

PENGARUH PENAMBAHAN BAP TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN PORANG SECARA *IN VITRO*

Zhafira Istiqla Lailani¹ dan Paramita Cahyaningrum Kuswandi^{*},

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta

*Corresponding author: paramita@uny.ac.id

Abstrak. Porang merupakan sumber karbohidrat yang bernilai ekonomi tinggi. Untuk memenuhi permintaan porang sebagai produk diversifikasi pangan maupun produk ekspor, perlu dukungan ketersediaan benih dan budidaya yang memadai. Perbanyakkan secara *in vitro* menjadi alternatif dalam pemenuhan bibit porang yaitu melalui metode kultur kalus dengan menggunakan zat pengatur tumbuh Benzyl amino purin (BAP) pada media MS. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan BAP terhadap induksi kalus tanaman porang (*Amorphophallus muelleri*). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan beberapa konsentrasi BAP yang terdiri dari 6 level (0, 1, 2, 3, 4, 5) mg/liter sebanyak 6 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *one way* ANOVA dan uji lanjut menggunakan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BAP pada media MS berpengaruh pada pertumbuhan kalus kultur jaringan tanaman porang. Konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata waktu pelengkungan eksplan 1,450 minggu setelah tanam (mst) dan rata-rata waktu munculnya kalus 2,633 mst.

Kata Kunci: induksi kalus, BAP, *Amorphophallus muelleri*.

THE EFFECT OF BAP ADDITION ON CALLUS INDUCTION OF KONJAC PLANTS IN VITRO

Abstract. Porang (*Amorphophallus muelleri*) is a source of carbohydrates with high economic value. To meet the demand for porang as a food diversification product or export product, it is necessary to support the availability of adequate seeds and cultivation. *In vitro* propagation is an alternative in meeting the demand of good quality and large amounts of porang seeds, specifically via callus culture method using growth regulator Benzyl amino purine (BAP) on media. MS. This study aims to determine the effect of BAP on callus induction of porang (*Amorphophallus muelleri*). This study used a Completely Randomized Design (CRD), with a concentration (0, 1, 2, 3, 4, 5) mg/liter and 6 replications. Data were analyzed using one-way ANOVA and post hoc test DMRT. The results showed that the addition of BAP to MS media affected the callus growth of porang plant tissue culture. The concentration of 2 mg/L BAP was the concentration that resulted in the fastest callus induction with an average explant bending time of 1,450 weeks after planting (wap) and an average callus emergence time of 2,633 wap.

Keywords: callus induction, BAP, *Amorphophallus muelleri*.

PENDAHULUAN

Pembangunan pangan bertujuan untuk meningkatkan kualitas dan produktivitas sumber daya manusia yang merupakan bagian tak terpisahkan dari pembangunan nasional agar seluruh penduduk Indonesia sejahtera (Sawit, 2000). Mengubah citra pangan untuk tanaman yang bukan salah satu tanaman pokok di Indonesia seperti porang, harus dilakukan melalui tahapan pengembangan produk menjadi bentuk komoditas baru yang lebih menarik, dan perlu diperkaya dengan nutrisi (Gunawan, 1991). Munculnya inovasi pengembangan budidaya porang merupakan upaya diversifikasi bahan pangan serta penyediaan bahan baku industri yang dapat meningkatkan nilai komoditi ekspor di Indonesia. Umbi porang mengandung glukomanan. Glukomanan telah dikembangkan selama berabad-abad di Asia karena dianggap sebagai sumber pangan yang memiliki beberapa karakteristik fisik tertentu dan glukomanan sebagai bahan obat tradisional cina. Selain itu, produk glukomanan juga dianggap sebagai salah satu dari “top 10 health food” oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) (Chua *et al.*, 2010).

Porang adalah tumbuhan yang dapat menjadi alternatif realisasi program diversifikasi konsumsi pangan non-beras berbasis sumber daya lokal. Selain mudah didapatkan, porang juga mampu menghasilkan karbohidrat yang cukup tinggi. Pemanfaatan porang baik untuk industri pangan maupun industri non pangan masih sangat sedikit. Di Indonesia, porang sudah lama dikenal sebagai umbi-umbian yang digunakan untuk bahan makanan tetapi jarang digunakan untuk konsumsi secara langsung karena mengandung kristal kalsium oksalat yang menyebabkan rasa gatal, sehingga porang lebih sering dibuat gapek atau tepung (Mastuti *et al.*, 2008).

