

“Membangun Sinergi antar Perguruan Tinggi dan Industri Pertanian dalam Rangka Implementasi Merdeka Belajar Kampus Merdeka”

Optimasi Teknik Sterilisasi dan Induksi Kalus Eksplan Daun *Gloxinia speciosa* secara In-Vitro Menggunakan BAP dan 2,4-D

Kundartiari Safitri¹, Tantri Swandari², dan Titin Setyorini³

¹ Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Stiper Yogyakarta.

² Dosen Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Stiper Yogyakarta.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui teknik sterilisasi yang tepat pada tanaman *Gloxinia sp*, serta mengetahui perbandingan konsentrasi BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*) yang tepat untuk induksi kalus dari eksplan daun *Gloxinia sp*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Instiper Yogyakarta Jl. Nangka II, Maguwoharjo, Yogyakarta pada bulan September 2020 sampai Januari 2021. Media dasar yang digunakan adalah media MS (*Murashige and Skoog*). Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu tahap 1 berupa optimasi metode sterilisasi eksplan daun *Gloxinia sp* menggunakan natrium hipoklorit 10%, 0,2% dan 2%, alkohol 70%, fungisida 0,1g/50ml, PPM 0,2 ml. Tahap kedua berupa induksi kalus pada media MS dengan penambahan hormon BAP dan 2,4 D. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor, faktor yang pertama adalah penambahan hormon BAP dengan 4 aras yaitu (0 ppm, 0,50 ppm, 1,5 ppm, 2,5 ppm) dan faktor kedua penambahan 2,4 D dengan 4 aras yaitu (0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm), tiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Data hasil penelitian dengan parameter persentase keberhasilan teknik sterilisasi eksplan *Gloxinia sp*, persentase pencoklatan (*browning*) pada Eksplan daun *Gloxinia sp* dan persentase eksplan hidup dan tumbuh kalus dianalisis menggunakan aplikasi *excel*, sedangkan parameter tekstur dan warna kalus dianalisis menggunakan aplikasi *color analysis*. Hasil analisis menunjukkan bahwa teknik sterilisasi yang tepat terdapat pada metode yang menggunakan bahan sterilan natrium hipoklorit 2% dan fungisida 0,1g dengan tingkat keberhasilan sebesar 68,8%. Perlakuan penambahan 2,4 D dengan konsentrasi 2 ppm pada media kultur menunjukkan pembentukan kalus paling cepat yaitu 3 minggu setelah tanam.

Kata kunci: Sterilisasi, Induksi kalus, *Gloxinia sp*, BAP (*Benzyl Amino Purin*), 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*).

Pendahuluan

Gloxinia speciosa adalah tanaman berbentuk herba yang banyak digemari oleh masyarakat dan banyak yang menjadikannya sebagai tanaman hias di dalam maupun di luar ruangan. Tanaman ini merupakan tanaman semusim, yang tumbuh di berbagai negara yang memiliki empat musim dan di negara tropis tepatnya tumbuh pada daerah dataran tinggi (Rantau *et al*, 2006). *Gloxinia speciosa* memiliki ciri berdaun besar dan berbulu serta bunganya berbentuk seperti lonceng dengan banyak variasi berbagai warna yang memberikan kesan eksklusif sebagai daya tarik tanaman tersebut, dengan demikian permintaan akan bunga ini harus diimbangi dengan ketersediaannya (Lawalata, 2011).

Tanaman ini biasa diperbanyak melalui biji, stek daun dan anakan, namun teknik tersebut tidaklah cukup banyak menghasilkan tanaman serta membutuhkan waktu yang sangat lama untuk mendapatkan tanaman berbunga. Salah satu alternatif memperbanyak tanaman *Gloxinia speciosa* yaitu dengan teknik kultur jaringan (Saraswati, 2006). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian perbanyakan tanaman *Gloxinia sp* secara in-vitro melalui tahapan induksi kalus dengan menggunakan hormon BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*) sebagai tahapan awal dalam mendapatkan bahan tanam yang memiliki sifat seragam dengan induknya dalam jumlah yang relatif banyak.

Metodologi Penelitian

A. Tempat dan waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Instiper Yogyakarta Jl. Nangka II, Maguwoharjo, Yogyakarta, pada bulan September 2020 sampai Januari 2021. Gangguan terhadap prosedur uji klinis oleh Covid menciptakan tantangan analitis mengingat beberapa data yang direncanakan belum dikumpulkan. Berbagai desain adaptif tersedia dengan kemampuan untuk diterapkan di semua tahap penyelidikan klinis (Verna *et al.*, 2020).

B. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kultur, Bunsen, LAF (*Laminar Air Flow*), *petridish*, pisau bedah (*scalpel*), timbangan analitik, *hand sprayer*, kompor, gelas ukur, *autoclave*, pipet ukur, pH meter, aluminium foil, *plastic wrapping*, kertas samson coklat, pensil, kertas label, rak kultur, kamera handphone, dan alat tulis,

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun tanaman *Gloxinia speciosa*, media *Murashige and Skoog*, agar-agar, gula, akuades, sabun, clorox, spiritus, alkohol 70%, BAP, 2,4 D, dan tween 20.

C. Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode percobaan dengan rancangan faktorial yang disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari dua faktor yaitu faktor yang pertama adalah penambahan hormon BAP dengan 4 aras yaitu (0 ppm, 0,50 ppm, 1,5 ppm, 2,5 ppm) dan faktor kedua penambahan 2,4 D dengan 4 aras yaitu (0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm), sehingga terdapat 16 kombinasi perlakuan, masing-masing diulang sebanyak 5 kali sehingga total unit percobaan sebanyak 80, dan setiap satu unit percobaan terdapat 2 irisan daun *Gloxinia speciosa* dengan ukuran 0,5 mm x 0,5 mm.

D. Pelaksanaan penelitian

Penelitian dilaksanakan melalui beberapa tahapan yakni sterilisasi alat, pembuatan media tanam dan pembuatan stok hormon serta pengencerannya.

1. Sterilisasi alat

Peralatan meliputi botol kultur, *scalpel*, *petridish* dan pinset dicuci dengan menggunakan sabun cuci, dibilas lalu dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas samson coklat (kecuali botol kultur), semua alat tersebut disterilisasi dengan *autoclave* selama 90 menit.

2. Pembuatan stock hormon BAP dan 2,4-D serta pengencerannya

Menyiapkan 2 buah erlemeyer, menimbang hormon BAP dan 2,4-D sebanyak 50 mg, kemudian masukan bahan kedalam masing-masing erlemeyer, masukan beberapa tetes bahan pelarut (akuades steril) kedalam erlemeyer tersebut, aduk sampai larutan benar-benar homogen, tambahkan akuades steril sampai volume 50 ml, kemudian beri label dan simpan pada lemari penyimpanan (kulkas).

3. Pembuatan media

Pada penelitian ini media yang diperlukan yaitu 800 ml setiap perlakuannya. Pembuatan media diawali dengan menimbang M.S sebanyak 1,78 gr, kemudian agar- agar sebanyak 5,6 gr, dan gula sebanyak 24 gr. Bahan-bahan yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume larutan mencapai 100 ml. selanjutnya larutan media tersebut diukur pH-nya berkisar 6,5-7,0, apabila pH terlalu tinggi ditambahkan dengan HCL apabila teralu masam maka ditambahkan NaOH. Kemudian dihomogenkan, lalu dipanaskan diatas kompor hingga mendidih, setelah itu didiamkan kurang

lebih 3 menit lalu masukan larutan hormon BAP dan 2,4-D kedalam media tersebut, lalu dituang kedalam botol kultur sebanyak 20 ml dan ditutup rapat dengan aluminium foil. Botol yang telah berisi media kemudian disterilisasi dengan mesin *autoclave* selama 90 menit dan disimpan diruang penyimpanan bila telah selesai.

4. Sterilisasi eksplan

Tanaman *Gloxinia sp* yang masih segar diambil bagian daunnya kemudian cuci di air mengalir menggunakan sabun, setelah itu eksplan disterilkan menggunakan 4 metode yang terdapat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Bahan sterilisasi yang digunakan pada eksplan *Gloxinia sp*

Metode	Perlakuan			
	Natrium Hipoklorit	Fungisida	Alkohol 70%	PPM
S1	10%			
S2	0,20%		50 ml	
S3	2%	0,1 g		
S4	2%			0,2 ml

