



---

---

**OPTIMASI TEKNIK STERILISASI EKSPLAN DAN MEDIUM INDUKSI KALUS  
PORANG (*Amorphophallus muelleri* Blume) DENGAN PENAMBAHAN  
ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) 2,4-D**

Khoirunnisa\*, Ixora Sartika Mercuriani<sup>1</sup>

Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas  
Negeri Yogyakarta

\* Corresponding author: khoirunnisa4122fmipa.2018@student.uny.ac.id

**Abstrak.** Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) merupakan sumber karbohidrat yang bernilai ekonomi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan teknik sterilisasi yang optimal serta mengetahui pengaruh dan konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-dichlorophenoxy acid (2,4-D) terhadap induksi kalus porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). Penelitian ini dibagi atas dua tahap, yaitu: metode sterilisasi eksplan umbi porang (Tahap 1) dan induksi pembentukan kalus porang secara *in vitro* menggunakan ZPT 2,4-D (Tahap 2). Pada tahap 1 dicobakan 3 macam sterilan yakni: Klorok, HgCl<sub>2</sub>, dan Alkohol 70%. Penelitian tahap 2 menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi 2,4-D (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5) sebanyak 3 ulangan. Data dianalisis menggunakan *two-way* ANOVA dan uji lanjut menggunakan DMRT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi terbaik digunakan dengan bahan Klorox yaitu 3,7%. Konsentrasi 2,4-D 1 mg/L efektif menginduksi munculnya kalus paling cepat (12,40 hst), persentase pembentukan kalus tertinggi (53,40%), serta kualitas kalus terbaik (berwarna putih kekuningan/ *tender yellow*).

**Kata kunci:** *Induksi kalus, kualitas kalus, teknik sterilisasi eksplan, 2,4-dichlorophenoxy acetid acid (2,4-D)*

**Abstract.** Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) is a carbohydrate source with high economic value. This study aims to find the optimal sterilization technique and determine the effect and optimal concentration of growth regulator (PGR) 2,4-dichlorophenoxy acid (2,4-D) on callus induction of porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). This study was divided into two step there are sterilization method of porang tuber explants (step 1) and induction of porang callus formation *in vitro* using Porang 2,4-D (step 2). In step 1, three types of sterilants were tried there are : Chloroquine, HgCl<sub>2</sub>, and 70% Alcohol. Step 2 research used a completely randomized design (CRD) with a concentration of 2,4-D (0.0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5) with 3 replications. Data were analyzed using *two-way* ANOVA and further test using DMRT 5%. The results showed that the best sterilization technique was used with Chlorox, which was 3.7%. Concentration of 2,4-D 1 mg/L was effective in inducing the fastest callus

*formation (12.40 days after planting), the highest percentage of callus formation (53.40%) and the best callus quality (tender yellow).*

*Keywords: Callus induction, callus quality, explant sterilization technique, 2,4-dichlorophenoxy acetid acid (2,4-D).*

## **PENDAHULUAN**

Porang termasuk family *Araceae* (Benson, 1957), merupakan jenis tumbuhan umbi yang memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia (Sumarwoto, 2005). Dibanding dengan *Amorphophallus* yang lain porang memiliki kandungan glukomanan yang paling tinggi (Sumarwoto, 2007). Porang mempunyai banyak manfaat dalam bidang pangan, kesehatan dan industri. Dalam bidang pangan porang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan agar dan gelatin (Imelda, 2008). Dalam bidang kesehatan; porang dapat digunakan dalam pengaturan konsumsi makanan rendah kalori (Kraemer et al., 2007), pengobatan kanker (Staiano et al., 2000; Yong et al., 2016; Chen et al., 2006), mengurangi kadar kolestrol (Chen et al., 2006), mengobati kanker (Luo, 1992) dan diabetes (Vuksan et al., 1999, 2001), Dalam bidang industry; porang sering digunakan sebagai bahan pembuat cat, tekstil, kertas pita seluloid, bahan negatif film, kosmetika, dan bahan selotip (Sari, 2013).

