

INDUKSI KALUS EKSPLAN DAUN LADA (*Piper nigrum*. L) PADA MODIFIKASI MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN HORMON SINTETIK DAN ALAMI

Eko Ramadhani¹, Titin Setyorini², Achmad Himawan²

Program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, INSTIPER Yogyakarta
Email Korespondensi: ekodhani74@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi media $\frac{1}{2}$ MS dan penambahan POC, pupuk daun, air kelapa, ekstrak taugé, hormon NAA dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan daun lada. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Institut Pertanian Stiper Yogyakarta pada bulan Februari - Juni 2021. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktor. Faktor pertama adalah modifikasi media yang terdiri dari tiga aras yaitu $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{2}$ MS + POC, $\frac{1}{2}$ MS + pupuk daun. Faktor kedua adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terdiri dari lima aras yaitu 150 ml air kelapa, 150 ml ekstrak taugé, 1 ppm NAA, 1 ppm BAP, dan NAA + BAP 1:1 ppm. Data kuantitatif disajikan dalam bentuk excel, sedangkan data kualitatif disajikan dalam bentuk deskripsi dan dilengkapi dengan gambar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa modifikasi media MS dengan penambahan hormon alami dan sintetik dapat menginduksi kalus pada eksplan lada dengan waktu tercepat 3 minggu setelah tanam (MST) dengan persentase eksplan berkalus 14-43%. Modifikasi media MS dan $\frac{1}{2}$ MS + POC memberikan hasil yang baik terhadap pembentukan kalus, dan penambahan hormon sintetik memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian hormon alami dalam pembentukan kalus.

Kata Kunci: eksplan lada, induksi kalus, modifikasi media MS, air kelapa, ekstrak taugé, NAA, BAP.

PENDAHULUAN

Tanaman lada (*Piper nigrum*) adalah tanaman rempah yang biasanya digunakan sebagai bumbu penambah rasa pada masakan dan berkhasiat sebagai obat. Tanaman lada biasanya diolah menjadi lada hitam dan lada putih yang biasa diperdagangkan sebagai rempah-rempah. Namun saat ini lada juga digunakan sebagai minyak dan industri kosmetik. Tanaman lada inisebagai komoditi unggulan kepulauan Bangka Belitung. Provinsi Bangka Belitung menjadi produsen terbesar lada putih di Indonesia mampu memproduksi lada putih mencapai 80%-90%. Saat ini komoditas lada mulai berkembang didaerah lain seperti Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Bengkulu, dan Sulawesi yang diharapkan Indonesia mencukupi kebutuhan dalam dan luar negeri (Riski et al., 2016). Kandungan mineral pada lada seperti kalium, kalsium,

seng, mangan, besi, magnesium dan vitamin. Piperin sebagai komponen utama alkaloid yang terkandung di dalam lada, selain berperan sebagai antioksidan juga memiliki aktivitas anti hipertensi

Kendala yang dihadapi petani lada adalah pemilihan bibit yang tidak diketahui kualitas dan kesehatannya. Penyakit yang menyerang tanaman lada di Indonesia sendiri adalah penyakit kerdil. Yang disebabkan oleh keberadaan *piper yellow mottle* virus (PYMoV) dan *Cucumber mosaic* virus (CMV) dan penyakit busuk pangkal batang (*root rot*) yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* Linn, menjadi masalah utama dalam budidaya tanaman lada (*Piper nigrum* L). Penyakit ini menyerang bagian inti dari tanaman seperti pangkal batang, akar, daun, dan buah, penyakit ini digolongkan penyakit yang serius dikarenakan dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar mencapai 52% dari produksi lada (Husni, 2016).

Untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan bibit varietas unggul dan bebas penyakit. Hal ini bisa dilakukan dengan cara perbanyak tanaman secara *in-vitro* yang tidak dipengaruhi oleh musim, dan kebutuhan Komposisi media tanaman pada teknik perbanyak secara *in-vitro* dapat terpenuhi. Media dasar yang sering digunakan dalam perbanyak tanaman secara *in-vitro* adalah media Murashige-Skoog (MS) di karenakan mudah didapatkan. Kandungan media MS adalah 40 mM N dalam bentuk NO_3 dan 29 mM N dalam bentuk NH_4^+ . Kandungan N ini lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media tembakau Hildebrant, dan 19 kali lebih tinggi dari media White (Silalahi, 2015). Sebagai alternatif media kultur dapat digunakan pupuk organik cair (POC) atau pupuk daun yang juga memiliki kandungan unsur hara makro dan mikro.

Keberhasilan perbanyak tanaman secara *in-vitro* dipengaruhi juga oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) ini mutlak dibutuhkan tanaman. ZPT dapat diartikan sebagai hormon, yaitu senyawa organik tanaman dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi fisiologis terutama diferensiasi dan perkembangan tanaman. ZPT digolongkan menjadi 2 yaitu ZPT alami dan sintetik. Contoh bahan alami yang dapat dimanfaatkan menjadi ZPT antara lain air kelapa, ekstrak bawang merah, ekstrak rebung, dan ekstrak tauge. Air kelapa mengandung hormon auksin dan sitokinin, kedua hormon tersebut digunakan untuk mendukung pembelahan sel embrio kelapa. Berdasarkan hasil penelitian bahwa ekstrak bawang merah sebanyak 30% dari 1 liter air dapat meningkatkan daya kecambah pada benih kakao (Pamungkas & Nopiyanto, 2020).

Salah satu hormon auksin yang umum digunakan pada saat melakukan penelitian atau perbanyak tananam secara *in-vitro* adalah hormon *Nepthalen acetic acid* (NAA). Auksin ini mampu bekerja secara efektif dalam merangsang pemanjangan

dan pembelahan sel pada eksplan. NAA disebut juga auksin sintetik tidak mengalami oksidasi enzimatis, dan dapat diberikan pada konsentrasi berkisar antara 1-2 ppm tergantung dengan jenis eksplan tanaman yang digunakan (Triyanti et al., 2019). Hormon sitokinin *6-Benzyl amino purine* (BAP) yang sering digunakan dalam memperbanyak tanaman secara *in_vitro* dengan konsentrasi menyesuaikan kebutuhan eksplan yang digunakan dalam diperbanyak untuk pembesaran sel.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh modifikasi media kultur dan penambahan hormon alami maupun sintetik dalam menginduksi kalus eksplan daun lada sebagai salah satu cara dalam memperbanyak bibit lada yang berkualitas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan Insitut Pertanian STIPER Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Juni 2021. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri atas 2 faktor. Faktor pertama adalah komposisi media MS yang terdiri dari tiga aras yaitu H1 = $\frac{1}{2}$ MS, H2 = $\frac{1}{2}$ MS + POC, H3 = $\frac{1}{2}$ MS + pupuk daun. Faktor kedua konsentrasi penambahan hormon atau zat pengatur tumbuh yang terdiri dari lima aras yaitu N1 = 150 ml/l air kelapa, N2 = 150 ml/l ekstrak tauge, N3 = 1 ppm NAA, N4 = 1 ppm BAP, dan N5 = 1 ppm NAA dan 1 ppm BAP.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter keberhasilan penanaman eksplan daun lada dalam memperbanyak tanaman secara kultur jaringan adalah persentase eksplan berkalus. Pengamatan dilakukan satu minggu sekali, kemudian data diambil sampai 6 MST (Minggu Setelah Tanam). Hasil dari pengamatan tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1 Persentase eksplan yang berkalus.

