

Induksi dan Pertumbuhan Kalus Batang Melati (*Jasminum Sambac*) pada Media MS dengan Penambahan Giberelin

Eka Nurmalita Sari Yulia, Lukas S. Budipramana, Evie Ratnasari

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

ABSTRACT

Plants jasmine (*Jasminum sambac*) is a plant that has many benefits in agriculture and health, because they contain tannin, volatile oil, hesperidin, daucosterol and essential oil. Propagation techniques traditionally jasmine by stem cuttings are many obstacles encountered among others, the quality of seedlings produced less good, percentage of rooted cuttings and sprout is not too much. This problem can be overcome by tissue culture. The purpose of this study was to determine the effect of various gibberellins concentration on callus induction and growth (long induction, callus mass and texture of the callus) internodus jasmine (*Jasminum sambac*). This research method using a completely randomized design (CRD) with one parameter namely the addition of an organizing growing gibberellins with 5 different concentration are, 6 ppm, 5,5 ppm, 5 ppm, 4,5 ppm, and 4 ppm. Each treatment was repeated 5 times. Parameters observed was old callus induction, callus mass, and texture of the callus. The data obtained were analyzed using qualitative descriptive analysis and test one way anova and if there is a difference followed by Duncan test. The results showed that treatment C at a concentration of 5 ppm can result in the fastest time of induction, the greatest mass and produced callus friable texture.

Key words: callus induction, *Jasminum sambac*, gibberellins

PENDAHULUAN

Hampir seluruh bagian tanaman melati dapat dimanfaatkan, tetapi bunganya merupakan bagian tanaman yang mempunyai nilai ekonomis yang paling tinggi. Bunga melati berukuran kecil (diameter sekitar 1 - 2 cm) berwarna putih, dan beraroma harum semerbak. Tanaman melati (*Jasminum sp*) termasuk famili Oleaceae. Tanaman penghasil minyak atsiri yang dikenal dengan *jasmine oil*.

Teknik perbanyakan melati secara tradisional dengan cara setek batang banyak dijumpai kendala, antara lain kualitas bibit yang dihasilkan kurang baik. Permasalahan utama dalam penyetakan dan layering ialah presentase stek yang berakar dan bertunas tidak terlalu tinggi (Wuryaningsih, 1997). Akibatnya produksi bunga melati di Indonesia masih rendah, yaitu rata-rata 3.160 kg/tahun (Effendi, 1995). Kendala perbanyakan tanaman melati secara tradisional tersebut dapat di atasi dengan memperbanyak tanaman melati melalui teknik kultur jaringan dan dapat menghasilkan tanaman melati berkualitas. Kultur jaringan akan lebih besar persentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem. Keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh media yang digunakan. Bahan-bahan pada media terdiri atas unsur hara makro (N, P, K, Mg, Ca dan S) dan hara mikro (Fe, Mn, Cl, Zn, B, Cu dan Mo), sumber karbon dan energi, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Selain dari

unsur hara, pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan diatur oleh hormon tumbuh. Giberelin termasuk hormon tumbuh, karena zat ini ditemukan dalam tubuh tumbuhan. Asam giberelat dapat bekerja bersama-sama dengan auksin dan sitokinin dalam media, sifatnya sama dengan auksin. Selain media tumbuh, penambahan air kelapa yang mengandung asam amino, vitamin, gula dan zat pengatur tumbuh sangat berguna untuk media pertumbuhan kalus serta morfogenesis (Katuuk, 1989). Untuk melihat tingkat optimasi pertumbuhan yang terjadi akibat perlakuan diamati massa kalus yang terbentuk (Santoso, 2004). Tekstur kalus yang diharapkan untuk membentuk struktur seperti embrio ialah kalus tipe *friabel*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Gedung C9 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Bahan yang digunakan ialah melati (*Jasminum sambac*), hara MS, gula 30 g/L, agar batang 10 g/L, akuades steril, giberelin, air kelapa, alkohol 70%, pemutih, antiseptik, sabun cair, KOH 1M dan HCl 1M. Pada penelitian alat-alat yang terbuat dari kaca dan logam disterilkan dengan cara dipanaskan menggunakan oven dengan suhu 160°C selama 45 menit (Katuuk, 1989).

Pembuatan stok larutan. Membuat stok larutan hara makro (stok A, B, C dan D), hara mikro (stok E dan F), stok zat besi (stok G) dan stok ZPT. Pembuatan stok ZPT untuk 25 ppm dengan cara melarutkan hormon GA3 sebanyak 25 mg ke dalam 1 L air. Larutan stok dituang dalam botol kaca dan disimpan di dalam lemari es.

