapat menghasilkan tanaman baru dengan jumlah yang lebih banyak. Selain itu, karena embrio somatik berasal dari sel tunggal maka akan lebih mudah untuk memonitor proses pertumbuhan setiap individu tanaman (Jimenez, 2001).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses dimana sel-sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet (Williams dan Maheswara, 1986). Perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan melalui embriogenesis somatik dapat berhasil apabila diperoleh presentase kalus embriogenik yang cukup tinggi dari eksplan yang dikulturkan ke dalam media tertentu. Proses embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adalah genotip tanaman, sumber eksplan, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan keadaan fisiologi sel. Menurut Purnamaningsih (2002) bahwa, proses embriogenesis somatik juga dikendalikan oleh beberapa gen, yaitu CHB3, CHB4, CHB5, dan CHB6, di mana ekspresi masing-masing gen menentukan terjadinya tahap perkembangan embrio hingga terbentuk bibit somatik.

Dalam penggunaan zat pengatur tumbuh yang perlu diperhatikan adalah ketepatan memilih jenis dan konsentrasi yang sesuai dengan jenis tanaman dan kondisi fisiologis dari eksplan atau jaringan yang ditumbuhkan. Hal ini dikarenakan setiap jenis dan jaringan tanaman mempunyai respon tersendiri terhadap pemberian zat pengatur tumbuh. Di samping itu, kandungan hormon pada tanaman juga harus diperhatikan. Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Secara umum diketahui bahwa auksin dalam konsentrasi tinggi mendorong embrio somatik secara efektif. Pada umumnya pemberian auksin ke dalam medium padat tanpa sitokinin dapat menginduksi kalus embriogenik, tetapi dengan penambahan sitokinin akan meningkatkan proliferasi kalus embriogenik.

Asam amino berperan penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi kalus. Penambahan kasein hidrolisat kedalam media yang sudah mengandung 2,4-D dapat memacu pembentukan kalus yang embriogenik karena kasein hidrolisat merupakan sumber N di dalam media. Selain kasein hidrolisat pemberian asam amino glutamin atau narginin pada media yang sudah mengandung auksin dapat pula meningkatkan keberhasilan pembentukan kalus embriogenik karena di dalam kloroplas, asam amino dapat berperan sebagai prekursor untuk pembentukan asam nukleat dan proses seluler lainnya (Gunawan, 1988).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lestari dan Yunita (2006) terhadap eksplan embrio zigotik padi menunjukkan bahwa penambahan prolin 100 mg l⁻¹ pada media yang sudah mengandung 2,4-D 3 mg l⁻¹, menghasilkan kalus dengan diameter lebih besar, selain itu warna kalus lebih kuning dan mudah pecah (remah). Penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim *et al.* (2010) pada kultur meristem jahe putih besar yang diambil dari rimpang panen muda dan tua didapatkan induksi embrio globular pada kedua jenis eksplan yang digunakan, dengan jumlah embrio globular eksplan asal rimpang yang dipanen tua lebih banyak dibandingkan panen muda.

Yelnititis dan Komar (2010), melakukan penelitian pada eksplan daun ramin yang masih muda, penggunaan 2,4-D 6.0 mg l⁻¹ dikombinasikan dengan thidiazuron 1.5 mg l⁻¹ dan biotin 1.5 mg l⁻¹ merupakan perlakuan terbaik untuk induksi kalus friabel. Kalus yang dihasilkan mempunyai struktur friabel dan mudah dipisahkan, selain itu kalus yang dihasilkan berwarna putih. Zulkarnain dan Lizawati (2011) melaporkan bahwa, pemberian 2,4 D pada kisaran konsentrasi 1–5 mg l⁻¹ sangat penting bagi terjadinya proliferasi kalus embriogenik dari eksplan hipokotil dan kotiledon tanaman jarak pagar.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino terbaik dalam proliferasi kalus jarak pagar serta mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino terbaik dalam embriogenesis somatik jarak pagar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jambi. Penelitian dilakukan dari bulan Desember 2011 sampai bulan April 2012. Bahan tanaman yang digunakan adalah kalus yang berasal dari daun muda berumur 30 hari. Media yang akan digunakan adalah MS (Murishage dan Skoog 1962), zat pengatur tumbuh (Thidiazurin = TDZ ; 6-Benzyl Amino Purine = BAP ; 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid = 2,4-D), asam amino (glutamin, kasein hidrolisat, prolin). Sebagai sumber energi digunakan sukrosa sebanyak 30 g l⁻¹ dan media dibuat padat dengan penambahan agar sebanyak 8 g l⁻¹. pH media diatur hingga mencapai 5,8 dengan penambahan HCl atau NaOH.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan Sembilan perlakuan media, yaitu : (t₁) 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin; (t₂) 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin; (t₃)= 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH (Casein Hidrolisat); (t₄)= 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH (Casein Hidrolisat); (t₅)= 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D; (t₆)= 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D; (t₇)= Manitol 3%; (t₈)= Prolin 5,75 ppm; (t₉)= Prolin 2,875 ppm.

