

PERBANDINGAN KOMBINASI KONSENTRASI ZPT (BAP & NAA) MEDIA WPM TERHADAP INDUKSI KALUS PADA EKSPLAN DAUN MUDA TANAMAN KARET (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg)

Leni Dwi Hartanti¹⁾, Lila Maharani²⁾, Dwi Sucianingtyas Sukamto³⁾

^{1,2,3)}Pendidikan Biologi, FPMIPA, IKIP PGRI Jember

¹⁾lenny.nying@gmail.com, ²⁾lheela_117@yahoo.com, ³⁾dwisucianingtyas@gmail.com

ABSTRACT

*Propagation of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) these days are mainly use the conventional method i.e. grafting. Constraints of conventional seed procurement conventionally is difficult to obtain quality seeds with a short time with low export value of rubber in Indonesia continues to decline as world demand for natural rubber is likely to rise from year to year. Propagation technology with tissue culture techniques can open up opportunities for the acquisition of quality seeds. This study aims to determine the formation of callus by comparison of ZPT (BAP and NAA) on WPM media on young leaf explants rubber plant. The design of the research is Quasi Experimental by using a completely randomized design (CRD) factorial one factor concentration ratio of NAA and BAP concentrations were performed in vitro. The material used in the study of young rubber plant leaves and WPM medium with concentration of BAP used 1.5 mg / L, 2 mg / L, 2.5 mg / L and NAA with concentration used 0,05mg / L, 0, 1 mg / L, 0.2 mg / L. Observation parameters include color and first callus appearance for 21 days. Test results analysis using the Kruskal Wallis test and Duncan test. Treatment capable of responding to callus growth was P2 treatment (BAP 2 mg / l & NAA 0.1 mg / l).*

Keywords: *Hevea brasiliensis, In vitro culture, callus*

PENDAHULUAN

Karet alam memiliki peranan penting bagi perekonomian Indonesia sebagai komoditas subsektor unggulan dilihat dari peranan dan nilai fungsinya. Nilai penghasilan ekspor karet ini terus menurun seiring permintaan dunia tentang karet alam yang cenderung naik dari tahun ketahun. Berdasarkan data direktorat Jenderal Perkebunan Departemen (2016), nilai ekspor karet di Indonesia tahun 2012 sebesar 7.861.947 US\$ dengan nilai produksi sebesar 2,4 ton, pada tahun 2013 nilai ekspor sebesar 6.906.952 US\$ dengan nilai produksi 2,7 ton, pada tahun 2014 nilai ekspor sebesar 4.741.574 US\$ dengan nilai produksi 2,6 ton dan pada tahun 2015 komoditas ini telah menghasilkan devisa ekspor sebesar US\$ 2.924.307 dengan nilai produksi sebesar 2 ton. Sebagai Negara penghasil karet alam terbesar kedua setelah Thailand produktivitas karet di Indonesia masih cenderung menurun setiap tahunnya.

Rendahnya tingkat produktivitas karet di Indonesia ini disebabkan oleh banyak faktor. Faktor yang paling berpengaruh adalah harga ,teknologi pengolahan yang masih tradisional ,penggunaan bibit tidak unggul dan pengaruh kondisi lingkungan (Siregar dan Suhendry, 2013). Salah satu upaya yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas karet alam adalah dengan cara memperbaiki genetik, dan penyediaan bibit melalui pendekatan bioteknologi (Darojat, 2014). Upaya ini dilakukan untuk memperoleh bibit yang mempunyai potensi produksi dan karakter unggul. Perbanyakan tanaman karet (*Hevea Brasiliensis* Muell Arg) saat ini masih banyak yang menggunakan cara konvensional yaitu okulasi. Kendala pengadaan bibit unggul secara konvensional adalah sulit memperoleh bibit yang berkualitas dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat dan membutuhkan waktu yang lama (Lestari, 2014).

