

**UJI KONSENTRASI 2,4 DIKLOROFENOAKSETAT DAN BAP TERHADAP INDUKSI
KALUS TANAMAN PALAPI (*Heritiera javanica*).**

WAHYUNINGSIH

M021201007



PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

FAKULTAS KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



**UJI KONSENTRASI 2,4 DIKLOROFENOAKSETAT DAN BAP TERHADAP INDUKSI
KALUS TANAMAN PALAPI (*Heritiera javanica*).**

WAHYUNINGSIH

M021201007

SKRIPSI

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

pada

PROGRAM STUDI REKAYASA KEHUTANAN

DEPARTEMEN KEHUTANAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



SKRIPSI

UJI KONSENTRASI 2,4 DIKLOROFENOAKSETAT DAN BAP TERHADAP INDUKSI
KALUS TANAMAN PALAPI (*Heritiera javanica*).WAHYUNINGSIH

M021201007

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian sarjana yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Sarjana S-1 Rekayasa Kehutanan Pada 08 Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan pada Program Studi Rekayasa Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Makassar

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Iswanto, S.Hut., M.Si
NIP. 199303112021015001

Pembimbing Pendamping,

Nur A'ida, S.Hut., M.Hut
NIP. 1983041520001122001

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.
NIP. 198202092015042002



**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Uji Konsentrasi 2,4 Diklorofenoaksetat Dan BAP Terhadap Induksi Kalus Tanaman Palapi (*Heritiera Javanuca*)" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Bapak Iswanto, S.Hut. M.Si. dan Ibu Nur A'ida, S.Hut. M.Hut.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan peraturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 08 Agustus 2024



Wahyuningsih
M021201007



ABSTRAK

Wahyuningsih (M021201007). **Uji Konsentrasi 2,4 Diklorofenoaksetat dan BAP Terhadap Induksi Kalus Tanaman Palapi (*Heritiera Javanica*)**. (dibawah bimbingan Iswanto dan Nur A'ida)

Palapi (*Heritiera javanica*) adalah salah satu jenis pohon sebagai penghasil kayu dengan nilai guna dan ekonomis tinggi karena termasuk kedalam kayu kelas awet II-IV dan kelas kuat II. Penyediaan bibit unggul secara konvensional dianggap tidak efektif karena membutuhkan waktu yang lama dan ditentukan oleh musim sehingga dilakukan perbanyakan secara vegetatif modern yaitu kultur jaringan. Induksi kalus sebagai bagian teknik dari kultur jaringan memiliki keunggulan dalam hal pemisahan sel-sel kalus yang dapat diarahkan untuk berkembang menjadi embrio stomatik, serta tingkat perkembangan tanaman yang sangat tinggi. Metode penelitian dimulai dari tahapan sterilisasi alat, pembuatan media, persiapan eksplan, multiplikasi dan pengamatan. Data yang diperoleh dilakukan analisis ragam (ANOVA) menggunakan program SPSS. Hasil penelitian menunjukkan media *Murashige and Skoog* (MS) dengan kombinasi 4 ppm 2,4-D dan BAP 0,75 ppm merupakan perlakuan yang paling optimal berdasarkan pertumbuhan dan berat kalus. Perlakuan 4 ppm 2,4-D dengan kombinasi 0,5, 0,75 dan 1 ppm BAP merupakan perlakuan yang paling optimal berdasarkan presentase eksplan hidup dan tekstur kalus. Sedangkan kombinasi MS dengan konsentrasi 4 ppm 2,4-D dan BAP 1 ppm merupakan kombinasi terbaik untuk parameter warna kalus yaitu warna hijau.

Kata Kunci: *Benzyl Amino Purine* (BAP), 2,4 Diklorofenoaksetat, *Heritiera javanica*, Induksi kalus, Kultur jaringan.



ABSTRACT

Wahyuningsih (M021201007). **Concentration Testing Of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid And BAP On Callus Induction Of Palapi Plant (*Heritiera Javanica*)**. (under the guidance of Iswanto and Nur A'ida).