Ekspor porang akhir-akhir ini meningkat, berdasarkan data dari Kementerian Pertanian Direktorat Jendral Tanaman Pangan (2020) bahwa ekspor chips porang meningkat dari 11.720 ton pada tahun 2019 periode januari hingga juli sampai 14.568 ton dengan periode yang sama pada tahun 2020. Tujuan ekspor porang yaitu Cina, Vietnam, Thailand, Jepang dan Hongkong. Untuk mengembangkan tanaman porang, pada tahun 2020 pemerintah mengalokasikan tanah seluas 17.886 ha, yaitu di Provinsi Jawa, Banten, NTT dan Sulawesi . Dengan diperlusnya lahan porang maka perlu perbanyak bibit porang.

Ketersediaan biji untuk perbanyak juga terbatas, karna porang mulai berbunga setelah umbi berumur tiga tahun dan pemasakan biji porang mulai dari berbunga memerlukan waktu sekitar 12 bulan (Santosa et al., 2016). Setelah porang berbunga maka umbi akan menyusut dan rusak sehingga kadar glukomannan menurun, Pada umumnya, porang dipanen sebelum tanaman berbunga. Kendala penanaman porang melalui biji dan umbi (baik umbi batang bawah maupun umbi batang atas) tersebut membutuhkan teknik perbanyak alternatif, yaitu melalui teknik kultur jaringan.

Hal ini didukung teori Husen, et al. (2018) pada permasalahan tanaman kentang, yang menyatakan bahwa untuk mengatasi keterbatasan pasokan benih kentang yang bermutu diperlukan benih kentang unggul bebas virus yang dihasilkan dari teknik kultur jaringan. Maka, peneliti megadaptasi perbanyak bibit menggunakan teknik yang sama dengan harapan mendapatkan hasil bibit yang banyak dan berkualitas baik.

Tingkat keberhasilan dalam pelaksanaan kultur jaringan sangat ditentukan oleh sejumlah faktor, terutama sterilisasi dan komposisi media yang digunakan. ZPT merupakan komponen yang sangat penting untuk pertumbuhan dan perkembangab eksplan (Indrianto, 2002). Wattimena (1988) juga menyatakan bahwa ZPT yang umum digunakan untuk menginduksi kalus adalah 2,4-D yang termasuk dalam golongan auksin.

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan teknik sterilisasi terbaik dalam menekan terjadinya kontaminasi. Hasil penelitian berupa teknik sterilisasi yang terbaik diharapkan dapat menjadi acuan penelitian selanjutnya, baik sebagai rangkaian proses kultur jaringan porang maupun dapat dimanfaatkan sebagai pengembangan teknik kultur jaringan pada tanaman umbi yang berstruktur mirip dengan porang. Pada tahap selanjutnya dilakukan pengujian penambahan 2,4-D sebagai hormon auksin yang diharapkan mampu menghasilkan bibit dengan kualitas yang lebih baik untuk memenuhi

keterbatasan bibit porang guna mendukung potensi maksimal bernilai ekonomi pada tanaman porang. Dengan demikian, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan teknik sterilisasi terbaik dalam menekan terjadinya kontaminasi, menentukan pengaruh 2,4-D terhadap terbentuknya kalus eksplan porang serta menentukan konsentrasi 2,4-D terbaik terhadap terbentuknya kalus eksplan porang.

## **METODE**

### **Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen kuantitatif yaitu memanfaatkan data kuantitatif yang diperoleh pada percobaan di dalam Laboratorium Kultur Jaringan dengan subjek penelitian yang digunakan yaitu umbi batang atas tanaman porang. Penelitian dilakukan dengan 2 tahap. Tahap 1 untuk menentukan teknik sterilisasi yang optimal dan tahap 2 untuk menentukan konsentrasi 2,4-D terbaik dalam menginduksi kalus porang.

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di persemaian dan laboratorium Kultur Jaringan, Balai Sarana Tani (BST) PG Rejo Agung Baru, Madiun. Penelitian dilakukan selama 3 bulan, yaitu pada bulan Januari 2022 – Maret 2022.

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dibagi atas dua tahap, yaitu: metode sterilisasi eksplan umbi porang (Tahap 1) dan Efektivitas 2,4-D terhadap pembentukan kalus porang *in vitro* (Tahap 2).