Teknologi perbanyakan dengan teknik kultur jaringan dapat membuka peluang untuk melakukan seleksi terhadap karakter yang diinginkan misalnya bibit karet tahan terhadap penyakit akar atau toleran terhadap kondisi lahan kering. Salah satu alternatif untuk memenuhi permintaan bibit karet yang meningkat dan bergatung dengan musim serta untuk menghasilkan batang bawah secara klonal dan homogen adalah dengan cara teknik kultur jaringan tanaman (Sundari, 2015). Metode kultur jaringan (*in vitro*) yang dapat dilakukan secara langsung dari organ tanaman ataupun melalui fase kalus (Marlina, 2015) . Kultur kalus sering digunakan untuk memperoleh tanaman bebas virus, embriogenesis somatic, regenerasi varian genetika dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Zulkarnain, 2009). Penelitian ini menggunakan eksplan daun muda, daun sebagai bagian terbanyak dari suatu tanaman masih jarang digunakan dalam perbanyakan *in vitro*.

Media kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah WPM (*Woody Plant Medium*) merupakan media dengan konsentrasi ion rendah. Media ini konsisten sebagai media untuk tanaman berkayu yang dikembangkan oleh ahli lain, tetapi sulfat yang digunakan lebih tinggi dari sulfat pada media tanaman berkayu lain (Lidya, 2015). Zat pengatur tumbuh memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan

kultur. Penggunaan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) juga dapat merangsang pertumbuhan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Salah satu jenis auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) karena NAA mempunyai sifat lebih stabil (Nisak, 2012). Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat meningkatkan sintesa protein sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan (Sulichantini, 2016) sedangkan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP, karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah (Nisak, 2012).

Kendala pengadaan bibit unggul secara konvensional adalah sulit memperoleh bibit yang berkualitas dengan waktu yang singkat dengan rendahnya nilai penghasilan ekspor karet di Indonesia terus menurun seiring permintaan dunia tentang karet alam yang cenderung naik dari tahun ketahun. Teknologi perbanyakan dengan teknik kultur jaringan dapat membuka peluang untuk perolehan bibit berkualitas . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pembentukan kalus dengan kombinasi konsentrasi perbandingan ZPT (BAP dan NAA) pada media WPM pada eksplan daun muda tanaman karet.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan antara lain: botol kultur, pipet tetes, gelas ukur, cawan petri, gelas kimia, tisu, plastik kaca, karet gelang, kertas saring, *aluminium foil*, *erlenmeyer*, timbangan analitik, *hot plate*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, pinset, *scalpel*, mata pisau, lampu bunsen, batang pengaduk.

Bahan yang digunakan adalah eksplan daun muda tanaman karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg), media WPM, agar, BAP, NAA, HCl, 0,1N NaOH, bakterisida, fungisida, clorox, 70% alkohol, dan akuades.

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian berupa *Quasi Experimental* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial satu faktor yaitu perbandingan kombinasi konsentrasi BAP dengan konsentrasi NAA dan yang dilakukan

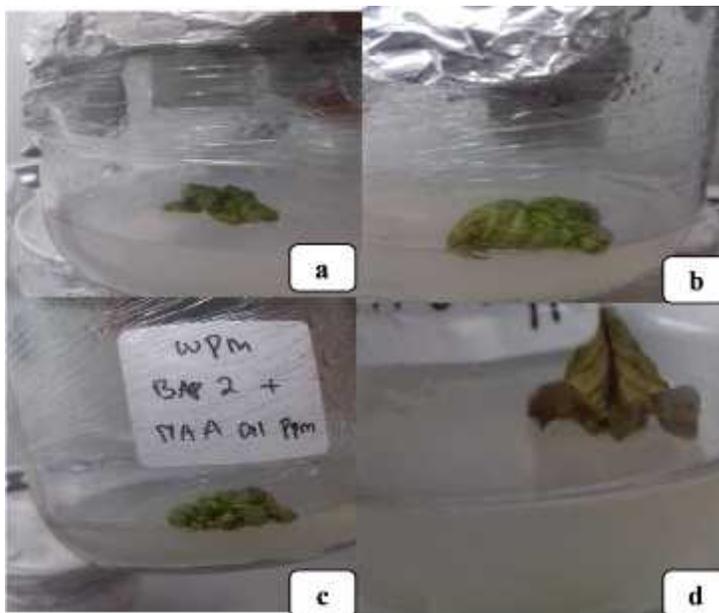
secara *in vitro* yang terdiri dari 8 kali pengulangan. Konsentrasi yang diuji yaitu: BAP(1,5mg/L, 2mg/L, 2,5mg/L)+ NAA(0,05mg/L, 0,1mg/L, 0,2mg/L).