Budidaya umbi porang diyakini mampu meningkatkan taraf hidup warga yang tinggal di tepi hutan dan dinilai memiliki tingkat kesejahteraan rendah. Hal ini disebabkan umbi porang hanya dapat tumbuh apabila berada di bawah tegakan hutan, khususnya pohon Sono dan Jati. Hingga pertengahan tahun 2008, luas kawasan hutan yang digunakan untuk budidaya porang telah mencapai 467 hingga 688 hektar. Produksi umbi porang mengalami perbedaan tiap tahunnya karena menyesuaikan dengan luas tegakan hutan yang berubah akibat penebangan berkala dan reboisasi hutan (Mastuti *et al.*, 2008). Tantangan pengembangan tanaman porang saat ini adalah kurang dikenal oleh masyarakat di luar kawasan perkebunan PERHUTANI. Di kawasan wanatani itu sendiri, kesulitan dalam budidaya tanaman porang saat ini disebabkan oleh: (1) kurang pendidikan dan keterampilan; (2) kurang modal; (3) kurang sarana dan prasarana untuk pengembangan tanaman porang secara produktif dan kompetitif. Rendahnya pengetahuan masyarakat menyebabkan kurangnya sumber daya dalam manajemen organisasi, sehingga kepentingan individu lebih diutamakan. Kurangnya promosi penggunaan porang oleh perusahaan dan pedagang perantara juga menyebabkan harga porang sangat ditentukan oleh pedagang perantara.

Secara konvensional, budidaya porang biasanya menggunakan bagian umbi, bulbil (umbi daun atau umbi tetas), biji, dan teknik stek daun. Namun, teknik perbanyakan serta penyediaan benih porang tersebut membutuhkan waktu yang lama. Umbi mengalami dormansi selama empat bulan sebelum menumbuhkan tunas baru, sedangkan biji mengalami dormansi sepanjang musim kemarau (1-5 bulan) (Sumarwoto, 2005; Ibrahim, 2019). Penggunaan teknik konvensional lainnya seperti stek daun membutuhkan waktu sekitar lima bulan sebelum dijadikan bibit (Sumarwoto, 2008). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu metode alternatif dalam perbanyakan serta penyediaan benih porang secara cepat. Penyediaan bibit porang melalui kultur jaringan dapat menjadi solusi alternatif dalam mengatasi penyediaan bibit porang secara cepat. Keuntungan lainnya dari teknik kultur jaringan yaitu bibit yang dihasilkan homogen, bebas hama penyakit, tidak mengganggu panen, serta dapat memenuhi permintaan dalam jumlah banyak (Ibrahim, 2019).

Indirect organogenesis adalah salah satu metode induksi tunas secara *in vitro* yang didahului pembentukan kalus kemudian diinduksi menjadi tunas, akar atau embrio somatik lalu dikembangkan menjadi tanaman utuh. Manfaat dari metode tersebut adalah dapat menghasilkan bibit lebih banyak, membutuhkan sedikit lahan serta bibit yang dihasilkan bebas dari penyakit (Fauziyyah *et al.*, 2012). Kalus adalah massa sel yang awal mulanya sebagai jaringan penutup luka (Rusdianto dan Indrianto, 2012). Kalus memiliki kemampuan untuk melakukan dediferensiasi, dimana sel yang sebelumnya telah berdiferensiasi akan kembali menjadi sel meristematik, sehingga tumbuhan bisa membentuk jaringan baru. Hormon penginduksi kalus seperti auksin dan sitokinin merupakan hormon yang bertanggungjawab dalam proses induksi kalus.

Induksi kalus porang sebelumnya pernah dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis eksplan, seperti tangkai daun (Chotigamas *et al.*, 2014), daun (Chotigamas *et al.*, 2014), tunas (Supriati *et al.*, 2002), biji (Suheriyanto *et al.*, 2012), serta umbi (Aziz *et al.*, 2014). Penggunaan umbi sebagai sumber eksplan masih belum banyak dilakukan. Umbi porang merupakan sumber eksplan yang ketersediaannya selalu ada (Aziz *et al.*, 2014) serta tidak mengganggu proses pertumbuhan, sehingga perbanyakan melalui induksi kalus bisa dilakukan kapanpun.

Dalam kultur jaringan, komposisi media tanam akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman porang yang akan diperbanyak. Media tanam dalam teknik kultur jaringan terdiri dari unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin, karbohidrat, berbagai macam tambahan sesuai dengan kebutuhan tanaman, serta zat pengatur tumbuh (ZPT). ZPT yang digunakan untuk induksi kalus bisa dari golongan auksin dan sitokinin.