Pembuatan Media Murashige dan Skoog. Akuades sebanyak 500 ml dimasukkan ke dalam gelas piala 1000 ml, ditambahkan gula sebanyak 30 g kemudian diaduk hingga larut. Menambahkan mio-inositol 100 mg, thiamin-HCl 0,1 mg, piridoksin HCl 0,5 mg, glisin 2 mg, dan asam nikotinat 0,5 mg. Memasukkan stok A, B dan G masing-masing sebanyak 20 ml, kemudian menambahkan stok C, D, E dan F masing-masing sebanyak 5 ml. Mengukur pH berkisar 6,5 dengan pH meter. Jika terlalu basa, ditambahkan HCl 1M dan jika terlalu asam, ditambahkan KOH 1M. Menuangkan larutan ke dalam panci. Kemudian ditambahkan 10 g agar bubuk dihomogenkan. Media dipanaskan dengan kompor dan diaduk-aduk. Setelah media mendidih, media dituang ke dalam gelas piala 1000 ml. Media ditambahkan air kelapa sebanyak 200 ml, dihomogenkan. Kemudian ditambahkan akuades 750 ml. Media dibagi menjadi 5 bagian, kemudian ditambahkan masing-masing 50 ml konsentrasi zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Media dihomogenkan, kemudian media dimasukkan ke dalam botol kultur, masing-masing sebanyak 10 ml media tiap botol kultur. Botol yang telah berisi media ditutup dengan *aluminium foil* lalu disterilisasi dalam autoklaf dalam tekanan 1,4 kg/cm² dan temperatur 130 °C selama 20 menit. Botol dikeluarkan dari autoklaf, dibiarkan selama 3 hari, jika tidak terjadi kontaminasi media dapat digunakan.

Pemeliharaan kultur. Botol kultur yang telah diinokulasi diletakkan pada rak kultur sesuai tata letak unit percobaan dengan pencahayaan lampu TL 20 watt yang diletakkan 25 cm di atas botol kultur dan rata-rata suhu 29° C.

Pengamatan dilakukan setiap hari sampai terbentuk kalus hingga 30 hari setelah inokulasi. Penimbangan massa kalus dilakukan setelah media yang menempel pada kalus dibersihkan.

Dalam penelitian ini, data yang dijadikan parameter pengamatan ialah data lama induksi pertumbuhan kalus pada eksplan tanaman melati (*Jasminum sambac*) yang meliputi waktu pembentukan kalus, massa kalus dan tekstur kalus.

Data tentang biomassa kalus yang merupakan data kontinu dianalisis menggunakan

ANOVA 1 arah untuk melihat pengaruh pemberian GA pada media terhadap eksplan, jika terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan Uji Duncan's untuk melihat perbedaan setiap perlakuan. Sedangkan data kecepatan pembentukan kalus dengan satuan hari yang merupakan data diskrit dianalisis secara deskriptif kualitatif setiap kalus, demikian pula untuk tekstur kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lama waktu induksi diamati secara visual dengan mencatat atau menghitung waktu pertumbuhan. Penghitungan dimulai dari hari pertama setelah inokulasi sampai terbentuk kalus pertama kali data hasil pengamatan dapat dilihat pada lampiran 3. Rerata lama waktu induksi kalus dari eksplan internodus melati (*Jasminum sambac*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Lama Induksi Kalus (Hari)

Konsentrasi GA	Rerata Perlakuan
4 ppm	4,8 (5 hari)
4,5 ppm	3,8 (4 hari)
5 ppm	2,7 (3 hari)
5,5 ppm	4,7 (5 hari)
6 ppm	4,7 (5 hari)

Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui, pada setiap perbedaan konsentrasi giberelin pada masing-masing perlakuan mampu menginduksi eksplan internodus melati (*Jasminum sambac*) secara *in vitro*. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa, pada perlakuan 4 ppm rerata pembentukan kalus dalam 5 hari. Perlakuan 4,5 ppm rerata pembentukan kalus dalam 4 hari. Perlakuan 5 ppm rerata pembentukan kalus 3 hari, perlakuan 5,5 ppm rerata pembentukan kalus 5 hari dan pada perlakuan 6 ppm rerata pembentukan kalus 5 hari. Induksi tercepat pada perlakuan terjadi pada hari ketiga setelah inokulasi (konsentrasi 5 ppm).

