

Induksi Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada Jenis Eksplan dan Konsentrasi Auksin yang Berbeda

Induction Callus of Roselle (Hibiscus sabdariffa Linn.) on The Explants Type and Different Concentration of Auxin

Suci Khairani Safitri*, Luthfi A.M. Siregar , Khairunnisa Lubis
Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan 20155
*Corresponding author: sucikhairanis82@gmail.com

ABSTRACT

The research aims to know production of biomass callus from induction callus on the explants type of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) and different concentration of auxin in the medium MS supervised by Luthfi A.M. Siregar and Khairunnisa Lubis. The research was conducted in Tissue Culture Laboratory UPT. Seeds Horticulture Medan Johor and Food Science Technology Laboratory FP-USU, Sumatera Utara, Indonesia, from May to June 2016. This study used randomized completely design with two factors : types of explant, consist of 3 levels : leaf, petiole and stem, and consist of six medium composition ; MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; MS + 1 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP ; MS + 2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP ; MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP ; MS + 4 mg/l NAA +1,5 mg/l BAP ; MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP. The results showed that kinds of explant leaves shows the best callus and medium MS + 5 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP gave the best callus biomass. The interaction of explants type and medium with a combination of plant growth regulator gave the percentage of callus. The medium MS + 4 mg / 1 NAA + 1.5 mg / 1 BAP ; MS + 5 mg / 1 NAA + 1.5 mg / 1 BAP is the best medium for callus shape.

Keywords : auxin, callus biomass, explants, medium of murashige and skoog.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi biomassa kalus dari induksi kalus pada jenis eksplan tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dan konsentrasi auksin yang berbeda di dalam media MS dibimbing oleh Luthfi A. M. Siregar dan Khairunnisa Lubis. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT. Benih Induk Hortikultura Gedung Johor Medan dan Laboratorium Analisis Kimia Bahan Pangan FP-USU, Sumatera Utara, Indonesia, pada mulai Mei sampai dengan Juni 2016. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan dua faktor, yaitu: jenis eksplan, terdiri dari 3 tingkatan: daun, tangkai daun dan batang, dan media terdiri dari enam komposisi; MS + 0 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP; MS + 1 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP; MS + 2 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP; MS + 3 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP; MS + 4 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP; MS + 5 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan daun menunjukkan kalus yang terbaik dan media MS + 5 mg / 1 NAA + 1,5 mg / 1 BAP memberi biomassa kalus yang terbaik. Interaksi eksplan dan media dengan kombinasi zat pengatur tumbuh memberi persentase terbentuknya kalus. Media MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP ; MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP adalah media terbaik untuk terbentuknya kalus.

Kata kunci: auksin, biomassa kalus, eksplan, media *murashige and skoog*

PENDAHULUAN

Kultur jaringan merupakan manipulasi tumbuhan dalam kondisi yang terkontrol dengan baik. Auksin serta sitokinin berperan penting dalam memanipulasi pertumbuhan

eksplan melalui kultur jaringan. Kebanyakan eksplan menghasilkan sejumlah (endogenous) auksin dan sitokinin. Dalam kultur jaringan, tambahan (exogenous) zat pengatur tumbuh diberikan untuk memperoleh efek pertumbuhan. Sebagai panduan umum, auksin

atau sitokinin atau keduanya di tambahkan ke dalam kultur untuk memperoleh respons pertumbuhan (Subarnas, 2011).

Kelopak bunga rosella berkhasiat sebagai obat mual. Bagian tanaman yang berkhasiat adalah bunga. Seduhan bunga rosella memiliki efek memperlancar buang air besar. Bunga rosella banyak digunakan untuk mengurangi nafsu makan, gangguan pernafasan yang disebabkan flu, dan rasa tidak enak diperut. Rosella digunakan untuk mengatasi bisul dan radang pada kulit, luka bakar, sariawan dan infeksi herpes zoster (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010).

Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksin. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Pierik, 1987). Untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik seringkali auksin diperlukan dalam konsentrasi yang relatif tinggi (Lestari, 2011).

Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan interaksi antara eksplan dengan media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh sehingga eksplan bertambah besar. Menurut Meagher dan Green (2002) ukuran eksplan bertambah menjadi empat kali lebih besar setelah dikulturkan selama 2 minggu pada tanaman saw palmetto. Pada penelitian ini induksi kalus dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan induksi kalus semakin cepat terjadi. Walaupun demikian tidak semua eksplan yang dikulturkan dapat membentuk kalus. Pada perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi yang lebih rendah, eksplan hanya memperlihatkan penebalan dan tidak berkembang menjadi kalus walaupun dikulturkan dalam jangka waktu yang lama (Yelnitis, 2012).

Mahadi *et al.*, (2014) menyimpulkan bahwa dengan menggunakan eksplan yang berasal dari tangkai daun tanaman rosella, diperoleh persentase tumbuh eksplan 100% dan dapat membentuk kalus dalam waktu 2 HSK (hari setelah kultur) dengan kombinasi A₃B_{1,5} (NAA 3 mg/l + BAP 1,5 mg/l) dengan konsentrasi auksin 3 mg/l eksplan menunjukkan tekstur kalus remah (*friable*) dan berwarna putih.

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian guna mengetahui pengaruh jenis eksplan dan konsentrasi auksin yang berbeda tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT. Benih Induk Hortikultura Gedung Johor Medan dan Laboratorium Analisis Kimia Bahan Pangan FP-USU, pada bulan Mei sampai dengan Juni 2016.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan daun, tangkai daun, dan batang tanaman rosella dengan panjang 1x1 cm. Bahan penyusun media adalah MS, BAP, NAA, agar biotek, akuades steril, ethanol, KCL, Na-asetat dan TFA (*trifluoride acid*).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), autoklaf, Spektrofotometer Genesys 20, timbangan analitik, rak kultur, *hot plate* dengan magnetik stirer, erlenmeyer, gelas ukur, kaca tebal, pipet ukur, gunting, scalpel, pinset, aluminium foil, lampu bunsen, pH meter, oven, kompor gas, dan pipet tetes.

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 2 faktor perlakuan yaitu: Jenis Eksplan yang terdiri dari 3 jenis eksplan yaitu : E₁ = Daun; E₂ = Tangkai Daun; E₃ = Batang. Media dengan campuran zat pengatur tumbuh terdiri dari 6 komposisi media yaitu M₀: MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₁: MS + 1 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₂: MS + 2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₃: MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₄: MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l

BAP; M₅: MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP. Penelitian ini menggunakan 18 ulangan.

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan ialah sterilisasi alat, pembuatan media MS, Eksplan, persiapan ruang tanam, sterilisasi bahan tanaman, penanaman, subkultur, pemeliharaan eksplan.

Peubah amatan yang diamati adalah persentase eksplan membentuk kalus (%), umur munculnya kalus (hari), dan biomassa kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Terbentuk Kalus

Hasil pengamatan persentase terbentuknya kalus diketahui bahwa media tanam berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus namun eksplan berpengaruh tidak nyata terhadap persentase terbentuknya kalus. Eksplan dan interaksi keduanya menunjukkan pengaruh tidak nyata.

Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase terbentuknya kalus yang tertinggi dihasilkan pada media M₄ (MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP), diikuti media M₅ (MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dan media M₃ (MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dengan masing-masing rataan (94,44), (77,13), (73,57)%. Persentase terbentuknya kalus terendah terdapat pada perlakuan media M₀

(MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) sebesar 49,44%. Perlakuan media M₄, M₃ dan M₅ berbeda nyata dengan media M₀, M₁, dan M₂.

