

KUALITAS DAN KUANTITAS KALUS PADA KULTUR RUMPUT BENGGALA (*Panicum maximum*) YANG DIINDUKSI DENGAN KOMBINASI AUKSIN DAN SITOKININ

Marna Eoh^{1*}

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura

Jl. Ir.M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233

* Email Penulis Korespondensi: marnaeh9@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian induksi kalus dari eskplan daun rumput Benggala (*Panicum maximum*) varietas *Trichoglume* dengan menggunakan medium standart MS (Murashige dan Skoog) bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi 2,4- D (2,4 dichlorophenoxy acetic acid) yaitu 2, 4, 6 dan 8 mg/l dan proses organogenesis kalus menggunakan zat pengatur tumbuh 2iP {N6- (2- isopentenyl)- adenine} dengan konsentrasi 0, 0,2 dan 1 mg/l, dan NAA (1- naphalene acetic acid) dengan konsentrasi 0, 0,03, 0,16 dan 3 mg/l. Peningkatan kualitas dan kuantitas kalus diukur dengan menghitung presentase pembentukan kalus, sedangkan organogenesis diamati dari morfologis pembentukan kalus membentuk organ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang optimal diperoleh pada konsentrasi 4 mg/l 2,4- D, yaitu menghasilkan kalus warna putih sedikit kekuningan, tekstur kalus remah (friable), dengan jumlah kalus yang tumbuh pada minggu ke-4 adalah 46,2 persen, sedangkan dengan konsentrasi 8 mg/l menunjukkan jumlah kalus terbanyak pada minggu ke- 4 yaitu 59,7 persen dengan morfologi kalus berwarna kuning dan bertekstur lebih kompak. Untuk formasi akar pada minggu ke- 3 menunjukkan persentase kalus membentuk akar pada kombinasi 0 mg /l 2iP (auksin) + 3 mg/l NAA dari (sitokinin) yaitu 100% , jumlah akar terbanyak pada kombinasi 0 mg/l 2iP + 3 mg/l NAA dari formasi akar yaitu 9,0 dan akar terpanjang pada kombinasi 0 mg/l 2iP + 3 mg/l NAA yaitu 17,0 mm. Warna kalus yang dihasilkan bervariasi putih, putih kekuningan dan coklat.

Kata kunci: Kalus, rumput Benggala, auksin, sitokinin

QUALITY AND QUANTITY OF THE CALLUS OF BENGGALA GRASS (*Panicum maximum*) CULTURE INDUCED WITH AUXIN AND CYTOKININ COMBINATION

ABSTRACT

The callus induction study from Bengal grass (*Panicum maximum*) cultivars of *Trichoglume* variety using standard MS medium (Murashige and Skoog) aimed to determine the effect of various concentrations of 2,4-D (2,4 dichlorophenoxy acetic acid) namely 2, 4, 6 and 8 mg/l and callus organogenesis process using growth regulator 2iP {N6- (2-isopentenyl)- adenine} with a concentration of 0, 0.2 and 1 mg/l, and NAA (1-naphalene acetic acid) with a concentration of 0, 0.03, 0.16 and 3 mg/l. The increase in callus quality and quantity was measured by calculating the percentage of callus formation, while organogenesis was observed from the morphology of callus formation to form organs. The results showed that the optimal treatment was obtained at a concentration of 4 mg/l 2,4-D, which produced a slightly yellowish white callus, friable callus texture, with the number of callus growing at week 4 was 46.2 percent. , while the concentration of 8 mg/l showed the highest number of callus at week 4, namely 59.7 percent with yellow callus morphology and a more compact texture. For root formation at week 3, the percentage of callus forming roots at the combination of 0 mg/l 2iP (auxin) + 3 mg/l NAA from (cytokinins) was 100%, the highest number of roots was in the combination 0 mg/l 2iP + 3 mg /l NAA from root formation was 9.0 and the longest root at combination 0 mg/l 2iP + 3 mg/l NAA was 17.0 mm. The color of the resulting callus varies from white, yellowish white and brown.

Key words: Callus, Bengala grass, auxins, cytokinins

PENDAHULUAN

Pakan diberikan kepada ternak harus memenuhi kualitas dan kuantitas serta kontinyutas guna memenuhi

kebutuhan hidup pokok, pertumbuhan, produksi dan reproduksinya. Berbagai upaya untuk meningkatkan produksi diterapkan diantaranya dengan memilih pakan hijauan unggul yang mempunyai produktivitas tinggi,

baik dipandang dari segi kualitas maupun kualitas (Subekti, 2009). Salah satu hijauan pakan ternak yang banyak dimanfaatkan adalah rumput Benggala (*Panicum maximum*) yang merupakan salah satu jenis tanaman pakan yang mempunyai komposisi nutrisi yang baik (Purbajanti *et al.*, 2010 ; Russell & Webb, 1976). Namun budidaya pakan ternak seringkali dihadapkan pada kendala yang cukup serius, seperti keterbatasan lahan, gangguan iklim dan hama penyakit. Bioteknologi dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan hijauan pakan ternak unggul, mengadakan perbanyakan tanaman secara vegetatif, pemuliaan tanaman, penyediaan bibit yang bebas hama dan penyakit (Fanindi & Sutedi, 2014).