Pelaksanaan penelitian meliputi persiapan dan sterilisasi alat, pembuatan media, persiapan dan penanaman eksplan. Pemeliharaan dilakukan di ruang inkubasi dengan menjaga agar kondisi selalu bersih dan steril dengan menyemprotkan 70 % alkohol setiap hari. Suhu ruang diatur 23-25°C dan diberi penyinaran dengan menggunakan lampu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

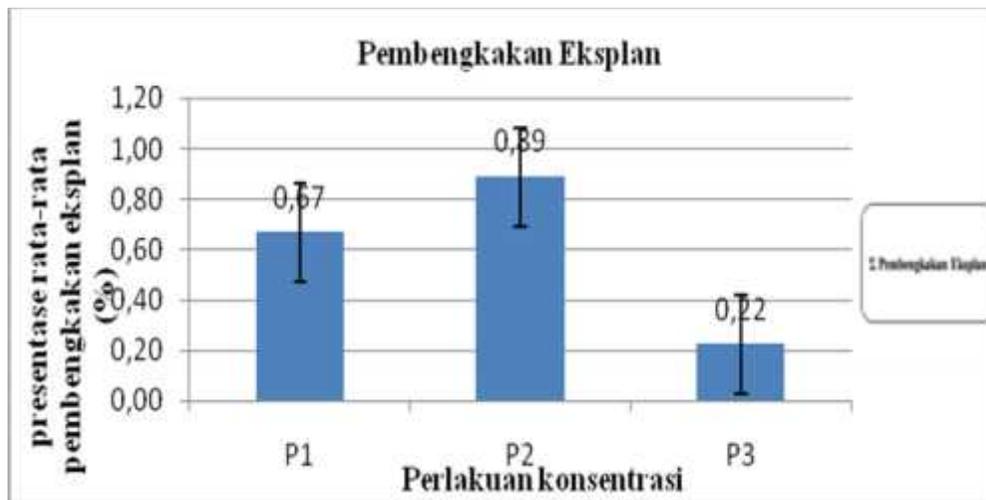
Penelitian induksi kalus ini dilakukan selama 21 hari. Kalus yang diinginkan diinduksi dengan menggunakan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Salah satu indikator adanya munculnya kalus pada eksplan. Menurut Indah dan Ermavitalini (2013) bahwa kalus merupakan proliferasi massa sel yang masih belum terdeferensiasi dan berupa kumpulan sel yang tidak teratur.

Respon dari daun tanaman karet pada kultur yang ditanam adalah kemampuan eksplan daun merespon dan beradaptasi dengan media sesuai dengan perlakuan yang digunakan. Respon diawali dengan perubahan warna potongan daun dan memberikan respon pembengkakan pada eksplan daun muda tanaman karet. Namun eksplan daun muda tanaman karet sampai akhir penelitian pada umur 21 hari tidak terjadi induksi kalus. Kebanyakan dari eksplan mengalami kematian pada umur 7-14 HST sedangkan eksplan yang masih hidup belum membentuk kalus oleh karena itu parameter-parameter yang akan diamati seperti waktu pembentukan kalus pertamakali dan warna yang seharusnya diamati menjadi tidak bisa diperoleh. Pada penelitian ini hanya mengamati morfologi eksplan dan respon yang terjadi pada eksplan yaitu pembengkakan eksplan daun.