Massa Kalus (gram). Penimbangan massa kalus eksplan internodus melati (*Jasminum sambac*) dilakukan pada hari ke 30 setelah inokulasi. Kalus yang terbentuk pada hari ke 30 setelah inokulasi berwarna putih kehijauan. Kalus ditimbang menggunakan timbangan elektrik. Hasil penimbangan kalus terdapat pada lampiran 5. Rerata massa kalus pada masing-masing perlakuan sebagai berikut Tabel 2.

Tekstur kalus yang terbentuk pada eksplan diamati secara visual, dimulai terbentuk kalus pertama kali hingga kalus berumur 30 hari. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan

selama 30 hari terdapat dua tekstur kalus yang terbentuk pada eksplan, yaitu tekstur kalus remah (*friable*) dan tekstur kalus kompak. Tekstur kalus yang terbentuk didominasi oleh tekstur kalus remah. Hasil pengamatan tekstur kalus dapat berhubungan dengan lama induksi dan massa kalus.

Tabel 2. Massa kalus internodus melati (*Jasminum sambac*) pada berbagai konsentrasi Giberelin

Konsentrasi GA	Massa Kalus (g)				
	4 ppm	4.5 ppm	5 ppm	5.5 ppm	6 ppm
Total	5,85	6,33	8,38	5,92	5,83
Rerata	1,17 ^b	1,266 ^b	1,676 ^a	1,184 ^b	1,166 ^b

Pada penelitian ini didapatkan beberapa data tentang waktu induksi kalus, massa kalus dan tekstur kalus dari eksplan internodus melati. Pemberian perbedaan konsentrasi perlakuan zat pengatur tumbuh memberikan hasil dediferensiasi yang baik oleh giberelin dalam membentuk kalus. Terbentuknya kalus pada perlakuan menunjukkan, bahwa giberelin dapat memberikan pengaruh dalam pertumbuhan sel internodus melati.

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh data pembentukan kalus internodus melati yang dapat diinduksi menjadi kalus. Pembentukan kalus pada eksplan menunjukkan adanya respon sel-sel eksplan dan terdapat interaksi antara ekplan dengan media. Gejala awal terbentuknya kalus ditandai dengan pengembungan eksplan.

Efek giberelin menunjukkan, bahwa zat tersebut memiliki lebih dari satu sisi kerja utama, pemanjangan batang yang disebabkan oleh giberelin disebabkan oleh tiga peristiwa. Pertama, pembelahan sel dipacu sel apeks tajuk, terutama di sel meristematik yang terletak lebih bawah, yang menumbuhkan jalur panjang sel korteks dan sel empulur (Sachs *dalam* Salisbury dan Ross, 1995). Peningkatan jumlah sel menyebabkan pertumbuhan batang yang lebih cepat sebab setiap sel akan tumbuh. Kedua, giberelin memacu pertumbuhan sel karena giberelin meningkatkan hidrolisis pati, fruktan, dan sukrosa menjadi molekul glukosa dan fruktosa. Gula heksosa menyediakan energi melalui respirasi, berperan dalam pembentukan dinding sel, dan juga membuat potensial air sel lebih negatif pada saat tertentu. Akibat penurunan potensial air, air akan bergerak masuk lebih cepat, menyebabkan pemelaran sel dan pengenceran gula. Ketiga,

giberelin meningkatkan plastisitas dinding sel. Giberelin memacu pertumbuhan seluruh bagian, peningkatan pembelahan sel dan pertumbuhan sel tampak mengarah ke pemanjangan batang dan perkembangan daun muda. Giberelin dapat meningkatkan pengaktifan gen dan memacu pembentukan enzim khusus yang menyebabkan berlangsungnya berbagai proses fisiologis (Salisbury dan Ross, 1995). Pertumbuhan sel akan terus berlangsung dan mengadakan proliferasi membentuk kalus.

Plastisitas dinding sel yang disebabkan oleh penambahan giberelin memiliki mekanisme yang sama dengan auksin. Menurut hipotesis pertumbuhan asam, pompa proton yang terletak di dalam membran plasma memainkan peranan dalam respon pertumbuhan sel. Pada daerah pemanjangan tunas pompa proton akan dirangsang oleh hormon sehingga menurunkan pH pada dinding sel. Pengasaman dinding sel ini data mengaktifkan enzim-enzim yang dapat memecahkan ikatan silang (ikatan hidrogen) yang terdapat di antara mikrofibril-mikrofibril selulosa, sehingga melonggarkan serat-serat dinding sel. Karena dinding sel lebih plastis, sel bebas mengambil tambahan air melalui osmosis dan bertambah panjang (Campbell dan Reece, 2009).