Perlakuan	Eksplan berkalus %
$\frac{1}{2}$ MS + air kelapa	0%
$\frac{1}{2}$ MS + ekstrak tauge	0%
$\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm NAA	29%
$\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm BAP	14%
$\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	29%
$\frac{1}{2}$ MS + POC + air kelapa	14%
$\frac{1}{2}$ MS + POC + ekstrak tauge	0%
$\frac{1}{2}$ MS + POC + 1 ppm NAA	29%
$\frac{1}{2}$ MS + POC + 1 ppm BAP	29%

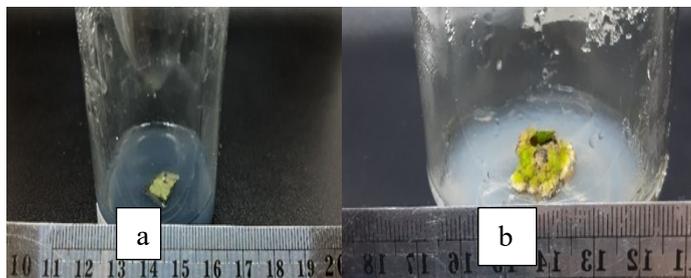
½ MS + POC + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP	29%
½ MS + pupuk daun + air kelapa	0%
½ MS + pupuk daun + ekstrak tauge	0%
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA	0%
½ MS + pupuk daun + 1 ppm BAP	0%
½ MS + uuk daun + 1ppm NAA + 2ppm BAP	43%

Tabel 1 terlihat bahwa modifikasi media ½ MS + air kelapa dan ekstrak tauge menghasilkan persentase kalus 0%. Hal ini diduga pemberian auksin dan sitokinin alami belum mampu merangsang pemanjangan dan pembelahan sel yang dapat menghasilkan pembentukan kalus. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Akan tetapi dari hasil penelitian, penambahan hormon auksin dan sitokinin alami belum mampu menginisiasi terbentuknya kalus. Pada kombinasi ½ MS + NAA dan BAP menghasilkan persentase pembentukan kalus sebesar 29%,14%, dan 29%. Hal ini diduga penambahan NAA dan BAP dengan konsentrasi tersebut dan diberikan yang mampu merangsang pembelahan dan pemanjangan sel dan kombinasi media ini telah berhasil dilakukan di beberapa spesies tanaman (Pamungkas & Nopiyanto, 2020).

Kombinasi media ½ MS + POC + air kelapa menghasilkan persentase kalus 14%. Hal ini diduga pemberian POC dengan penambahan air kelapa mampu menginisiasi kalus pada eksplan daun lada, disebabkan senyawa fitokimia yang terkandung dalam air kelapa sangat berkhasiat sebagai auksin. Kombinasi media ½ MS + POC + ekstrak tauge belum mampu menginokulasi pertumbuhan kalus. Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan (Maulana, 2015). Kombinasi media ½ MS + POC + BAP, media ½ MS + POC + NAA, media ½ MS + POC + BAP + NAA menghasilkan persentase 29%. Hal ini diduga NAA mempunyai sifat stabil dan mempunyai peran terhadap pertumbuhan sel, dormansi apikal dan pembentukan kalus. Sitokinin yaitu BAP adalah zat pengatur tumbuh yang berperan dalam mengatur pembelahan sel serta mempengaruhi diferensiasi tunas pada jaringan kalus.

Kombinasi media ½ MS dengan penambahan pupuk daun, hormon alami belum mampu merangsang pertumbuhan kalus pada eksplan daun lada. Kombinasi media ½ MS penambahan pupuk daun dan NAA, BAP, secara tunggal juga menghasilkan persentase 0%. Kombinasi media ½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP menghasilkan persentase pertumbuhan kalus tertinggi yaitu 43%. Hal ini diduga oleh BAP salah satu turunan sitokinin yang aktif dalam memacu pembelahan sel,

pembentukan tunas dan perbanyak tunas pada tanaman tertentu. NAA salah satu auksin yang dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel. Penambahan hormon auksin pernah dilakukan pada jaringan tanaman anggrek dapat menstimulasi kerja hormon sitokinin yang meningkatkan sintesis protein dan memacu terbentuknya sel-sel baru yang akan terdiferensiasi menjadi organ et al., tertentu (Triyanti et al., 2019).



