

Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan 6-Benzylamino Purine (BAP) pada Media MS secara *in Vitro*

*Leaf Callus Induction of Jasmine (*Jasminum sambac*) with Addition of Various Concentration Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) and 6-Benzylamino Purine (BAP) in Media MS in Vitro*

Maschuriyah Rosyidah*, Evie Ratnasari, Yuni Sri Rahayu

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: ocysayank11@gmail.com

ABSTRAK

Melati (*Jasminum sambac*) merupakan salah satu komoditas bernilai ekonomi tinggi, tetapi pada saat ini populasi dan pasokan melati semakin berkurang sehingga mendorong untuk pengembangan tanaman melati. Teknik perbanyakan melati dengan cara setek batang banyak dijumpai kendala, antara lain kualitas bibit yang dihasilkan kurang baik. Untuk mengatasi hal tersebut maka diperlukan perbanyakan tanaman melati yang relatif cepat secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan pengaruh induksi kalus daun melati akibat pemberian kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada media MS secara *in vitro*. Penelitian ini disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dengan menggunakan 5 perlakuan, yaitu media MS dengan 0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP, Media MS dengan 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP, Media MS dengan 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, Media MS dengan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP, Media MS dengan 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP dan setiap perlakuan ada 5 ulangan. Parameter yang diamati yaitu kecepatan waktu induksi, biomassa, warna dan tekstur. Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA satu arah) dan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada berbagai konsentrasi berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan kalus eksplan daun tanaman melati pada media MS secara *in vitro*, kombinasi konsentrasi 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP menghasilkan pertumbuhan kalus eksplan daun tanaman melati (*Jasminum sambac*) yang optimal, yaitu waktu induksi kalus pada hari ke-6, rerata biomassa kalus 1,330 gram, warna kalus hijau dan tekstur kompak.

Kata Kunci: induksi kalus; daun melati; *Jasminum sambac*; *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D); 6-Benzylamino Purine (BAP); media MS

ABSTRACT

Jasmine (Jasminum sambac) is one of the high value commodities, but at this time the population and diminishing supply of jasmine decrease, so improving of that plant is needed. To overcome this, it is necessary to propagate jasmine plant in vitro. Traditional propagation technique of jasmine by stem cuttings are not effective. This study aimed to determine the effect of callus induction of jasmine leaves due to adding the combination of growth regulators concentration of 2,4-D and BAP in MS medium in vitro. This study was conducted using a completely randomized design with five treatments, is MS medium supplemented with 0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP, MS medium with 0.5 mg/l 2,4-D + 1.5 mg/l BAP, MS medium with 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, MS medium with 1.5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP, Media MS with 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP and there were five replication of each treatment. Parameters observed that were the speed of the induction time, biomass, callus color and callus texture. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA one-way), then the least significant difference test (LSD) is obtained. The results showed that the addition of plant growth regulators 2,4-D and BAP at different concentrations affected significantly callus growth of leaves of jasmine plant on MS medium in vitro. The optimum combination concentration of 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP was the optimal concentration on callus induction (on the sixth day), callus biomass (averaged 1,330 grams), the callus has green colour and compact texture.

Key words: induction of callus; leaves of jasmine (*Jasminum sambac*); *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D); 6-benzylamino-purine (BAP); MS medium

PENDAHULUAN

Melati (*Jasminum sambac*) merupakan salah satu komoditas bernilai ekonomi tinggi, kegunaannya tidak hanya sebagai tanaman hias

pot dan taman, tetapi juga sebagai pengharum teh, bahan baku industri parfum, kosmetik, obat tradisional. Menurut Suhendar (1994) ekstrak melati umumnya terbentuk dari karbon,

hidrogen, oksigen, dan beberapa senyawa lain, misalnya nitrogen dan belerang. Komposisi ekstrak melati, antara lain: *Benzil asetat* 65%, *d-Lynalool* 15,5%, *Lynalil acetate* 7,5%, *benzyl alcohol* 6,0%, *jasmone* 3%, *indole* 2,5%, *methyl anthronilate* 0,5%, dan sedikit *phenol*.

Pada umumnya teknik perbanyakan melati dengan cara setek batang banyak dijumpai kendala, antara lain kualitas bibit yang dihasilkan kurang baik. (Wuryaningsih, 1997). Oleh karena itu, dibutuhkan metode perbanyakan dengan kultur jaringan. Teknik kultur jaringan tanaman dapat pula digunakan untuk memproduksi senyawa-senyawa kimia dari tumbuhan tertentu dengan menghasilkan kalus dari bagian tanaman tertentu yang nantinya diekstrak senyawanya (Sjahril dkk., 2011).