Kultur jaringan adalah metode untuk mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti sel, jaringan, atau organ serta menumbuhkannya secara aseptis (suci hama) di dalam atau di atas suatu medium budidaya sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan regenerasi menjadi tanaman lengkap (Rusdianto & Indrianto, 2015 ; Dodds & Robert, 1989). Eksplan terbaik untuk induksi kalus adalah jaringan tanaman dari bagian-bagian semai (*seedling*) yang dikedudah menambahkan secara in vitro, sel-selnya masih bersifat meristematik dan sudah mengalami deferensiasi (Rasud & Bustaman, 2020). Dalam kondisi meristematik inilah, signal lingkungan dan hormon akan mengarah ke pembelahan sel-sel baru yang terspesialisasi menuju pembentukan tunas atau akar, setelah terinduksi kumpulan sel atau jaringan akan mengalami determinasi. Jika sel-sel atau jaringan tersebut terus berkembang menjadi organ (embrio), walaupun diletakkan di lingkungan yang baru yang bebas dari signal penyebab organogenesis atau embryogenesis (Yusnita, 2003).

Medium kultur jaringan yang dipakai untuk induksi kalus pada kultur daun rumput Benggala adalah medium dasar MS (Murashige- Skoog) (Fitriani *et al.*, 2013). Selain nutrisi, zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan, perkembangan dan diferensiasi kalus rumput Benggala (Abidin, 1985). Untuk keperluan kultur jaringan telah dibuat zat pengatur tumbuh sitetis. Tanpa zat pengatur tumbuh, eksplan akan terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh (Lestari, 2011). Zat pengatur tumbuh auksin sintetis yang umum dan efektif untuk induksi kalus adalah 2,4- D, pada kultur jaringan tanaman monokotil, terutama rumput- rumputan dan palem, juga pada kultur in vitro umbi akar wortel (Rusdianto & Indrianto, 2015 ; Indrianto, 2002). Auksin yang sering digunakan adalah 2,4- d (dichloropenoxy acetic acid) dan NAA (naphthalene acitic acid), IAA (indole -3- acetic acid). Sitokinin yang sering digunakan adalah kinetin dan BAP, sedangkan 2iP { N6-

(2isopentynil) – adenine} Zeatin jarang digunakan (Thorpe & Patel, 1984).

Saat ini perkembangan budidaya kultur jaringan lebih menjanjikan harapan dengan dijadikannya sebagai sarana pemuliaan untuk meningkatkan variabilitas genetik (Estuningsih, 1995), sehingga masalah hijauan pakan yang selama ini dihadapi bisa diatasi dengan peningkatan secara kualitatif maupun kuantitatif melalui perbanyakan vegetatif, sehingga didapati pakan hijauan unggul yang seragam dan berdaya guna. Berbagai konsentrasi dan kombinasi zat pengatur tumbuh Naphtalene acetic acid (NAA) dan N6- (2-isopentiny)- adenine (2iP) telah digunakan untuk mendapat tanaman regenerasi dari rumput Benggala secara in Vitro. Hasil di bidang penelitian bioteknologi bidang peternakan melalui kultur jaringan diharapkan dapat memberikan manfaat untuk perbaikan pakan ternak dalam mendapatkan bibit dengan kualitas unggul dan berdaya guna dalam jumlah dan kualitas yang cukup dengan biaya yang relatif murah. Permasalahannya adalah bagaimana pengaruh penambahan 2, 4- D dengan menggunakan beberapa konsentrasi yang dipakai ke dalam medium MS dalam kultur jaringan dan terhadap induksi kalus serta beberapa konsentrasi dari kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan 2iP terhadap tanaman generasi baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4- D terbaik untuk mendapat kalus pada eksplan daun rumput Benggala.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian ini berlangsung selama 11 bulan, dan dilaksanakan pada dua lokasi yaitu (1) penanaman rumput Benggala (*Panicum maximum*) varietas *Trichoglume*, di rumah kaca milik Laboratorium Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, dan (2) untuk mengadakan penelitian pertumbuhan kalus dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada.

Bahan penelitian ini adalah tanaman eksplan yang digunakan berupa primordia dan rumput Benggala (*Penicum maximum*) varietas *Trichoglume*, berumur satu setengah bulan, yang ditanam di rumah kaca dengan tujuan agar tanaman tersebut bebas dari kontaminasi dengan lingkungan luar, baik penyakit maupun bakteri. Bahan kimia yang digunakan untuk membuat medium MS (Murshige dan Skoog) adalah garam makro, garam mikro, vitamin, sukrosa dan agar. Kemudian ditambahkan untuk penggunaan pH media yang digunakan KOH 1 N dan HCL 1 N. Bahan sterilisasi digunakan adalah HgCl₂ 40/100cc, Bayclin dan aquades dengan perbandingan 1:1. Zat pengatur tumbuh 2,4- D, NAA dan 2iP. Bahan- bahan lain : kertas payung dan aluminium foil. Alat untuk preparasi medium adalah alat- alat gelas, pH stick, timbangan analitik, hotplate,

magnetic, stirrer, mikropipet dan autoclave. Ruang penabur dengan laminar air flow cabinet (LAF) cawan petri, skalpel, pisau dan pinset. Ruang incubator untuk pertumbuhan kultur kalus dengan suhu 250 C.