Dari faktor diatas diperoleh 9 perlakuan dengan 3 ulangan, sehingga terdapat 27 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdapat 4 botol kultur. Peubah yang diamati adalah berat segar kalus, diameter kalus, karakteristik kalus (warna kalus dan struktur kalus) diamati secara visual dan jumlah kalus embriogenik. Kultur ditempatkan pada rak-rak kultur dengan intensitas cahaya sebesar 1000 lux dengan lama penyinaran 16 jam dalam sehari. 22Suhu ruang inkubasi sekitar 22° C. Data hasil pengamatan akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis ragam kemudian dilanjutkan dengan Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat Segar dan Diameter Kalus

Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino berpengaruh nyata dalam memacu pertambahan berat segar dan diameter kalus. Hasil pengamatan pengaruh beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino terhadap penambahan berat segar dan diameter kalus dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata pertambahan berat segar dan diameter kalus pada umur 8 minggu setelah subkultur

Kombinasi Zat pengatur Tumbuh dan Asam Amino	Berat Segar Kalus (g)	Diameter Kalus (mm)
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin	0,34 bc	4,92 cd
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin	0,08 de	2,27 e
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH	0,44 bc	5,9 bc
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH	0,10 de	3,02 de
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D	0,54 b	7,45 abc
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D	0,25 cd	6,8 bc
Manitol 3%	0,01 e	1,12 f
Prolin 5,75 ppm	0,53 b	7,92 ab
Prolin 2,875 ppm	0,90 a	10,28 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf $\alpha = 5\%$

Berdasarkan Tabel 1 di atas dapat diketahui bahwa pemberian beberapa perlakuan baik perlakuan prolin secara tunggal maupun kombinasi zat pengatur tumbuh

dan asam amino memberikan pengaruh terhadap penambahan berat segar dan diameter kalus. Perlakuan prolin dengan konsentrasi 2,875 ppm memberikan penambahan berat segar kalus paling baik dari perlakuan lainnya. Tetapi dengan meningkatkan konsentrasi prolin menjadi 5,75 ppm justru menurunkan penambahan berat segar dan diameter kalus. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan berat kalus pada konsentrasi prolin 2,875 ppm sudah mencukupi untuk memacu penambahan berat kalus, sedangkan bila konsentrasinya ditingkatkan justru akan bersifat menghambat penambahan berat segar kalus.

Kombinasi perlakuan antara sitokinin (TDZ) dan auksin (2,4-D) pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D memberikan penambahan berat segar kalus yang lebih besar dari pada kombinasi perlakuan yang menggunakan BAP sebagai sitokinin pada perlakuan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D tetapi pada pengamatan diameter kalus kedua kombinasi tersebut tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Hasil yang sama diperoleh dari hasil penelitian Ibrahim *et. al.*, (2010) yang mendapatkan hasil perbedaan nyata antara berat kalus sedangkan untuk diameter kalus tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara eksplan rimpang jahe yang dipanen tua dengan eksplan rimpang jahe yang dipanen muda. Berdasarkan hasil penelitian yang didapat ini ternyata BAP empat kali lebih lemah kekuatannya dalam meningkatkan berat segar kalus dibandingkan dengan TDZ.