Metode sterilisasi S1 eksplan daun *Gloxinia sp* disterilkan menggunakan natrium hipoklorit sebanyak 10% yang dilarutkan kedalam 50 ml akuades steril selama 10 menit, metode sterilisasi S2 eksplan disterilkan menggunakan natrium hipoklorit sebanyak 0,2% yang dilarutkan kedalam 50 ml akuades steril selama 5 menit setelah itu direndam dengan alkohol 70% selama 5 menit, metode sterilisasi S3 eksplan direndam ke larutan fungisida 0,1 g yang dilarutkan ke dalam 50 ml akuades steril selama 3 menit, setelah itu eksplan dimasukkan ke LAF (*Laminar air flow*) direndam menggunakan natrium hipoklorit 2% yang dilarutkan ke dalam 50 ml akuades steril selama 5 menit, metode S4 eksplan direndam natrium hipoklorit 2% yang dilarutkan kedalam 50 ml akuades steril selama 5 menit kemudian direndam PPM 0,2 ml yang dilarutkan dengan akuades steril 50 ml selama 10 menit.

Hasil dan Pembahasan

A. Persentase keberhasilan teknik sterilisasi eksplan

Kontaminasi yang sering terjadi pada kultur jaringan tanaman terdiri atas kontaminan jamur dan bakteri. Tingkat kontaminasi eksplan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti media tanam, lingkungan kerja, alat yang digunakan dan asal eksplan. Pengamatan ini persentase keberhasilan teknik sterilisasi eksplan daun *Gloxinia sp* menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap metode sterilisasi yang digunakan. Data pengamatan disajikan pada tabel 2.

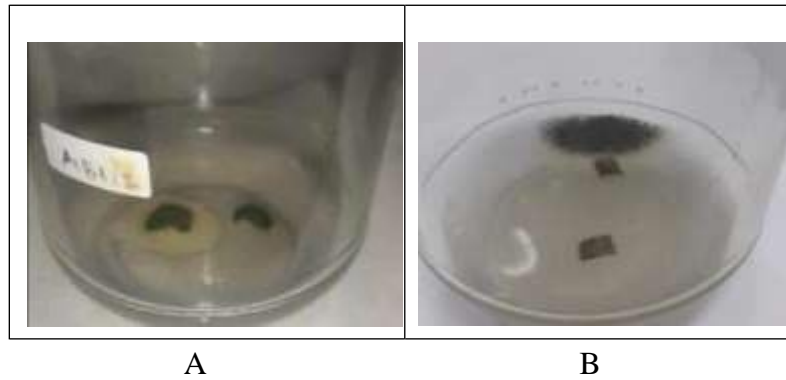
Tabel 2. Persentase keberhasilan sterilisasi pada eksplan daun *Gloxinia S*

Metode	% keberhasilan	Keterangan
S1 (Natrium Hipoklorit 10%)	87%	8 MST eksplan terkontaminasi jamur
S2 (Natrium Hipoklorit 0,2%) dan alkohol 70%	0%	8 MST eksplan terkontaminasi jamur dan bakteri
S3 (Natrium Hipoklorit 2%) dan fungisida 0,1 g	68,8%	8 MST eksplan terkontaminasi jamur
S4 (Natrium Hipoklorit 2%) dan PPM 0,2 ml	44%	8 MST eksplan terkontaminasi jamur dan bakteri

Keterangan: Minggu Setelah Tanam (MST)

Tabel 2 menunjukkan bahwa keberhasilan sterilisasi tertinggi terdapat pada metode sterilisasi dengan natrium hipoklorit 10% (S1) sebanyak 87,5% , namun pada metode (S1) masih terdapat kontaminan jamur yaitu sebesar 12,5 %. Pada metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 2% dan fungisida 0,1g (S3) memiliki tingkat keberhasilan sebesar 68,8 %, dengan tingkat kontaminan oleh jamur sebesar 31,2 %. Metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 2% dan PPM 0,2 ml (S4) memiliki tingkat keberhasilan sebanyak 44 %, dengan tingkat kontaminan jamur dan bakteri sebesar 56 %. Sedangkan metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 0,2% dan alkohol 70% (S2) merupakan metode dengan tingkat keberhasilan terendah yaitu 0 %. Hal ini menunjukkan bahwa bahan sterilan yang digunakan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan sterilisasi eksplan daun *Gloxinia sp.*