Alat-alat gelas dan logam dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas seperti tabung elenmeyer dan botol-botol kultur bagian mulutnya ditutup dengan aluminium foil, sedangkan cawan petri, pinset dan skapel dibungkus dengan kertas payung. Kemudian semua alat disterilkan dengan autoclave pada tekanan 1,5 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Pembuatan medium MS meliputi stok larutan Murashige (Murashige, 1974) yaitu mikronutrien, zat besi, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Makronutrien tidak dibuat stok, tetapi langsung ditimbang. Bahan padat yang digunakan adalah 2 gram agar-agar dan sebagai sumber karbon digunakan 20 gram sukrosa. Selanjutnya medium ditambahkan zat pengatur tumbuh sesuai dengan perlakuan. Semua bahan dicampur dan diatur derajat keasamannya berkisar antara pH 5,6 – 5,8 kemudian dipanaskan sampai larut. Medium dimasukkan ke botol-botol kultur, kemudian botol ditutup dengan aluminium foil dan disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Tiga hari kemudian sudah dapat melakukan penanaman eksplan

Eksplan yang digunakan adalah daun rumput Benggala (*Panicum maximum*), beberapa pelepah tangkai daunnya dihilangkan, dicuci dengan deterjen dan dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Sterilisasi dilanjutkan di dalam laminar, yang sebelumnya dibersihkan dengan alcohol 70% sehingga laminar dalam keadaan steril, bebas dari bakteri maupun virus dan disinari UV selama 30 menit. Eksplan direndam dalam HgCl₂ 40/100cc dan aquades dengan

perbandingan 1:1 selama 10 menit. Setelah itu eksplan dicuci tiga kali dengan menggunakan aquades melalui cara digojok selama 1 menit. Kemudian dibilas kembali kedua kali, eksplan direndam dalam Baylclin dan aquades dengan perbandingan 1:1 selama 10 menit, setelah itu eksplan dicuci tiga kali dengan menggunakan aquades melalui cara dikocok selama 1 menit. Selanjutnya eksplan diletakan dalam cawan petri steril dan dipotong sepanjang ± 5 mm sebanyak 3 potong dengan menggunakan skapel steril.

Eksplan yang telah disterilisasi kemudian ditanam pada medium yang sudah disiapkan, yaitu medium induksi kalus. Tahap ini bertujuan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari eksplan dan mempersiapkan kalus untuk tahap berikutnya yaitu diferensiasi. Medium yang digunakan untuk induksi kalus berupa medium MS dengan penambahan 2,4-D sebagai zat pengatur tumbuh pada beberapa konsentrasi, sebagai berikut : MS + tanpa fitohormon (MS 0), MS + 2 mg/l 2,4-D, MS + 4 mg/l 2,4- D, MS + 6 mg/l 2,4- D, MS + 8 mg/l 2,4- D.

Medium yang menghasilkan kalus yang paling baik adalah medium yang paling cepat menginduksi kalus dan menghasilkan kalus dengan efisiensi yang paling besar. Medium dengan konsentrasi 2,4- D terbaik akan membentuk akar digunakan untuk memperbanyak kalus dan diinduksi ke tahap berikutnya sampai dihasilkan plantlet.

Kalus hasil induksi kemudian disubkultur pada minggu ke -2 di medium regenerasi MS padat dengan variasi zat pengatur tumbuh jenis auksin NAA (*naphthalene acitic acid*) dan jenis sitokinin 2iP {*N6-(2- isopentenyl)-adenine*}.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Medium Deferensiasi

| Dosis 2iP (mg/l) | Dosis NAA (mg/l) | | | | | | | | | |
|---------------------|------------------|------|-------|------|---------|-----|-------|------|-------|-----|
| | 0 | | 0,03 | | 0,16 | | 3 | | | |
| 0 | 2iP 0 | NAA | 2iP 0 | NAA | 2iP 0 | NAA | 2iP 0 | NAA | 2iP 0 | NAA |
| 0,2 | 0 | 2iP | 0,2 | 0,03 | 2iP 0,2 | NAA | 0,16 | 3 | 2iP | 0,2 |
| 1 | NAA 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | NAA 3 | 2iP | 1 | NAA3 | | |
| | 2iP 1 | NAA | 2iP 1 | NAA | 2iP 1 | NAA | 2iP 1 | NAA | 2iP | 1 |
| | 0 | 0,03 | 0,16 | NAA3 | | | | | | |

Erlenmeyer 2000 ml dan diisi aquades sebanyak 500 ml. Setiap komponen bahan kimia makronutrien dan mikronutrien sesuai dengan tabel formula Murashige dan Skoog (1962) 100 mg myo- inositol (vitamin), serta sukrosa ditimbang kemudian dilarutkan satu per satu dan diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer. Pada campuran larutan tersebut, ditambahkan aquades sampai volume mencapai 1000 ml.

Larutan dibagi dalam beberapa Erlenmeyer dan ditambahkan agar-agar. Pada masing-masing Erlenmeyer ditambahkan zat pengatur tumbuh dengan kombinasi 2iP 0; 0,03; 0,16 dan 3 mg/l + NAA 0; 0,2 dan 1 mg/l. Perhitungan untuk masing- masing

kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan 2iP menggunakan rumus $M1 \times V1$ botol kultur ditutup dengan aluminium foil, kira- kira 40 mg/l botol, dilakukan di dalam laminar air flow cabinet LAF, dijaga agar larutan dalam keadaan steril. Medium yang sudah steril, disimpan di dalam ruangan penyimpanan medium selama 3 minggu.