Pada penelitian Tahap 1 dicobakan 3 perlakuan sterilisasi (Tabel 2), sedangkan pada penelitian Tahap 2 dicobakan eksplan yang hidup dan tidak browning pada penelitian tahap 1 dengan perlakuan taraf konsentrasi 2,4-D. Masing-masing perlakuan (baik Tahap 1 maupun 2) diulang 3 kali.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan adalah autoklaf, gelas ukur, *petridish*, *scapel*, pinset, lampu bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), oven, neraca analitik, pH meter, batang pengaduk, gelas erlenmeyer, botol ukur, *aluminium foil*, kertas steril, label, penggaris, kamera. Bahan yang digunakan adalah umbi batang atas porang / *bulbil* berasal dari kebun milik bapak Ervan di Kecamatan Kare, Kabupaten Madiun, media dasar Murashige and Skoog (MS), agar-agar sebagai pematat, ZPT 2,4-D, air kelapa gading, bahan sterilan (*clorox*, Larutan HgCl<sub>2</sub>, dan alkohol 70%).

### **Prosedur Penelitian**

#### 1. Teknik sterilisasi eksplan

Teknik sterilisasi eksplan pada penelitian Tahap 1 ada 3 perlakuan sesuai dengan variable bebas yang dicobakan (Tabel 2).

**Tabel 2. Teknik Sterilisasi yang digunakan**

---

Metode A	Umbi porang direndam dalam <i>clorox</i> 20% + 1 tetes tween selama 10 menit. Dibilas dengan aquades steril, kemudian direndam lagi ke <i>clorox</i> 10% selama 7 menit dan dibilas dengan aquades steril tiga kali. Eksplan kemudian dikupas dan dipotong-potong di <i>petridish</i> yang berisi asam ascorbat 2 g/L dengan ukuran 2 cm x 2 cm dan dibakar diatas api bunsen
----------	---

---

Metode B	Umbi porang dalam HgCl <sub>2</sub> 0,1% selama 10 menit. Eksplan kemudian dikupas dan dipotong-potong di <i>petridish</i> yang berisi asam ascorbat 2 g/L dengan ukuran 2 cm x 2 cm dan dibakar diatas api bunsen.
Metode C	Umbi porang direndam di alkohol 70% selama 10 menit, dibilas dengan aquades steril 3 kali. Eksplan kemudian dikupas dan dipotong-potong dengan ukuran 2 cm x 2 cm didalam petridish yang berisi asam ascorbat 2 g/L selanjutnya eksplan dibakar diatas api bunsen.

## 2. Penentuan konsentrasi 2,4-D terbaik dalam menginduksi kalus porang.

Percobaan ke II menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan enam kali ulangan. Perlakuan yang dicobakan yaitu konsentrasi 2,4-D (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5) mg/L pada media MS. Konsentrasi ZPT 2,4-D (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5) mg/L dibuat dengan teknik pengenceran dengan aquades. 7,5 mg ZPT 2,4-D ditimbang menggunakan neraca analitik lalu diencerkan dalam 750 ml aquades steril. Selanjutnya dituangkan dalam 5 konsentrasi sesuai rancangan.

### Teknik Analisis Data

Pada teknik sterilisasi pengamatan dilakukan selama 2 minggu dan yang diamati jumlah eksplan hidup, presentase eksplan hidup, jumlah eksplan yang membentuk kalus, dan jumlah eksplan yang membentuk tunas. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh teknis sterilisasi terhadap induksi kalus porang (*Amorphophallus muelleri* Blume), jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Data yang tidak bisa dianalisis ditabulasi dan dibahas secara deskriptif.

Pada tahap kedua Pengamatan dilakukan setiap hari selama 6 minggu. Parameter yang diamati kualitatif yaitu warna kalus dan tekstur kalus, secara kuantitatif yaitu Waktu muncul kalus (hst). Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus porang (*Amorphophallus muelleri* Blume), jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Data yang tidak bisa dianalisis ditabulasi dan dibahas secara deskriptif.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Metode Sterilisasi Kalus Porang