Kultur jaringan selain untuk teknik perbanyakan, dapat juga digunakan untuk menghasilkan dan memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti minyak atsiri hanya dengan menghasilkan kalus dari bagian tanaman tertentu, kemudian diekstrak untuk mendapatkan senyawa yang terkandung di dalamnya. Hendaryono dan Wijayani (1994) juga mengatakan bahwa untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam suatu tanaman tertentu akan lebih mudah didapat dari kalus suatu eksplan.

Zat pengatur tumbuh tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Konsep zat pengatur tumbuh (ZPT) diawali dengan konsep hormon. Hormon tanaman adalah senyawa-senyawa organik tanaman yang dalam konsentrasi rendah mempengaruhi proses fisiologis tanaman itu sendiri. Proses fisiologis ini terutama untuk pertumbuhan, diferensiasi dan perkembangan tanaman. Proses lain pun seperti pengenalan tanaman, pembukaan stomata, translokasi dan serapan hara pun juga dipengaruhi oleh kerja hormon. Hormon tanaman juga disebut dengan fitohormon, namun jarang digunakan (Wattimena *et al.*, 1992).

Golongan auksin seperti *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dapat berfungsi untuk pembentukan kalus, menghambat regenerasi tanaman dan golongan sitokinin seperti *6-Benzylamino Purine* (BAP), berfungsi untuk pembelahan sel, morfogenesis, dan pemecahan dormansi, menghambat pengguguran daun. Teknologi pengadaan bibit saat ini semakin dikembangkan seiring dengan semakin tingginya permintaan pasar pada tanaman melati terutama dengan cara

pengembangan bibit secara *in vitro* melalui teknik kultur jaringan. Pemilihan zat pengatur tumbuh sangat mempengaruhi induksi kalus pada eksplan. Zat pengatur tumbuh 2,4-D paling sering digunakan dalam menginduksi kalus karena memiliki aktivitas yang kuat untuk memacu proses dediferensiasi sel, menekan organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus tanaman. Zat pengatur tumbuh 2,4-D memiliki gugus karboksil yang dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen yang mengoptimalkan aktivitas 2,4-D dalam pembentukan kalus, (Wattimena *et al.*, 1992).

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah terdapat pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan kalus daun melati (*Jasminum sambac*) yang ditanam pada media MS secara *in vitro* dan berapa konsentrasi *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) yang optimal untuk pertumbuhan kalus daun melati (*Jasminum sambac*) pada media MS secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan kalus daun melati (*Jasminum sambac*) dan mengetahui kombinasi konsentrasi yang optimum untuk menumbuhkan kalus daun melati (*Jasminum sambac*) yang ditanam pada media MS secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013 s.d Februari 2014, di Laboratorium Kultur Jaringan UPTD Balai Pembibitan dan Pemuliaan Tanaman Dinas Pertanian Kota Surabaya.

Bahan yang diperlukan meliputi bahan tanaman yang berupa daun melati (*Jasminum sambac*) muda dan bahan kimia yang meliputi hara MS, gula 30 g/l, agar bubuk 7 gram, 2,4-D), BAP, alkohol 70% dan 96%, larutan tween 5% dan 10%, antiseptik, sabun cair, KOH 1M dan HCl. Adapun alat-alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, kertas saring, kertas label, alat-alat yang terbuat dari kaca, autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet*, lemari es, plastik wrap, plastik PP 0,3 mm, cawan petri, lampu TL 20 watt.

Prosedur penelitian meliputi persiapan, sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media MS, inokulasi eksplan dan pengamatan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima pengulangan, sehingga jumlah total unit eksperimen sebanyak

25 kali, yaitu tiap unit atau botol diisi dengan 2 buah eksplan. Perlakuan tersebut adalah A (media MS + ZPT 0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP), B (media MS + ZPT 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), C (media MS + ZPT 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), D (media MS + ZPT 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP), E (media MS + ZPT 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP).