Sitokinin adalah golongan zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk memicu pembelahan sel, memicu pembentukan tunas, serta proliferasi tunas aksilar (Damayanti *et al.*, 2005). Adapun golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah 2-*Ip* (Isopentenyl adenin), BA (benzil adenin) atau BAP (benzyl amino purin), zeatin dan kinetin. Akan tetapi yang umum digunakan adalah BAP, karena BAP mudah diperoleh, lebih efektif dibandingkan jenis sitokinin lainnya, dan mempunyai sifat yang stabil (Indah dan Ermavitalini, 2013; Lestari, 2011). BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang berasal dari kelompok sitokinin yang paling sering digunakan pada media kultur *in vitro* dan merupakan golongan sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel dan merangsang perbanyakan tunas. BAP yang diberikan pada konsentrasi yang sesuai akan membantu dalam proses pembentukan sel-sel. Efektivitas konsentrasi BAP sangat berbeda dalam merangsang pembentukan dan pertumbuhan tunas pada berbagai tanaman yang ditanam secara *in vitro*. (Sofia, 2007)

BAP memiliki struktur yang mirip dengan kinetin dan selain mempengaruhi pertumbuhan tunas juga aktif dalam pertumbuhan dan poliferasi kalus (Sari *et al.*, 2013). Hasil penelitian Rosyidah *et al.*, (2014), menyatakan bahwa kombinasi konsentrasi 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/ 1 BAP berpengaruh terhadap waktu induksi kalus daun tanaman melati (*Jasminum sambac*) secara *in vitro* dan menghasilkan pertumbuhan kalus yang optimal yaitu waktu induksi kalus pada hari ke-6. Menurut penelitian Syahid *et al.*, (2010), kombinasi perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l+BA 0,1 mg/l merupakan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan struktur kalus yang lebih remah. Aziz *et al.*, (2014), menunjukkan bahwa hasil penelitian induksi umbi porang dengan kombinasi yang seimbang 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP mampu menginduksi kalus berwarna putih.

Dalam penelitian ini, tahap awal perbanyakan umbi porang secara *in vitro* dapat dilakukan dengan melakukan induksi kalus terlebih dahulu. Tahap ini penting untuk dilakukan karena perlu induksi kalus yang baik sehingga dapat memicu pertumbuhan tunas porang untuk menghasilkan bibit hasil kultur jaringan. Sitokinin BAP dipilih sebagai ZPT

yang akan digunakan karena diketahui dapat berpengaruh terhadap pembelahan sel dan pembentukan tunas dari eksplan.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen yang dilakukan dengan percobaan di dalam Laboratorium Kultur Jaringan dengan objek penelitian umbi batang atas (bulbil) tanaman porang. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, *Laminar Air Flow (LAF) cabinet*, lemari pendingin (kulkas), timbangan analitik, erlenmeyer, pH meter, batang pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, botol kultur, pinset, gunting, scalpel, mata pisau, cawan petri, bunsen, sprayer, pipet tetes, ATK, dan kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan umbi porang, medium Murashige and Skoog (MS) instan, agar-agar bubuk, sukrosa, akuades, alkohol 70%, alkohol 96, deterjen, 0,2% Dithane M-45, Bayclin 1,5%, HCL 1N KOH 1N, plastic wrapping, cling wrap, plastik sampel, kertas label, kertas saring, karet gelang, koran, korek api, dan tissue.

Penelitian dilakukan di persemaian dan laboratorium Kultur Jaringan, Balai Sarana Tani (BST) PG Rejo Agung Baru, Madiun, Jawa Tengah. Perlakuan penelitian dilakukan pada bulan November 2021 setelah dilakukan tata persemaian dan persiapan sterilisasi peralatan dan media untuk kultur jaringan. Pengamatan penelitian dilakukan selama 3 bulan yaitu pada bulan Oktober 2021 – Januari 2022. Penelitian ini merupakan percobaan yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dalam penelitian ini adalah beberapa konsentrasi BAP yang terdiri dari 6 level (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/liter) dengan 6 ulangan. Kode perlakuan yang diberikan adalah pemberian konsentrasi BAP (B) yang berbeda terdiri dari: B0 = tanpa BAP, B1 = konsentrasi BAP 1 mg/l, B2 = konsentrasi BAP 2 mg/l, B3 = konsentrasi BAP 3 mg/l, B4 = konsentrasi BAP 4 mg/l dan B5 = konsentrasi BAP 5 mg/l.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan pemberian zat pengatur tumbuh BAP berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan induksi kalus porang (Tabel 1). Pada tabel 2, berdasarkan hasil uji DMRT 5% BAP terhadap waktu pelengkungan eksplan, diketahui bahwa konsentrasi 2 mg/L BAP mempunyai potensi lebih cepat untuk induksi kalus porang di penelitian ini. Konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata waktu pelengkungan kalus 1,450 minggu setelah tanam (mst). Waktu pelengkungan terlama adalah pada konsentrasi 5 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 3,933 mst.

