

## PERTUMBUHAN KALUS KENCUR (*Kaemferia galanga* L) PADA KOMPOSISI MEDIA DENGAN PERLAKUAN SUKROSA DAN ZAT PENGATUR TUMBUH ( 2,4 D dan Benzil Aminopurin)

Anis Shofiyani <sup>1)</sup> dan Agus Mulyadi Purnawanto <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Purwokerto,

<sup>2)</sup> Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Purwokerto,

### ABSTRAK

*Penelitian ini merupakan upaya dalam perolehan kalus sebagai sumber metabolit sekunder melalui kultur kalus tanaman kencur (*Kaemferia galanga*) melalui modifikasi media tanam kultur kalus dengan berbagai konsentrasi sukrosa dan kombinasi zat pengatur tumbuh (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid dan BAP). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, waktu penelitian selama 8 bulan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan konsentrasi sukrosa ( 20, 30 dan 40 g/l) dan perlakuan kombinasi 2,4 D (0,5 – 2 ppm) dan BAP ( 0 - 0,2 ppm).*

*Hasil penelitian menunjukkan kombinasi perlakuan sukrosa ( 20 – 40 g/l) dan zat pengatur tumbuh 2,4 D ( 1 – 3 ppm) dan BAP (0 – 0,2 ppm) dalam medium proliferasi kalus, perlakuan sukrosa memberikan pengaruh terhadap variabel bobot segar kalus, bobot kering kalus serta morfologi kalus yang terbentuk. Perlakuan sukrosa 30 % dalam media proliferasi kalus memberikan hasil terbaik untuk variabel pengamatan bobot kalus yaitu seberat 3,8 gram, bobot kering kalus seberat 0,151 gram dengan keremahan kalus yang cukup tinggi dan warna kalus putih jernih.*

*Key word* : Sukrosa, 2,4 D dan BAP, kultur kalus, kencur

### PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat yaitu kencur (*Kaemferia galanga* L) . Kencur banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (jamu), fitofarmaka, industri kosmetika, penyedap makanan dan minuman, rempah, serta bahan campuran saus rokok pada industri rokok kretek. Secara empirik kencur digunakan sebagai penambah nafsu makan, infeksi bakteri, obat batuk, disentri, tonikum, ekspektoran,

masuk angin, sakit perut karena rimpangnya mengandung antara lain saponin, flavonoid, fenol serta minyak atsiri ( Syamsuhidayat dan Johnny, 1991).

Ditilik dari keunggulan penggunaan teknik *in vitro* untuk pengaduan bahan baku obat berkualitas, pengembangan teknik ini khususnya kultur kalus mempunyai prospek yang baik mengingat keuntungan-keuntungan dari segi fisik-material yang dihasilkan. Namun demikian teknik ini akan menjadi layak

apabila tahapan awal kegiatan kultur kalus berupa keberhasilan induksi kalus pada bahan tanam (eksplan) yang digunakan. Keberhasilan induksi kalus dari eksplan yang digunakan tidak lepas dari peran media kultur yang digunakan, dimana komposisi penyusun media berpengaruh besar terhadap keberhasilan kegiatan kultur yang dilakukan. Media kultur jaringan tumbuhan berisi garam-garam mineral, hormon, vitamin, sumber karbon, dan asam amino. Komponen penyusun media kultur kalus yang berperan pada penginduksian kalus dari eksplan yang digunakan adalah penambahan zat pengatur tumbuh kedalam media. Smith (1992) menyatakan pemilihan media kultur jaringan merupakan kunci sukses dalam kultur jaringan. Hal ini menyebabkan banyak diadakan penelitian untuk memodifikasi media-media yang memberikan respon berbeda terhadap berbagai macam tanaman.

Ada tiga jenis zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan untuk menginduksi pembelahan sel yaitu kelompok auksin yang meliputi IAA, IBA, NAA dan 2,4 D; kelompok sitokinin dan adenin, meliputi BA, BAP, DMAA, Ad-SO<sub>4</sub> dan kinetin serta kelompok giberelin, yaitu GA<sub>3</sub> (George dan Sherrington, 1984). Pembentukan kalus dapat diinduksi dengan cara mengatur pemberian zat

pengatur tumbuh dengan jenis dan konsentrasi yang tepat.