Pengamatan dilakukan setiap hari sampai terbentuk kalus hingga 40 hari setelah inokulasi. Penimbangan biomassa kalus dilakukan setelah media yang menempel pada kalus dibersihkan. Data biomassa kalus dianalisis dengan menggunakan uji *One Way* ANAVA dengan taraf 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT dengan taraf 5%. Data kecepatan induksi kalus, tekstur dan warna kalus dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Penelitian tentang induksi kalus daun melati dengan penambahan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP pada media MS secara *in vitro* menunjukkan bahwa dengan penambahan 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh terhadap kecepatan induksi dan biomassa daun tanaman melati. Menurut George (2008) kalus dapat diinisiasi secara *in vitro* dengan cara meletakkan irisan jaringan tanaman atau eksplan pada media tumbuh dalam keadaan yang steril.

Hasil penelitian tersebut diamati pada eksplan daun tanaman melati yang diberikan perlakuan yang berbeda antara kombinasi zat pengatur tumbuh *Dichlorophenoxyacetid acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) pada media MS dengan lima macam kombinasi konsentrasi.

Perhitungan kecepatan induksi kalus dimulai dari satu hari setelah inokulasi sampai terbentuknya kalus pertama kali. Pengamatan

dilakukan hingga akhir penelitian, yaitu 40 hari setelah inokulasi.

Hasil terbaik yang dapat dilihat dari Tabel 1. Rerata kecepatan waktu induksi kalus adalah pada perlakuan C dengan kombinasi hormon 2,4-D 1 mg/l dan BAP 1 mg/l dengan rerata kecepatan induksi kalus terjadi pada hari ke-6. Rata-rata semakin meningkat, yaitu pada perlakuan B dengan kombinasi hormon 2,4-D 0,5 mg/l dan BAP 1,5 mg/l dengan rerata kecepatan induksi kalus terjadi pada hari ke-7, perlakuan D dengan kombinasi hormon 2,4-D 1,5 mg/l dan BAP 0,5 mg/l dengan rerata kecepatan induksi kalus terjadi pada hari ke-8, perlakuan A dengan kombinasi hormon 2,4-D 0 mg/l dan BAP 2 mg/l dengan rerata kecepatan induksi kalus terjadi pada hari ke-9, perlakuan E dengan kombinasi hormon 2,4-D 2 mg/l dan BAP 0 mg/l memiliki rerata kecepatan induksi kalus terlama yaitu terjadi pada hari ke-11 setelah inokulasi eksplan.

Biomassa kalus daun eksplan daun tanaman melati yang terbentuk diamati secara kuantitatif yaitu dengan cara menimbang kalus yang dihasilkan oleh eksplan daun tanaman melati (*Jasminum sambac*) yang berumur 40 hari setelah waktu inokulasi eksplan.

Penambahan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP menghasilkan biomassa yang berbeda pada tiap perlakuan. Pada perlakuan C (1 mg/l 2,4-D+1 mg/l BAP) mempunyai nilai rerata biomassa kalus paling besar, yaitu sebesar 1,330 gram, diikuti oleh perlakuan B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP) sebesar 1,166 gram, perlakuan D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP) sebesar 1,082 gram, perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP) sebesar 0,880 gram dan paling rendah pada rerata perlakuan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) yaitu sebesar 0,848 gram.

Tabel 1. Rerata kecepatan induksi kalus dari eksplan daun tanaman melati dengan penambahan berbagai konsentrasi *Dichlorophenoxyacetid acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) pada media MS secara *in vitro*.