Perbedaan rata-rata lama waktu induksi pembentukan kalus pada eksplan masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terdapat pada media, dipengaruhi oleh kadar hormon endogen pada eksplan dan perbedaan sifat kompetensi sel. Kadar hormon endogen yang berbeda-beda pada setiap eksplan, akan mempengaruhi respon suatu eksplan terhadap pemberian zat pengatur tumbuh yang diberikan, meskipun eksplan tersebut ditanam pada media kultur yang sama. Pertumbuhan serta morfogenesis jaringan yang dikulturkan diatur oleh interaksi serta keseimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan ke dalam media (eksogenous), serta hormon endogenous (Santoso, 2004). Sifat kompetensi sel merupakan sifat yang dimiliki setiap sel untuk melakukan interaksi terhadap kondisi lingkungan dan menghasilkan proses fisiologis yang dapat memacu pertumbuhan sel. Eksplan internodus melati yang dapat merespon media dengan terjadi pembentukan kalus dalam jangka waktu induksi tercepat ialah pada media C dengan konsentrasi giberelin 5 ppm (3 hari setelah inokulasi). Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi sel eksplan, setiap eksplan yang berasal dari organ dan spesies yang berbeda akan

mebutuhkan zat pengatur tumbuh yang berbeda pula (Narayanaswamy *dalam* Reinert dan Bajaj, 1989).

Secara morfologi kalus dapat diamati massa dan teksturnya. Berdasarkan tabel 4.2 diperoleh data rerata massa kalus dari masing-masing perlakuan. Massa kalus diamati dengan tujuan mengetahui perkembangan massa sel (kalus) hingga akhir penelitian. Massa sel berkembang dari suatu sel yang memiliki kompetensi merespon keadaan lingkungan dimana sel ditumbuhkan. Dalam suatu induksi, proses yang terjadi dalam sel-sel eksplan ialah dediferensiasi, diikuti oleh pembelahan sel dan pembentukan primordial organ atau embrio (Yusnita, 2003). Proses dediferensiasi pada suatu eksplan yang ditumbuhkan dalam media dapat diketahui dengan pembentukan kalus pada eksplan. Berdasarkan tabel 4.2 didapatkan hasil massa sel yang ditimbang dari kalus masing-masing perlakuan. Rerata kalus terberat terdapat pada perlakuan 5 ppm, kemudian diikuti oleh perlakuan 4,5 ppm, 5,5 ppm, 4 ppm dan 6 ppm. Berdasarkan uji parametrik anava satu arah didapatkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang nyata diantara perlakuan terhadap massa kalus internodus melati. Perbedaan tersebut menunjukkan, bahwa masing-masing perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda dari eksplan yang ditanam pada media MS yang dimodifikasi dengan pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh giberelin yang berbeda dan terdapat sifat determinasi yang berbeda dari setiap sel eksplan. Pengaruh tersebut terlihat pada massa kalus yang ditimbang dari masing-masing perlakuan. Hasil uji jarak Duncan diperoleh, bahwa perlakuan 5 ppm berbeda nyata dengan perlakuan 4,5 ppm, 5,5 ppm, 4 ppm dan 6 ppm.

Pada perlakuan 5 ppm didapatkan berbeda nyata terhadap perlakuan 4,5 ppm, 5,5 ppm, 4 ppm dan 6 ppm dengan rerata massa kalus yang paling tinggi. Hal tersebut dapat terjadi karena terdapat pengaruh dari penambahan zat pengatur tumbuh giberelin yang seimbang diduga dapat mengoptimalkan pertumbuhan kalus mulai dari kecepatan induksi hingga pembentukan massa sel dari kalus. Semakin besar ukuran kalus menunjukkan semakin tinggi aktifitas, jumlah sel-sel jaringan awal yang membelah diri dan semakin tinggi determinasi yang dimiliki. Pada konsentrasi yang sesuai hormon dapat mempercepat penyediaan atau pembentukan ATP, koenzim, kofaktor dan vitamin pada reaksi enzimatik (Santoso dan Nursandi, 2004). Sehingga pemberian giberelin pada konsentrasi yang tepat giberelin dapat memacu pertumbuhan sel

