

Scientific Article

PERTUMBUHAN KULTUR KALUS YANG DIINDUKSI DARI EKSPAN HIPOKOTIL LAKUM (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) DENGAN PENAMBAHAN NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) DAN BAP (6-Benzyl Amino Purin)

Callus culture growth induction of lakum (Causonis trifolia (L.) Mabb. & J.Wen) explants with additional NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (6-Benzyl Amino Purines)

Fidella Putri Anjani*, Elvi Rusmiyanto, Zulfa Zakiah

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr Hadari Nawawi, Bansir Laut, Kec. Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat

Informasi Artikel

Diterima/Received : 4 September 2021
Disetujui/Accepted : 25 Agustus 2022
Diterbitkan/Published : 30 Agustus 2022

*Koresponden E-mail :
fidellaputri97@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.55981/bkr.750>

Cara mengutip

Anjani FP, Rusmiyanto E, Zakiah Z. 2022. Pertumbuhan kultur kalus yang diinduksi dari eksplan hipokotil lakum (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) dengan penambahan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (6-Benzyl Amino Purin). Buletin Kebun Raya 25(2): 96–102.
DOI: <https://doi.org/10.55981/bkr.750>

Kontributor

Kontributor Utama/Main author:

Fidella Putri Anjani
Elvi Rusmiyanto
Zulfa Zakiah

Kontributor Anggota/Author member:

-

Keywords: 6-Benzyl Amino Purines, *callus culture*, *Causonis trifolia*, lakum, *Naphthalene Acetic Acid*

Kata Kunci: 6-Benzyl Amino Purin, *Causonis trifolia*, kultur kalus, lakum, *Naphthalene Acetic Acid*

Abstract

Lakum plant (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) contains secondary metabolites with potential medicinal ingredients. It can treat various diseases, such as antidiabetic, antibacterial, antiprotozoal, antitumor, and anti-cancer. Propagation and production of secondary metabolites in plants can be carried out *in vitro* through callus culture and are influenced by the concentration of growth regulators. This study aimed to determine the effect of NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) and BAP (6-Benzyl Amino Purin) on callus growth of hypocotyl lakum (*C. trifolia*) explants and to determine the concentration of addition of NAA and BAP that could produce the best callus growth. Completely randomized design (CRD) factorial with two factors adding NAA (0, 0.45, 0.9, and 1.4 µg/l) and BAP (0, 0.23, and 0.56 µg/l). The results showed that adding a single NAA and a combination of NAA and BAP significantly affected callus emergence. The fastest callus emergence was found in a combination of 0.45 µg/l NAA + 0.23 µg/l BAP, 13 days after planting. Both NAA and BAP alone significantly affect the weight of dry and wet callus. The administration of a single NAA and a single BAP had a significant effect on the wet weight and dry weight of callus, with the highest average wet callus weight at a concentration of BAP 0.56 µg/l, which was 4.431 g, and the highest dry weight callus concentration of BAP 0.56 µg/l was 0.192 g.

Abstrak

Tumbuhan lakum (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai bahan obat-obatan. Kandungan metabolit sekunder tersebut mampu mengobati berbagai jenis penyakit antara lain sebagai antidiabetes, antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan antikanker. Perbanyakan dan produksi metabolit sekunder pada tumbuhan dapat dilakukan secara *in vitro* melalui kultur kalus dan dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan NAA dan BAP terhadap pertumbuhan kalus dari eksplan hipokotil lakum (*C. trifolia*) dan mengetahui konsentrasi penambahan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (6-Benzyl Amino Purin) yang dapat menghasilkan pertumbuhan kalus yang terbaik. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor perlakuan yaitu penambahan NAA (0; 0,45; 0,9; dan 1,4 µg/l) dan BAP (0; 0,23; dan 0,56 µg/l). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NAA tunggal dan kombinasi NAA dan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus. Waktu muncul kalus tercepat pada perlakuan kombinasi 0,45 µg/l NAA+0,23 µg/l BAP yaitu 13 hari setelah tanam. Pemberian NAA tunggal dan BAP tunggal memberikan pengaruh nyata terhadap berat basah dan berat kering kalus, dengan rerata berat basah kalus tertinggi pada konsentrasi BAP 0,56 µg/l yaitu 4,431 g dan berat kering kalus tertinggi konsentrasi BAP 0,56 µg/l yaitu 0,192 g.