Gambar 1. Perlakuan P1 Eksplan mengalami sedikit pembengkakan b) Perlakuan P2 Eksplan banyak terdapat pembengkakan; c) Perlakuan P2 eksplan terdapat pembengkakan; d) Perlakuan P3 eksplan mengalami sangat sedikit pembengkakan

Berdasarkan gambar 1. menunjukkan bahwa semua perlakuan konsentrasi memberikan respon pembengkakan eksplan. Presentase tertinggi dari eksplan yang menunjukkan pembengkakan adalah perlakuan P2 BAP 2 mg/l dan NAA 0,1 mg/l yaitu konsentrasi 0,89 %. Pada gambar 2 eksplan mengalami pembengkakan dengan perlakuan P1 yaitu konsentrasi BAP 1,5 mg/l dan NAA 0,05 mg/l dengan rata-rata presentase pembengkakan 0,67 %. Sedangkan presentase terendah adalah pada perlakuan P3(BAP 2,5 mg/l + 0,2 mg/l) yaitu 0,22 % dengan. Eksplan mengalami pembengkakan yang sedikit dibandingkan dengan eksplan yang merespon konsentrasi ZPT dengan perlakuan P1 dan P2.



Gambar 2. Grafik Prosentase rata-rata pembengkakan eksplan pada Minggu ke-3, P1 (BAP 1,5 mg/L + NAA 0,05 mg/L), P2 (BAP 2 mg/L + NAA 0,1 mg/L), P3 (BAP 2,5 mg/L + NAA 0,2 mg/L)

Pembengkakan eksplan pada penelitian ini diduga merupakan respon yang mengarah ke pembentuka kalus. Ajijah *et al.*, (2010) mengatakan bahwa pembengkakan pada eksplan adalah tahap awal pembentukan kalus yang mengindikasikan adanya aktifitas sel pada eksplan. Diduga pembesaran pada sel berupa penyerapan mengakibatkan eksplan mengalami pembengkakan (Gambar 4). Seharusnya setelah terjadi pembengkakan eksplan akan menghasilkan kalus. Menurut Lizawati *et al.*, (2012) pembengkakan eksplan daun akan disusul dengan terbentuknya kalus sekitar pinggiriran daun (potongan daun).

Hingga akhir pengamatan (hari ke 21) kalus yang diharapkan pada penelitian ini tidak muncul. Hal yang sama terjadi pada penelitian Sitinjak *et al* (2015) yang menemukan bahwa eksplan daun keladi tikus tidak mampu menginduksi kalus hingga hari ke 70 pada penambahan kosentrasi auksin yang lebih tinggi. Diduga hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang belum optimal untuk menginduksi kalus eksplan daun muda karet. Pembengkakkan eksplan pada penelitian ini diduga karena penggunaan hormon auksin (NAA) lebih tinggi daripada hormon sitokinin (BAP) sehingga eksplan tidak dapat menumbuhkan kalus dan hanya sampai pada tahap pembengkakkan, hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh (Intias, 2012) yang menyatakan bahwa sitokinin sebagai senyawa organik yang dikombinasikan

dengan auksin akan mendorong pembelahan sel dan menentukan arah diferensiasi sel tanaman, jika konsentrasi auksin dalam jaringan tanaman tinggi maka akan membentuk kalus.

Faktor lain yang mempengaruhinya diantaranya eksplan yang digunakan mengalami stagnasi mulai dari tanam hingga kurun waktu tertentu yang berarti eksplan tidak mati namun juga tidak tumbuh, selain stagnasi faktor lain yang mempengaruhi seperti lingkungan kultur pada tahap inkubasi di ruang kultur pengendalian suhu, cahaya, dan tingkat kelembaban juga mempengaruhi keberhasilan eksplan untuk membentuk kalus, hal tersebut sesuai dengan penjelasan yang diungkapkan oleh (Yuliarti, 2010).

Sesuai dengan yang diungkapkan oleh (Fatimah, 2011) bahwa selain faktor genetik eksplan, kondisi eksplan yang mempengaruhi keberhasilan teknik mikropropagasi adalah jenis eksplan, ukuran, umur, dan fase fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Meskipun masing-masing sel tanaman memiliki totipotensi namun masing-masing jaringan memiliki kemampuan yang berbeda-beda untuk tumbuh dan beregenerasi dalam kultur jaringan.

Dari hasil penelitian dibutuhkan alternatif yang diharapkan mampu menghasilkan kalus dari eksplan daun muda tanaman karet. Penambahan vitamin sebagai nutrisi tambahan mungkin dibutuhkan agar eksplan mampu meningkatkan kemampuan sel untuk bertahan hidup dan mengasilkan kalus. Hal serupa juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Syahid dan Kristina (2007) yang memberikan penambahan vitamin pada media yang digunakan untuk menginduksi kalus daun *in vitro* keladi tikus. Hal tersebut akan membantu nutrisi eksplan sehingga mampu bertahan dan menghasilkan kalus .