Salah satu permasalahan yang menghambat keberhasilan kultur jaringan adalah adanya kontaminasi. Kontaminasi merupakan gangguan yang sering terjadi pada kultur jaringan, yang dapat terdiri dari bakteri, jamur, atau virus (Mariska *et.al.*, 2003). Untuk mencegah kontaminasi, dapat dilakukan teknik sterilisasi yang tepat baik terhadap alat maupun bahan serta lingkungan kerja. Kegiatan sterilisasi bertujuan untuk mengeliminasi patogen atau cendawan yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan, yang dapat menimbulkan kontaminasi sehingga menghambat pertumbuhan eksplan menjadi tanaman utuh, bahan desinfektan yang dapat digunakan menjadi tanaman untuk sterilisasi media dalam kultur jaringan, diantaranya yang umum dikenal adalah *Clorox*, HgCl<sub>2</sub>, dan alkohol 70% (Gunawan, 1992; Sugiyama, 1999). Jumlah kultur tanaman porang sesuai hasil percobaan yang terkontaminasi terbanyak didapatkan pada metode C (Alkohol 70%) yaitu 58,33% dan terkontaminasi terkecil diperoleh pada metode A (*Clorox*) yaitu 3,7% (Tabel 3). Kontaminasi ini dapat terjadi sejak 1 hari setelah tanam (HST).

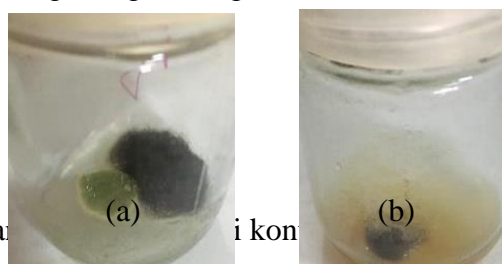
**Tabel 3. Pengaruh metode sterilisasi eksplan pada 14 hari setelah tanam.**

Metode Sterilisasi	Kontaminasi (%)	Ekplan Hidup (%)
Metode A	3,7 <sup>a</sup>	96,30 <sup>a</sup>
Metode B	50,93 <sup>b</sup>	49,07 <sup>b</sup>
Metode C	58,33 <sup>b</sup>	41,67 <sup>b</sup>

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah eksplan terkontaminasi, Hasil uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) 5% pada tabel 3 di atas menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi dengan bahan *clorox* menghasilkan rerata jumlah eksplan terkontaminasi terendah yaitu 3,7%. Perlakuan metode A berbeda nyata dengan perlakuan bahan pensteril HgCl<sub>2</sub> (Metode B) dan bahan pensteril alkohol (Metode C) dengan rerata jumlah eksplan terkontaminasi yaitu 50,93% dan 58,33%. Hal ini sesuai dengan teori bahwa beberapa penelitian menunjukkan *Clorox* 20% efektif untuk menekan terjadinya kontaminasi. Fungsi *clorox* adalah sebagai desinfektan yang kemudian dibilas menggunakan aquades steril yang bertujuan untuk membersihkan atau membilas larutan lain agar tidak mengganggu pertumbuhan kultur (Gunawan, 1988). *Clorox* atau Natrium hipoklorit banyak digunakan karena sangat efektif membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Senyawa hipoklorit mampu membersihkan mikroorganisme yang ikut dalam bahan tanaman, menghilangkan partikel-partikel tanah, debu dan lain-lain. Jika senyawa ini diberikan dalam konsentrasi rendah dan lama perendaman singkat tidak terlalu efektif dalam mengendalikan kontaminasi pada eksplan (Farooq SA *et.al.*, 2002). Perendaman kembali menggunakan asam askorbat bertujuan untuk meminimalisir terjadinya *browning* yang disebabkan keluarnya eksudat berupa senyawa fenol akibat pengirisan/penyayatan organ. George *et.al.*, (1984) menyatakan bahwa *browning* dapat ditanggulangi salah satu caranya memodifikasi potensial redoks dengan penambahan asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) pada media kultur.

Perlakuan sterilisasi dengan suhu tinggi (pembakaran) tidak umum dilakukan, namun dianggap penting apabila menggunakan eksplan yang kontak langsung dengan tanah seperti pada tanaman umbi porang. Didukung dengan teori menurut Zainuddin *et.al.* (2014), guna mendapatkan tingkat sterilisasi yang baik, maka penggunaan sterilan bahan kimia dengan ataupun disertai perlakuan fisik (pembakaran) dianggap penting untuk dilakukan pada kultur jaringan tanaman yang eksplannya bersentuhan langsung dengan tanah, seperti halnya pada tanaman bawang merah lokal Palu.