Tabel 1. Hasil ANOVA

Parameter	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Waktu Pelengkungan	26,881	5	5,376	20,586	0,000
Waktu Muncul Kalus	32,276	5	6,455	36,186	0,000

Pada tabel 3, berdasarkan hasil uji DMRT, terlihat bahwa konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi terbaik dalam induksi kalus porang pada penelitian ini. Konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata waktu muncul kalus 2,633 mst. Konsentrasi 2 mg/L BAP berbeda nyata dengan konsentrasi 0 mg/L BAP dengan rata-rata waktu muncul kalus 4,083 mst, konsentrasi 1 mg/L BAP dengan rata-rata waktu muncul kalus 3,550 mst, konsentrasi 3 mg/L BAP

dengan rata-rata waktu muncul kalus 4,867 mst, konsentrasi 4 mg/L BAP dengan rata-rata waktu muncul kalus 5,083 mst, dan konsentrasi 5 mg/L BAP dengan rata-rata waktu muncul kalus 5,333 mst.

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Pengaruh BAP terhadap Waktu Pelengkungan Eksplan

Konsentrasi (mg/L)	Waktu Pelengkungan Eksplan (mst)
0 mg/L	2,817b
1 mg/L	2,317b
2 mg/L	1,450a
3 mg/L	3,150c
4 mg/L	3,850d
5 mg/L	3,933d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan pemberian BAP tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Tabel 3. Hasil Uji DMRT BAP terhadap Waktu Muncul Kalus

Konsentrasi (mg/L)	Waktu Muncul Kalus (mst)
0 mg/L	4,083c
1 mg/L	3,550b
2 mg/L	2,633a
3 mg/L	4,867d
4 mg/L	5,083d
5 mg/L	5,333d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan pemberian BAP tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Pada tabel 4, berdasarkan hasil pengamatan morfologi kalus berupa warna dan tekstur pada delapan minggu setelah tanam (mst), terdapat dua macam warna kalus yang timbul dari variasi pemberian konsentrasi BAP pada masing-masing perlakuan, yaitu warna kuning dan kecoklatan. Sedangkan tekstur yang dihasilkan dari variasi pemberian konsentrasi BAP pada masing-masing perlakuan adalah sama, yaitu tekstur kalus intermediet (terdapat kalus tipe remah dan kompak).

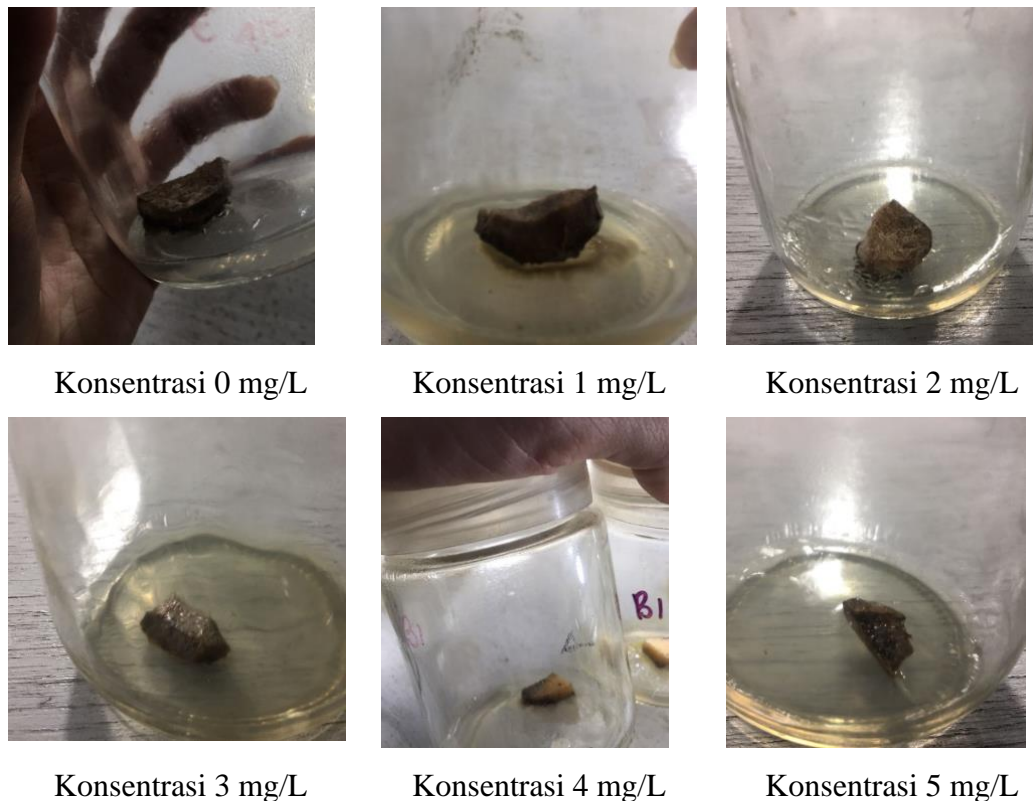
Tabel 4. Warna dan Tekstur Kalus

Konsentrasi (mg/L)	Warna Kalus	Tekstur Kalus
0 mg/L	Kuning	Intermediet
1 mg/L	Kuning	Intermediet
2 mg/L	Kuning	Intermediet
3 mg/L	Kecoklatan	Intermediet
4 mg/L	Kecoklatan	Intermediet
5 mg/L	Kecoklatan	Intermediet