eksplan, rendahnya konsentrasi giberelin yang diberikan pada media tidak akan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel. Penambahan giberelin yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan sel eksplan. Peningkatan potensial air pada kalus yang terbentuk dapat meningkatkan potensial turgor sel, oleh karena itu dapat menurunkan daya tanggap sel terhadap air pada medium (George dan Sherrington, 1984). Turunnya daya tanggap sel terhadap medium dapat memperlambat perkembangan sel dan memiliki massa yang kecil karena pembelahan sel tidak berjalan dengan baik.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data yang telah dilakukan dapat disimpulkan, bahwa terdapat perbedaan lama waktu induksi dan massa kalus pada konsentrasi giberelin 4 ppm, 4,5 ppm, 5 ppm, 5,5 ppm dan 6 ppm, sedangkan untuk tekstur kalus tidak terdapat perbedaan. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dapat membentuk kalus secara optimal terdapat pada media MS dengan konsentrasi giberelin 5 ppm pada perlakuan C, yaitu waktu induksi 3 hari. Total rerata massa kalus 1,676 gram dan kalus yang terbentuk *friable*

DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Tengah. 2006. *Produksi Perkebunan Rakyat Menurut Kabupaten/Kota di Jawa Tengah Tahun 2006 (Ton)* (http://jateng.bps.go.id/2006/web06bab105/web06_105020303.htm) (Diakses 7 Januari 2011)
- Campbell, Neil A.; Reece, Jane. dan Michael, Lawrence. *Biology*: Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Effendie. 1995. *Analisis Usaha Tani Melati: Potensi Kelayakan dan Prospeknya*. Journal Hortikultura Vol 5.
- George, Edwin. dan Sherrington Paul. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Inggris: Exegetics Limited.
- Heddy, Suwasono. 1989. *Hormon Tumbuhan*. Jakarta: CV. Rajawali
- Hendaryono, Daisy dan Wijayani.1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hopkins, William. 1999. *Introduction to plant physiology 2^{sd} ed.* USA: John Willey & Sons, Inc.
- Katuuk, Jeannete. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Dikti Depdikbud.
- Konark. 2011. *Jasmine*. <http://konarkindex.com/K-Index/4-Jasmine/View-details.html> (Diakses 18 Oktober 2011)
- Lakitan, Benyamin. 2004. *Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman*. Jakarta: PT Raya Grafindo Persada.

- Martine, Bernice. 1994. *Tissue Culture Thecniques*. Boston: Birkhäuser.
- Martsiano. 2009. *Potensi Bunga Melati Sebagai Bahan Baku Minyak Atsiri Dan Beberapa Macam Proses Penyulingannya*.
<http://www.scribd.com/doc/28782050/potensi-bunga-melati> (Diakses 7 Januari 2011)
- Melati. 2003. *Manfaat Dan Budidaya Tanaman Melati*.
<http://www.scribd.com/doc/886872/Manfaat-dan-Budidaya-Tanaman-Melati> (15 Desember 2010)
- Nainggolan dan Pandiangan. 2006. *Pengaruh Pemberian Giberelin Dan Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Planlet Tanaman Anggrek Dendrobium sp Secara In Vitro*. Jurnal Komunikasi Penelitian.
[http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/15488/1/kpm-jun2006-%20\(6\).pdf](http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/15488/1/kpm-jun2006-%20(6).pdf). (Diakses 10 Januari 2011)
- Reinert dan Bajaj. 1989. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Bombay: Narosa Publishing House.
- Rukmana,. 1997. *Usaha Tani Melati*. Jakarta: Kanisius.
- Rusli, Meika Syahbana. 2010 . *Sukses Memproduksi Minyak Atsiri*. Jakarta : AgroMedia Pustaka.
- Salisbury, Frank dan Ross, Cleon. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, jilid 3*. Bandung: Penerbit ITB
- Samosir. 2008. *Bioteknologi Tanaman*.
http://www.iopri.org/bioteknologi_2008. (Diakses 10 Januari 2011)
- Santoso dan Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM press
- Satsiyati dan. Wuryaningsih. 1995. *Budidaya Melati*. Buku komoditas No. 4 Balai Penelitian Tanaman Hias. ISBN : 979-8842-07-3:1-22
- Steenis, Bloembergen dan Eyma. 2008. *Flora*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suhendar. 1994. *Melati*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Wetherell. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro*. Semarang: IKIP Semarang.
- Wuryaningsih. 1997. *Pengaruh Media Terhadap Pertumbuhan Setek Empat Kultivar Melati*. Jurnal Penelitian Pertanian, Vol. 16, No.2 : 99-105.