*Palapi (*Heritiera javanica*) is a type of tree that produces high-value and economically important wood, classified in durability classes II-IV and strength class II. Conventional methods for obtaining superior seedlings are deemed ineffective due to long growth periods and seasonal constraints, thus modern vegetative propagation techniques such as tissue culture are employed. Callus induction, as part of tissue culture, offers advantages in isolating callus cells that can be directed to develop into somatic embryos, resulting in highly efficient plant development. The research method includes sterilization of equipment, media preparation, explant preparation, multiplication, and observation. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) in SPSS software. The results indicate that Murashige and Skoog (MS) medium with a combination of 4 ppm 2,4-D and 0.75 ppm BAP is the optimal treatment based on callus growth and weight. The treatment of 4 ppm 2,4-D combined with 0.5, 0.75, and 1 ppm BAP shows optimal results in terms of explant survival percentage and callus texture. Meanwhile, the combination of MS medium with 4 ppm 2,4-D and 1 ppm BAP is best for callus color parameter, specifically green color.*

*Keywords: Benzyl Amino Purine (BAP), 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid, *Heritiera javanica*, Callus Induction, Tissue Culture.*



KATA PENGANTAR

Segala puji dan Syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan petunjuk dan Rahmat-Nya sehingga penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Uji Konsentrasi 2,4 Diklorofenoaksetat dan BAP terhadap Induksi Kalus Tanaman Palapi (*Heritiera javanica*)” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun dan diajukan untuk memenuhi sebagai persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kehutana di Program Studi Rekayasa Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada, Bapak **Iswanto, S.Hut. M.Si** selaku pembimbing internal dari Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin dan Ibu **Nur A’ida, S.Hut. M.Hut** selaku pembimbing eksternal dari Balai Pembenihan Tanaman Hutan Wilayah II Makassar, yang telah membantu mengarahakan, mendampingi dan meluangkan waktu selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini.

Skripsi ini merupakan persembahan kecil kepada Bapak **Syarifuddin** dan Mama **Yasriani** selaku orangtua sekaligus sahabat tercinta penulis, yang dengan penuh kesabaran dan ketulusan selalu memberikan cinta, dukungan, motivasi, saran, doa, memberikan ruang untuk bercerita serta selalu memberikan tempat pulang yang paling nyaman bagi penulis. Serta **Muliadi S.Kep., Ns., Rahmat Sulfani, Marwati,** dan **Mentari Adelia** selaku saudara yang selalu memberikan motivasi dan semangat kepada penulis. Semoga di hari esok penulis kelak dapat menjadi anak yang dapat membanggakan keluarga. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan terima kasih khususnya kepada:

1. Bapak **Prof. Dr. Ir. Muh.Restu, M.P.** dan **Dr. Kidung Tirtayasa Putra Pangestu, S.Hut., M.Si** selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran, bantuan serta koreksi dalam penyusunan skripsi.
2. Bapak/Ibu **Dosen Fakultas Kehutanan** yang senantiasa memberikan ilmu dengan penuh rasa tanggung jawab tanpa mengenal lelah serta seluruh **Staf Fakultas Kehutanan** yang selalu melayani pengurusan administrasi selama berada di lingkungan Fakultas Kehutanan.
3. Kepada **Balai Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Wil. II**, khususnya Ibu **Ir. Evi Budiaryanti, M.Si.** dan Bapak **Samsi, S.Hut** yang telah memberikan izin serta dukungan selama penelitian di BPTH Wil. II.
4. Kepada kakak-kakak BPTH terkhusus Kakak **Afni, Wiwi** dan **Uni** yang telah sabar dan baik hati dalam membantu serta memberikan bimbingan selama penelitian.
5. **Klarisa** dan **Riska Anggraeni** selaku sahabat dan kakak, penulis ucapkan terima kasih atas segala dukungan, motivasi dan omelan yang telah menemani selama 19 tahun terakhir penulis.

“Lambek Turah” **Susi Rahmadani, Sitti Maimunah, Evul** dan **Nurul Fadillah** yang telah menjadi teman seperjuangan di perjalanan, selalu memberikan tumpangan, dukungan dalam berbagai hal yang dihadapi, selalu memberikan saran, semangat, motivasi, keberatan selalu direpotkan dan tidak jarang juga dibully.

penelitian “Kuljar BPTH” **Misbahuljannah, Nurul Fadillah** dan **Nike Christafilia Ruben** yang selalu memberikan semangat,



motivasi, dan saran agar semangat penulis selalu terpacu menyelesaikan penulisan skripsi.