Persentase pembentukan kalus tertinggi dihasilkan pada kombinasi media M₄ (MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dan pembentukan kalus terendah media dihasilkan pada media M₀ (MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dengan masing-masing rataan (94,44) dan (49,44) %. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin pada media dapat mempengaruhi terbentuknya kalus pada tanaman rosella. Hal ini diduga dengan zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi lebih tinggi yaitu 4 mg/l daripada BAP dengan konsentrasi rendah 1,5 mg/l pembentukan kalus yang dihasilkan dengan rataan tertinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Mahadi *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa pengaruh NAA dengan konsentrasi tertinggi dan BAP dengan konsentrasi rendah terhadap pembentukan kalus tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat disimpulkan bahwa perlakuan kombinasi yang terbaik dalam penelitian ini adalah pada perlakuan eksplan tangkai daun dan perlakuan media A₃B_{1,5} (NAA 3 mg/l + BAP 1,5 mg/l) yaitu dengan zat pengatur tumbuh NAA 3 mg/l dan BAP 1,5mg/l mendapat kalus yang terbaik diantara media yang lain.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan jenis eksplan dan komposisi media terhadap persentase terbentuknya kalus (%)

Jenis eksplan	Media						Rataan
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	
E ₁ (daun)	40,0	71,4	41,7	60,0	100,0	90,9	67,33
E ₂ (tangkai daun)	25,0	60,0	80,0	85,7	100,0	83,3	72,34
E ₃ (batang)	83,3	60,0	71,4	75,0	83,3	57,1	71,71
Rataan	49,44e	63,81de	64,37d	73,57bc	94,44a	77,13b	70,46

Keterangan: -Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

-Perlakuan M₀ = MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, M₁ = MS + 1 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₂ = MS + 2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₃ = MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₄ = MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₅ = MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP.

-Analisis dilakukan berdasarkan transformasi $\sqrt{x + 0,5}$

Tabel 2. Pengaruh perlakuan jenis eksplan dan komposisi media terhadap umur munculnya kalus (hari)

Jenis eksplan	Media						Rataan
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	
E ₁ (daun)	7,3cd	7,0bc	6,2b	6,0a	6,0a	6,0a	6,41
E ₂ (tangkai daun)	9,0e	7,2c	7,0bc	7,0bc	7,0bc	7,0bc	7,36
E ₃ (batang)	8,2d	7,0bc	7,0bc	7,0bc	7,0bc	7,0bc	7,20
Rataan	8,15	7,06	6,73	6,67	6,67	6,67	6,99

Keterangan: -Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

-Perlakuan M₀ = MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, M₁ = MS + 1 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₂= MS + 2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₃= MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₄= MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₅= MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP.

Umur Muncul Kalus

Umur munculnya kalus pada perlakuan jenis eksplan dan konsentrasi auksin yang berbeda. Rataan umur munculnya kalus dari perlakuan jenis eksplan dan komposisi media dapat dilihat pada tabel 2.

Eksplan daun yang ditanam pada semua komposisi media pada hari ke 2 mulai menunjukkan eksplan daun yang melengkung dan pada hari ke 4 membengkak, hari ke 6 kalus mulai muncul pada sisi-sisi yang mengalami perlukaan pada saat inisiasi.

Pada umur munculnya kalus eksplan yang terbaik yaitu E₁ (daun) dengan umur muncul kalus yang paling tercepat, warna kalus yang baik. Hal ini diduga karna morfologi dari daun memiliki jaringan yang tipis dan sel-sel yang dapat menyerap unsur hara dari media tanam sehingga dapat membentuk kalus dengan cepat dan baik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Novianti *et al.*, (2014) menyimpulkan bahwa eksplan dari daun paling cepat membentuk kalus (4 hari) dibandingkan dengan tangkai daun (7 hari) dan kelopak bunga (6 hari). Daun memiliki morfologi yang tipis, sehingga memudahkan sel-sel penyusunnya untuk menyerap unsur hara dari media. Sel-sel tersebut kemudian akan mendapatkan energi dan nutrisi yang akan digunakan untuk

pembentangan dan pembelahan sel untuk membentuk kalus.

Biomassa kalus

Biomassa kalus eksplan yang berbeda dari tanaman rosella yang terbentuk diamati secara kuantitatif yaitu dengan cara menimbang kalus yang dihasilkan oleh eksplan yang berbeda yang berumur ± 40 hari setelah inisiasi kalus.