Penggunaan natrium hipoklorit sangat efektif membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa natrium hipoklorit mampu membersihkan mikroorganisme yang ikut dalam bahan tanam, menghilangkan partikel-partikel tanah, debu dan lain-lain. senyawa natrium hipoklorit apabila diberikan dalam konsentrasi rendah tidak terlalu efektif dalam mengendalikan kontaminasi pada eksplan, namun apabila diberikan dalam konsentrasi tinggi senyawa natrium hipoklorit dapat menghambat pertumbuhan jaringan pada eksplan (Setiani *et al*, 2018). Penggunaan sterilan dengan alkohol 70% dapat membunuh bakteri pada permukaan eksplan dengan cara denaturasi sel pada bakteri. Sterilan berbahan jenis fungisida juga dapat menghambat atau membunuh cendawan penyebab penyakit yang dibawa oleh eksplan tersebut. Penggunaan jenis sterilan *plant preservative mixture* (PPM) efektif untuk mencegah atau menurunkan kontaminasi mikroba pada kultur jaringan tanaman. Ketidakberhasilan teknik sterilisasi juga dapat disebabkan oleh eksplan itu sendiri, karena tanaman *Gloxinia sp* memiliki banyak trikoma, sehingga menyebabkan sulitnya air sterilan masuk menembus jaringan daun.



Gambar 2. Kontaminasi yang teramati setelah proses penanaman eksplan daun *Gloxinia sp.* (A) Kontaminasi oleh bakteri, (B). Kontaminasi oleh jamur.

B. Persentase pencoklatan (*browning*) eksplan

Pengamatan setelah proses penanaman eksplan daun *Gloxinia sp.* menunjukkan bahwa terjadi proses pencoklatan (*Browning*). Pencoklatan muncul setelah 4 MST, data pengamatan disajikan pada Tabel 3.

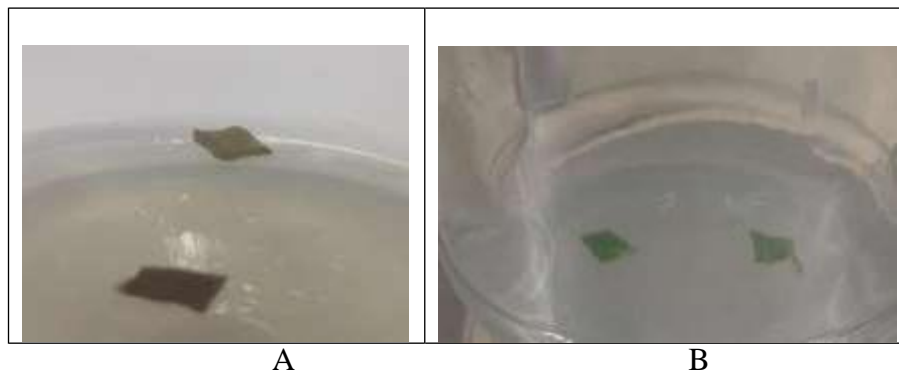
Tabel 3. Persentase pencoklatan (*browning*) eksplan

Metode	Persentase
S1 (Natrium Hipoklorit 10%)	75%
S2 (Natrium Hipoklorit 0,2%) dan alcohol 70%	0%
S3 (Natrium Hipoklorit 2%) dan fungisida 0,1 g	25%
S4 (Natrium Hipoklorit 2%) dan PPM 0,2 ml	0%

Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase pencoklatan tertinggi pada eksplan terdapat pada metode sterilisasi Natrium Hipoklorit 10% (S1) sebanyak 75%, pada metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit dan fungisida 0,1g (S3) pencoklatan terjadi sebanyak 25% sedangkan pada metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 0,2 % dan alkohol 70% (S2) dan natrium hipoklorit 2% dan PPM (S4) tidak terjadi pencoklatan pada eksplan. Terjadinya pencoklatan pada eksplan disebabkan oleh luka karena pemotongan jaringan, luka tersebut memacu stres sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas PAL (*Fenilalanin Amonia Liase*) yang diikuti oleh produksi fenilpropanoid. Pencoklatan pada eksplan juga dapat disebabkan oleh teknik sterilisasi menurut Afzal *et al*, (2005), tindakan sterilisasi eksplan menggunakan natrium hipoklorit dapat mengubah warna eksplan menjadi coklat, hal ini disebabkan karena senyawa pada natrium hipoklorit yang digunakan dalam konsentrasi tinggi akan menyebabkan kerusakan pada jaringan tanaman, hal ini terkait dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Setiani *et al*, 2018) adapun hasil penelitiannya yaitu menggunakan natrium hipoklorit dengan konsentrasi 5,25% lama perendaman 10 menit menunjukkan 90%

eksplan mengalami pencoklatan.

