Jurnal Agroekoteknologi FP USU *E-ISSN No. 2337- 6597*
Vol.5.No.3, Juli 2017 (70): 532- 536

Pengaruh Jenis Eksplan dan Komposisi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Induksi Kalus Pada Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

The Effect of Explants Type and Growth Regulators Composition on The Callus Induction of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Ira Tiarma Sari Damanik, Rosmayati*, dan Luthfi Aziz Mahmud Siregar
Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian USU Medan 20155
**Corresponding author*: tanjungrosmayati@yahoo.co.id

ABSTRACT

The aim of the research was to know the effect of explants type and growth regulators composition on the callus induction of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). The research was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Department of Agriculture, North Sumatra from July to September 2016. The completely randomized design was used with two factors i.e: type of explant (leaf, stem, petiole) and medium (MS; MS + 1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP; MS + 2 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP; MS + 3 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP; MS + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP; MS + 2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP; MS + 3 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP). The results showed that the type of explant significantly affected the percentage of callus formed. The growth regulators composition significantly affected the percentage of callus formed. The stem explant were the best explant. The medium of MS + 3 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP, MS + 2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP, MS + 3 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP were the best medium for the percentage of callus formed.

Keywords: binahong, callus induction, explants, growth regulators

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus pada tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Dinas Pertanian Sumatera Utara pada bulan Juli sampai dengan September 2016. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 2 faktor yaitu jenis eksplan (daun, batang, tangkai daun) dan zat pengatur tumbuh (MS; MS + 1 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; MS + 2 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; MS + 1 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP; MS + 2 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP; MS + 3 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP). Hasil penelitian menunjukkan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase terbentuk kalus. Komposisi zat pengatur tumbuh berpengaruh nyata terhadap persentase terbentuk kalus. Eksplan batang merupakan eksplan yang terbaik. Media MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP, MS + 2 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP, dan MS + 3 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP merupakan media yang terbaik untuk persentase terbentuk kalus.

Kata kunci: binahong, eksplan, induksi kalus, zat pengatur tumbuh

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat meningkat terhadap penggunaan tanaman obat dikarenakan obat-obatan yang berasal dari tanaman diyakini kurang memberikan efek samping dibandingkan dengan obat- obat sintetik. Seiring dengan hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan pencarian sumber tanaman obat. Permintaan akan bahan baku tanaman obat yang beragam dipengaruhi oleh berbagai jenis penyakit yang diderita (Khairunisa, 2009). Binahong (*Anredera cordifolia*

(Ten.) Steenis) merupakan tanaman obat yang potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Bagian dari tanaman binahong hampir semuanya dapat dimanfaatkan, mulai dari batang, akar, bunga, dan daun, akan tetapi bagian yang banyak digunakan sebagai bahan obat herbal adalah bagian daun (Sugiyarto dan Kuswandi, 2014).

Adanya manfaat yang beragam tersebut mendorong para ahli untuk melakukan penelitian yang terkait dengan bahan bioaktif binahong, sedangkan penelitian yang berkaitan dengan teknik perbanyakan masih jarang dilakukan. Semakin banyak manfaat yang dirasakan maka semakin meningkat kebutuhan akan bahan baku obat yang diperlukan. Apabila hal ini terjadi secara terus menerus dapat mengancam kelestarian binahong. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai perbanyakan atau budidaya tumbuhan obat (Khairunisa, 2009).

Kelestarian binahong dapat terjaga jika dilakukan upaya budidaya. Perbanyakan secara *in vitro* melalui teknik kultur jaringan merupakan cara yang tepat untuk melakukan upaya konservasi binahong karena melalui metode kultur *in vitro* akan diperoleh tanaman dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat dan akan menghasilkan tanaman baru yang seragam. Pada metode kultur jaringan pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) penting untuk memacu pertumbuhan eksplan. Fungsi ZPT dalam kultur *in vitro* adalah untuk memacu pertumbuhan tunas dan pengakaran. ZPT yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Gunawan 1992).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro*. Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid (Rahayu *et al*., 2003). BAP adalah salah satu sitokinin yang banyak dipakai dalam kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh ini menunjukkan pengaruh yang beragam terhadap pembentukan tunas (Hatta *et al.*, 2008).

Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk mengetahui pengaruh jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus pada tanaman binahong.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan UPT, Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Dinas Pertanian, Sumatera Utara pada bulan Juli sampai dengan September 2016.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun, batang, dan tangkai daun binahong hijau yang masih muda, larutan stok media MS (*Murashige and Skoog*), 2,4 D dan BAP, agar, *aquadest*, alkohol, detergen, air, dithane, klorox 10%, tween, kertas saring, dan bahan-bahan lainnya.