Kalus dari botol kultur dipindahkan ke dalam cawan petri di dalam laminar LAF, kemudian dipotong menjadi beberapa bagian dengan menggunakan skapel steril, selanjutnya kalus ditanam di dalam medium yang sudah diberikan komponen nutrient dan zat pengatur tumbuh. Dua belas botol disiapkan untuk 12 kombinasi

medium, dan disetiap = $M2 \times V2$.. Dengan menggunakan mikropipet larutan zat pengatur tumbuh dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Kertas indikator digunakan untuk mengukur pH hingga keasaman mencapai pH 5,8-6. Guna mengatur larutan dalam kondisi asam atau basa dilakukan dengan menambahkan HCL KOH.

Larutan dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih. Dalam kondisi panas dan masih cair, larutan medium dimasukkan dalam botol-botol kemudian dimasukkan 4 buah kalus, setelah itu ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diletakkan kembali pada ruang inkubasi untuk diamati perkembangannya selama 3 minggu. Kombinasi perlakuan medium deferensiasi seperti tertera pada Tabel 1.

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah morfologi dan jumlah kalus pada medium induksi kalus, mulai hari pertama penanaman aksplan sampai tumbuh kalus. Sedangkan variable pertumbuhan yang diamati adalah kecepatan terbentuknya kalus, warna kalus, dan tersktur kalus. Kemudian

organogenesis dimana variabel perkembangan yang dapat diamati adalah morfologi kalus membentuk akar, jumlah akar panjang. Data Pengamatan tentang peningkatan kualitas dan kuantitas dianalisis dengan menggunakan persentase, rerata dan standar deviasi (Astuti, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap persentase terbentuknya kalus dengan menggunakan medium standard MS ditambah 2,4-D pada berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada medium MS dengan menambah zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 8 mg/l menghasilkan jumlah induksi kalus terbanyak minggu ke-1 yaitu 5,5 persen dengan warna kalus putih dan kalus tampak remah. Sementara itu minggu ke-4 jumlah kalusnya tumbuh 59,7 persen dengan morfologi kalus berwarna kuning muda dan kalus tampak lebih kompak.

Tabel 2. Pengamatan Terhadap Presentase Kalus Yang Terbentuk Pada Tanaman Rumput Benggala (*Panicum Maximum*)

| Konsentrasi 2,4-D (mg/l) | Persentase jumlah kalus minggu ke 1 | Morfologi Kalus | Persentase jumlah kalus minggu ke 4 | Morfologi kalus |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|--|
| 0 | Tdk tumbuh | Tdk tumbuh warna | - | |
| 2 | 2,0 ± 1,4 | Warna putih, remah | 3,8 ± 0,1 | Warna putih,remah |
| 4 | 2,5± 0,6 | Warna putih, remah | 46,2 ± 0,6 | Warna putih,sedikit kekuningan remah/friabel |
| 6 | 3,8± 1,3 | Waran putih, r minggu remah | 51,4 ± 3,0 | Warna putih kekuningan kompak |
| 8 | 5,5 ± 0,4 | Warna putih, remah | 59,7 ± 4,7 | Warna kuning muda,kompak |

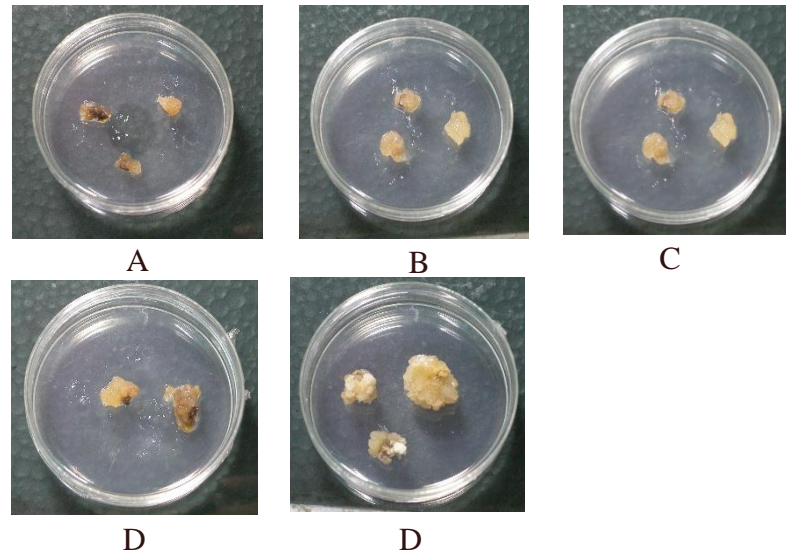
Pada penambahan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi 4 mg/l, pada minggu ke-1 jumlah kalus yang tumbuh 2,5 persen berwarna putih dan tampak masih remah, sedangkan pada minggu ke-4 jumlah kalus adalah 46,2 persen dengan warna putih sedikit kekuningan dan kalus tampak remah (*friabel*). Zat pengatur tumbuh 2,4- D pada konsentrasi 4 mg/l yang dipakai pada penelitian ini paling optimal untuk merangsang pembelahan sel dan sel-sel penyusun eksplan sehingga terbentuk kalus. Indrianto (2002) menyatakan zat pengatur tumbuh aktif pada konsentrasi rendah dan diproduksi di dalam tubuh tanaman itu sendiri, pada konsentrasi tinggi merupakan herbisida.