Pembahasan

Berdasarkan hasil ANOVA (Tabel 1), diketahui dari nilai signifikansi parameter pelengkungan kalus dan parameter waktu muncul kalus sebesar 0,000. Karena nilai signifikansi $0,000 < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa BAP berpengaruh nyata terhadap waktu pelengkungan eksplan dan waktu muncul kalus pada setiap perlakuan. BAP berpengaruh nyata terhadap waktu pelengkungan eksplan dan waktu muncul kalus, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) 5% untuk mengetahui di mana letak perbedaan antar perlakuan tersebut.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% BAP terhadap waktu pelengkungan eksplan, diketahui bahwa konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata waktu pelengkungan eksplan 1,450 mst. Konsentrasi 2 mg/L BAP berbeda nyata dengan konsentrasi 0 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 2,817 mst, konsentrasi 1 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 2,317 mst, konsentrasi 3 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 3,150 mst, konsentrasi 4 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 3,850 mst, dan konsentrasi 5 mg/L BAP yang memiliki rata-rata waktu pelengkungan eksplan 3,933 mst. Berikut adalah gambar pelengkungan eksplan umbi porang pada setiap perlakuan (Gambar 1).



Gambar 1. Pelengkungan Umbi Porang pada Setiap Perlakuan (umur 3 mst)

Berdasarkan pengamatan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang kecil/rendah akan mempercepat pelengkungan kalus pada porang. Sedangkan jika pemberian BAP semakin tinggi (3 mg/L sampai 5 mg/L), maka waktu pelengkungan kalus pada porang akan semakin lama. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Aisyah (2020) bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus daun porang (*Amorphophallus muelleri*) dan konsentrasi 2 mg/l BAP yang paling efektif dalam pertumbuhan kalus. Pelengkungan dan pembengkakan pada eksplan menunjukkan

adanya aktifitas pembelahan sel pada jaringan eksplan, dimana pembengkakan dan pelengkungan eksplan merupakan tahapan awal dalam proses pembentukan-pembentukan kalus (Ajjah *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini, pemberian BAP dengan konsentrasi 1 mg/L berpengaruh terhadap munculnya kalus pada porang dengan rata-rata waktu 3,550 mst, lebih cepat daripada porang yang diberikan konsentrasi BAP 0 mg/L (sebagai kontrol) yaitu dengan rata-rata waktu muncul kalus 4,083 mst. Sedangkan jika konsentrasi BAP ditingkatkan menjadi 2 mg/L, maka munculnya kalus pada porang menjadi lebih cepat lagi dengan rata-rata waktu muncul 2,633 mst. Sementara jika konsentrasi BAP ditingkatkan menjadi 3 mg/L, justru menyebabkan munculnya kalus pada porang menjadi lebih lama daripada konsentrasi BAP 0 mg/L (kontrol) yaitu rata-rata waktu muncul 4,867 mst. Demikian pula dengan pemberian konsentrasi BAP 4 mg/L dan konsentrasi BAP 5 mg/L yang menyebabkan munculnya kalus pada porang semakin lama lagi yaitu menjadi rata-rata waktu muncul 5,083 mst dan rata-rata waktu muncul 5,333 mst.