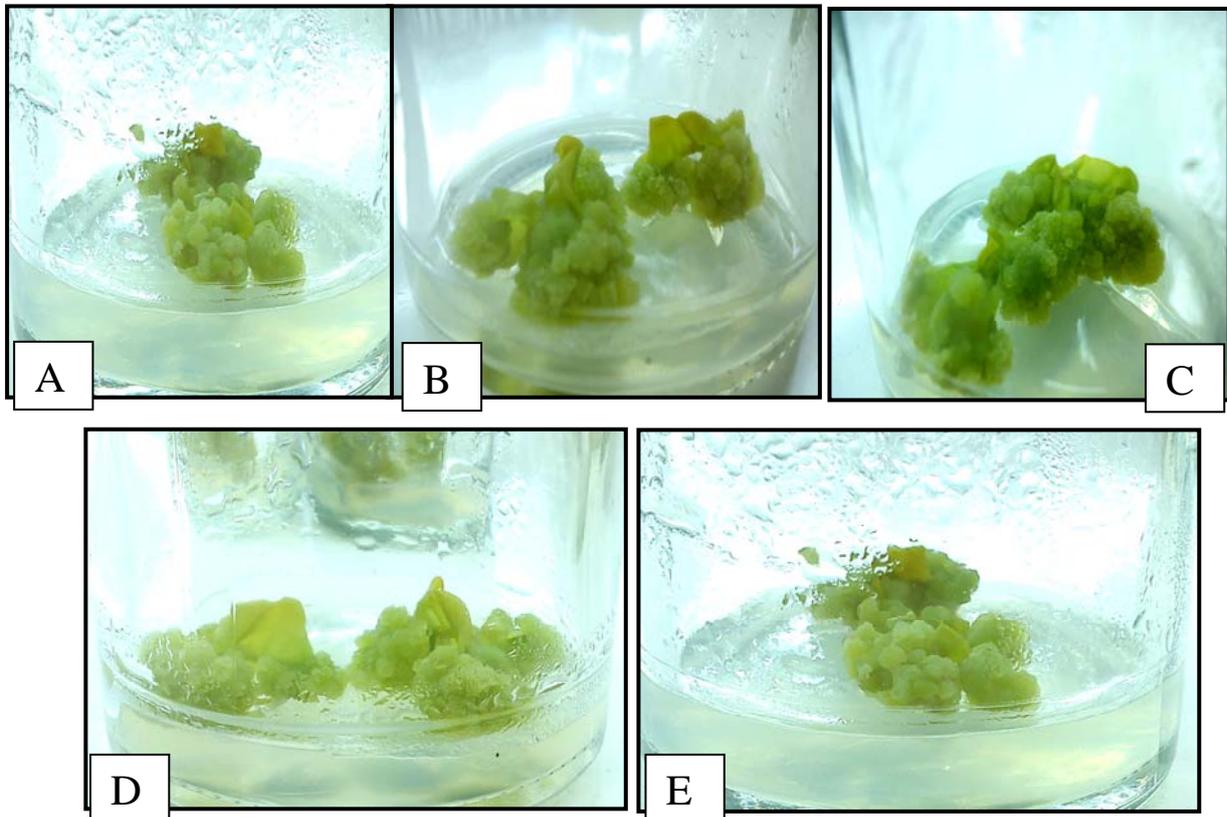
Perlakuan	Kecepatan induksi kalus (hari)				
	A	B	C	D	E
1	9	6	4	9	10
2	10	7	8	9	13
3	9	7	7	7	10
4	7	8	6	11	12
5	12	9	7	6	8
Rerata	9,4 (9 hari)	7,4 (7 hari)	6,4 (6 hari)	8,4 (8 hari)	10,6 (11 hari)

Keterangan : A= Media MS dengan 0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP, B= Media MS dengan 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP, C= Media MS dengan 1 mg/l 2,4-D+ 1 mg/l BAP, D= Media MS dengan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP, E= Media MS dengan 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP

Tabel 2. Rerata biomassa kalus daun tanaman melati dengan penambahan berbagai konsentrasi *Dichlorophenoxyacetid acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) pada media MS secara *in vitro*

Ulangan	Biomassa kalus pada tiap perlakuan (gram)				
	A	B	C	D	E
1	0,88	1,40	1,47	1,18	0,88
2	0,84	1,24	1,14	1,00	0,72
3	1,00	1,10	1,34	1,20	0,86
4	0,64	1,10	1,38	1,25	0,78
5	1,04	0,98	1,32	0,78	1,00
Rerata	0,880 ^a ±0,158	1,166 ^b ±0,161	1,330 ^b ±0,121	1,082 ^b ±0,193	0,848 ^a ±0,107

Keterangan :A= Media MS dengan 0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP, B= Media MS dengan 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP, C= Media MS dengan 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, D= Media MS dengan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP, E= Media MS dengan 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP.



Gambar 1. Hasil Terbaik dari Tiap Perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP), B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP) dan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP).

Analisis Beda Nyata Terkecil pengaruh kombinasi penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada media MS terhadap pertumbuhan biomassa kalus daun melati yaitu perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP) dan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) memiliki notasi yang

sama sehingga kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP) dan perlakuan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP). Dari hasil analisis dapat diketahui bahwa perlakuan C (1 mg/l 2,4-D

+ 1 mg/l BAP) menghasilkan biomassa kalus daun melati yang paling optimal.

Tekstur kalus yang dihasilkan dari eksplan daun tanaman melati pada perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP), B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP), E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) adalah kompak. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*nonfriable*). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. Kalus pada perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP) berwarna hijau, dan perlakuan B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP) dan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) berwarna hijau kuning.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diketahui bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada media MS memberikan pengaruh terhadap induksi kalus daun melati (*Jasminum sambac*). Eksplan daun melati yang kompeten akan merespons penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada media tanam MS ditandai dengan pembentangan eksplan dan terbentuknya massa sel yang tak beraturan, disebut kalus. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), massa sel terbentuk pada seluruh permukaan irisan eksplan, kalus biasanya muncul pada sepanjang tulang daun atau di antara tulang daun.