Senyawa 2,4-D merupakan auksin kuat yang sering digunakan secara tunggal untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (Bhojwani dan Razdan, 1996). Zat pengatur tumbuh ini juga efektif untuk inisiasi kalus (Nagasawa dan Finer 1988). Penggunaan kombinasi antara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (Benzyl Adenin ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz et al., 1995). Hasil penelitian pada tanaman hias *Alocasia micholitziana* (Araceae) menunjukkan bahwa induksi kalus dapat diperoleh pada kombinasi auksin (2,4- D) dengan sitokinin (kinetin) dan kalus dapat beregenerasi secara normal pada media yang diperkaya dengan Benzyl Amino Purin (Thao et al., 2003). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Kuen, *et al* (2011), menunjukkan bahwa penambahan 1 mg/l Dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D) dalam medium MS mampu menginduksi pembentukan kalus pada eksplan akar, daun maupun rimpang kencur (*Kaemferia galanga*). Induksi kalus pada medium MS dengan penambahan 1 mg/l 2,4 D dan 0.5 mg/l BAP juga terjadi pada eksplan rhizome bud *Kaemferia galanga* (Lakshmi dan Mythili, 2003).

Selain kombinasi zat pengatur tumbuh yang memiliki peranan terhadap

induksi kalus pada berbagai jenis jaringan tanaman, sumber karbon juga merupakan salah satu faktor yang sangat penting untuk menentukan keberhasilan kultur jaringan. Sumber karbon berfungsi sebagai sumber energi yang dibutuhkan oleh sel untuk dapat melakukan pertumbuhan (Kimball, 1994). Glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan. Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus (Srilestari, 2005). Induksi kalus embrio somatik kacang tanah pada media MS dengan konsentrasi sukrosa 20 g/L, 30 g/L dan 40 g/L menunjukkan hasil bahwa, pada media yang mengandung sukrosa 40 g/L, embrio tumbuh lebih cepat dibandingkan pada media dengan konsentrasi sukrosa 20 g/L dan 30 g/L, namun pada induksi kalus rimpang jahe konsentrasi sukrosa diatas 60 g/L dapat menghambat (Marlin, 2005 & Srilestari, 2005). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dikaji beberapa konsentrasi sukrosa dan kombinasi zat pengatur tumbuh (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid dan BAP) untuk memperoleh pertumbuhan dan perkembangan kalus tanaman kencur (*Kaemferia galanga* L) yang optimal pada media MS.

Dengan dilaksanakannya penelitian ini diharapkan dapat memperoleh media kultur kalus yang sesuai untuk

perbanyak kalus kencur (*Kaemferia galanga* L), dengan modifikasi media berupaka variasi penggunaan sukrosa dan zat pengatur tumbuh (2,4 D dan Benzil aminopurin) sehingga diharapkan dapat memperoleh sumber bahan baku obat berupa kalus yang mampu memproduksi metabolit sekunder dari kencur melalui kultur in vitro khususnya kultur kalus, dalam jumlah yang banyak, memiliki kualitas sesuai standar dan memiliki fungsi dalam pengobatan

## **METODE PENELITIAN**

### **2.1. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto, waktu penelitian 8 (delapan) bulan.

### **2.2. Materi Penelitian**

Laminair air flow cabinet (LAF); botol kultur; timbangan analitis; skalpel dan blade; pinset; pH meter; lampu spirtus; gelas ukur; batang pengaduk; otoklaf; lemari es; 2,4-D; BAP; alkohol; alumunium foil; HgCl<sub>2</sub>; aquades; asam sulfat; agar; sukrosa; Stok medium MS, detergent, alkohol 70%, rimpang kencur.

### **2.3. Rancangan Percobaan**

Perlakuan yang diujikan terdiri atas dua faktor yaitu faktor pertama konsentrasi sukrosa dengan tiga aras ( 20, 30 dan 40 g/l) dan faktor kedua kombinasi

jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid dan BAP) . Kombinasi perlakuan untuk jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan dapat dilihat pada tabel 2. Semuanya disusun acak dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga ulangan, dan setiap unit perlakuan menggunakan 10 botol kultur.