Gambar 1. Respon eksplan terhadap modifikasi media MS dengan penambahan hormon sintetik dan alami: (a). Eksplan tidak berkalus, (b). Eksplan berkalus.

Parameter waktu munculnya kalus digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan eksplan daun lada menjadi bentuk kalus. Waktu pengamatan dilakukan satu minggu setelah tanam (MST). Sampai delapan minggu setelah tanam (MST).

Tabel 2. Waktu muncul kalus.

Perlakuan	Waktu Muncul Kalus (MST)
½ MS + air kelapa	-
½ MS + ekstrak tauge	-
½ MS + 1 ppm NAA	5
½ MS + 1 ppm BAP	3
½ MS + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	3
½ MS + POC + air kelapa	3
½ MS + POC + ekstrak tauge	-
½ MS + POC + 1 ppm NAA	4
½ MS + POC + 1 ppm BAP	4
½ MS + POC + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	4
½ MS + pupuk daun + air kelapa	-
½ MS + pupuk daun + ekstrak tauge	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm BAP	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	3

Tabel 2 menunjukkan bahwa modifikasi media MS dengan penambahan hormon alami dan sintetik memberikan pengaruh terhadap kecepatan pembentukan kalus yang terbentuk. Hal ini diduga kecepatan pembentukan kalus pada modifikasi media lebih

banyak dipengaruhi oleh hormon. Rata-rata kalus terbentuk setelah 3-5 minggu setelah tanam.

Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan hormon alami tidak memunculkan kalus. Hal ini diduga oleh faktor media menjadi faktor penting pada kultur jaringan terhadap perkembangan eksplan. Kombinasi perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + NAA secara tunggal membentuk kalus 5 MST. Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + BAP dan media $\frac{1}{2}$ MS + NAA dan BAP 1:1, waktu yang dibutuhkan eksplan untuk pembentukan kalus 3 MST. Hal ini diduga pemberian hormon NAA dan BAP secara tunggal akan mengalami pemanjangan dan pembelahan sel. Auksin dan sitokinin dengan konsentrasi optimum dan seimbang dengan hormon endogen akan merangsang pembelahan sel dan pembentukan organ. (Sakina et al., 2019).

Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + POC dan air kelapa waktu yang dibutuhkan eksplan untuk pembentukan kalus 3 MST. Hal ini diduga air kelapa oleh air yang mengandung sukrosa sebagai sumber karbon pertumbuhan tanaman in-vitro, sehingga dapat menginduksi kalus. Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + POC + NAA waktu yang dibutuhkan eksplan untuk pembentukan kalus 4 MST. Hal ini diduga oleh POC memiliki kandungan hara yang lengkap makro, mikro, serta auksin, sitokinin dan giberelin yang dapat memacu pembelahan sel. Kombinasi perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + POC + BAP waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan kalus 4 MST. Hal ini diduga oleh POC mengandung auksin dan sitokinin yang berfungsi dalam pertumbuhan, pembelahan dan metabolisme sel. Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + POC + NAA + BAP waktu yang dibutuhkan eksplan untuk pembentukan kalus 4 MST. Hal ini diduga oleh POC yang mengandung auksin dan sitokinin ditambah dengan NAA dan BAP yang termasuk ZPT auksin dan sitokinin menghasilkan konsentrasi auksin dan sitokinin yang tinggi pada media akan membentuk kalus (Prayana et al., 2017).

Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + pupuk daun yang ditambahkan hormon alami dan sintetik secara tunggal (terpisah) antara auksin dan sitokinin tidak memunculkan kalus. Pada kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + pupuk daun + NAA + BAP, waktu yang dibutuhkan eksplan untuk pembentukan kalus 3 MST. Hal ini diduga oleh pupuk daun mengandung unsur N yang cukup. Pertambahan auksin dan sitokinin dengan konsentrasi yang relatif tinggi akan meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan.