Induksi kalus disebabkan oleh luka atau irisan eksplan sebagai respon terhadap hormon baik secara eksogen maupun endogen. Menurut Wetherel (1982) dalam Katuuk (1989), kalus terbentuk sebagai akibat dari pengaruh hormon auksin dan sitokinin yang tinggi. Eksplan daun melati yang ditanam pada media MS secara *in vitro* mengalami pembentangan sebelum membentuk kalus. Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang terlarut dalam media akan berdifusi masuk ke dalam sel-sel eksplan daun tanaman melalui luka pada ujung-ujung eksplan. Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP akan memacu pelunakkan dinding sel dengan cara mengaktifasi pompa proton (ion H⁺) yang terletak pada membran plasma, sehingga menyebabkan derajat keasaman (pH) pada bagian dinding sel lebih rendah, yaitu mendekati pH pada membran plasma (sekitar pH 4,5). Aktifnya pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan

hidrogen diantara mikrofibril selulosa dinding sel melati. Putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding sel melati mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel melati akan menurun dan mengakibatkan pelenturan sel melati. Derajat keasaman yang rendah juga dapat mengaktifasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein atau polisakarida yang menyebar pada dinding sel yang lunak dan lentur, sehingga pembesaran sel melati dapat terjadi (Hayati *et al.*, 2010).

Penambahan sitokinin berupa BAP juga memberikan respons pada eksplan daun melati. Dalam kegiatan kultur jaringan, sitokinin berperan dalam menstimulasi terjadinya pembelahan sel dan proliferasi kalus. BAP yang ditambahkan pada media kultur akan menaikkan laju sintesis protein sehingga mendorong pembesaran dan pembelahan sel (mitosis). Sitokinin berperan terutama dalam pembentukan benang gelendong dalam tahap metafase (Santoso dan Nursandi, 2002). Adanya interaksi antara peran auksin dan peran sitokinin yang sama-sama ditambahkan pada media dengan kombinasi yang tepat akan menyebabkan eksplan daun melati mengalami induksi kalus. Kecepatan induksi kalus yang terjadi pada eksplan daun melati berbeda pada setiap perlakuan, Hal ini bergantung dari respon setiap eksplan, karena selain penambahan zat pengatur tumbuh berupa auksin dan sitokinin pada media, respon sel-sel eksplan juga dipengaruhi hormon endogen dan sifat kompeten dari setiap eksplan (Santoso dan Nursandi, 2002).

Pada perlakuan C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP) mampu menginduksi kalus lebih cepat dibandingkan dengan empat perlakuan lainnya dikarenakan pada kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 1 mg/l dan BAP 1 mg/l mampu bekerja optimal untuk mendorong terjadinya pembentukan kalus pada eksplan daun tanaman melati. Kecepatan induksi kalus makin berkurang pada perlakuan B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP), E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) dan perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP). Hal ini dikarenakan pada masing-masing eksplan daun melati memiliki sifat yang kompeten dan pertumbuhan pada daun tanaman melati kurang optimal karena tidak adanya keseimbangan dari kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP, dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada parameter biomassa kalus eksplan daun melati menghasilkan pertumbuhan yang berbeda pada setiap perlakuan. Pada Tabel 2. dapat diketahui bahwa pada perlakuan C (1 mg/l

2,4-D + 1 mg/l BAP) memiliki rerata biomassa kalus terbaik, yaitu sebesar 1,330 gram. Sedangkan pada perlakuan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) menunjukkan respon pertumbuhan biomassa kalus paling lambat, yaitu memiliki rerata biomassa sebesar 0,848 gram. Pada perlakuan A memiliki rerata biomassa sebesar 0,880 gram, perlakuan B memiliki rerata biomassa sebesar 1,166 gram dan pada perlakuan D memiliki rerata sebesar 1,082 gram. Berdasarkan uji parametrik anava satu arah didapatkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang nyata di antara perlakuan terhadap biomassa kalus daun melati. Perbedaan tersebut menunjukkan, bahwa masing-masing perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda terhadap eksplan yang ditanam pada media MS yang dimodifikasi dengan pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang berbeda dan terdapat sifat determinasi yang berbeda dari setiap sel eksplan. Pengaruh tersebut terlihat pada biomassa kalus yang ditimbang dari masing-masing perlakuan.