#### **2.4. Media Tanam Eksplan untuk Induksi kalus**

Untuk menginduksi proliferasi kalus medium yang digunakan adalah medium MS dengan penambahan 2,4 D dan BAP yang memberikan pengaruh terhadap induksi dan pertumbuhan kalus (tabel 1).

**Tabel 1.** Konsentrasi 2,4-D dan BA untuk proliferasi kalus

<b>BAP 2,4-D (mg/l)</b>	<b>0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>
<b>1</b>	D1B0	D1B1	D1B2
<b>2</b>	D2B0	D2B1	D2B2
<b>3</b>	D3B0	D3B1	D3B2

#### **2.5. Analisis lanjutan**

Perlakuan konsentrasi sukrosa dan kombinasi zat pengatur tumbuh (2,4 D dan BAP) yang mampu menginduksi pembentukan kalus dari eksplan yang digunakan, di uji dengan analisis of varian (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95%. Jika uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, maka analisis dilanjutkan dengan

“Beda Nyata Terkecil (BNT)” pada tingkat kepercayaan 95 %. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan program “Statistica for Windows Release 5 Statsoft, Inc. 1995”.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Perbanyakan Kalus Dalam Media Proliferasi Kalus**

Hasil pengamatan bobot segar kalus, bobot kering kalus dan morfologi kalus tersaji pada tabel 2.

#### **1. Bobot Segar Kalus (gram)**

Bobot segar terbaik terdapat pada perlakuan sukrosa 30 g/l (S30) yaitu seberat 3.8 gram yang berbeda nyata dengan sukrosa 40 g/l yaitu seberat 2,2 gram juga perlakuan sukrosa 20 g/l yaitu seberat 0,6 gram (tabel 2). Sukrosa yang ditambahkan dalam media proliferasi kalus berfungsi sebagai sumber energi yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan sel kalus, dan hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi sukrosa 30 % memberikan pengaruh terbaik terhadap peningkatan bobot segar kalus yang terbentuk.

Sejalan dengan pernyataan Srilestari (2005) yang menyatakan bahwa glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan, dalam hal ini konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus. Hasil

penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa Induksi kalus embrio somatik kacang tanah pada media MS dengan konsentrasi sukrosa 20 g/L, 30 g/L dan 40 g/L menunjukkan hasil pada media yang mengandung sukrosa 40 g/L, embrio tumbuh lebih cepat dibandingkan pada media dengan konsentrasi sukrosa 20 g/L dan 30 g/L, namun pada induksi kalus rimpang jahe konsentrasi sukrosa diatas 60 g/L dapat menghambat (Srilestari, 2005 dalam. Sitorus, dkk. 2011).

Sukrosa yang ditambahkan dalam media akan berfungsi sebagai bahan baku dalam proses respirasi oleh sel-sel eksplan untuk dapat melakukan aktivitas sel (Kimbal, 1994 & Wirahadikusumah, 1985). Sukrosa dalam media akan dihidrolis menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa akan mengalami penguraian melalui respirasi sel yang akan menghasilkan karbon dan energi. Energi ini akan digunakan oleh sel-sel eksplan untuk pembentukan kalus.

## **2. Bobot Kering Kalus (gram)**

Bobot kering yang terbentuk selama penelitian ini merupakan gambaran akumulasi bahan-bahan organik dan mineral yang berperan penting dalam pertumbuhan kalus kencur, dimana pada kisaran penambahan sukrosa 30 g/l memberikan bobot kering kalus tertinggi yaitu sebesar 0,151 g, yang berbeda nyata dengan perlakuan sukrosa 40 g/l yaitu

sebesar 0,101 g serta perlakuan sukrosa 20 g/l memberikan bobot berat kering terendah yaitu sebesar 0,045 g. Hal tersebut menunjukkan bahwa, semakin meningkatnya pemberian sukrosa didalam media yang berfungsi sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan kalus akan memberikan peningkatan pertumbuhan kalus sampai pada batas konsentrasi optimal yang diperlukan bagi pertumbuhan kalus, setelah itu peningkatan konsentrasi sukrosa didalam media akan menurunkan pertumbuhan kalus seperti yang tersaji dalam tabel 2 diatas.