Fenomena terjadinya kontaminasi sangat beragam. Keragaman tersebut dapat dilihat dari jenis kontaminan yang lebih banyak didominasi oleh jamur dibandingkan dengan bakteri (Gambar 3). Tingkat serangan yang tinggi diakibatkan oleh sumber eksplan yang masih membawa kontaminan dalam jumlah yang banyak sehingga masih sulit untuk ditanggulangi dengan ketiga metode sterilisasi tersebut.



Gambar 4. Eksplan terkontaminasi jamur (a) dan bakteri (b)

## B. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume)

Hasil analisis varian (ANAVA) menunjukkan penggunaan zat pengatur tumbuh 2,4-D berpengaruh nyata terhadap induksi kalus porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) (Tabel 4).

**Tabel 4. Hasil Anava 2,4-D terhadap induksi kalus porang (*Amorphophallus muelleri* Blume)**

Variabel	F hitung (Rerata)	F tabel (Sig.)
Hari muncul kalus	4,51523901*	2,56
Persentase pembentukan kalus	5,475679976*	2,56

Keterangan: (\*) pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANAVA diketahui bahwa F hitung > nilai F tabel 5%, hal ini menunjukkan bahwa 2,4-D berpengaruh nyata dalam pertumbuhan kalus porang; hari muncul kalus, dan persentase pembentukan kalus. Dengan demikian, dilakukan uji lanjut menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) 5% untuk menentukan perbedaan pengaruh antar taraf perlakuan dan interaksinya (tabel 5).

**Tabel 5. Hasil Uji DMRT 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume)**

Konsentrasi 2,4-D	Pengamatan	
	Hari uncul kalus (HST)	Persentase pembentukan kalus (%)
0 mg/L	20,11 <sup>b</sup>	19,73 <sup>a</sup>
0,5 mg/L	13,33 <sup>a</sup>	47,73 <sup>b</sup>
1 mg/L	12,40 <sup>a</sup>	53,40 <sup>b</sup>
1,5 mg/L	14,13 <sup>a</sup>	15,47 <sup>a</sup>
2 mg/L	22,20 <sup>b</sup>	14,47 <sup>a</sup>
2,5 mg/L	23,15 <sup>b</sup>	11,57 <sup>a</sup>

Hasil uji DMRT 5% terhadap hari muncul kalus menunjukkan bahwa konsentrasi 1 mg/L 2,4-D merupakan konsentrasi terbaik dalam induksi kalus porang di penelitian ini. Berdasarkan olah data yang telah dilakukan, konsentrasi 1 mg/L 2,4-D merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata hari muncul kalus 12,40 HST, tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l; rata-rata hari muncul kalus 13,33 HST. Begitu juga dengan persentase pembentukan kalus, konsentrasi 1 mg/l 2,4-D merupakan konsentrasi yang mampu menginduksi kalus terbanyak dengan persentase sebesar 53,40% yang tidak berbeda nyata dengan 0,5 mg/l yakni 47,73%.

Mekanisme kerja auksin dalam pembentukan kalus adalah dengan berdifusi ke dalam jaringan tanaman melalui daerah yang mengalami perlukaan. Auksin yang diberikan (eksogen) akan merangsang auksin organik yang terkandung di dalam jaringan (hormon endogen), kemudian menstimulasi pembelahan sel terutama pada sel-sel yang berada di sekitar daerah luka membentuk kalus. Menurut Ulva *et.al.*, (2019), auksin menginisiasi pertumbuhan dan perkembangan sel dengan cara mempengaruhi

fleksibilitas dinding sel. Adapun menurut Iwase *et.al.*, (2013), dilihat dari sisi molekuler efek pemberian auksin dalam pembentukan kalus dari sebuah eksplan diperantarai oleh protein ARF7 dan ARF19 (*Auxin Response Factor*) yang akan mengaktifkan gen pembentuk kalus yaitu LBD16, LBD17, LBD18, dan LBD29 (*Lateral Organ Boundaries Domain*), kemudian LBD mengaktifkan protein E2Fa; protein yang terlibat dalam kontrol perkembangan siklus sel dari fase G1 ke S, merangsang proliferasi sel dan menunda diferensiasi sehingga terbentuk kalus.