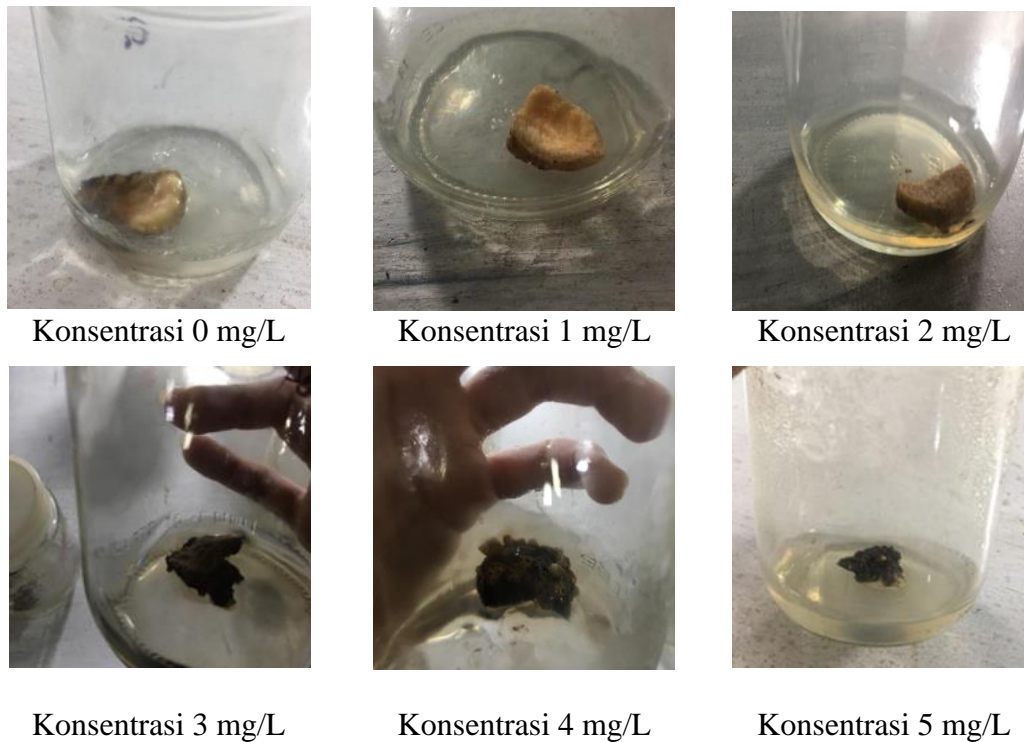
Berdasarkan pengamatan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang kecil/rendah akan mempercepat munculnya kalus pada porang. Sedangkan jika pemberian BAP semakin tinggi (3 mg/L sampai 5 mg/L), maka waktu munculnya kalus pada porang akan semakin lama. Hal tersebut dapat disebabkan oleh kandungan sitokinin alami dalam eksplan sudah dalam konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga hanya membutuhkan konsentrasi yang sedikit dari sitokinin eksogen, untuk menginduksi kalus porang dengan optimal. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh bergantung pada genotipe, jenis zat pengatur tumbuh, jenis eksplan yang digunakan dan kondisi media kultur (Ariati, 2012).

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan hasil penelitian Sari *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa hormon BA merupakan zat pengatur tumbuh yang aktif terhadap pertumbuhan dan proliferasi kalus. Akan tetapi, pertumbuhan akan dapat terhambat apabila konsentrasi BA yang diberikan semakin tinggi. Selain akibat tingginya konsentrasi yang diberikan, diasumsikan juga karena adanya ketidakseimbangan antara hormon eksogen dan endogen sehingga menghambat pertumbuhan kalus. Hasil penelitian ini juga didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Abidin (1983) dan Indah & Ermavitalini (2013) yang menyampaikan bahwa ketidakseimbangan hormon eksogen dan endogen yang diberikan pada eksplan dapat mengganggu perkembangan dan pertumbuhan sel, sehingga menyebabkan terhambatnya pembentukan kalus.

Pertumbuhan kalus porang diawali dengan pembengkakan pada masing-masing ujung eksplan yang mengalami perlukaan dan kontak langsung dengan media. Munculnya kalus pada bagian yang terluka merupakan respon alami dari jaringan sel untuk menutupi lukanya. Hal ini sesuai dengan pendapat Sari *et al.* (2013), bahwa pembentukan kalus memiliki hubungan dengan luka dan sifat sel tumbuhan yang totipotensi. Totipotensi merupakan kemampuan sel/bagian tumbuhan untuk beregenerasi menjadi organisme sempurna (Dodds *et al.*, 1981). Adapun Indah dan Ernavitalini (2013) menambahkan, pembelahan sel yang mengarah pada pembentukan kalus terjadi karena adanya respon sel terhadap luka (menutupi luka) dan didukung pasokan hormon pertumbuhan yang memadai baik endogen maupun eksogen sehingga membentuk kalus.

Mekanisme sitokinin dalam menginduksi kalus dari sisi molekuler dijelaskan Iwase *et al.* (2013) yakni, pembentukan kalus dari sebuah eksplan diperantarai oleh protein AP2/ERFs (Apetala2 / *Ethylene Responsive Factor*) yang akan mengaktifkan gen *ESR1* dan *ESR2* (*Enhancer of Shoot Regeneration*), kemudian *ESR1/ESR2* mengaktifkan protein OBP1 (protein yang berfungsi dalam perkembangan dan pertumbuhan tanaman). Protein OBP1 kemudian mengaktifkan gen *CYCD3-1* yang berperan dalam peralihan dari proliferasi sel ke tahap akhir diferensiasi selama perkembangan tanaman.