Menurut hasil dari penelitian Tarampak *et al*, (2019) Penanggulangan pencoklatan dapat diatasi dengan cara pembahan asam askorbat 1 mg/l dan arang aktif 4 g/l yang ditempatkan pada ruang gelap menunjukkan keberhasilan sebesar 100%. Hal ini dikarenakan asam askorbat dapat menurunkan aktivitas enzim (*Pholypenol oxidase*) PPO dimana berhubungan dengan reduksi senyawa quinon menjadi difenol (Arpita *et al*, 2010).



Gambar 3. Eksplan yang mengalami pencoklatan (*browning*), (A). Eksplan berwarna coklat (B). Eksplan berwarna hijau

C. Persentase eksplan hidup dan persentase kalus yang tumbuh

Parameter pengamatan yang menentukan keberhasilan pertumbuhan kalus tanaman *Gloxinia* sp yaitu persentase eksplan hidup dan persentase kalus tumbuh, dimana pengamatan ini dilakukan per-minggu kemudian diakumulasikan sampai 8 MST, menggunakan aplikasi excel. Adapun hasil pengamatan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Persentase eksplan hidup dan kalus yang tumbuh pada 8 (MST)

Perlakuan	Eksplan hidup %	Kalus tumbuh %	Keterangan
Kontrol	20	20	Kalus muncul pada 6 MST
BAP:2,4D (0:1)	20	20	Kalus muncul pada 4 MST
BAP:2,4D (0:2)	20	20	Kalus muncul pada 3 MST
BAP:2,4D (0:3)	60	60	Kalus muncul pada 4 MST
BAP:2,4D (0,5:0)	20	20	Kalus muncul pada 7 MST
BAP:2,4D (0,5:1)	0	0	Eksplan mati pada 2 MST
BAP:2,4D (0,5:2)	0	0	Eksplan mati pada 2 MST
BAP:2,4D (0,5:3)	40	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (1,5:0)	20	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (1,5:1)	40	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (1,5:2)	20	20	Kalus muncul pada 7 MST
BAP:2,4D (1,5:3)	40	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (2,5:0)	20	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (2,5:1)	40	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (2,5:2)	40	0	Kalus tidak tumbuh
BAP:2,4D (2,5:3)	40	20	Kalus muncul pada 8 MST

Keterangan: Minggu Setelah Tanam (MST)

Pengamatan Tabel 4 menunjukkan bahwa tidak semua perlakuan dapat menginduksi kalus, perlakuan BAP:2,4D (0 : 2 ppm) mampu menginduksi kalus tercepat yaitu pada 3 MST, penambahan auksin dalam konsentrasi rendah akan memacu pertumbuhan kalus, sementara induksi kalus terlama diperoleh pada perlakuan BAP:2,4D (2,5:3) yaitu pada 8 MST, hal ini dikarenakan kombinasi konsentrasi ZPT yang diberikan tidak tepat dalam menginduksi kalus, sehingga menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan. Pada pengamatan kali ini perlakuan kontrol dapat menginduksi kalus pada 6 MST, hal ini diduga eksplan memiliki kandungan endogen sitokinin dan auksin yang cukup untuk menginduksi kalus.

Beberapa dari perlakuan tidak dapat memunculkan kalus, hal ini dimungkinkan karena kombinasi ZPT pada media belum mampu menginduksi kalus, dan rendahnya kandungan endogen sitokinin dan auksin pada eksplan. Hasil penelitian ini juga menunjukkan kalus muncul hampir disemua media tanam yang mengandung ZPT BAP dan 2,4 D, sedangkan dengan perlakuan kombinasi BAP dan 2,4 D kalus muncul pada konsentrasi tinggi yaitu BAP : 2,4 D (1,5 : 2) dan (2,5: 3), hal ini diduga BAP tidak dapat menginduksi kalus pada eksplan *Gloxinia* sp dalam konsentrasi rendah, namun pada penelitian pada penelitian (Rosyidah *et al*, 2014) menunjukkan hasil penggunaan BAP : 2,4 D (1:1) dapat menginduksi kalus daun melati (*Jasminum sambac*) dengan rerata kecepatan induksi kalus pada 6 MST.

D. Tekstur kalus dan warna kalus

Pengamatan tekstur dan warna kalus dilakukan pada 8 MST, untuk mengetahui tekstur dan warna kalus yang muncul, apakah (kalus berbentuk kompak atau remah), sedangkan warna kalus ditetapkan Berdasarkan Aplikasi *color analysis*. Adapun hasil pengamatan disajikan dalam Tabel 5.