PENDAHULUAN

Tumbuhan lakum (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) merupakan salah satu tumbuhan tropis berbentuk perdu yang termasuk ke dalam suku Vitaceae. Tumbuhan ini banyak ditemukan di belahan Australia, Filipina, Cina bagian selatan, Malaya, Pakistan, Indonesia, dan mayoritas terdapat di India. Tumbuhan lakum diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan (alkaloid, flavonoid, tannin, fenol, terpenoid, saponin, dan steroid) dan dapat mengobati berbagai jenis penyakit antara lain antidiabetes, antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan antikanker (Sowmya et al. 2015). Saat ini pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat mengalami peningkatan, seiring dengan bertambahnya kesadaran masyarakat mengonsumsi obat herbal yang diyakini mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetis (Yuliani 2001).

Tingginya minat masyarakat untuk menggunakan bahan obat herbal menyebabkan terjadinya eksploitasi tanaman tersebut di alam, misalnya tanaman lakum (Gambar 1). Untuk mengantisipasi hal tersebut, maka diperlukan alternatif pemecahan masalah yaitu perbanyak tanaman melalui metode *in vivo* maupun *in vitro* dengan teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan tumbuhan telah terbukti mampu menyediakan bibit dalam skala besar untuk bahan obat-obatan. Menurut Swarna et al. (2016), kultur kalus sangat efektif untuk memperoleh metabolit sekunder dan menjadi salah satu alternatif membantu konservasi tumbuhan di alam. Secara *in vitro*, kalus dapat terbentuk pada bekas luka irisan karena sebagian sel pada permukaan irisan tersebut akan mengalami proliferasi (Hendaryono & Wijayani 1994).



Gambar 1. Tanaman lakum (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen)

Induksi dan pertumbuhan kalus dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya adalah jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan ke dalam media. ZPT yang umum digunakan untuk kultur jaringan adalah *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP). Menurut Wattimena (1992), NAA mempunyai peranan terhadap pertumbuhan sel dan pertumbuhan kalus, sedangkan BAP merupakan kelompok sitokinin turunan adenin paling aktif untuk proses pembelahan sel. Hasil penelitian Rel et al. (2001) terhadap induksi kalus pada eksplan hipokotil *Beta vulgaris* L., menunjukkan bahwa kalus dapat terbentuk pada media Murashige dan Skoog (MS) yang ditambah BAP 1 ppm dan 2,4 D 0,1 ppm. Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi kalus dari eksplan hipokotil biji lakum dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan konsentrasi yang berbeda dan mengetahui konsentrasi NAA dan BAP yang ditambahkan dengan pertumbuhan kalus terbaik.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2019 sampai Februari 2020 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Bahan dan alat penelitian

Alat yang digunakan adalah autoklaf, bunsen, *hot plate*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFK), pinset, pisau *scalpel*. Peralatan gelas yang digunakan adalah botol kultur, cawan petri, gelas beaker dan gelas ukur. Bahan yang digunakan adalah agar-agar, akuades, alkohol 70%, biji buah lakum matang (*C. trifolia*), gula pasir, HCl, klorok, larutan stok komponen media Murashige dan Skoog (MS), larutan stok zat pengatur tumbuh, NaOH, *naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *6-Benzyl Amino Purine* (BAP).

Rancangan penelitian

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah pemberian NAA dengan empat taraf konsentrasi, yaitu 0 (A0); 0,45 (A1); 0,9 (A2); dan 1,4 µg/l (A3). Faktor kedua adalah pemberian BAP dengan tiga taraf konsentrasi, yaitu 0 (B0); 0,23 (B1); dan 0,56 µg/l (B2). Kedua faktor dikombinasikan sehingga diperoleh 12 kombinasi perlakuan dengan 5 kali ulangan, sehingga diperoleh 60 unit kombinasi perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi perlakuan NAA dan BAP

Konsentrasi NAA ($\mu\text{g/l}$)	Konsentrasi BAP ($\mu\text{g/l}$)		
	(B0) 0	(B1) 0,23	(B2) 0,56
(A0) 0	A0B0	A0B1	A0B2
(A1) 0,45	A1B0	A1B1	A1B2
(A2) 0,90	A2B0	A2B1	A2B2
(A3) 1,40	A3B0	A3B1	A3B2