Bobot kering kalus menggambarkan aktivitas kalus pada berbagai kombinasi perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini. Penggunaan zat pengatur tumbuh 2.4 D dalam media proliferasi kalus diduga mampu mempengaruhi metabolisme RNA yang berperan mengontrol metabolisme protein di dalam sel yang kemungkinan dilakukan pada proses transkripsi molekul RNA (Maftuchah dkk. 1998). Ketersediaan zat pengatur tumbuh 2.4 D dan BAP dalam media diikuti ketersediaan sumber energi dari sukrosa yang ditambahkan memacu pertumbuhan dan proses metabolisme yang terjadi di dalam sel, digambarkan dengan pertambahan ukuran dan bobot kering kalus yang tidak balik yang berdampak pada peningkatan bobot kering kalus dalam penelitian ini.

Tabel 2. Rerata Bobot Segar Kalus (gram), Bobot Kering Kalus (gram) dan Tekstur Kalus (Keremahan) dengan perlakuan sukrosa serta kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP.

PERLAKUAN	Berat Segar Kalus (Gram)	Berat Kering Kalus (Gram)	Tektur Kalus (Keremahan)
Sukrosa 20 g/l (S20)	0,6 a	0,045 a	2,6 a
Sukrosa 30 g/l (S30)	3,8 c	0,151 c	3,1 b
Sukrosa 40 g/l (S40)	2,2 b	0,101 b	2,8 a
D1B0	1,91	0,06	3,00
D1B1	2,81	0,12	2,78
D1B2	2,63	0,12	2,67
D2B0	2,02	0,09	2,89
D2B1	1,88	0,14	2,89
D2B2	2,29	0,11	2,78
D3B0	1,79	0,07	2,78
D3B1	1,93	0,09	2,89
D3B2	2,36	0,09	2,78
S.20. D1B0	0,4	0,016	3,0 bcd
S.20. D1B1	0,6	0,019	2,3 ab
S.20. D1B2	0,5	0,027	2,3 ab
S.20. D2B0	0,7	0,035	2,0 a
S.20. D2B1	0,8	0,185	3,0 bcd
S.20. D2B2	0,7	0,033	2,7 bc
S.20. D3B0	0,4	0,011	3,0 bcd
S.20. D3B1	0,6	0,033	2,7 bc
S.20. D3B2	0,9	0,045	2,0 a
S.30. D1B0	3,3	0,081	3,0 bcd
S.30. D1B1	5,5	0,239	3,3 cd
S.30. D1B2	4,9	0,207	3,0 bcd
S.30. D2B0	3,0	0,110	3,7 d
S.30. D2B1	3,4	0,142	3,3 cd
S.30. D2B2	3,7	0,159	3,0 bcd
S.30. D3B0	3,1	0,140	2,7 bc
S.30. D3B1	3,1	0,145	3,0 bcd
S.30. D3B2	3,7	0,133	3,3 cd
S.40. D1B0	2,0	0,075	3,0 bcd
S.40. D1B1	2,3	0,112	2,7 bc
S.40. D1B2	2,4	0,132	2,7 bc
S.40. D2B0	2,3	0,122	3,0 bcd
S.40. D2B1	1,4	0,078	2,3 ab
S.40. D2B2	2,5	0,138	2,7 bc
S.40. D3B0	1,8	0,072	2,7 bc
S.40. D3B1	2,0	0,087	3,0 bcd
S.40. D3B2	2,5	0,089	3,0 bcd

Ket. Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%, S20 ; Sukrosa 20 g/l; S30 : Sukrosa 30 g/l ; S40 : Sukrosa 40 g/l; D1 = 2.4 D 1 ppm. D2 = 2.4 D 2 ppm. dan D3 = 2.4 3 ppm, B0 = BAP 0 ppm. B1 = BAP 0.1 ppm dan B2 = BAP 0.2 ppm