Alat-alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, botol kultur, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, *dissecting set*, timbangan analitik, rak kultur, *hot plate*, *magnetic stirer*, lampu bunsen, pH meter, oven, dan alat-alat lainnya.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu jenis eksplan (E_1: daun, E_2: batang, E_3: tangkai daun) dan zat pengatur tumbuh (Z0: MS; Z_1: MS + 1 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; Z_2: MS + 2 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; Z_3: MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP; Z_4: MS + 1 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP; Z_5: MS + 2 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP; Z_6: MS + 3 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP). Sehingga diperoleh kombinasi perlakuan 21 dengan jumlah ulangan 6. Jika perlakuan berbeda nyata dalam sidik ragam maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$.

PELAKSANAAN PENELITIAN

Semua alat-alat dicuci kemudian dibungkus dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121^{o}C dengan tekanan 17,5 psi 60 menit. Media yang digunakan adalah media MS padat dengan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP. Media tersebut ditambahkan 30 g sukrosa dan 7 g agar, dimasak diatas *hot plate* sampai larutan larut dan homogen dengan pH 5,6-5,8. Kemudian media di sterilisasi dengan tekanan 17,5 psi pada suhu 121°C selama 20 menit di *autoclave*. Seluruh permukaan LAFC dilap dengan alkohol 96% lalu disterilkan dengan sinar Ultra Violet selama 1 jam sebelum proses penanaman dilakukan.

Eksplan dicuci dengan detergen dan dibilas 3 kali. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan memberikan dithane 2 g/L dengan campuran air 30 menit, dibilas dengan aquadest steril 3 kali. Selanjutnya direndam dalam klorox 10% 15 menit, lalu dibilas dengan aquades steril 3 kali. Eksplan kembali direndam dengan tween 10 menit, dibilas dengan menggunakan aquades steril 3 kali, lalu ditiriskan.

Eksplan ditanam sesuai dengan perlakuan di LAFC yang telah disemprot alkohol. Ukuran eksplan yang digunakan adalah daun 1x1 cm, batang dengan panjang 1 cm, dan tangkai daun dengan panjang ±1 cm. Setiap botol kultur terdiri dari 1 eksplan. Kemudian botol kultur ditutup dan diletakkan di rak kultur. Botol-botol diletakkan pada rak kultur sesuai dengan bagan penelitian. Rak kultur disemprot alkohol 96% setiap hari agar tidak terjadi kontaminasi. Suhu ruangan kultur diatur ±20-25^{0}C, dengan penyinaran lampu fluorencent (neon) dengan intensitas cahaya 2.000 lux.

Subkultur dilakukan setelah empat minggu setelah muncul kalus. Proses perbanyakan dilakukan dengan memasukkan kalus ke dalam botol kultur pada medium baru sesuai dengan perlakuan.

Peubah amatan pada penelitian ini adalah persentase terbentuk kalus (%) dan waktu muncul kalus (HST)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan, diperoleh bahwa perlakuan jenis eksplan memberikan pengaruh nyata terhadap persentase terbentuk kalus. Pada perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh memberikan pengaruh nyata terhadap persentase terbentuk kalus.

Persentase Terbentuk Kalus (%)

Hasil pengamatan serta sidik ragam terhadap parameter persentase terbentuk kalus pada perlakuan jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh menunjukkan pengaruh yang nyata. Rataan persentase terbentuk kalus dari perlakuan jenis eksplan dan komposisi media dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh terhadap rataan persentase terbentuk kalus (%)

Eksplan	ZPT							Rataan
	Z_0	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	Z_5	Z_6	
E_1	0	75	50	80	50	80	80	59,29b
E_2	60	100	100	100	83,33	100	100	91,90a
E_3	0	33,33	100	100	100	100	100	76,19b
Rataan	20,00d	69,44c	83,33b	93,33a	77,78b	93,33a	93,33a	

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%.

Tabel 1 memperlihatkan persentase terbentuk kalus tertinggi pada perlakuan jenis eksplan terdapat pada perlakuan E_2 (batang) dengan rataan 91,90% dan terendah pada perlakuan E_1 (daun) dengan rataan 59,29%. Perlakuan jenis eksplan dengan perlakuan E_1 dan E_3 berbeda nyata dengan perlakuan E_2. Kalus ini dapat terbentuk sesuai dengan teori totipotensi yang menyatakan bahwa setiap sel mempunyai kemampuan untuk tumbuh menjadi individu baru jika berada pada lingkungan yang sesuai. Menurut Sugiyarto (2012) menyatakan bahwa kondisi lingkungan untuk kultur jaringan harus terkontrol, baik dari segi suhu, kelembaban dan cahaya.