Tahapan penelitian

Persiapan media

Alat-alat yang digunakan seperti botol kultur, cawan petri, pinset, dan tangkai *scalpel* disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Pembuatan media Murashige dan Skoog (MS) yaitu 30 g dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dihomogenkan dengan akuades di atas *hot plate* menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan stok komponen media dengan kode A, B, C, D, E, G, H masing-masing di pipet sebanyak 10 ml dan larutan stok F sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam gelas beaker yang telah berisi larutan gula. pH larutan diukur hingga pH 6-7, jika pH kurang dari 7 ditambahkan NaOH dan jika pH di atas 7 ditambahkan HCl. Larutan agar-agar dipanaskan hingga mendidih kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP sesuai dengan konsentrasi yang digunakan. Larutan yang telah mendidih kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur kurang lebih 50 ml per botol dan diberi tutup botol kultur, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Sterilisasi buah lakum

Eksplan yang digunakan adalah biji lakum (*C. trifolia*) yang berasal dari buah matang secara fisiologis yang ditandai dengan perubahan warna buah menjadi keunguan. Buah lakum dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci menggunakan detergen, kemudian dibilas di bawah air mengalir selama 30 menit. Kemudian buah dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dan direndam di dalam klorok 5% selama 5 menit, klorok 10% selama 10 menit, dan klorok 15% selama 15 menit. Selanjutnya dibilas 3 kali dengan akuades steril. Tahapan selanjutnya adalah buah lakum dicelupkan ke dalam alkohol 70%, kemudian dilewatkan di atas bunsen. Biji lakum diambil dengan cara memisahkannya dari daging buah. Biji lakum yang digunakan dipilih dalam kondisi segar dan ditanam di media tanpa zat pengatur tumbuh untuk dikecambahkan.

Perkecambahan biji lakum

Penanaman biji lakum dilakukan dalam LAFC. Lima biji buah lakum per botol ditanam dalam media kosong tanpa zat pengatur tumbuh. Biji diinkubasi di dalam ruang steril dengan intensitas cahaya sekitar 1000 lux dan suhu ruangan 26–27°C hingga tumbuh menjadi kecambah. Kecambah dengan umur satu bulan, diambil hipokotilnya sebagai eksplan. Hipokotil steril lakum dipotong

menggunakan *scalpel* sepanjang 1 cm di dalam LAFC, dan ditanam pada media perlakuan di dalam botol kultur, kemudian botol ditutup rapat. Eksplan yang telah ditanam ditempatkan pada rak kultur dalam ruangan inkubasi dengan suhu 24–27 °C dan intensitas cahaya 1.500–1.600 lux. Botol kultur disemprot setiap hari dengan alkohol 70%. Kultur yang berumur empat minggu di subkultur ke media baru dengan kombinasi perlakuan yang sama. Subkultur dilakukan dua kali dengan interval waktu empat minggu.

Parameter pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian yaitu rerata waktu muncul kalus dilakukan setiap hari setelah satu hari penanaman. Parameter selanjutnya diukur pada umur 8 minggu, yaitu warna kalus, tekstur kalus, rerata berat basah, dan kering kalus. Berat kering kalus diperoleh dengan cara mengeringkan kalus di dalam oven pada suhu 50°C, kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik hingga beratnya konstan selama tiga hari.

Analisis data

Data hasil pengamatan waktu muncul kalus, berat basah kalus, dan berat kering kalus dianalisis menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) dua jalur menggunakan aplikasi SPSS dan jika terdapat perbedaan nyata, pengujian dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5 % (Pramesti 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa NAA tunggal dan kombinasi NAA + BAP berpengaruh nyata pada waktu muncul kalus, sedangkan NAA tunggal dan BAP tunggal berpengaruh nyata terhadap berat basah dan berat kering (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis sidik ragam

No	Parameter	NAA	BAP	NAA + BAP
1	Waktu Muncul Kalus	*	tn	*
2	Berat Basah Kalus	*	*	tn
3	Berat Kering Kalus	*	*	tn