Induksi kalus terlihat lebih cepat pada perlakuan 4 mg/l 2,4- D pada minggu ke-1 dan ke- 4 dibandingkan dengan perlakuan 8 mg/2,4-D yaitu 2,5 persen versus 5,5 persen pada minggu ke- 1, dan 46,2 persen versus 59,7 persen pada minggu ke-4. Walaupun demikian pada konsentrasi 4 mg/l, kalus yang dihasilkan hanya sedikit. Hal tersebut mungkin diakibatkan karena terjadi

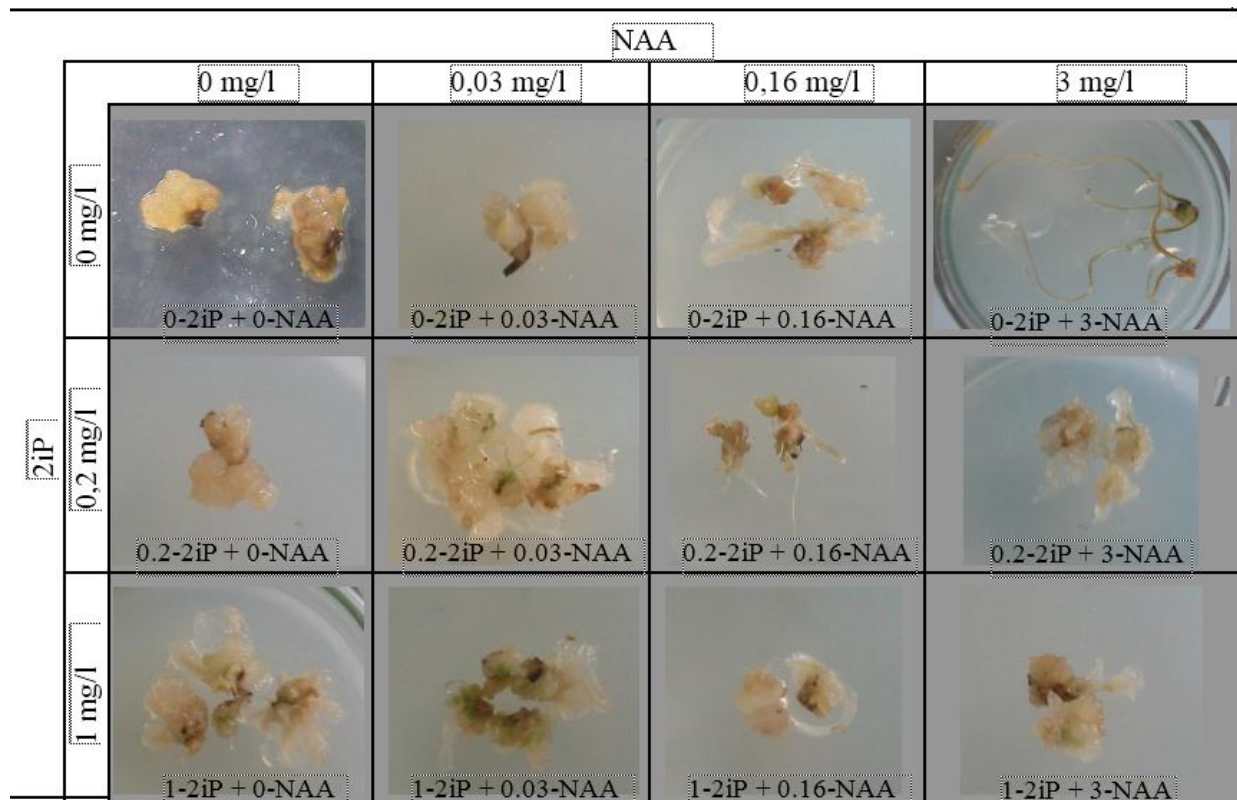
kontaminasi oleh virus dan bakteri selama penelitian. Hasil ini sesuai dengan pendapat Staba (1980), Dodd & Roberts (1989) serta Krikorian *et al.* (1990), bahwa pemberian 2,4-D pada konsentrasi rendah sangat efektif untuk induksi dan pertumbuhan kalus, sedangkan pada konsentrasi tinggi cenderung bersifat herbisida atau menghambat pertumbuhan kalus. Jacobsen (1983) juga mengemukakan bahwa pemberian 2,4-D pada konsentrasi tinggi menghambat IAA, sedangkan pada konsentrasi rendah 2,4- D akan bersifat seperti auksin lain yaitu mendorong transport IAA.

Pengamatan terhadap morfologi kalus tidak menunjukkan banyak perbedaan. Perbedaan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap warna kalus menghasilkan warna putih dan kuning, pada minggu ke-1 kalus warna putih, setelah minggu ke-4 kalus berwarna kuning mudah (Gambar 1). Menurut Indah & Ermavitalini (2013), dan Narayanaswamy (1989), warna kalus bervariasi dan biasa berkaitan dengan jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan juga

faktor nutrisi dan lingkungan. Morfologis kalus pada konsentrasi 2 dan 4 mg/l kalus yang dihasilkan bersifat remah (*friable*).



Gambar 1. Induksi Kalus Pengamatan Minggu Ke-4 Dengan Menggunakan Beberapa Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (A) 2 mg/l, (B) 4 mg/l, (C) 6 mg/l, dan (D) 8 mg/l.