Gula atau sukrosa yang digunakan dalam media kultur jaringan merupakan sumber karbon sebagai pengganti karbon yang biasanya didapat tanaman dari atmosfer dalam bentuk CO<sub>2</sub> yang menjadi

komponen untuk fotosintesis (Winata, 1988). Menurut George dan Sherrington (1984), sukrosa merupakan sumber karbon penting yang digunakan sebagai penyusun sel. Dengan adanya sukrosa yang cukup,

maka pembelahan sel, pembesaran sel dan diferensiasi sel selanjutnya dapat berlangsung dengan baik.

Karbon merupakan komponen penting bagi senyawa-senyawa penyusun sel seperti karbohidrat, lipid, protein dan asam nukleat (Campbell *et al.*, 2003). Jika sumber karbon mencukupi maka komponen-komponen penyusun sel ini akan terbentuk cepat sehingga sel akan mempunyai kesempatan untuk membelah lebih optimal. Pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang cukup tinggi dan ini berdampak pada meningkatnya bobot kering kalus dalam penelitian ini. Pada penelitian ini konsentrasi sukrosa 30 g/l mampu menginisiasi kalus paling cepat dan juga menghasilkan berat kering kalus paling tinggi.

### **3. Morfologi Kalus**

Morfologi kalus yang terbentuk dalam media proliferasi kalus menunjukkan kalus yang terbentuk secara umum bersifat remah hingga kompak. Kalus yang ditumbuhkan pada media dengan berbagai konsentrasi sukrosa yang dikombinasikan dengan 2.4 D dan BAP berbentuk remah dan berwarna putih, coklat dan putih jernih. Pembentukan kalus yang remah terbentuk karena pertumbuhan yang mengarah pada pembentukan sel-sel yang berukuran kecil dan memiliki ikatan yang longgar, dalam

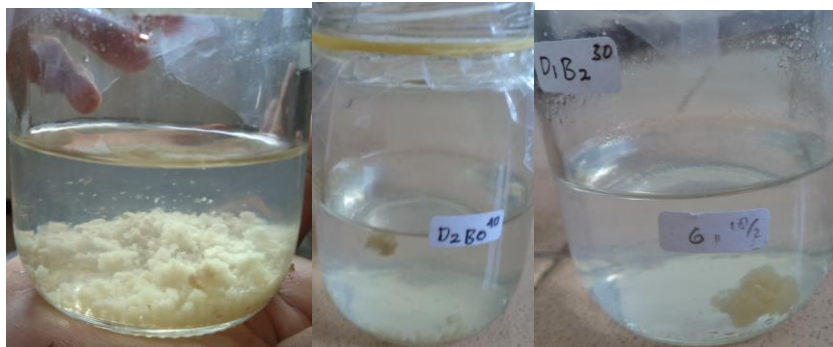
penelitian ini pada konsentrasi sukrosa 30 g/l menunjukkan tingkat keremahan tertinggi yaitu 3,1 yang berbeda nyata dengan perlakuan sukrosa 20 g/l dan 40 g/l yang masing-masing dengan tingkat keremahan sebesar 2,6 dan 2,8. Semakin ditingkatkan konsentrasi sukrosa didalam media proliferasi kalus menunjukkan terbentuknya warna putih pada kalus. Hal ini diduga, ketersediaan sukrosa yang cukup di dalam media proliferasi kalus menjamin ketersediaan karbon sebagai sumber energi pada pertumbuhan kalus dalam proses respirasi kalus.