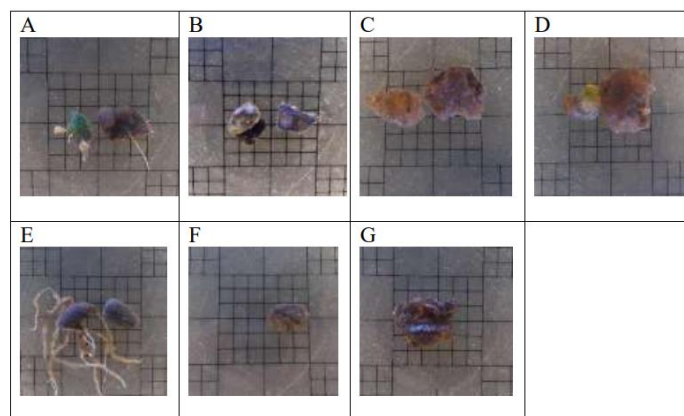
Tabel 5. menunjukkan bahwa hampir semua kalus yang terbentuk bertekstur kompak. Kalus yang bertekstur kompak dipacu oleh adanya hormon endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. Kalus yang bertekstur kompak juga banyak digunakan sebagai subkultur, menurut Manuhara (2001) kalus kompak tersusun atas sel-sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat, banyak mengandung air, memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan banyak memiliki pati gandum (karbohidrat). Untuk mendapatkan kalus yang embriogenik kita dapat melakukan subkultur secara berulang sehingga akan didapat kalus yang memiliki struktur yang lebih remah (Kristina, 2008). Sedangkan menurut Mahadi (2012), kalus bertekstur remah dapat

digunakan sebagai bahan awal kultur suspensi karena sel kalus yang embriogenik dan mudah terurai, keunggulan dari tekstur kalus yang remah yaitu sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai dibandingkan dengan tekstur kalus yang kompak.

Tabel 5. Tekstur kalus dan warna kalus eksplan *Gloxinia Sp*

Perlakuan	Tekstur kalus	Warna kalus
Kontrol	Kompak	<i>Rifle green</i>
BAP:2,4D (0:1)	Kompak	<i>Dark lava</i>
		<i>Dark olive</i>
BAP:2,4D (0:2)	Kompak	<i>Green</i>
BAP:2,4D (0:3)	Kompak	<i>Cinereous</i>
BAP:2,4D (0,5:0)	Kompak	<i>Dark lava</i>
BAP:2,4D (0,5:1)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (0,5:2)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (0,5:3)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (1,5:0)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (1,5:1)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (1,5:2)	Kompak	<i>Dark lava</i>
BAP:2,4D (1,5:3)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (2,5:0)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (2,5:1)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (2,5:2)	Tidak tumbuh	-
BAP:2,4D (2,5:3)	Kompak	<i>Dark lava</i>

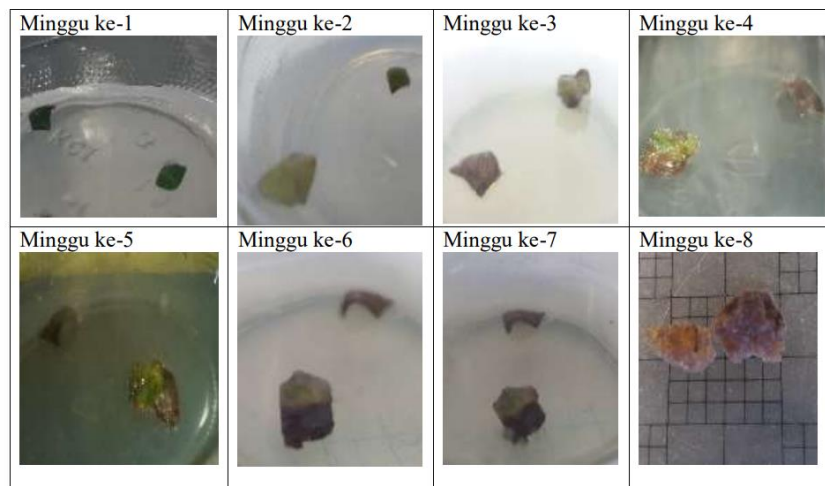
Keterangan: informasi warna kalus berdasarkan aplikasi *color analysis*



Gambar 4. Karakter kalus yang muncul pada 8 MST penanaman in vitro (A) Kontrol (B) BAP:2,4D (0:1), (C) BAP:2,4D (0:2), (D) BAP:2,4D (0:3), (E) BAP:2,4D (0,5:0), (F) BAP:2,4D (1,5:2), (G) BAP:2,4D (2,5:3).