Hal ini sejalan dengan pendapat Yelnitis dan Komar (2010) yang menyatakan bahwa penggunaan 2,4-D yang dikombinasikan dengan TDZ yang mempunyai daya aktif tinggi menyebabkan kandungan zat pengatur tumbuh di dalam jaringan meningkat. Peningkatan tersebut menyebabkan jaringan menjadi stres sehingga terjadi pembelahan sel secara terus – menerus di dalam jaringan yang akhirnya ukuran kalus bertambah besar. Di samping itu efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen tergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran dan Smith, 1990). Dari kedua perlakuan ini juga dapat dikatakan bahwa BAP yang diberikan dengan konsentrasi dua kali lipat dari TDZ ternyata tidak memberikan pengaruh terhadap penambahan berat segar kalus.

Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya merangsangnya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman. Sementara itu penambahan asam amino (casein hidrolisat dan glutamin) pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH dan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin pada pengamatan berat segar dan diameter kalus tidak memberikan perbedaan yang nyata dengan perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D. Penambahan asam amino yang sama pada perlakuan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH, dan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin yang terdapat pada tabel 2 juga tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D dalam hal menambah berat segar kalus tetapi terlihat berbeda nyata terhadap penambahan diameter kalus.

Berdasarkan hasil penelitian ini, penambahan casein hidrolisat dan glutamin justru memiliki nilai yang lebih rendah dari pada perlakuan yang mengkombinasikan auksin dan sitokinin saja. Hal ini diduga kandungan garam anorganik dalam media yang digunakan (MS) sudah pada taraf yang mencukupi sehingga penambahan N organik dalam bentuk asam amino casein hidrolisat dan glutamin yang diberikan kedalam media tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap penambahan berat segar dan diameter kalus.

Warna Kalus

Pengamatan visual terhadap warna kalus yang terbentuk pada kalus yang disubkultur pada media yang dilengkapi dengan berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino dapat dilihat pada Tabel 2. Pengamatan warna kalus yang diamati secara visual menunjukkan warna kalus yang berbeda-beda sesuai dengan perlakuan yang diberikan.

Tabel 2. Warna kalus secara visual pada umur 8 minggu setelah subkultur

Kombinasi ZPT dan Asam Amino	Warna Kalus
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin	Krem, hijau, dan hijau keputihan
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin	Krem dan coklat dengan dominasi warna krem
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH	Hijau, krem, dan kekuningan dengan dominasi warna hijau
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH	Krem dan kekuningan dengan dominasi warna krem
1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D	Hijau, kekuningan, hijau keputihan dan krem dengan dominasi warna hijau
2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D	Hijau dan krem dengan dominasi warna krem
Manitol 3%	Hijau, coklat, kekuningan dan krem dengan dominasi warna krem
Prolin 5,75 ppm	Hijau, krem, hijau kekuningan, hijau coklat dan coklat dengan dominasi warna hijau
Prolin 2,875 ppm	Hijau, hijau kekuningan, hijau coklat, kuning coklat, dan krem dengan dominasi warna hijau

Warna kalus yang terbentuk dari kesembilan perlakuan pada eksplan kalus berkisar antara krem, hijau, putih, coklat, hijau kekuningan, dan hijau kecokelatan. Warna kalus yang terbentuk didominasi oleh warna hijau pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm glutamin, 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm CH, 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D, prolin 5,75 ppm, dan prolin 2,875 ppm. Sedangkan warna krem

yang mendominasi didapatkan dari perlakuan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm glutamin, 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm glutamin, 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D, dan manitol 3%.

Indikator pertumbuhan eksplan pada budidaya *in vitro* berupa warna kalus menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui apakah suatu kalus masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau telah mati. Kualitas kalus yang baik memiliki warna yang hijau. Warna hijau pada kalus adalah akibat efek sitokinin dalam pembentukan klorofil. Perubahan warna yang terjadi pada kalus diduga sebagai tanggapan terhadap rangsangan cahaya yang diberikan. Kalus berwarna keputihan didapat pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm glutamin dan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D. Kalus berwarna putih juga ditemukan pada kalus dari eksplan daun kopi Arabika varietas Kartika yang dikulturkan pada media 2,4-D 4 ppm (Riyadi dan Tirtoboma, 2004).