Sependapat dengan pernyataan Srilestari (2005), dimana sukrosa merupakan sumber karbon yang terbaik sebagai bahan baku dalam proses respirasi sel. Dalam hal ini selain sukrosa yang ditambahkan kedalam media, penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh 2.4 D dan BAP memiliki fungsi pada pembentukan kalus remah. Senyawa 2.4 D merangsang pemanjangan sel dengan cara meningkatkan plastisitas dinding sel menjadi lebih longgar, menyebabkan air dapat masuk kedalam dinding sel secara osmosis dan sel mengalami pembesaran dan pemanjangan. Selain itu sel yang remah mengandung banyak air karena lignifikasi dinding sel belum terbentuk sehingga memudahkan pemisahan kumpulan sel yang satu dengan lainnya.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan sukrosa dan kombinasi zat pengatur tumbuh (2,4 D dan BAP ) dalam media proliferasi kalus terhadap variabel pengamatan tekstur dan warna kalus yang terbentuk

Sukrosa	Kombinasi 2,4 D dan BAP	Tekstur Kalus	Warna Kalus
Sukrosa 20 g/l	D1B0	3,0 <b>bcd</b>	Putih jernih
	D1B1	2,3 <b>ab</b>	Coklat
	D1B2	2,3 <b>ab</b>	Coklat
	D2B0	2,0 <b>a</b>	Putih
	D2B1	3,0 <b>bcd</b>	Putih coklat
	D2B2	2,7 <b>bc</b>	Coklat
	D3B0	3,0 <b>bcd</b>	Putih
	D3B1	2,7 <b>bc</b>	Putih coklat
	D3B2	2,0 <b>a</b>	Coklat
Sukrosa 30 g/l	D1B0	3,0 <b>bcd</b>	Putih jernih
	D1B1	3,3 <b>cd</b>	Putih
	D1B2	3,0 <b>bcd</b>	Putih jernih
	D2B0	3,7 <b>d</b>	Putih jernih
	D2B1	3,3 <b>cd</b>	Putih
	D2B2	3,0 <b>bcd</b>	Putih
	D3B0	2,7 <b>bc</b>	Putih jernih
	D3B1	3,0 <b>bcd</b>	Putih coklat
	D3B2	3,3 <b>cd</b>	Putih jernih
Sukrosa 40 g/l	D1B0	3,0 <b>bcd</b>	Putih coklat
	D1B1	2,7 <b>bc</b>	Putih jernih
	D1B2	2,7 <b>bc</b>	Putih coklat
	D2B0	3,0 <b>bcd</b>	Putih
	D2B1	2,3 <b>ab</b>	Putih
	D2B2	2,7 <b>bc</b>	Putih jernih
	D3B0	2,7 <b>bc</b>	Putih
	D3B1	3,0 <b>bcd</b>	Putih
	D3B2	3,0 <b>bcd</b>	Putih jernih

Ket. Angka-angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada pengujian BNT 5%  
 1 : kompak, 2 : agak kompak, 3 :Remah , 4 : Sangat Remah



Gambar 2. Pertumbuhan dan perkembangan kalus dalam media proliferasi kalus dengan Penambahan Sukrosa (20 - 40 g/l) yang dikombinasikan dengan Zat Pengatur Tumbuh 2.4 D ( 1-3 ppm) dan BAP (0-0.2 ppm).



Penggunaan sukrosa pada konsentrasi rendah dalam penelitian ini cenderung membentuk kalus yang sedikit remah bila dibandingkan dengan konsentrasi sukrosa lebih tinggi. Rendahnya konsentrasi sukrosa yang terdapat dalam media selain mengurangi volume dan bobot segar kalus, juga menurunkan kualitas kalus yang dapat dilihat dari perubahan struktur dan warna kalus, yaitu cenderung menjadi lebih kompak dan berwarna krem hingga coklat. Menurut Hasil penelitian Sitorus, dkk (2011) menunjukkan bahwa pada media yang ditambah sukrosa 10 g/L dan 20 g/L, kalus terbentuk hanya pada bagian eksplan yang luka saja, tidak semua permukaan eksplan membentuk kalus. Hal ini diduga karena pada media dengan konsentrasi sukrosa 10 g/L dan 20 g/L sumber karbon dan energi yang tersedia terbatas sehingga proses pembelahan sel-sel eksplan dan pembentukan kalus tidak optimal. Pada sukrosa 30 g/L dan 40 g/L kalus yang terbentuk merata pada semua permukaan eksplan. Hal ini diduga karena pada media dengan sukrosa 30 g/L dan 40 g/L sumber karbon dan energi yang terdapat lebih banyak sehingga proses pembelahan sel-sel eksplan dan pembentukan kalus optimal. Menurut Wiedenfeld (1997), struktur kalus yang kompak dan terjadi perubahan warna kekuningan atau kehijauan,