Warna kalus merupakan salah satu indikator pertumbuhan dalam kultur in vitro yang menggambarkan penampilan visual kalus *Gloxinia sp* pada pengamatan tabel 5 hampir semua perlakuan menunjukkan kalus berwarna dark lava, Warna gelap (menjadi coklat) pada kalus menandakan bahwa pertumbuhan kalus semakin menurun, warna coklat pada kalus juga dapat

disebabkan oleh bertambahnya umur sel atau jaringan kalus. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Palupi *et al*, 2004), bahwa kalus yang mengalami pencoklatan merupakan kalus yang mengalami proses penuaan (senescensi) sel, sedangkan kalus yang berwarna hijau merupakan kalus yang baik karena didalam sel-sel nya masih terkandung klorofil (Rosyidah *et al*, 2014).



Gambar 5. Pengamatan pembentukan kalus eksplan daun *Gloxinia sp* pada perlakuan BAP:2,4 D (0:2).

Menurut Rahayu (2003), perubahan warna kalus menjadi coklat disebabkan oleh pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D yang terlalu tinggi menyebabkan penurunan kandungan klorofil dan karotenoid, penurunan klorofil dan karotenoid disebabkan oleh pengaruh auksin terhadap metabolisme karbohidrat, apabila metabolisme karbohidrat terganggu maka proses sintesis klorofil juga akan terganggu. Kalus yang berwarna hijau dapat diperoleh dengan penambahan sitokinin kedalam media, hal ini diduga sitokinin mampu mengaktifkan proses-proses metabolisme sekunder dan sintesis protein yang mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil (Wardani *et al*, 2004).

Kesimpulan dan Saran

Teknik sterilisasi yang tepat terdapat pada metode sterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 2% dan fungisida 0,1g sebesar 68,8%, dengan tingkat pencoklatan pada eksplan daun *Gloxinia sp* sebesar 25%, Perlakuan BAP 0,5 ppm dapat menginduksi kalus eksplan daun *Gloxinia sp* pada 7 MST, Perlakuan 2,4 D 2 ppm dapat menginduksi kalus eksplan daun *Gloxinia sp* pada 3 MST, Kombinasi BAP dan 2,4D (1,5 : 2 ppm) dapat menginduksi

pembentukan kalus kompak pada 7 MST, untuk saran kedepannya apabila ingin melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bahan daun Gloxinia sp sangat dianjurkan menggunakan daun muda (pucuk daun) sebagai bahan tanamnya untuk mengurangi tingkat kontaminasi.

Ucapan Terima Kasih

Saya ucapkan terima kasih, semoga penelitian saya dapat bermanfaat untuk kedepannya

Daftar pustaka

- Alfian Z. (2006). Merkuri: antara manfaat dan efek penggunaannya bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Arpita S., Subroto, D. Pinaki B., & Bidyut B. (2010). Inhibition of polyphenol oxidase in banana, aple and mushroom by using different antibrowning agent under different condition. *Int J. Chem. Sci.*, 8(5), S550-S558.
- Amaliah, S. (2019). Optimasi Konsentrasi 2,4 D dan BAP terhadap induksi kalus tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) melalui kultur in vitro. Skripsi. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Pekanbaru.
- Davies PJ. (2004). Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Djojosumarto, P. (2004). Teknik aplikasi pestisida pertanian. Kanisius, Yogyakarta.
- Afzal, L, S.M.A. Basra, N. Ahmad, & M. Farooq. (2005). Optimization of hormonal priming techniques for alleviation of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cardeno de Pesquisa Ser. Bio., Santa Cruz do Sul.* 17(1), 95-109.
- George, E & Paul S. (2008). Plant propagation by tissue culture. England: Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Inggris: Exegetics Limited.
- Hambali, E., A. Suryani, Dadang, Hariyadi, H. Hanafie, I. K. Reksowardojo, M. Rivai, M. Ihsanur, P. Suryadarma, S. Tjitrosemito, T. H. Soerawidjaja, T. Prawitasari, T. Prakoso, & W. Purnama. (2006). Jarak pagar tanaman penghasil biodiesel. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Handoyowati, G. (2016). Ketahanan kultur kencur (*Kaempferia galangal* L.) secara in vitro pada konsentrasi sterilan dan jenis eksplan yang berbeda. Skripsi. Program Studi Agroteknologi. Fakultas Pertanian.
- Iantcheva A, Vlahova M & Atanassov A. (2006). Somatic embryogenesis in genera *Medicago*: an overview. In: Mujib A & Samaj J (Eds): Somatic Embryogenesis. Germany: Springer-Verlag Berlin Hiedelberg.