Kalus yang terbaik dari hasil penelitian ini adalah kalus yang berasal dari eksplan daun rosela. Hal ini disebabkan pada bobot basah kalus yang besar di antara kalus yang berasal dari eksplan tangkai daun dan batang. Hal ini diduga eksplan daun memiliki jaringan sel yang mendapatkan unsur hara dan energi sehingga mampu membela diri dan memperbanyak diri. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wattimena *et al.*, (1992) bahwa biomassa yang dihasilkan pada kultur jaringan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri yang dilanjutkan dengan pembesaran sel. Kecepatan sel membelah dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi auksin-sitokinin tertentu dalam konsentrasi yang tertentu tergantung pada tanamannya, juga faktor-faktor luar seperti intensitas cahaya dan temperatur.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan jenis eksplan dan komposisi media terhadap bobot basah kalus (gram)

Jenis eksplan	Media						Rataan
	M ₀	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	
E ₁ (daun)	0,0094	0,1216	0,1620	0,3540	0,2544	0,3344	0,2060
E ₂ (tangkai daun)	0,0007	0,0154	0,0458	0,3753	0,3581	0,4297	0,2042
E ₃ (batang)	0,0000	0,0000	0,2135	0,0000	0,0000	0,3148	0,0880
Rataan	0,0034e	0,0457e	0,1315d	0,2431b	0,2042bc	0,3596a	0,1661

Keterangan: -Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

-Perlakuan M₀ = MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₁ = MS + 1 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₂= MS + 2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₃= MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₄= MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; M₅= MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP.

-Analisis dilakukan berdasarkan transformasi $\sqrt{x} + 0,5$

Tabel 3 menunjukkan bobot basah kalus yang tertinggi dihasilkan pada media M₅ (MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP), diikuti media M₃ (MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dan media M₄ (MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dengan masing-masing rata-rata (0,3596), (0,2431), (0,2042) %. Bobot basah kalus terendah pada media M₀ (MS + 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dengan rata-rata 0,0034 %.

SIMPULAN

Eksplan yang berasal dari daun memberikan biomassa kalus yang terbaik. Media M₅ (MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) merupakan media dengan konsentrasi auksin 5 mg/l yang terbaik untuk bobot basah kalus dan umur muncul kalus, media M₄ (MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dengan auksin 4 mg/l memberikan hasil yang terbaik dalam pembentukan kalus dan umur muncul kalus.

Penggunaan jenis eksplan daun (E₁) dalam media M₃ (MS + 3 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP), M₄ (MS + 4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) dan M₅ (MS + 5 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP) menghasilkan umur muncul kalus yang tercepat yaitu 6 hari masa pengkulturan.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2010. Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan

Obat Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Direktorat Obat Asli Indonesia, Jakarta. Booklet-Rosella : pp 22.

Lestari E., G., 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Jurnal AgroBiogen 7(1):63-65.

Mahadi I., Wulandari S., Omar A., 2014. Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) pada Pemberian *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Riau Pekanbaru. Jurnal Biogenesis Vol. 11 (1).

Meagher, M.G and J. Green. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of saw palmetto, an important landscape and medicinal plant. Plant Cell Tissue and Organ Culture 66 : 253 – 256.

Noviati, A., Yulita, N., dan Nintya S., 2014. Respon Pertumbuhan dan Produksi Senyawa Antioksidan pada kalus *Hibiscus sabdariffa* L. Dari Eksplan yang berbeda secara *in vitro*. Jurnal Sains dan matematika Vol. 22 (1): 25-29.

- Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publisher. London. 344 p.
- Subarnas, A., 2011. Produksi Karantin Melalui Kultur Jaringan. Lubuk Agung. Bandung. pp 59.
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M.A. Wiendi, A., dan Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB. pp 58.
- Yelnitis, 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Balai Besar Penelitian. Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. Vol 6(3): 181-194.