Gambar 2. Pengamatan Terhadap Perkembangan Kalus Selama 4 Minggu

Organogenesis

Organogenesis pada kalus akan terjadi apabila kalus yang tumbuh pada medium induksi disubkultur ke medium diferensiasi. Organogenesis yaitu diferensiasi

meristem unipolar, menghasilkan ujung tunas (*shoot tip*) yang akan menjadi tunas (*coulogenesis*) atau ujung akar (*root tip*) yang akan menjadi akar (*rhizogenesis*). George & Sherrington (1984) mengemukakan

sebaiknya medium deferensiasi mengandung konsentrasi 2,4- D, NAA, atau IAA yang lebih rendah dari pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk induksi kalus atau dapat juga menghilangkan auksin dari medium.

Pengamatan terhadap perkembangan Kalus (Gambar 2) selama 4 minggu yang disubkultur ke

medium baru yaitu medium MS dengan penambahan 2iP {N6- (2- isopentynyl)- adenine} dan NAA (naphalene acatic acid) menunjukan bahwa kalus pada hampir semua perlakuan berdiferensiasi membentuk akar, termasuk pada medium kontrol seperti ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Persentase Kalus Membentuk Akar Pada Minggu Ke-2

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0±0,0 | 37,5±17,7 | 62,5±17,7 | 100,0±0,0 | 50,0 ± 40,1 |
| 0,2 | 50,0±0,0 | 50,0±0,0 | 62,5±17,7 | 50,0±0,0 | 53,1±8,8 |
| 1 | 25,0±0,0 | 50,0±0,0 | 62,5±17,7 | 62,5±53,0 | 50,0±26,7 |
| Rata-rata | 25,0±22,4 | 45,8±10,2 | 62,5±13,7 | 70,8±33,2 | |

Keterangan: standar deviasi dihitung dari 2 pengamatan

Tabel 4. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Persentase Kalus Membentuk Akar Pada Minggu Ke -3

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0±0,0 | 62,5±17,7 | 75,0±0,0 | 100,0±0,0 | 59,4±39,9 |
| 0,2 | 75,0±0,0 | 75,0±0,0 | 75,0±0,0 | 75,0±35,4 | 75,0±0,0 |
| 1 | 50,0±0,0 | 75,0±0,0 | 75,0±0,0 | 75,0±35,4 | 68,8±17,7 |
| Rata-rata | 41,7±34,2 | 70,8±10,2 | 75,0±0,0 | 83,3±20,4 | |

Keterangan: standar deviasi dihitung dari 2 pengamatan

Tabel 5. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Jumlah Akar Pada Minggu Ke-2

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0 ± 0,0 | 2,0 ± 0,0 | 4,0 ± 2,8 | 7,5 ± 0,7 | 3,4 ± 3,2 |
| 0,2 | 2,5 ± 0,7 | 2,5 ± 0,7 | 2,5 ± 0,7 | 3,5 ± 0,7 | 2,8 ± 0,5 |
| 1 | 1,5±0,7 | 2,5 ± 0,7 | 3,0 ± 0,0 | 2,5 ± 0,7 | 2,4 ± 0,6 |
| Rata-rata | 1,33 ± 1,26 | 2,3 ± 0,3 | 3,2 ± 0,8 | 4,5 ± 2,6 | |

Keterangan: standar deviasi dihitung dari 2 pengamatan

Tabel 6. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Jumlah Akar Pada Minggu Ke-3

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0 ± 0,0 | 4,0 ± 0,0 | 5,5 ± 2,1 | 9,0 ± 1,4 | 4,6 ± 3,7 |
| 0,2 | 4,0 ± 1,4 | 3,5 ± 0,7 | 3,5 ± 0,7 | 4,5 ± 0,7 | 3,9 ± 0,5 |
| 1 | 3,0 ± 0,0 | 3,5 ± 0,7 | 3,0 ± 0,0 | 2,5 ± 0,7 | 3,0 ± 0,4 |
| Rata-rata | 2,3 ± 2,1 | 3,7 ± 0,3 | 4,0 ± 1,3 | 5,3 ± 3,3 | |

Keterangan: standar deviasi dihitung dari 2 pengamatan

Pengamatan pada minggu ke-1 menunjukkan bahwa kalus pada beberapa perlakuan mengalami pertumbuhan dan pembentukan warna. Warna kalus bervariasi dari putih, putih kuning sampai kuning kecoklatan. Pada permukaan kalus, tumbuh serabut halus tetapi belum ada pertumbuhan akar, yaitu pada medium dengan konsentrasi 0 mg/l + 3 mg/l NAA dan 0 mg/l 2iP + 0,16 mg/l NAA pada minggu ke-2, kalus mengalami diferensiasi dengan tumbuhnya serabut-serabut halus yang semakin menonjol, memanjang, dan

membentuk kecambah (*seedling*). Namun hal ini tidak terjadi pada medium kontrol yaitu medium MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh yaitu 0 mg/l 2iP + 0mg/l NAA. Pada medium kontrol ini kalus hanya mengalami perubahan ukuran dan tidak terdiferensiasi.

Persentase terbesar jumlah kalus yang membentuk akar terjadi minggu ke-2 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA 3 mg/l NAA dengan berbagai konsentrasi 2iP yaitu 53,1 persen hasil rata-rata 0,2 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA

dan 70,8 persen hasil rata-rata berbagai konsentrasi 2iP dengan 3 mg/l NAA sedangkan pada minggu 3 berturut-turut yaitu 75,0 persen dan 83,3 persen seperti terlihat pada (Tabel 3 dan Tabel 4).