8. Kawanku **A. Abdillah Abulkhair** dan **Firmansyah** yang turut membantu penulisan skripsi ini serta Teman-teman “Magang BPTH Wil.II di Laboratorium Kultur Jaringan” **Jabal, Ali, Noval, Iki**, dan **Lidya** yang turut membantu selama penelitian.
9. Keluarga besar **Rekhut 20 dan Imperium 20** atas segala dukungan dan motivasi selama perkuliahan serta proses penulisan skripsi ini.
10. Kepada saudara/i seperjuangan keluarga **Elgiasper17**, terima kasih atas semua semangat dan apresiasi yang telah diberikan. Dukungan kalian selalu menjadi motivasi bagi penulis untuk terus maju dan berusaha melakukan hal-hal yang lebih baik di masa depan.
11. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
12. Kepada **Wahyuningsih** selaku penulis skripsi ini, terima kasih karena selalu berusaha, pantang menyerah dalam situasi apapun dan sudah berjuang sejauh ini. Mampu mengatasi kebingungan yang dihadapi dan selalu belajar menjadi pribadi yang lebih baik di setiap harinya. Semoga dalam proses ini, penulis kelak dapat meraih semua doa dan harapan yang selalu dipanjatkan.

Penulis berharap sekiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat dan tambahan referensi perkembangan ilmu kehutanan khususnya dibidang Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon. Sebagai penutup, penulis mengucapkan permohonan maaf apabila terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis,

Wahyuningsih



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
12.1 Latar Belakang	1
12.2 Teori.....	2
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Waktu dan Tempat	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Bahan Tanaman	4
2.4 Prosedur Pelaksanaan	4
2.5 Rancangan Penelitian.....	6
2.6 Variabel Pengamatan	6
2.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisis Data.....	7
BAB III HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	8
3.1 Waktu Tumbuh Kalus	8
3.2 Presentase Eksplan Hidup dan Eksplan Mati	10
3.3 Warna Kalus	11
3.4 Tekstur Kalus.....	13
3.5 Berat Kalus	15
BAB IV KESIMPULAN.....	17
4.1 Kesimpulan	17
.....	18
.....	21



DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1.	Rancangan Perlakuan dengan Berbagai Konsentrasi ZPT 6
2.	Presentase eksplan hidup dan eksplan mati pada berbagai media yang digunakan..... 11
3.	Presentase warna kalus tanaman Palapi (<i>Heritiera javanica</i>) 11
4.	Pengaruh beberapa formulasi media terhadap tekstur kalus tanaman Palapi (<i>Heritiera javanica</i>) pada 4 MST..... 14
5.	Berat kalus tanaman palapi (<i>Heritiera javanica</i>)..... 16



DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Proses Terbentuknya Kalus a). Eksplan diberi perlakuan, b). Daun mengalami proses Penggulungan, c). Daun Membengkak dan membentuk Kalus.....	8
2. Grafik Waktu Tumbuh Kalus.....	9



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Komposisi <i>Medium Murashige dan Skoog</i> (MS)	22
2. Data rata-rata Pengukuran Palapi (<i>H.javanica</i>)	23
3. Analisis Uji ANOVA (<i>analysis of variences</i>) Terhadap Waktu Tumbuh Kalus Daun Palapi (<i>H. javanica</i>).....	23
4. Analisis Uji ANOVA (<i>analysis of variences</i>) Terhadap Berat Kalus Kalus Daun Palapi (<i>H. javanica</i>).....	23
5. Dokumentasi Tekstur Kalus Palapi (<i>H. javanica</i>) pada setiap perlakuan (4 MST). 24	
6. Dokumentasi Pelaksanaan Kegiatan Kultur Jaringan Induksi Kalus Palapi (<i>H. javanica</i>).....	26
7. Curriculum Vitae	27



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembangunan hutan yang lestari memerlukan bibit unggul dan berkualitas baik. Pengembangan jenis tanaman unggul pada area yang luas memiliki kendala dalam menyediakan bibit dengan jumlah yang cukup (Sudrajat et al., 2016). Hutan di Indonesia memiliki beranekaragam jenis tanaman dan di dominasi oleh pohon, salah satunya adalah jenis Palapi (*Heritiera javanica*). Palapi memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai penghasil kayu dengan nilai guna dan ekonomis tinggi. Hal ini disebabkan kayu jenis Palapi termasuk kedalam kayu kelas awet II-IV dan kelas kuat II (Sahromi et al., 2015). Kayu ini tersebar di berbagai wilayah diantaranya Sumatera (kecuali Jambi), Kalimantan, Maluku, Jawa, Nusa Tenggara Timur, Irian Jaya, dan Sulawesi. Palapi di hutan alam tumbuh secara tersebar, yang berdampak pada pembungaan dan pembuahan yang kurang optimal dalam ekosistem hutan alami, sehingga tingkat regenerasi alaminya menjadi rendah. Jika tidak dikelola secara efektif, maka keberadaan jenis ini akan cepat menurun dan menghambat komersialisasi sebagai jenis penghasil kayu yang bernilai ekonomi tinggi (Sahromi et al., 2015).