Parameter tekstur kalus dilaksanakan pengamatan pada minggu 6 MST dilakukan secara visual. Hasil pengamatan tekstur kalus tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Tekstur kalus dari eksplan lada

Perlakuan	Tekstur kalus
½ MS + air kelapa	-
½ MS + ekstrak taube	-
½ MS + 1 ppm NAA	Kompak
½ MS + 1 ppm BAP	Kompak
½ MS + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	Kompak
½ MS + POC + air kelapa	Kompak
½ MS + POC + ekstrak taube	-
½ MS + POC + 1 ppm NAA	Kompak
½ MS + POC + 1 ppm BAP	Kompak
½ MS + POC + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	Kompak
½ MS + pupuk daun + air kelapa	-
½ MS + pupuk daun + ekstrak taube	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm BAP	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP	Kompak

Tabel 3 terlihat bahwa semua kalus yang terbentuk memiliki struktur kompak. Hal ini diduga dengan media ½ MS sudah cukup untuk menginisiasi kalus tekstur kompak. Pemberian hormon auksin dan sitokinin yang mempengaruhi penyerapan air dari media ke dalam sel yang mengakibatkan antar sel menjadi lebih kaku dan padat sehingga susah untuk dipisahkan sehingga dapat merusak sel saat melakukan pemisahan atau sub kultur.

Struktur kalus dari penelitian ini memiliki struktur kalus yang kompak, rapat dan padat, tidak ada satupun kalus yang bertekstur remah dan secara umum belum menunjukkan kalus embrionik. Tekstur kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolik sekunder lebih banyak.



Gambar 2. Tekstur kalus yang terbentuk kompak

Parameter warna kalus dilakukan pengamatan pada 6 MST dan dianalisis secara visual. Hasil pengamatannya tersaji pada Tabel 4.

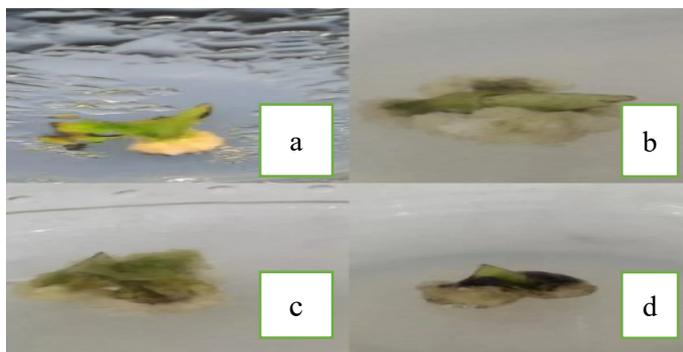
Tabel 4. Warna kalus dari eksplan daun lada

Perlakuan	Warna Kalus
1/2 MS + air kelapa	-
1/2 MS + ekstrak taugé	-
1/2 MS + 1 ppm NAA	Putih kecoklatan, Putih kehijauan
1/2 MS + 1 ppm BAP	Putih kecoklatan, Putih kehijauan
1/2 MS + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	Putih kecoklatan, Putih kehijauan
1/2 MS + POC + air kelapa	Putih kecoklatan, Putih kehijauan
1/2 MS + POC + ekstrak taugé	-
1/2 MS + POC + 1 ppm NAA	Putih, Putih kehijauan, Putih kecoklatan
1/2 MS + POC + 1 ppm BAP	Putih, Putih kehijauan, Putih kecoklatan
1/2MS + POC + 1ppm NAA + 1 ppm BAP	Putih kekuningan, Puytih kecoklatan
1/2 MS + pupuk daun + air kelapa	-
1/2 MS + pupuk daun + ekstrak taugé	-
1/2 MS + pupuk daun + 1 ppm NAA	-
1/2 MS + pupuk daun + 1 ppm BAP	-
1/2 MS + p.daun + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	Putih kehijauan, Putih kekuningan