Kalus yang diinduksi pada setiap kombinasi 2iP {N-(2-isopentiny)-adenine} dan NAA (naphalene acitic acid) didalam medium kultur berjumlah 4 kalus, tetapi tidak semuanya tumbuh dan terdiferensiasi membentuk akar, hal tersebut dapat terlihat pada pengamatan rerata jumlah akar minggu ke-2. Jumlah akar terbanyak pada konsentrasi 0 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA dan 3 mg/l NAA dengan berbagai konsentrasi 2iP yaitu 3,4 hasil rata-rata 0 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA dan 4,5 hasil

rata-rata berbagai konsentrasi 2iP dengan 3 mg/l NAA sedangkan pada minggu ke-3 keadaan tersebut berubah menjadi berturut-turut yaitu 4,6 dan 5,3 (Tabel 5 dan Tabel 6).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 0 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA dan 3 mg/l NAA dengan berbagai konsentrasi 2iP menghasilkan panjang akar terpanjang dibandingkan konsentrasi yang lain pada minggu ke-2 yaitu, 6,7 mm hasil rata-rata 0 mg/l 2iP dengan berbagai konsentrasi NAA dan 7,8 mm hasil rata-rata berbagai konsentrasi 2iP dengan 3 mg/l NAA sedangkan minggu ke-3 yaitu 8,0 mm dan 9,3 mm semua kalus telah terdiferensiasi membentuk akar (Tabel 7 dan Tabel 8).

Tabel 7. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Jumlah Akar Pada Minggu Ke-2

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0 ± 0,0 | 3,0 ± 0,8 | 8,8 ± 1,9 | 15,0 ± 9,2 | 6,7 ± 6,2 |
| 0,2 | 2,3 ± 0,5 | 3,2 ± 0,8 | 4,6 ± 1,7 | 6,3 ± 3,1 | 4,1 ± 1,7 |
| 1 | 2,5 ± 0,7 | 2,8 ± 0,5 | 2,3 ± 0,6 | 2,0 ± 0,0 | 2,4 ± 0,3 |
| Rata-rata | 1,6 ± 1,4 | 3,0 ± 0,2 | 5,2 ± 3,3 | 7,8 ± 6,6 | |

Keterangan: standar deviasi dihitung dari sampel yang membentuk akar

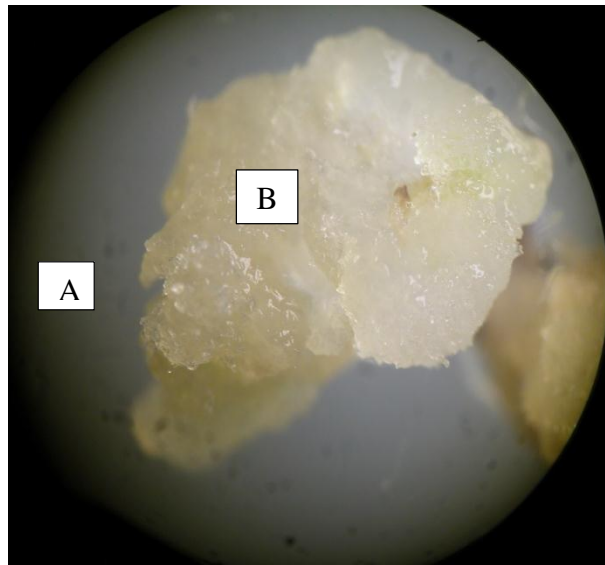
Tabel 8. Pengaruh Kombinasi 2iP dan NAA (mg/l) terhadap Jumlah Akar Pada Minggu Ke-3

| 2iP | NAA | | | | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| | 0 | 0,03 | 0,16 | 3 | |
| 0 | 0,0 ± 0,0 | 4,0 ± 0,8 | 11,0 ± 2,6 | 17 ± 9,5 | 8,0 ± 7,5 |
| 0,2 | 3,5 ± 1,0 | 4,4 ± 1,1 | 6,0 ± 2,1 | 8,0 ± 3,2 | 5,5 ± 2,0 |
| 1 | 4,5 ± 0,7 | 4,5 ± 1,0 | 3,3 ± 1,2 | 2,8 ± 0,5 | 3,8 ± 0,9 |
| Rata-rata | 2,7 ± 2,4 | 4,3 ± 0,3 | 6,8 ± 3,9 | 9,3 ± 7,2 | |

Keterangan : standar deviasi dihitung dari sampel yang membentuk akar

Terbentuknya akar yang banyak menunjukkan kandungan auksin endogen yang tinggi di dalam eksplan, seperti dikemukakan Staba (1980), Narayanaswamy (1989), dan Collin & Perry (1998), bahwa konsentrasi endogen yang tinggi akan menyebabkan inisiasi akar. Di dalam penelitian ini tingginya kandungan auksin endogen diduga sebagai penyebab terbentuknya akar yang banyak pada kalus, akibat penggunaan 2,4-D pada tahap induksi kalus. Pembentukan akar yang semakin banyak dengan penambahan konsentrasi auksin yang tinggi mempercepat pertumbuhan primordia dalam pembentukan akar, dengan mempercepat pembelahan sel-sel primordia.

Kalus yang disubkultur tanpa zat pengatur tumbuh pada tahap induksi kalus, tidak mengalami diferensiasi menjadi akar, yang tumbuh hanyalah rambut akar (Gambar 3), hal ini disebabkan pengaruh penggunaan 2,4-D. Jacobsen (1983) mengemukakan bahwa 2,4-D mudah terakumulasi dalam jaringan karena mempunyai mobilitas yang tinggi dengan laju oksidasi dan konjugasi yang remah, serta stabilitas yang tinggi. Dengan demikian, kalus yang disubkultur pada medium tanpa zat pengatur tumbuh tetap mendapat pengaruh dari auksin sehingga terdiferensiasi membentuk rambut akar.