Besarnya potensi yang dimiliki Palapi maka tindakan budidaya yang intensif perlu dilakukan dan ketersediaan bibit yang berkesinambungan. Penyediaan bibit unggul secara konvensional dianggap tidak efektif karena membutuhkan waktu yang lama dan ditentukan oleh musim. Habibah et al., (2021) menyatakan bahwa upaya perbanyak tanaman unggul dapat dilakukan dengan menggunakan teknik kultur jaringan, metode perbanyak ini dapat menghasilkan bibit berkualitas tinggi dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang relatif singkat serta dapat dilakukan sepanjang waktu tanpa tergantung pada musim. Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan dapat dilakukan dengan cepat dalam skala yang besar, menghasilkan bibit yang seragam, dengan sifat yang sama (Urfiana et al., 2013) seperti tanaman induknya, dan bebas dari infeksi virus (Nurhaerati, 2018).

Teknik dalam kultur jaringan yang berguna untuk mendapatkan perbanyak tanaman secara terus menerus yaitu melalui induksi kalus. Teknik ini memiliki keunggulan dalam hal pemisahan sel-sel kalus yang dapat diarahkan untuk berkembang menjadi embrio stomatik, serta tingkat perkembangan tanaman yang sangat tinggi (Nurhaerati, 2018). Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang umum digunakan dalam media kultur jaringan adalah sitokinin dan auksin. Auksin seperti 2,4-D berperan dalam merangsang pembelahan dan pertumbuhan sel pada pucuk tanaman. Penambahan auksin dalam jumlah besar cenderung menyebabkan pembentukan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman. Penggunaan 2,4-D biasanya



dan periode singkat karena kekuatan auksin yang tinggi dan rendah di dalam tubuh tanaman. Pada dosis tertentu, 2,4-D dapat menyebabkan mutase-mutasi (Andraryana, 2010). Jenis sitokinin seperti BAP dan kinetin memiliki peran penting dalam proses pembelahan sel, pertumbuhan tunas. Sebagai contoh, kinetin sering digunakan dengan BAP sebagai komponen utama dalam media kultur. Kedua kelompok zat pengatur tumbuh ini dapat meningkatkan

pertumbuhan tanaman ketika konsentrasinya seimbang antara sitokinin dan auksin (Nursyamsi et al, 2007). Penentuan dosis yang tepat dari ZPT sangat penting dalam kultur jaringan. Kesalahan perhitungan dosis dapat menghambat pertumbuhan kalus. Kombinasi hormon 2,4-D dan BAP dapat meningkatkan pertumbuhan kalus (Surya and Ismaini, 2021).

Penelitian terbaru Mastuti et al., (2020) yang menginduksi Ciplukan *Physalis agualata* L. menggunakan ZPT BAP (2 ppm) dan 2,4-D (1, 2 dan 4 ppm) mampu meningkatkan BB kalus sekunder tanpa diiringi munculnya tunas maupun akar. Penelitian lain yang dilakukan oleh Urfiana et al., (2013) menggunakan bunga klon kakao *Theobroma cacao* L. yang merupakan subfamili atau kerabat dekat dari jenis tanaman Palapi *Heritiera javanica* yaitu *Sterculiaceae* yang menginduksi kalus pada media MS dengan penambahan 2,4-D, BAP dan Air kelapa dengan beberapa kombinasi perlakuan, menunjukkan semua perlakuan yang dicobakan mampu menginduksi kalus kakao.