Keterangan: * = berpengaruh nyata, tn = tidak berpengaruh nyata

Waktu muncul kalus

Kalus diinduksi pada media MS dengan penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan konsentrasi yang berbeda. Penambahan zat pengatur tumbuh eksogen dalam media dapat memacu proses metabolisme dalam sel eksplan dan meningkatkan pertumbuhan kalus. Menurut Hendaryono & Wijayani (1994), penambahan nutrisi dan zat pengatur tumbuh dapat memacu pembelahan dan pertumbuhan sel-sel kalus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa awal

pembentukan kalus terlihat pada bagian tepi eksplan yang terluka. Hal ini dikarenakan adanya penyerapan unsur hara yang kontak secara langsung antara media dengan bagian tepi eksplan. Hal ini selaras dengan Yelnitis (2012), yang menyatakan bahwa induksi kalus diawali dengan terjadinya elongasi pada bagian yang mengalami perlukaan, dikarenakan adanya keseimbangan rasio ZPT di dalam eksplan dengan ZPT dalam media tumbuh sehingga memacu pembelahan dan pembesaran sel pada bagian hipokotil yang terluka dan menghasilkan proliferasi sel.

Tabel 3. Waktu muncul kalus (hari) hipokotil biji lakum (*C. trifolia*) pada media MS dengan perlakuan NAA dan BAP

Konsentrasi NAA	Konsentrasi BAP			Rerata
	B0	B1	B3	
A0	0,0 ^a	21,2 ^{abc}	14,2 ^{ab}	11,8 ^a
A1	24,8 ^{bc}	13,0^b	19,8 ^{abc}	19,2 ^b
A2	23,2 ^{bc}	21,0 ^{abc}	17,8 ^{abc}	20,7 ^b
A3	28,2 ^c	18,6 ^{abc}	22,6 ^{abc}	23,1 ^b
Rerata	19,1	18,5	18,6	

Keterangan: Angka pada setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5 % (Uji Duncan)

Waktu induksi kalus tercepat ditunjukkan pada perlakuan 0,45 µg/l NAA + 0,23 µg/l BAP, yaitu 13 hari setelah tanam (Tabel 3). Hal ini diduga karena penambahan NAA + BAP dosis tersebut eksogen ke dalam media yang menyebabkan perubahan rasio auksin dan sitokinin endogen jaringan menjadi berimbang, sehingga mampu menginduksi terbentuknya kalus lebih cepat dibanding perlakuan lainnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lestari (2011), yang mengatakan bahwa dalam proses pembentukan kalus ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan berkembangnya jaringan.

Menurut Salisbury & Ross (1995), mekanisme kerja sitokinin dalam memengaruhi pembelahan sel adalah mendorong pembelahan sel dengan cara meningkatkan peralihan dari fase G2 (fase istirahat) ke mitosis. Hal tersebut terjadi karena sitokinin menaikkan laju sintesis protein yang dibutuhkan untuk mitosis. Sintesis protein dapat ditingkatkan dengan cara memacu pembentukan mRNA. Pembelahan sel yang diaktifkan oleh sitokinin di meristem apikal karena benziladenin dapat memper-

singkat laju berlangsungnya fase S dalam daur sel (dari G2 ke mitosis). Hal ini sejalan dengan penelitian Rusdianto & Indrianto (2012) yang menyatakan bahwa konsentrasi NAA yang lebih tinggi 2 µg/l (2,4-D) dari BAP pada media MS dapat menginduksi pembentukan kalus pada hipokotil kecambah wortel (*Daucus carota* L.).