Pada perlakuan komposisi zat pengatur tumbuh yang berbeda memperlihatkan persentase terbentuk kalus tertinggi terdapat pada perlakuan Z_3 (MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP), Z_5 (MS + 2 mg/L 2,4 D + 1mg/L BAP), dan Z_6 (MS + 3 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP) dengan rataan 93,33%, sedangkan persentase terbentuk kalus terendah pada perlakuan Z_0 (MS) dengan rataan 20,00%. Komposisi zat pengatur tumbuh Z_3, Z_5 dan Z_6 berbeda nyata terhadap perlakuan Z_0, Z_1, Z_2 dan Z_4. Terbentuknya kalus tersebut sangat dipengaruhi oleh adanya auksin dan sitokinin. Suyitno dan Henuhili (2011) menyatakan bahwa auksin berperan merangsang pembelahan dan pembesaran sel, pembentukan kalus dan akar, sedang sitokinin sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. ZPT berperan sebagai pengatur metabolisme, mitosis dan deferensiasi sel.

Waktu muncul Kalus (HST)

Hasil pengamatan terhadap parameter waktu muncul kalus pada perlakuan jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh menunjukkan bahwa umur muncul kalus tercepat terdapat pada E_2Z_1 yaitu perlakuan jenis eksplan batang dalam media MS + 1 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP. Rataan waktu muncul kalus dari perlakuan jenis eksplan dan komposisi media dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut Robbiani *et al.* (2010) menyatakan bahwa perbandingan konsentrasi yang tepat antara sitokinin dan auksin akan memacu pertumbuhan eksplan kultur *in vitro*. Oleh karena itu, konsentrasi zat pengatur tumbuh perlu diperhatikan untuk keberhasilan teknik kultur jaringan. Rataan umur muncul kalus tercepat terdapat pada E_2Z_1 yaitu perlakuan jenis eksplan batang dalam media MS + 1 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP dengan rataan 6,25 dan yang terendah terdapat pada E_1Z_3 yaitu perlakuan jenis eksplan daun dalam media MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP dengan rataan 13,25 hal ini dikarenakan auksin yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin mengakibatkan terbentuknya kalus pada eksplan. Hal ini didukung oleh Dodds dan Roberts (1995) yang menyatakan bahwa organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan yang berbeda. Pada umumnya kalus muncul pada bagian yang terluka.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh terhadap rataan lama muncul kalus (hari setelah kultur / HST)

Eksplan	**ZPT**							**Rataan**
	Z_0	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4	Z_5	Z_6	
E_1	-	10,67	11,50	13,25	12,50	12,00	10,50	11,74
E_2	10,00	6,25	6,75	7,00	7,20	6,75	7,20	7,31
E_3	-	8,00	7,33	7,00	9,00	9,00	9,67	8,33
Rataan	10,00	8,31	8,53	9,08	9,57	9,25	9,12	

SIMPULAN

Eksplan batang merupakan eksplan yang terbaik untuk persentase terbentuk kalus. Medium MS + 3 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L BAP, MS + 2 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP, dan MS + 3 mg/L 2,4 D + 1 mg/L BAP merupakan medium yang terbaik untuk persentase terbentuk kalus. Interaksi antara perlakuan jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh belum memberikan pengaruh yang nyata terhadap semua peubah amatan.

DAFTAR PUSTAKA

Dodds, J. H. and Roberts, L W. 1995. *Experiments in Tissue Culture. Third Edition.* Cambridge University Press. Cambridge.

Gunawan, L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Tanaman Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hatta, M., M. Hayati dan U.Irayani. 2008. Pengaruh IAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam (*Pogestemon cablin* Benth) In Vitro. J. Floratek 3: 56 – 60.

Khairunisa, R. 2009. Penggunaan Beberapa Jenis Sitokinin Terhadap Multiplikasi Tunas Dan Pertumbuhan Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten.] Steenis) Secara *In vitro*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Rahayu, B. Solichatun, dan E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L.. Biofarmasi 1(1).

Robbiani, D., T. Nurhidayati, dan N. Jadid. 2010. Pengaruh Kombinasi Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin Pada Kultur *In vitro* Eksplan Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. var. Prancak 95). Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Sugiyarto, L. 2012. Pengenalan Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Pembuatan Media dan Metode Sterilisasi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

Sugiyarto L. dan P. C. Kuswandi. 2014. Induksi Kalus Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* L.) Dalam Upaya Pengembangan Tanaman Obat Tradisional. J. Sains Dasar 3(1):56 – 60.

Suyitno, A. dan V. Henuhili. 2011. Induksi Kalus dan Organogenesis Tanaman Ngukilo (*Gynura Procumbens* (Lour.) Merr.) Dengan 2,4 D dan Kombinasi NAA - Air Kelapa Secara *In vitro*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.