Zulkarnain dan Lizawati (2011) juga melaporkan bahwa, warna kalus yang terbentuk pada eksplan hipokotil maupun kotiledon pangkal, tengah dan ujung tanaman jarak pagar didominasi oleh warna putih, kuning muda, krem dan coklat. Warna kalus yang semakin gelap (menjadi coklat) mengindikasikan pertumbuhan kalus yang semakin menurun. Dalam penelitian ini, kalus berwarna hijau kecoklatan terdapat pada perlakuan 2 ppm BAP + 1 ppm 2,4-D + 100 ppm Glutamin, dan prolin 5,75 ppm sedangkan kalus dengan warna coklat terdapat pada perlakuan prolin 5,75 ppm. Warna kecoklatan pada kalus akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan (Yusnita, 2004). Gejala pencoklatan merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan, selain itu juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol.

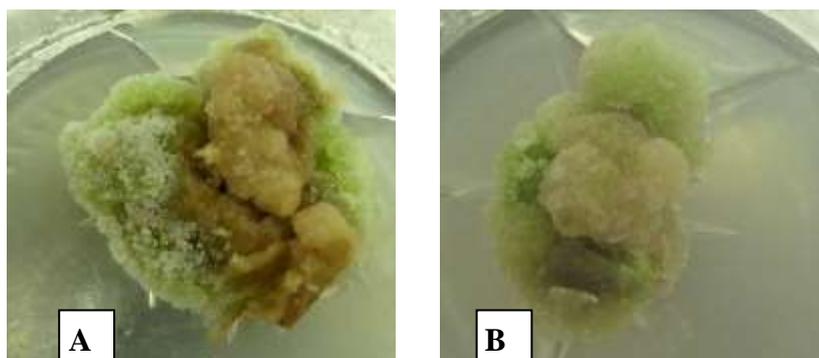
Dalam kaitannya dengan pembentukan kalus embriogenik, Peterson dan Smith (1991) mengatakan bahwa kalus yang embriogenik dicirikan dengan warna kalus yang putih kekuningan dan mengkilat. Dalam penelitian ini, warna yang menjadi penciri kalus embriogenik tersebut belum didapatkan. Perbedaan warna yang terjadi pada kalus menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang berbeda-beda pula, hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan oleh media tumbuh.

Struktur Kalus

Sama halnya dengan warna, hasil pengamatan visual terhadap struktur tidak memperlihatkan adanya perbedaan yang mencolok pada kalus yang diproliferasikan diberbagai kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino. Struktur kalus yang terbentuk dari eksplan daun jarak pagar didominasi oleh struktur kalus yang kompak, sedangkan kalus dengan struktur remah hanya terdapat beberapa pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D, prolin 5,75 ppm, dan prolin 2,875 ppm (Gambar 1).

Struktur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus yang baik diasumsikan memiliki struktur remah (*friable*).

Struktur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Dengan demikian, dengan struktur tersebut upaya untuk perbanyakkan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah. Struktur kalus yang terbentuk dalam penelitian ini didominasi dengan struktur yang kompak, sedangkan struktur remah hanya didapat beberapa pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D, prolin 5,75 ppm, dan 2,875 ppm. Menurut Zulkarnain dan Lizawati (2011) hal ini dimungkinkan karena penggunaan komposisi media dan pemilihan kombinasi atau konsentrasi zat pengatur tumbuh dan asam amino yang kurang tepat.



Gambar 1. Struktur kalus (A) remah dan (B) kompak yang terbentuk pada kalus yang dikulturkan pada prolin 5,75 ppm.

Pierik (1987) menyatakan struktur pada kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur. Selain itu, kompak remahnya kalus dikendalikan oleh kondisi kultur berkaitan saat inisiasi dan pemeliharaan kalus. Terbentuknya kalus yang berstruktur remah menurut Widyawati (2010) dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut.

Jumlah Kalus Embriogenik

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan secara visual, kalus embriogenik belum mampu dihasilkan pada berbagai media perlakuan sehingga keberhasilan embriogenesis somatik dalam penelitian ini belum dapat dicapai. Embrio somatik hanya akan berkembang dari masa kalus yang embriogenik, dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan kalus dengan sifat-sifat embriogenik ada kalanya sangat lama. Di samping itu faktor – faktor seperti hormon tanaman, hara, dan kondisi lingkungan harus dioptimasi terlebih dahulu agar embriogenesis dapat berlangsung (Zulkarnain dan Lizawati, 2011). Hasil penelitian Yelnitis dan Komar (2010) melaporkan bahwa, sampai batas waktu penelitian berakhir kalus embriogenik belum dapat dihasilkan dari kalus asal eksplan daun ramin.