Tekstur kalus yang dihasilkan pada penelitian ini bertipe kompak dengan warna kalus yang berbeda, tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Yelnititis, 2012). Warna kalus yang dianggap baik adalah warna kalus yang hijau, karena masih banyak mengandung klorofil (Yelnititis, 2012). Warna kalus yang hijau tergantung dari eksplan yang digunakan. Kalus yang berwarna hijau merupakan kalus yang di dalam sel-selnya terkandung klorofil, kalus yang berwarna hijau didapat dari perlakuan C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), pada kalus yang berwarna Hijau Kuning didapat dari perlakuan A (0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP), B (0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP), D (1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP) dan E (2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP). Hasil tersebut menunjukkan perlakuan C (1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP), merupakan perlakuan yang terbaik karena memiliki kandungan klorofil paling banyak dibandingkan dengan perlakuan A, B, D dan E yang dilihat dari warna kalusnya berwarna hijau.

Konsentrasi zat pengatur tumbuh adalah faktor utama untuk mengontrol pembentukan kalus dalam media kultur, kombinasi konsentrasi yang tepat dan seimbang juga dapat menumbuhkan kalus secara optimal. Kondisi kultur (media padat, suhu, cahaya) sangat penting bagi pembentukan dan perkembangan kalus, tidak semua sel dalam eksplan berkontribusi dalam pembentukan kalus. Beberapa sel yang kompeten untuk beregenerasi sedangkan sel-sel lainnya tidak berkompeten untuk

mengekspresikan totipotensi sehingga tidak semua eksplan yang ditanam dapat merespon zat pengatur tumbuh yang di tambahkan pada media. Sel-sel eksplan daun tanaman melati pada tiap perlakuan A, B, C, D dan E merupakan sel yang kompeten sehingga dapat merespon zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) yang ditambahkan media MS secara *in vitro* sehingga dapat tumbuh menjadi kalus dengan perlakuan terbaik untuk induksi kalus tercepat 6 hari, biomassa kalus 1,330 gram, warna kalus hijau dan tekstur kalus yang kompak dari eksplan daun tanaman melati adalah 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP. Jadi, untuk menghasilkan kalus terbaik dari eksplan daun melati yang nantinya dapat diaplikasikan ke arah budidaya melati maupun pengambilan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya adalah dengan penambahan ZPT 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang sama yaitu 1mg/l.

SIMPULAN

Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap waktu induksi kalus daun tanaman melati (*Jasminum sambac*) pada media MS secara *in vitro* dan kombinasi konsentrasi 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l BAP menghasilkan pertumbuhan kalus eksplan daun tanaman melati (*Jasminum sambac*) yang optimal yaitu waktu induksi kalus pada hari ke-6 dan rerata biomassa kalus 1,330 gram.

SIMPULAN

Kami mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan UPTD Balai Pembibitan dan Pemuliaan Tanaman Dinas Pertanian Kota Surabaya atas penyediaan tempat penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- George, E, dan Paul S, 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture. England: Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Inggris: Exegetics Limited.
- Hayati, KS, Nurchayati Y, Setiari N, 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara *in vitro* dengan Penambahan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan *a-Naphtalene Acetic Acid* (NAA). *Jurnal BIOMA*, Vol. 12 (1) : 6-12, ISSN: 1410-8801.
- Hendaryono, DPS, dan Wijayani A, 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Katuuk JRP, 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Kependidikan.

- Numalita E, 2012. *Induksi dan Pertumbuhan Kalus Batang Melati (Jasmiium smabac) pada Media MS dengan Penambahan Giberelin*. Skripsi. UNESA.
- Santoso, U dan Nursandi F, 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Sjahril R, Sengin EL, Musa Y, Dachlan A, Mantja K, Feranita, 2011. *Pembiakan In Vitro*. *Bahan Ajar*. <http://www.unhas.ac.id/lkpp>. Diunduh tanggal 10 Februari 2013.
- Suhendar. 1994. *Melati*. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.A. Mattjik, dan M.N. Armini. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Wuryaningsih. 1997. Pengaruh Media Terhadap Pertumbuhan Setek Empat Kultivar Melati. *Jurnal Penelitian Pertanian*, Vol. 16 (2) : 99-105.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) [Friable callus induction from leaf explant of ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.)]. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* Vol 6 : 181 - 194.