Pada konsentrasi tinggi diketahui adanya hambatan dalam waktu pembentukan kalus dan sedikitnya persentase pembentukan kalus. Hal ini dikarenakan makin tinggi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan, induksi kalus makin terhambat. 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang dapat menyebabkan pembesaran sel dalam jaringan dan merangsang pembentukan kalus. Penggunaan 2,4-D konsentrasi rendah akan lebih baik dalam menginduksi kalus dibanding konsentrasi tinggi (Hadipoentyanti *et.al.*, 2008). Hal ini disebabkan karena 2,4-D mempunyai sifat fotoksisitas yang sangat tinggi, bila konsentrasinya berlebihan dalam tanaman.

### C. Kualitas Kalus Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume)

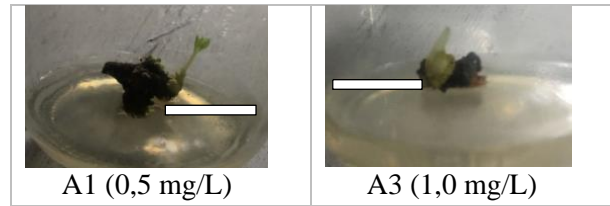
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kalus (warna dan tekstur) pada minggu setelah tanam (HST), terdapat 2 macam warna kalus yang terekspresi dari kombinasi ZPT 2,4-D yaitu warna putih dan putih kekuningan. Sedangkan untuk tekstur, dari hasil pengamatan yang telah dilakukan diperoleh satu macam tekstur kalus yaitu intermediet (tabel 6).

**Tabel 6. Pengaruh Konsentrasi 2,4-D Terhadap Warna Kalus dan Tekstur Kalus Pada Setiap Media Perlakuan.**

Konsentrasi 2,4D (mg/L)	Warna kalus	Tekstur kalus
0	Putih	Intermediet
0.5	Kuning	Intermediet
1	Putih kekuningan	Intermediet
1,5	Putih kekuningan	Intermediet
2	Kuning	Intermediet
2,5	Kuning	Intermediet

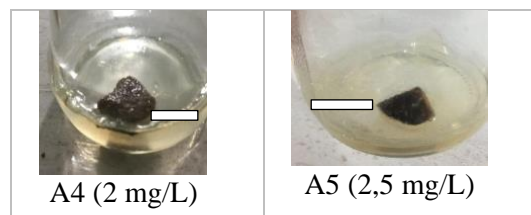
Variabel warna kalus yang diperoleh yaitu putih dan putih kekuningan (Tabel 6). Warna putih diperoleh pada variabel kontrol yakni 0 mg/l 2,4 D, sedangkan perlakuan konsentrasi 0,5 mg/L; 1 mg/L; 1,5 mg/L; 2,0 mg/L dan 2,5 mg/L 2,4-D warna yang dihasilkan yaitu putih kekuningan. Hal ini sesuai dengan pendapat Indria *et.al.*, (2016) dan Royani *et.al.*, (2015), warna putih kekuningan menunjukkan sel aktif membelah dan menghasilkan jaringan muda, sedangkan warna kuning pada kalus memperlihatkan bahwa sel masih aktif beregenerasi di usia matang.

Berdasarkan hasil pengamatan juga ditemukan regenerasi kalus yakni adanya pertumbuhan menjadi tunas pada usia akhir pengamatan (20-40 HST) pada perlakuan penambahan 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l 2,4D (Gambar 5). Tanda bahwa kalus telah beregenerasi yaitu adanya perubahan warna dan adanya benjolan pada kalus. Pada pengamatan dihasilkan warna kalus berwarna kuning hingga kehijauan. Lestari *et.al.*, (2008) menyatakan bahwa kalus yang ditanam pada media regenerasi maka terjadi perubahan warna dari putih menjadi kuning kecoklatan, kemudian kalus membentuk nodul-nodul (spot) warna hijau yang merupakan calon tunas. Perubahan warna tersebut adalah tanda adanya morfogenesis.