Gambar 3. Kalus yang Disubkultur Pada Medium MS Tanpa Zat Pengatur Tumbuh, (A) bulu halus/rambut akar (B) kalus.

SIMPULAN DAN REKOMENDASI

Zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 4 mg/l, yang ditambahkan ke dalam medium MS pada perlakuan induksi kalus, Memacu pertumbuhan kalus pada kultur tunas rumput Benggala (*Panicum maximum*). Kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan, dengan jumlah kalus yang tumbuh pada minggu ke- 4 adalah 46,2 persen serta kalus tampak remah atau friable. Untuk organogenesis, persentase kalus yang membentuk akar terbanyak pada kombinasi 0 mg/l 2iP (auksin) + 3 mg/l NAA (sitokinin) yaitu 100% rerata jumlah akar terbanyak pada kombinasi 0 mg/l 2iP + 3mg/l NAA yaitu 9,0 mm dan akar terpanjang pada kombinasi 0mg/l 2iP + 3 mg/l NAA yaitu 17,0 mm dengan warna kalus bervariasi dari putih, kekuningan sampai coklat. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut pada minggu ke- 3 menghasilkan jumlah akar terbanyak dan akar terpanjang dibandingkan dengan konsentrasi lain.

Perlu diadakan penelitian lanjutan mengenai induksi kalus dan organogenesis pada eksplan rumput Benggala (*Panicum Maximum*) menggunakan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang sesuai untuk menentukan konsentrasi optimal sehingga menghasilkan plantlet yang terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

Abidin, Z. 1985. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.

Astuti, M. 1980. *Rancangan Percobaan dan Analisa Statistik*. Yogyakarta: Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada.

Collin, H. A., & R. Perry. 1998. *Plant Cell Culture*. New York: Bios. Scientific pub. Limited.

Dodds, J. H., & L.W. Robert. 1989. *Experimentals in Plants Tissue Culture. 2nd edition*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Estuningsih, S. P. 1995. *Budidaya Tembakau Nicotiana labacuml. Temanggung yang berciri Srintil secara In-Vitro*. [Tesis]. Yogyakarta: program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada.

Fanindi A, & A. Sutedi. 2014. Karakter Morfologi Rumput Benggala (*Panicum maximum cv. Gatton*) yang Ditanam Menggunakan Jenis Benih Berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner (JITV)*. 19(1): 1-8

Fitriani, H., Wahyuni, S. Kurniawati, & N. S. Hartati. 2013. Inisiasi Kultur In Vitro Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum Schumach*) untuk Multiplikasi Tunas Majemuk. *Prosiding Seminar Nasional dan Forum Komunikasi Industri Peternakan dalam rangka Mendukung Kemandirian Daging dan Susu Nasional*. Hlm. 409-418.

George, F. E. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Eversly, Bassing stoke, Hants, England: Exegetics Ltd.

Indah, P. N., & D. Ermavitalini. 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): 23-29.
- Indrianto, A. 2002. *Bahan Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Jacobsen, H. J. 1983. *Biochemical Mechanisms of Plant Hormone Activities*. Dalam: Evans, D.A., W.R. Sharp, P.V. Ammirato, Y. Yamada (edits.). *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 1: Techniques for Propagation and Breeding. New York: Macmillan Co.
- Krikorian, A. D., K. Kelly, & D. L. Smith. 1990. *Hormon in Tissue Culture and Micropropagation*. Dalam: Davies, P.J (edit). *Plant Hormone and Their Role in Plant Growth and Development*. Netherland: Kluwer Academic Publishers.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1):63-68.
- Murashige, T. 1974. Plant Propagation through Tissue Culture. *Annual Review of Plant Physiology*. 25:135-166.
- Narayanaswamy, S. 1989. *Regeneration of plants from Tissue culture*. Dalam Reinert, J dan Y. B.S. Bajaj (edits). *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Berlin: Springer-Verlag.
- Purbajanti, E. D., D. Soetrisno, E. Hanudin, & S. P. S. Budhi. 2010. Respon Rumput Benggala (*Panicum maximum L.*) terhadap Gypsum dan Pupuk Kandang Di Tanah Salin. *J. Agron. Indonesia*. 38(1): 75-80.
- Rasud, Y., & Bustaman. 2020. Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 25 (1): 67-72.
- Rusdianto, & A. Indrianto. 2015. Peningkatan Pembentukan Embrio Somatik Pada Wortel (*Daucus Carota L*) Menggunakan N6-benzylaminopurine (BAP). *Jurnal Bionature*. 16(2): 91-97.
- Russell, J. S., & H. R. Webb. 1976. *Tropical Grasses*. By P. J. Skerman and F. Riveros, Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nation.
- Staba, C. J. 1980. *Plant Tissue Culture as a Source of Biochemical*. Florida: Crc Press Inc.
- Subekti, E. 2009. Ketahanan Pakan Ternak Indonesia. *Mediagro*. 5(2): 63-71.
- Thorpe, T. A., & A. Patel. 1984. *Clonal Propagation Adventitious Bud*. Dalam I.K.Vasil (Ed). *Cell Culture and Somatic Cell Genetic of Plant. Laboratory Practical and Their Application*. Volume I. London: Academic Preess Inc.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.