Tabel 4 menunjukkan bahwa warna kalus pada modifikasi media 1/2 MS + NAA dan BAP pembentukan warna kalus putih kecoklatan dan putih kehijauan. Hal ini disebabkan oleh sitokinin yang diberikan dapat membuat kalus berwarna putih kehijauan, dikarenakan fungsi sitokinin mampu memacu terjadinya sintesis klorofil, dan warna kecokelatan diduga bertambahnya umur kalus dan diperlukan untuk dilakukan subkultur (Triyanti et al., 2019)

Media 1/2 MS + POC + air kelapa menunjukkan bahwa warna kalus yang terbentuk berwarna putih kecoklatan dan putih kehijauan. Hal ini diduga kandungan klorofil yang tinggi dan warna putih kecoklatan disebabkan oleh bertambahnya umur kalus. Media 1/2 MS + POC + 1 ppm NAA menghasilkan warna kalus putih, putih kehijauan dan putih kecoklatan. Hal ini diduga oleh warna putih pada kalus merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas dan memiliki kandungan butir pati yang tinggi, kalus yang berwarna kehijauan memiliki kandungan klorofil didalam sel-selnya, kalus yang berwarna kecoklatan kandungan klorofil pada kalus berkurang yang diakibatkan bertambahnya umur kalus. Media 1/2 MS + POC + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP menghasilkan warna kalus putih kekuningan dan putih kecoklatan. Hal ini diduga oleh adanya degradasi klorofil dan adanya metabolisme senyawa fenol yang dapat menghambat pertumbuhan (Prayana et al., 2017). Media 1/2 MS + pupuk daun + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP menghasilkan warna kalus putih kehijauan dan putih kekuningan. Hal

ini diduga oleh adanya kandungan klorofil pada sel dan terjadinya degradasi pada klorofil dikarenakan umur tanaman yang bertambah sehingga mengakibatkan kalus berwarna kekuningan.



Gambar 3. Warna kalus yang terbentuk. (a). Kalus berwarna putih kekuningan (b). Kalus berwarna putih (c). Kalus berwarna putih kehijauan. (d). Kalus berwarna putih kecoklatan.

Parameter berat kalus dilakukan pengamatan pada kalus berumur lebih dari 6 MST (Minggu Setelah Tanam) dan ditimbang menggunakan timbangan analitik. Hasil pengamatan berat kalus tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Berat kalus dari eksplan daun lada.

Perlakuan	Rerata berat kalus (g)
½ MS + air kelapa	-
½ MS + ekstrak taugé	-
½ MS + 1 ppm NAA	1,03
½ MS + 1 ppm BAP	0,84
½ MS + 1 ppm NAA + 1 ppm BAP	1,27
½ MS + POC + air kelapa	1,25
½ MS + POC + ekstrak taugé	-
½ MS + POC + 1 ppm NAA	0,95
½ MS + POC + 1 ppm BAP	0,71
½ MS + POC + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP	0,95
½ MS + pupuk daun + air kelapa	-
½ MS + pupuk daun + ekstrak taugé	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA	-
½ MS + pupuk daun + 1 ppm BAP	-
½ MS + pupukdaun + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP	1,18

Kombinasi perlakuan media ½ MS + air kelapa dan ekstrak taugé tidak menghasilkan kalus. Hal ini disebabkan oleh terjadinya kontaminasi. Media ½ Ms + NAA dan BAP menghasilkan berat kalus 0,84, 1,03 dan 1,27 gram. Hal ini diduga oleh

pemberian auksin dan sitokinin dapat merangsang pembelahan sel. Hal ini diduga oleh pemberian konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan jaringan pada eksplan (Puteri et al., 2014).