mengindikasikan terjadinya diferensiasi sel. Hamama et al. (2001) melaporkan bahwa penggunaan media MS+2,4-D (0.5–1.0 mg l<sup>-1</sup>) + BA 0.1 mg l<sup>-1</sup> pada tanaman jombang, menghasilkan kalus yang lebih berkualitas dibandingkan dengan perlakuan MS+ 2,4-D 2.0 mg l<sup>-1</sup> + 2iP dengan terbentuknya kalus yang lebih remah. Kalus embriogenik dengan berstruktur remah dan berwarna bening yang dihasilkan dari perbanyakan kalus pada umumnya banyak mengandung air.

## **KESIMPULAN**

### **A. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil dan pembahasan di muka dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi perlakuan sukrosa ( 20 – 40 g/l) dan zat pengatur tumbuh 2,4 D ( 1 – 3 ppm) dan BAP (0 – 0,2 ppm) yang diberikan belum mampu menginduksi pertumbuhan kalus pada eksplan kencur, khususnya mata tunas kencur yang digunakan dalam penelitian.
2. Perlakuan Sukrosa memberikan pengaruh terhadap variabel bobot segar kalus, bobot kering kalus serta morfologi kalus yang terbentuk dimana perlakuan sukrosa 30 % dalam media proliferasi kalus memberikan hasil terbaik untuk variabel pengamatan bobot kalus yaitu seberat

3,8 gram, bobot kering kalus seberat 0,151 gram dengan keremahan kalus yang cukup tinggi dan warna kalus putih jernih.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Finer, J.J. and Nagasawa A. 1988. Development of an embryogenic suspension culture of soybean (*Glycine max*[L.] Merril). *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 15:125-136
- George. E.F. dan Sherrington. P.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exergetic Limited. England. p. 39-71; 331-382.
- Gunawan. L.W.. 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Lab. Kultur Jaringan Tanaman Depdikbud Dirjen Dikti. PAU Bioteknologi. IPB Bogor.
- Hamama, L., M. Baasiz, and R. Letou-ze. 2001. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue of joboba. *Plant Cell and Organ Culture* 65:109-113.
- Kimball, J.W. 1994. *Biologi*. Erlangga. Bogor
- Laksmi. M . and Mythili.S. 2003. Somatic embryogenesis and Plant Regeneration from Callus culture of *Kaemferia galangal*- a Medicinal Plant. *Journal of medicinal and Aromatic plant Sciences* 25 (4):947-951.
- Litz, R.E and D.J. Gray. (1995). Somatic embryogenesis for agriculture improvement. *World Jour. Microbiol. And Biotech* 11 : 416-425.
- Marlin. 2005. Pembentukan Rimpang Mikro Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara in-vitro dengan pemberian Benzyl Amino Purin dan Sukrosa. *Jurnal Akta Agrosia* Vol. 8. No 2. Hlm. 70-73
- Maftuchah, Ardiana, H.K dan Joko, B.S. 1998. Induksi kalus *Artemisia* (*Artemisia vulgaris* L.) melalui kultur in vitro .*Tropika* 6 (2): 135 - 141.
- Sitorus, E.N., E.D. Hastuti dan N. Setiari, 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) Secara *In Vitro* Pada Media Murashige & Skoog Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda. *BIOMA*, Juni 2011 ISSN: 1410-8801. Vol. 13, No. 1.
- Smith, R.S. 1992. *Plant Tissue Culture Techniques and Experiments*. Academic Press. USA.
- Srilestari. R. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa. *Ilmu Pertanian* 12 (1): 43-50.
- Syamsuhidayat. SS dan Johny. R.H. 1991. *Inventaris Tanaman Obat*. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 616 p.
- Thao, N.T.P., Y. Ozaki, And H. Okubo. 2003. Callus induction and plantlet regeneration in ornamental *Alocasia micholitziana*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 73 : 285-289.