Warna kalus yang diperoleh dalam penelitian ini adalah kuning dan kecoklatan (Gambar 1). Warna kuning pada kalus porang diperoleh dari pemberian konsentrasi BAP 0 mg/L, BAP 1 mg/L, dan BAP 2 mg/L. Sedangkan warna kecoklatan pada kalus porang diperoleh dari pemberian konsentrasi BAP 3 mg/L, BAP 4 mg/L, dan BAP 5 mg/L. Dari segi tekstur, tekstur kalus yang diperoleh dari pemberian konsentrasi BAP 0 mg/L, BAP 1 mg/L, BAP 2 mg/L, BAP 3 mg/L, BAP 4 mg/L, dan BAP 5 mg/L adalah intermediet. Berikut adalah gambar pengaruh masing-masing konsentrasi BAP terhadap warna dan tekstur kalus pada porang.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi BAP terhadap Warna dan Tekstur kalus pada Setiap Perlakuan

Pemberian konsentrasi BAP 0 mg/L, BAP 1 mg/L, dan BAP 2 mg/L menghasilkan warna kuning pada kalus porang. Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel kalus masih dalam kondisi baik dan aktif melakukan pembelahan. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Indria et al. (2016) dan Royani et al. (2015) yang menyatakan bahwa 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. Sedangkan pemberian konsentrasi BAP 3 mg/L, BAP 4 mg/L, dan BAP 5 mg/L menghasilkan warna kecoklatan pada kalus porang. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan warna pada kalus bisa juga menunjukkan sel-sel yang sudah mulai mati, sudah pada tahap maksimum pertumbuhan atau bisa juga disebabkan karena adanya senyawa fenol yang terkumpul dan mengalami oksidasi sehingga menimbulkan warna kecoklatan/kehitaman.

Hutami (2008) menyatakan bahwa perlakuan yang dilakukan pada proses pemotongan eksplan menyebabkan enzim oksidase memproduksi senyawa fenol. Luka pada eksplan menyebabkan enzim dan substrat keluar dari sel, hal ini mengakibatkan terjadinya ikatan antara protein dengan hidrogen yang membuat aktivitas fenilalanin amonia liase naik sehingga memproduksi fenilpropanoid (senyawa pemicu pencoklatan).

Tekstur kalus yang terbentuk pada masing-masing perlakuan adalah intermediet. Kalus intermediet merupakan kalus yang bertekstur antara remah dan kompak. Hal ini bisa

disebabkan oleh keseimbangan antara hormon auksin dan sitokinin dalam sel. Menurut Melisa (2011), tekstur kalus yang cenderung kompak diasumsikan karena adanya kehadiran auksin dalam media. Struktur kompak disebabkan oleh mengerasnya dinding sel akibat proses transpot auksin dalam membawa zat hara dan air melewati pembuluh floem sehingga berpengaruh pada potensial osmotik di dalam sel. Kalus yang diinduksi dari tunas dengan penambahan auksin memiliki tekstur yang lebih kompak daripada kalus yang dihasilkan tanpa induksi auksin. Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan BAP terhadap penanaman in vitro eksplan porang (*Amorphophallus muelleri*) berpengaruh nyata terhadap waktu pelengkungan eksplan dan waktu muncul kalus. Konsentrasi 2 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi pertumbuhan kalus dengan rata-rata waktu pelengkungan kalus 1,450 mst dan rata-rata waktu munculnya kalus 2,633 mst. Terdapat dua macam warna kalus yang timbul dari variasi pemberian konsentrasi BAP pada masing-masing perlakuan, yaitu warna kuning dan kecoklatan. Sedangkan tekstur yang dihasilkan adalah tekstur kalus intermediet (terdapat kalus tipe remah dan kompak).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada PG. Rejo Agung Madiun, yang telah memberikan izin penelitian di Laboratorim BST PG. Rejo Agung, terutama kepada Ibu Lilik selaku laboran di Laboratorium Kultur Jaringan BST PG. Rejo Agung Madiun yang telah membimbing penulis selama proses pengambilan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. (1983). *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Aisyah, I. (2020). *Kultur Jaringan Pisang Kepok Tanjung (Tidak Berjantung) Yang Tahan Terhadap Penyakit Darah (Ralstonia Solanaceae) Subsp. Celebesensis*. Deepublish.
- Ajjjah, N., I. M. Tasma., Hadipoentyanti. (2010). *Induksi Kalus Vanili (Vanilla planifolia Andrew.) dari Eksplan Daun dan Buku*. Buletin RISTRI Vol. 1 (5).
- Ariati, SN. (2012). Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Sciences*. 1(1): 74-84.
- Aziz MM, Ratnasari E, & Rahayu YS. (2014). Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara In Vitro. *LenteraBio*. 3(2): 109-114.
- Chotigamas T, Sripaoraya S, Gateprasert M, Vanichsiratana W, dan Sirisansaneeyakul S. (2009). The Tissue Culture Optimization For *Amorphophallus Oncophyllus* Cell Suspension For Konjac Glucomannan Production.
- Chua, M., Baldwin, T. C., Hocking, T. J., & Chan, K. (2010). Review: Traditional uses and potential health benefits of *Amorphophallus konjac* K. Koch ex N.E.Br. *Journal of Ethnopharmacology*. 128: 268–278.
- Damayanti D, Sudarsono, Mariska, I. & Herman, M. (2005). Regenerasi Pepaya melalui Kultur In Vitro. *Jurnal AgroBiogen*. 3(2):49-54.