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian BAP konsentrasi (2 mg/l) dan dikombinasikan dengan NAA konsentrasi (0,1 mg/l) memberikan peningkatan persentase respon pembengkakan walaupun kalus belum terbentuk. Belum terbentuknya kalus ini diduga karena komposisi konsentrasi ZPT yang kurang tepat. Menurut Kaniyah *et al.*, (2012) bahwa kemungkinan berhentinya respon eksplan diakibatkan oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan, jika konsentrasi zat pengatur tumbuh

terlalu rendah maka tidak mampu menginduksi kalus, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan dan jika konsentrasi yang diberikan tidak seimbang maka interaksi kedua zat pengatur tumbuh tidak cocok untuk merangsang pembentukan kalus

Untuk itu penambahan zat pengatur tumbuh yang seimbang untuk meningkatkan kemampuan sel untuk membelah. Keberadaan BAP konsentrasi tinggi hanya mampu memberikan respon pembengkakan, karena itu diperlukan penambahan konsentrasi sitokinin dan auksin yang seimbang diharapkan mampu memicu pembelahan sel lebih cepat.

SIMPULAN

Pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA belum mampu menginduksi pembentukan kalus dari daun muda tanaman karet (*Hevea Brasilliensis* Muell. Arg) hingga hari ke 21 hst namun mampu memberikan respon pembengkakan dan perubahan warna. Perlakuan yang mampu memberikan respon pembengkakan eksplan pada eksplan daun muda yang paling banyak adalah perlakuan P2 dan P1 perlakuan yang sedikit memberikan respon pada pembengkakan pada eksplan adalah perlakuan P3. Penelitian lanjutan untuk memberikan penambahan hormon sitokinin (BAP) yang lebih rendah dan hormon auksin (NAA) yang lebih tinggi pada media yang digunakan untuk menginduksi kalus eksplan daun muda tanaman karet (*Hevea Brasilliensis* Muell. Arg).

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjah, N., Tasma, I. M., Hadipoentyanti, E. (2010). *Induksi Kalus Vanilli (Vanilla planifolia ANDREW.) Dari Eksplan Daun dan Buku. Buletin RISTR I.* 1(5).
- Daroajat MR., dan Tistama R. (2014). *Upaya Perbaikan Genetik Dan Penyediaan Bibit Tanaman Karet (Hevea brasilliensis Muell. Arg) Melalui Pendekatan Bioteknologi.* Warta Per karetan 33 (2) :57-72.
- Indah, P.N., Ermavitalini, D. (2013). *Induksi Kalus Daun Nyamplung (Calophyllum inophyllum Linn.) pada Beberapa Kom-binasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D).* Jurnal Sains Dan Seni Pomits. 2(1), 2337-3520.

- K Nisak.,Nurhidayati T.,dan Purwani I K. (2012). *Pengaruh Kombinasi Kosentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana tabacum var. Prancak* 95.Jurnal Sains dan Seni Pomits. Vol 1. No 1. Hal :1-6.
- Sitinjak Agustia Marlina,Isda Novaliza Mayta, Fatobah Siti. (2015). *Induksi Kalus dari Eksplan Daun Keladi Tikus (Typhonium sp.) denga Perlakuan 2,4 D dan Kinetin*. Al-Kaunyah Jurnal Biologi . Volume 8 Nomor1.
- Sundari L.,Siregar A.M., dan Hanafiah SD. (2015). Respon Eksplan Nodus dalam Inisiasi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasilliensis* Muell. Arg) dalam Medium WPM. Jurnal Online Agroekoteknologi. ISSN. No: 2337-6597. Vol. 3.
- Yelnititis, Komar Edi T. (2010). *Upaya Induksi Kalus Embriogenik Dari Potongan Daun Ramin*. Technical Report. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Hutan Dan Konsevasi Alam Kementerian Kehutanan Bogor 5(1): 235-143
- Zulkarnain, H. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara. Jakarta.