Ibrahim *et al.*, (2010) juga melaporkan bahwa, kegagalan eksplan rimpang jahe dalam membentuk kalus diduga akibat rusaknya meristem sewaktu diisolasi atau dikarenakan perbedaan kemampuan jaringan menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media inisiasi, sehingga kalus yang dihasilkan tidak embriogenik yang ditandai dengan tekstur kalus yang cenderung kompak. Hasil penelitian Lizawati *et al.* (2012) melaporkan bahwa, kalus dari eksplan daun muda durian var. Selat yang berstruktur kompak dicirikan dengan permukaan kalus rata atau berupa gerigi halus yang mengkilap.

KESIMPULAN

1. Pemberian beberapa perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh dan asam amino dapat meningkatkan penambahan berat segar dan diameter kalus.
2. Pemberian perlakuan Prolin secara tunggal dengan konsentrasi rendah (2,875 ppm) mampu memberikan hasil terbaik dalam penambahan berat dan diameter kalus.
3. Kalus yang dihasilkan memiliki warna yang dominan yaitu hijau dan krem dengan struktur yang kompak pada semua perlakuan, namun ada beberapa kalus yang memiliki struktur remah seperti pada perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D; prolin 5,75 ppm dan 2,875 ppm.
4. Kalus embriogenik belum mampu dihasilkan pada berbagai media perlakuan sehingga keberhasilan embriogenesis somatik dalam penelitian ini belum dapat dicapai

DAFTAR PUSTAKA

- George, E. F. Dan Sherrington, 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Ltd, England.
- Gunawan, L.W. 1988. *Teknik kultur jaringan tumbuhan*. PAU Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Jimenez, V.M. 2001. *Regulation of in vitro somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones*. R. Bras. Physiol. Veg. 13(2): 196-223.
- Lestari, E.G., dan R Yunita. 2006. *Induksi kalus dan regenerasi tunas padi varietas fatmawati*. Bal. Agron. (36) (2) 106 – 110 (2008).
- Lizawati, Neliyati dan R Desfira. 2012. *Induksi kalus eksplan daun durian (Durio Zibethinus Murr. Cv. Selat Jambi) pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP*. Jurnal Bioplantae Vol.1(1) : 19-25.

- Ibrahim, M.S.D., O Rostiana, dan N Khumaida. 2010. *Pengaruh umur eksplan terhadap keberhasilan pembentukan kalus embriogenik pada kultur meristem jahe (Zingiber officinale Rose)*. Jurnal LITTRI Vol. 16 (1) : 37-42
- Peterson, G. dan R. Smith. 1991. *Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of american and international rice varieties*. Plant Cell Rep 10: 35-38.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro culture of hinger plant*. Martinus Nijhoft Publisher. Netherlands.
- Purnamaningsih, R. 2002. *Regenerasi tanaman melalui ebriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya*. Buletin Agrobio 5(2): 51-58.
- Riyadi , I . dan Tirtoboma. 2004. *Pengaruh 2,4-D terhadap induksi embrio somatik kopi arabika*. Buletin Olasma Nutfah Vol.10(2): 82-89
- Widyawati, G. 2010. *Pengaruh variasi konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi dan pertumbuhan kalus jarak pagar (Jatropha curcas L.)*. Tesis Program Pasca Sarjana UNS. Surakarta.
- Williams, E.G. dan Maheswara. 1986. *Somatic embryogenesis factors influencing coordinated behaviour of cells as on embryogenic Group*. Ann. Bot. 57: 443-462.
- Yelnititis dan T E Komar. 2010. *Upaya induksi kalus embriogenik dari potongan daun ramin. Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project*. Pusat Penelitian dan /Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Badan Litbang Kehutanan, Kementerian Kehutanan, Indonesia. 14 p
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan: Cara memperbanyak tanaman secara efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. *Proliferasi kalus dari eksplan hipokotil dan kotiledon tanaman jarak pagar (Jatropha curcas L.) pada Pemberian 2,4-D*. Jurnal Natur Indonesia 14 (1) : 19 – 25.