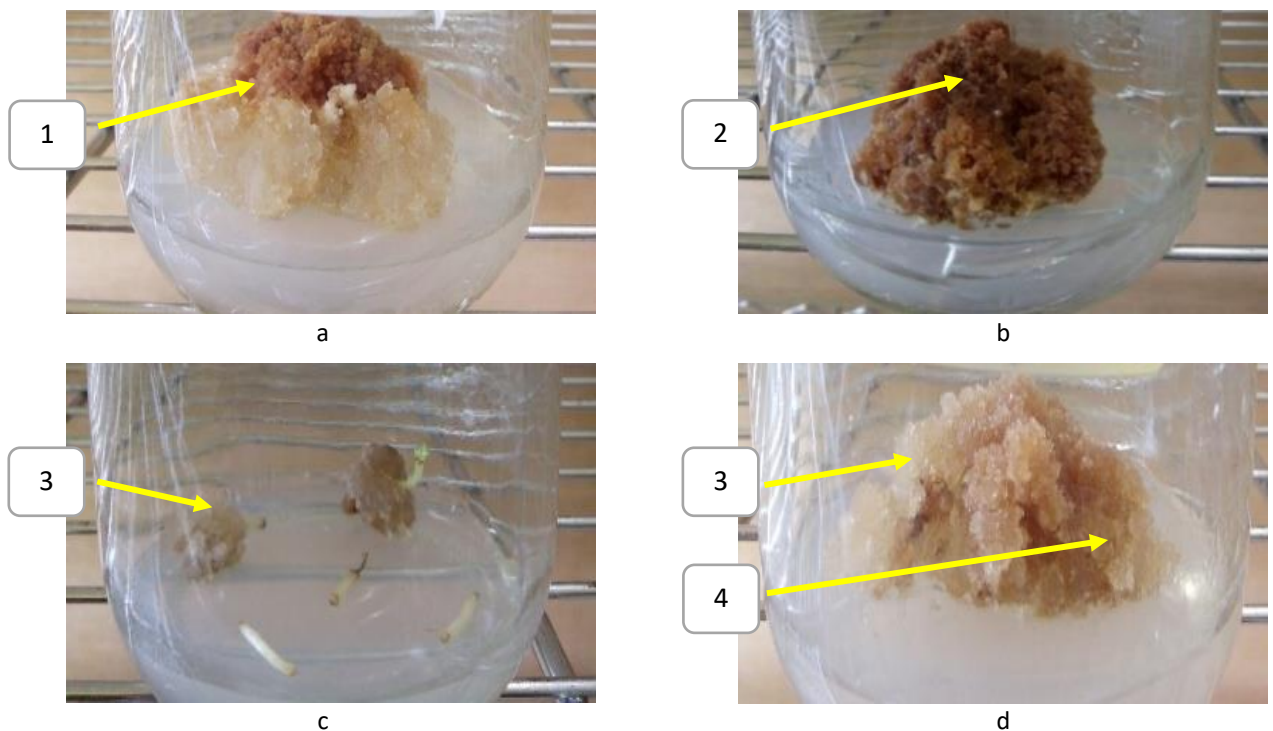
Warna dan tekstur kalus

Berdasarkan hasil pengamatan, warna kalus yang terbentuk bervariasi, yaitu berwarna kuning pucat, kuning kecokelatan, cokelat muda dan cokelat tua. Tekstur kalus yang terbentuk semuanya bertekstur remah (Tabel 4 dan Gambar 2). Perbedaan warna kalus disebabkan karena adanya perbedaan respons terhadap ZPT yang diberikan. Menurut Lestari & Mariska (1997), warna kalus yang berbeda dipengaruhi oleh sitokinin dalam perkembangan plastid, yaitu kloroplas. Warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya. Kalus yang berwarna kecokelatan menunjukkan bahwa kalus mengandung senyawa fenol yang mengalami oksidasi (Pierik 1987). Perbedaan warna kalus juga dapat disebabkan beberapa hal, antara lain pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda (Hendaryono & Wijayani 1994).

Tekstur kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan adalah bertekstur remah (Tabel 4). Terbentuknya kalus yang bertekstur remah diduga adanya ZPT endogen dan eksogen berupa NAA yang dapat merangsang kalus menjadi remah. Menurut Nisak *et al.* (2012), tekstur kalus yang remah disebabkan adanya ZPT NAA yang menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel menjadi longgar, sehingga air dapat masuk ke dalam dinding sel dengan cara osmosis dan sel mengalami pemanjangan. Kalus yang remah mengandung banyak air karena belum mengalami lignifikasi dinding sel, serta antara kumpulan sel yang satu dengan yang lain relatif mudah untuk dipisahkan. Thomy (2012) melaporkan bahwa kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel yang panjang berbentuk tubular, struktur selnya renggang, tidak teratur, dan mudah dipisahkan. Struktur kalus yang remah mempermudah perbanyakan kalus melalui kultur suspensi. Pierik (1987) menyatakan bahwa tekstur kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan kultur.

Tabel 4. Warna dan tekstur kalus hipokotil biji lakum (*C. trifolia*) pada media MS dengan perlakuan NAA dan BAP berumur 8 minggu.