Gambar 6. Kalus yang brumur 33 HST yang telah beregenerasi menjadi tunas (Bar = 2 cm)

Pada perlakuan konsentrasi 2,4 D yang tinggi yakni 2 mg/L dan 2,5 mg/L ditemukan tidak adanya pertumbuhan lebih lanjut pada 30 HST. Eksplan menunjukkan adanya pencoklatan yang pekat. Hal ini terduga eksplan mengalami kematian dikarenakan konsentrasi hormon 2,4-D yang terlalu tinggi. Sesuai dengan teori bahwa kalus yang tidak dapat tumbuh disebabkan kandungan fenol yang banyak pada eksplan. Selain akibat pelukaan, munculnya senyawa fenol dalam penelitian ini kemungkinan juga disebabkan oleh penggunaan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang terlalu tinggi, 2,4-D tergolong auksin eksogen kuat yang dapat bersifat racun karena dapat menstimulasi produksi gas ethylene sehingga memacu timbulnya pencoklatan pada eksplan (Widyastuti *et.al.*, 2017). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Hapsoro *et.al.*, (2010) bahwa kesulitan untuk meregenerasi tunas, pucuk atau propagul terkait erat dengan menghitamnya eksplan disebabkan oleh eksudasi senyawa fenolik.



Gambar 7. Kalus yang brumur 30 HST yang mengalami kematian (bar = 2 cm)

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data Optimasi Teknik Sterilisasi Eksplan Dan Medium Induksi Kalus Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D dapat disimpulkan bahwa:

1. Sterilisasi dengan *clorox* menekan paling banyak kontaminan eksplan porang secara in vitro yakni 3,7%.
2. Pemberian konsentrasi 2,4-D terbukti berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus porang, hari muncul kalus, dan persentase pembentukan kalus.
3. Konsentrasi 1 mg/L 2,4-D merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata hari muncul kalus 12,40 HST, persentase pembentukan kalus sebesar 53,40%, kualitas kalus yang terbaik juga dihasilkan menunjukkan warna putih kekuningan (*tender yellow*) menunjukkan sel aktif membelah dan menghasilkan jaringan muda dan bertekstur intermediet.

### Saran

1. Dilakukan penelitian multiplikasi tunas porang untuk memperbanyak tunas yang telah ada.
2. Tunas porang segera disubkultur karna dapat menyebabkan tunas menghitam dan mengalami kematian.



3. Untuk masyarakat sebaiknya hasil dari penelitian ini dimanfaatkan dengan maksimal untuk menghasilkan bibit porang dengan kualitas yang baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Benson, L. 1957. *Plant Classification*. Boston: D. C Heath and Co.
- Chen, H. L., Cheng, H. C., Liu, Y. J., Liu, S. Y., & Wu, W. T. 2006. Konjac acts as a natural laxative by increasing stool bulk and improving colonic ecology in healthy adults. *Journal Health and Nutrition*, 22(11), 1112-1119.
- Farooq SA, Farooq TT, Rao TV (2002) Micropropagation of *Annona squamosa* L. using nodal explants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5(1): 43-46.
- George, E.F. and P.D. Sherrington 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Hand book and directory of comercial laboratories*. England:Eastern Press.
- Gunawan, L. W. 1988. *Tehnik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Gunawan, L. W. (1992). *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB.
- Hapsoro, D., M.I. Alisan, T. Ismaryati and Yusnita. 2010. *Effects of benzyladenineon in vitro shoot multiplication of banana (Musa paradisiaca Linn.)*. cv. Ambon Kuning and Tanduk. Proceed. Int. Sem. Hort. to Support Food Security. June 22-23, 2010 in Bandar Lampung, Indonesia.
- Hadipoentyanti, E. 2012. *Pedoman Teknis Mengenal Tanaman Mentha (Mentha arvensis L.) Dan Budidayanya*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat press.
- Husen, S., E. Ishartati., M. Ruhayat., dan R. Juliati. 2018. Produksi Benih Kentang Melalui Teknik Kultur In Vitro. *Jurnal Hortikultura* : 274-280.
- Imelda, M., A. Wulansari, Y.S. Poerba. 2008. Regenerasi Tunas dari Kultur Tangkai Daun Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Junal Biodiversitas*. 9(3): 173-176.
- Indria W, Mansur dan Husni A. 2016. *Pengaruh pemberian 2,4-D Terhadap Induksi Kalus dan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA Terhadap Induksi Kalus Rumput Gajah Varietas Hawaii*. Bandung : Fakultas peternakan Universitas Padjajaran press.
- Indrianto, A. 2002. *Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Biologi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada press.
- Iwase A, Ikeuchi M, dan Sugimoto K. 2013. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*. Vol. 25: 3159–3173.
- Kementrian Pertanian Direktorat Jendral Tanaman Pangan. 2020. Budidaya Porang. <http://tanamanpangan.pertanian.go.id> tanggal akses 03 Desember 2021.
- Kraemer, W. J., Vingren, J. L., Silvestre, R., Spierung, B. A., Hatfield, D. L. Ho J. Y., et al. 2007. Effect of adding exercise tp a diet containing glucomannan. *Journal of Metabolism*, 56(8), 1149-1158.
- Lestari, S. 2013. *Pengaruh Jenis Eksplan Dan Konsentrasi IBA Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Metabolit Sekunder (Stigmasteron dan Sitosterol) Kalus Purwoceng (Pimpinella alpine Molk.) pada Media MS. Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang. Malang: UIN Press.
- Luo, D. Y. 1992. Inhibitory effect of refined *Amorphophallus konjac* on MNNG-induced lung cancers in mice. *Article in Chinese*. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. *Jurnal Pertanian* 14(1): 48-50.
- Mariska, I., dan Sukmadjaja, D. 2003. *Perbanyakan Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan*. Bogor: Balai Penelitian dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Royani, Ida., Zulkifli., Prapti Sedijani. 2015. Induksi Kalus Kacang Tanah (*Arachis hypogea*) Var. Kelinci Dengan perlakuan 2,4-D dan BAP. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 1(2).
- Sari N, Ratnasari E, dan Isnawati. 2013. Pengaruh Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Bensil Aminopurin (BAP) pada

- Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) *Lentera Bio.* 2(1) : 69–73.
- Santosa, E., Lontoh, A.P., Kurniawati., A., Sari, M dan Sugiyama, N. 2016. Flower Development and Its Implication for Seed Production on *Amorphophallus muelleri* Blume (Araceae). *Jurnal Hortikultura Indonesia.* 7(2).
- Santoso, Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman.* Malang: UMM Press.
- Staiano, A., Simeone, D., Del Giudicr, E., Miele, E., Tozzi, A., & Toraldo, C. 2000. Effect of the dietary fiber glucomannan on chronic constipation in neurologically impaired children. *The Journal of Pediatrics,* 136(1), 41-45.
- Sumarwoto. 2005. Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume): Deskripsi dan Sifat-Sifat Lainnya. *Jurnal Biodiversitas* 6(3): 185-190.
- Sumarwoto. 2007. Review: Kandungan Mannan pada Tanaman Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume.). *Jurnal Bioteknologi.* 4 (1) : 28- 32
- Sugiyama, M. (1999). Organogenesis In Vitro. *Opinion on Plant Biology,* 2, 61-64.
- Ulva Maria., Yulita Nurchayati, Erma Prihastanti, Nintya Setiari.,2019. Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara In Vitro. *UNNES JOURNAL: Life Science* 8 (2).
- Vuksan, V., Jenkins, D. J., Spadafora, P., Sievenpiper, J. L., Owen, R., Vidgen, E., et al. 1999. Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. A randomized controlled metabolic trial. *Diabetes Care Journal* 22(6):913-919.
- Vuksan, V., Sievenpiper, J. L., Xu, Z., Wong, E. Y.Y., Jenkins, A. L., Beljan- Zdravkovic, U., et al. 2001. Konjac-Mannan and American ginseng: emerging alternative therapies for type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition,* 20(5).
- Widyastuti, E. 2017. *Teknologi Pemanfaatan Porang.* Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman.* Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Yong, M. K., Solah, V. A., Johnson, S. K., Meng, X., Kerr, D. A., James, A. P., et al. 2016. Effects of a viscous-fibre supplemented evening meal and the following un-supplemented breakfast on post-prandial satiety responses in healthy women. *Journal Physiology & Behavior,* 154, 34-39.
- Zainuddin Basr., Ni Kadek Pena Armila. , Mirni Ulfa Bustami.,2014. Sterilisasi Dan Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium Ascalonicum* L.) Lokal Palu Secara In Vitro. *J. Agrotekbis* 2 (2) : 129-137.