- Diana S., (2007), Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzyl Amino Purin Terhadap Pertumbuhan Embrio Kedelai (*Glycine max* L.) secara In Vitro. <http://www-pengaruh-berbagai-konsentrasi-benzyl-amino-purin-terhadap-pertumbuhan-embrio-kedelai-glycine-secara-in-vitro/pdf>. Tanggal diakses 23 Agustus 2022
- Dodds, J. dan Roberts. 1985. *Experiments in Plant Tissue Culture. Second Edition*. New York: Cambridge University Press.
- Fauziyyah, D., Triani H., K. 2012. Upaya Memacu Pembentukan Kalus Eksplan Embrio Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan Pemberian Kombinasi 2,4-D dan Sukrosa Secara Kultur *In-vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. 12(1).
- Gunawan, M. 1991. Diversifikasi pangan perlukah mencari bentuk pangan ideal? *Majalah Pangan* 9 (II): 66-73. Bulog. Jakarta.
- Hutami, Sri. 2008. Ulasan: Masalah pencoklatan Pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 4(2): 83-88.
- Ibrahim, M. S. D. (2019). *Conventional Propagation And In Vitro Culture Of Iles-Iles (Amorphophallus spp.) and Its Development Strategy*. *Perspektif*, 18(1), 67-78.
- Indah, N.P. dan D. Ernavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Konsentrasi 6-Benzylaminopirure (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic. *Jurnal sains dan semi pomi*. 2(1).
- 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.
- Iwase A, Ikeuchi M, dan Sugimoto K. 2013. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*. Vol. 25: 3159–3173.
- Lestari, S. 2013. Pengaruh Jenis Eksplan Dan Konsentrasi IBA Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Metabolit Sekunder (Stigmateron dan Sitosterol) Kalus Purwoceng (*Pimpinella alpine* Molk.) Pada Media MS. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Mastuti, R. 2008. Dasar-dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. Malang. UB Press.
- Melisa. 2011. *Respon Asal Eksplan Tanaman Adenium (Adenium obesum) Terhadap Pemberian Benzil Amino Purin Secara In Vitro*. Tesis. Universitas Islam Riau.
- Moztafiz SB dan Wagiran A. 2018. Efficient callus Induction and Regeneration in Selected Indica Rice. *Agronomy*. 8(5).
- Rosyidah, M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. S. 2014. 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. *Lentera Bio*, 3(3).
- 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).
- Rusdianto dan Indrianto A. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4- D). *Jurnal Bionature*. 13(2).

- Sari YP, Kusumawati E, Saleh K, Kustiawan W, dan Sukartingsih. 2013. Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience*. 10(3): 183-192.
- Sawit, M. H. 2000. Arah pembangunan pangan dan gizi. Makalah pada Diskusi Round Table Peningkatan Ketahanan Pangan. Deptan, Jakarta.
- Suheriyanto, Dwi, Romaidi dan Ruri S.R., 2012. Pengembangan bibit unggul porang (*Amarphopallus onchophillus*) melalui teknik kulturinvitro untuk mendukung ketahanan pangan nasional. *Jurnal Biologi ElHayah* 3(1):16–22.
- Sumarwoto. 2005. Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume): Deskripsi dan sifat-sifat lainnya. *J Biodiver*. 6(3): 185-190.
- Sumarwoto. 2008. Uji zat pengatur tumbuh dari berbagai jenis dan konsentrasi padastek daun iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Jurnal Agroteknologi* 15 (1): 7-11.
- Supriati, Yati. (2016). *Keanekaragaman Iles-Iles (Amorphophallus Spp.) dan Potensinya untuk Industri Pangan Fungsional, Kosmetik, Dan Bioetanol*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 35 (2).
- Syahid, S. F., Kristina, N. N., & Seswita, D. 2010. Pengaruh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) secara in vitro. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 16(1): 1-5.