Konsentrasi NAA	Konsentrasi BAP					
	B0		B1		B3	
	Warna	Tekstur	Warna	Tekstur	Warna	Tekstur
A0	-	-	Kuning pucat, coklat tua	Remah	Cokelat muda, coklat tua	Remah
A1	Cokelat muda, kuning pucat, coklat tua	Remah	Cokelat muda, coklat tua, kuning pucat	Remah	Cokelat muda, coklat tua, kuning kecokelatan	Remah
A2	Kuning pucat, coklat muda, coklat tua	Remah	Cokelat muda, kuning kecokelatan, kuning pucat, coklat tua	Remah	Cokelat muda, coklat tua, kuning pucat	Remah
A3	Cokelat tua, kuning pucat	Remah	Kuning kecokelatan, coklat muda, coklat tua	Remah	Cokelat muda, coklat tua, kuning kecokelatan	Remah

**Gambar 2.** Warna kalus pada kultur hipokotil biji lakum (*C. trifolia*) berumur 8 minggu: (a) 1,4 µg/l NAA + 0,56 µg/l BAP, (b) 0,45µg/l NAA + 0,56 µg/l BAP, (c) 0,45 µg/l NAA + 0,23 µg/l BAP, dan (d) 0,9 µg/l NAA + 0,23 µg/l BAP
Keterangan: 1. Cokelat muda, 2. Cokelat tua, 3. Kuning pucat, 4. Kuning muda

Berat basah dan berat kering kalus

Rerata berat basah kalus tertinggi yang dihasilkan pada penelitian ini dipengaruhi oleh perlakuan tunggal BAP konsentrasi 0,56 µg/l yaitu 4,431 g berat basah (Tabel 5). Hal ini diduga pemberian konsentrasi BAP tunggal pada media menyebabkan keseimbangan konsentrasi antara sitokinin endogen yang terkandung di dalam eksplan dan sitokinin eksogen yang diberikan. Hasil ini diperkuat oleh Wattimena (1988) yang menyatakan bahwa BAP yang ditambahkan ke dalam media berperan

dalam pembelahan sel dan sintesis protein yang menyebabkan volume sel bertambah. Andaryani (2010), menyatakan bahwa berat basah kalus merupakan salah satu parameter pertumbuhan kalus. Kalus yang tersusun oleh sel-sel dengan ukuran sel yang besar akan memiliki kadar air yang tinggi. Menurut Puteri *et al.* (2014) penambahan BAP secara tunggal (4 µg/l BAP dengan kombinasi 0 µg/l NAA) pada kultur daun sirsak menghasilkan berat basah tertinggi yaitu 0,386 g.

Tabel 5. Rerata berat basah kalus (g) dan Rerata berat kering kalus (g) hipokotil biji lakum (*C. trifolia*) pada media MS dengan perlakuan NAA dan BAP berumur 8 minggu

Konsentrasi NAA	Konsentrasi BAP						Rerata	
	B0		B1		B2		Berat Basah	Berat Kering
	Berat Basah	Berat Kering	Berat Basah	Berat Kering	Berat Basah	Berat Kering		
A0	0,000	0,000	0,712	0,064	3,018	0,152	1,243 ^a	0,072 ^a
A1	1,456	0,072	1,510	0,098	4,114	0,154	2,360 ^{ab}	0,108 ^a
A2	0,706	0,078	4,954	0,192	4,688	0,218	3,449 ^{ab}	0,162 ^b
A3	0,892	0,062	5,426	0,232	5,874	0,246	4,064 ^b	0,180 ^b
Rerata	0,763 ^a	0,053 ^a	3,150 ^b	0,146 ^b	4,431 ^b	0,192 ^c		

Keterangan: Angka pada setiap baris dan kolom yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% (Uji Duncan)