- Indah, P.N. & Dini, E. (2013). Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6 *Benzylaminopurine* (BAP) dan 2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1), E1-E6.
- Kristina NN. (2008). Multiplikasi tunas dan aklimatisasi pegagan (*Centella asiatica*) periode kultur lima tahun. *Jurnal Littri*. 14(1), 30:35.
- Lawalata, I. J. (2011). Pemberian beberapa kombinasi ZPT terhadap regenerasi tanaman gloxinia (*Sinningia speciosa*) dari eksplan batang dan daun secara in vitro. *J.Exp. Life Sci*. 1(2), 56-110.
- Lestari. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen*, 7(1), 63-68.
- Mahadi I. (2012). Induksi kalus kenerak (*Goniothalamus umbrosus*) berdasarkan jenis eksplan menggunakan metode in vitro. *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 1(1), 18:22.
- Manuhara, Y.S.W. (2006). Pengembangan metode transformasi genetik tanaman untuk meningkatkan kesejahteraan hidup manusia. *Makalah Seminar Nasional Biodiversitas*. Biologi-FMIPA, UNAIR, Surabaya.
- Mariskan & Sukmadjaja. (2003). Kultur jaringan abaka melalui kultur jaringan. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Palupi, A.D., Solichatun & S.D. Marlina. (2004). Pengaruh asam 2,4 D (*Dichlorophenoxyacetic*) dan BA (*Benzin Adenin*) terhadap kandungan minyak atsiri kalus daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *BioSMART*, 6(2), 99-103.
- Rahayu. B. Solichatun. & Anggarwulan. E. (2003). Pengaruh asam 2,4-*Diklorofenoksiasetat* (2,4-D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan flavonoid kultur kalus *Acalypha indica* L. Biofarmasi. Surakarta
- Rantau, D.E., Artista, E, S & Tri, M, E. (2006). Perbanyak cepat *Gloxinia speciosa* melalui kultur daun. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI.
- Rosyidah, M., Evie, R., & Yuni, S.R. (2014). Induksi kalus daun melati (*Jasminum sambac*) dengan penambahan berbagai konsentrasi *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan 6-*Benzylamino Purin* (BAP) pada media MS secara In Vitro. *Jurnal Biologi*. 3(3), 147-153.
- Saraswati R. D. (2006). Pengaruh sinar ultraviolet dan fotoperioda terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur in vitro mawar mini (*Rosa hybrid* L.). Undergraduate These dari JBPTITBRI. Bandung: Sekolah Ilmu dan Teknologi hayati. ITB. Bandung.
- Setiani, N, A. Fitri, N. & Dewi, A. (2018). Pengaruh desinfektan dan lama perendaman pada sterilisasi eksplan daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. F.A Zorn) Fosberg). *Journal of Tropical Biology*, 6(3), 80-81.
- Syafni. (2006). Induksi keragaman genetik gloxiniaspeciosa melalui radiasi sinar gamma. (Tesis). Sekolah Pascasarjana, IPB, Bogor.
- Tarampak, T.C., Sulistiawati & Nirmala, R. (2019). Metode mengatasi browning pada eksplan ulin (*Eusideroxylon zwageri*) untuk inisiasi regenerasi secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*. 1(2), 1006-107.
- Wardani, D, P. Solichatun & Setyawan, A.D. (2004). Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus *Talinum paniculatum* gaetn pada variasi penambahan asam 2,4 D dan Kinetin. *Biofarmasi*, 2(1), 35-43.

- Yusnita. (2004). Kultur jaringan. Cara memperbanyak tanaman secara efisien. Cetakan Ketiga. Agro Media Pustaka. Jakarta
- Zaitlin, D. & Pierce, A.J. (2010). Nuclear DNA content in *Sinningia* (*Gesneriaceae*); intraspecific genome size variation and genome characterization in *S. speciosa*. *Genome*, 53, 10661082.
- Zulkarnain. (2009). Kultur jaringan tanaman; solusi perbanyak tanaman budidaya. Bumi Aksara, Jakarta.