Kombinasi media $\frac{1}{2}$ MS + POC + air kelapa membentuk berat kalus 1,25 gram. Hal ini diduga oleh air kelapa sebagai auksin dan sitokinin mengandung banyak nutrisi seperti K, Cl, glukosa, sukrosa, protein dan vitamin, sehingga dapat meningkatkan pembelahan dan pemanjangan sel. Media $\frac{1}{2}$ MS + POC + 1 ppm NAA menghasilkan berat kalus 0,95. Hal ini diduga oleh konsentrasi yang diberikan mampu merangsang pembelahan sel yang membuat volume sel meningkat dan menambah berat kalus. Media $\frac{1}{2}$ MS + POC + 1 ppm BAP memberikan berat kalus 0,71. Hal ini diduga oleh pemberian sitokinin mampu melakukan pembelahan sel yang berakibat pada sel yang berproliferasi sehingga volume sel meningkat dan menambah berat pada kalus. Media $\frac{1}{2}$ MA + POC + 1ppm NAA + 1ppm BAP memberikan berat kalus 0,95. Hal ini diduga oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang mampu memacu pertumbuhan sel. Media $\frac{1}{2}$ MS + pupuk daun + 1 ppm NAA + 2 ppm BAP menghasilkan berat kalus 1,18. Menurut (Prayana et al., 2017). Pemberian BAP ditambahkan dengan auksin maka sel-sel akan mengalami pembelahan dan perkembangan secara terus menerus ketika konsentrasi kedua hormon tersebut hampir sama, massa sel akan terus bertambah.

KESIMPULAN

1. Terdapat interaksi antara modifikasi media MS dengan penambahan hormon sintetik dan alami di semua parameter pengamatan dengan persentasi eksplan berkalus 14-43% dan rata-rata waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi kalus yaitu 4 minggu setelah tanam.
2. Media MS dan media MS + POC memberikan hasil yang baik terhadap pembentukan kalus.
3. Penambahan hormon sintetik memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian hormon alami dalam pembentukan kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Husni, A. (2016). Seleksi *In-Vitro* Tanaman Lada untuk Ketahanan terhadap Penyakit Busuk Pangkal Batang. Balai Besar Penelitian Bogor. *Jurnal AgroBiogen*, 1(1), 13–19.
- Maulana. (2015). Pertumbuhan Biji Anthurium Secara in-vitro Pada Media Alternatif Pupuk Daun dan Lama Pencahayaan yang Berbeda. Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Jurnal Agroekotek*, 151(2), 10–17.
- Pamungkas, S. T. P., & Nopiyanto, R. (2020). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Alami Dari Ekstrak Tauge Terhadap Pertumbuhan Pembibitan Budchip Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Varietas Bululawang (BL). Politeknik LPP Yogyakarta. *Mediagro*,

- Prayana, F. A., Djenal, F., & Wardana, R. (2017). Mikropropagasi Tangkai Daun Iles-les (*Amorphophallus muelleri* Blume) Secara In Vitro dengan Penambahan ZPT BAP dan NAA. Politeknik Negri Jember. *Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1(2), 95–104. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v1i2.45>
- Puteri, R. F., Ratnasari, E., & Isnawati. (2014). Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) secara In Vitro. Universitas Negri Surabaya. *Jurnal LenteraBio*, 3(3), 154–159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118853>
- Riski, K., Rahayu, A., & Adimihardja, S. (2016). Pengaruh berbagai konsentrasi IBA dan urin sapi terhadap pertumbuhan setek tanaman lada (*Piper nigrum* L.). Universitas Djuanda. *Jurnal Agronida*, Vol 2, No.(9), 53–61. <https://ojs.unida.ac.id/JAG/article/view/938>
- Sakina, S., Anwar, S., Kusmiyati, F., Sciences, A., & Campus, T. (2019). Pertumbuhan Planlet Anggrek Dendrobium (*Dendrobium* sp.) secara In Vitro pada Konsentrasi BAP dan NAA Berbeda. Diponegoro University. *Jurnal Pertanian Tropik*, 6(3), 430–437.
- Silalahi, M. (2015). Bahan Ajar Kultur jaringan. Universitas Kristen Indonesia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 12(4), 156–159.
- Triyanti, E., Nazirwan, & Erfa, L. (2019). Multiplikasi Tunas Kentang Atlantik pada Berbagai Konsentrasi NAA dan Air Kelapa secara In Vitro. Politeknik Negri Lampung. *Jurnal Planta Simbiosa*, 1(1), 10–19.