Berat kering menunjukkan biomassa sel (tanpa kandungan air), tingginya berat kering pada konsentrasi 0,56 µg/l yaitu 0,192 g (Tabel 5) diduga terjadi karena adanya peranan sitokinin dalam kultur *in vitro* yang memicu proses metabolisme di dalam sel. Maftuchah et al. (1998) menyatakan bahwa sitokinin memengaruhi metabolisme protein yang terjadi pada saat proses transkripsi molekul RNA yang dapat meningkatkan berat kering kalus. Menurut Duangporn & Siripong (2009), konsentrasi BAP 2 µg/l + 0 µg/l NAA atau BAP tunggal merupakan konsentrasi terbaik yang menghasilkan berat kering kalus tertinggi pada kultur *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penambahan NAA tunggal dan kombinasi NAA dan BAP menunjukkan pengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus, sedangkan perlakuan NAA dan BAP tunggal berpengaruh nyata terhadap berat basah dan berat kering kalus. Waktu muncul kalus tercepat pada perlakuan kombinasi 0,45 µg/l NAA + 0,23 µg/l BAP yaitu 13 hari setelah tanam. Rerata berat basah kalus tertinggi pada konsentrasi 0,56 µg/l BAP yaitu 4,431 g dan rerata berat kering kalus tertinggi pada konsentrasi 0,56 µg/l BAP yaitu 0,192 g.

Penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan tanaman lakum secara *in vitro* perlu dilakukan dengan menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh yang efektif selama pemeliharaan kalus eksplan lakum agar dapat diperoleh jumlah kalus yang optimal, sehingga kalus yang diperoleh dapat mencukupi untuk dilakukan analisis kandungan metabolit sekunder.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Zulfa Zakiah S. Si., M. Si. yang telah memberikan masukan dan saran dalam penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andaryani S. 2010. Kajian penggunaan berbagai konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap induksi kalus jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in vitro*. Skripsi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Duangporn P, Siripong P. 2009. Effect of auxin and cytokini on *Phyllanthus* a production by callus cultures of *Phyllanthus acidus* Skeels. American-Eurasian Journal Agriculture and Environment Science 5(2): 258–263.
- Hendaryono DPS, Wijayani A. 1994. Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif Modern. Kanisius, Yogyakarta.
- Lestari EG, Mariska. 1997. Kultur *in vitro* sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. Buletin Plasma Nuftah 2(1): 298–305.
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Jurnal Agrobiogen 7(1): 63–68.
- Maftuchah, Ardiana HK, Joko BS. 1998. Induksi kalus *Artemisia* (*Artemisia vulgaris* L.) melalui kultur *in vitro*. Tropika 6(2): 135–141.
- Nisak K, Nurhidayati T, Purwani KI. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. Jurnal Sains dan Seni Pomits 1(1): 1–6.
- Pramesti G. 2011. SPSS 18,0 dalam rancangan percobaan. PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Pierik RLM. 1987. In Vitro Culture of Higher Plant. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht.
- Puteri RF, Ratnasari E, Isnawati. 2014. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) terhadap induksi kalus daun sirsak (*Annona muricata*) secara *in vitro*. Jurnal Lentera Biologi 3(3): 154–159.
- Rel SIG, EG Rel, Z Kaya. 2001. Callus development and indirect shoot regeneration from seedling *in vitro*

- explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured. *Turkey Journal Botanical* 25: 25–33.
- Rusdianto, Indrianto A. 2012. Induksi kalus embriogenik pada wortel (*Daucus carota* L.) menggunakan 2,4 - Dichlorophenyl Acetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature* 13(2): 136– 140.
- Salisbury BF, Ross WC. 1995. *Fisiologi Tumbuhan* Jilid 3. Penerbit ITB, Bandung.
- Sowmya S, Perumal PC, Anusooriya P, Vidya B, Pratibha P, Malarvizhi D, Gopalakrishnam VK. 2015. Comparative preliminary phytochemical analysis various different parts (stem, leaf and fruit) of *Causonis trifolia* (L.). *Indo-American Journal Pharmaceutical Research* 5(2): 18–23.
- Swarna SJ, Dilruba Y, Mostafizur Md, Firoz A. 2016. Callus induction and indirect organogenesis in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *International Journal of Biosciences* 9(3): 139–149.
- Thomy Z. 2012. Effect of plant growth regulator 2,4-D and BAP on callus growth of plants producing gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Nasional Biologi*, Medan.
- Wattimena GA. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wattimena GA, 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan kalus remah dari eksplan daun ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 6(3): 181–194.
- Yuliani S. 2011. *Prospek Pengembangan Obat Tradisional menjadi Obat Fitofarmaka*. Balitro, Bogor.