Berdasarkan hasil penelitian tentang induksi kalus dan belum adanya data mengenai perbanyak tanaman Palapi melalui kultur jaringan, serta sejumlah penelitian sebelumnya yang berhasil menggunakan 2,4-D dan BAP, maka diperlukan penelitian untuk membandingkan kombinasi hormon 2,4 Diklorofenoksiasetat dan BAP yang efektif dalam menginduksi kalus Palapi secara *in vitro* serta menilai tingkat keberhasilan induksi kalus pada tanaman Palapi. Penelitian ini diharapkan untuk memperoleh bibit Palapi yang berkualitas dalam jumlah yang banyak melalui metode *in vitro* serta dapat memberikan kontribusi terhadap peningkatan produksi planlet tanaman Palapi di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Pembenihan Tanaman Hutan Wilayah II Makassar.

1.2 Teori

Teknik kultur jaringan adalah cara untuk mengisolasi bagian dari tanaman dan menumbuhkannya dalam kondisi steril, sehingga dapat berkembang biak dan beregenerasi menjadi tanaman baru. Prinsip utamanya adalah memperbanyak tanaman menggunakan bagian vegetatif pada media buatan dalam lingkungan steril. Metode ini efisien dalam menghasilkan bibit tanaman tanpa perlu banyak induk, dengan sifat yang mirip dengan tanaman aslinya, serta waktu pertumbuhan yang singkat dan membutuhkan sedikit ruang. Metode ini berguna untuk menghilangkan virus. Studi yang dilakukan oleh Parmessur et al., (2002) menunjukkan bahwa metode kultur kalus secara *in vitro* dapat menghilangkan virus penyebab penyakit garis kuning hingga 100%, sementara kultur meristem apikal dapat mengurangi virus tersebut hingga 64% (Basri, 2016).

Keberhasilan dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk eksplan dan lingkungan. Eksplan yang optimal memiliki ukuran sekitar 0,5 cm² dan mempertimbangkan usia dan genotipe eksplan tersebut. Faktor lain yang mempengaruhi adalah kandungan nutrisi yang terdapat di dalamnya. Faktor lingkungan seperti suhu, pH, kelembaban, dan jenis wadah yang digunakan sebagai media kultur juga sangat penting untuk eksplan (Apriliyani and Wahidah, 2021). Sterilisasi juga merupakan aspek penting dalam kultur jaringan karena berperan untuk mencegah kontaminasi pada peralatan, media, dan bahan tanaman atau eksplan.



Sterilisasi eksplan sangat menentukan keberhasilan dalam kultur jaringan dengan tujuan menghilangkan mikroorganisme yang dapat membawa kontaminasi dan mengganggu pertumbuhan eksplan. Langkah sterilisasi eksplan merupakan langkah awal yang krusial untuk memastikan keberhasilan penanaman dalam lingkungan *in vitro*. (Ismaini and Surya, 2021). Keberhasilan sterilisasi akan berpengaruh besar pada tahap inisiasi.

Inisiasi adalah langkah awal dalam kultur jaringan yang melibatkan pengambilan eksplan dari tanaman induk untuk diperbanyak dalam media kultur jaringan bertujuan untuk mendapatkan biakan yang bebas kontaminasi dan pencoklatan yang keberhasilannya ditentukan oleh kualitas bahan biakan seperti umur, kondisi fisiologi tanaman induk dan ukuran bahan biakan. Persentase keberhasilan dalam kultur jaringan akan lebih besar bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan ini adalah jaringan muda, yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah, memiliki dinding tipis yang belum mengalami penebalan zat pektin sehingga sering digunakan dalam kultur jaringan karena keadaannya selalu membelah dan diperkirakan mempunyai zat hormon yang mengatur pembelahan (Wulandari et al., 2022).

Media dasar saja tidak mencukupi untuk kultur jaringan, diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh atau ekstrak organik guna memengaruhi perkembangan kultur. Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan nutrisi, yang dalam kadar rendah dapat mendukung, menghambat, dan merubah proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terbagi menjadi lima kelompok, yakni auksin, giberelin, sitokinin, etilen, dan inhibitor, masing-masing memiliki karakteristik dan pengaruh yang berbeda terhadap fisiologi (Sandra, 2013).

Induksi kalus adalah langkah pertama dalam teknik kultur *in vitro* yang bertujuan untuk menghasilkan dan menggandakan sel kalus secara besar-besaran. Kalus merupakan sumber bahan tanam yang sangat vital dalam proses regenerasi tanaman, karena setiap sel tanaman memiliki potensi untuk membentuk individu baru. Pencapaian induksi kalus yang efisien menjadi tahap kunci dalam mendapatkan bibit berkualitas dalam jumlah besar secara cepat. Strategi kultur jaringan yang melibatkan induksi kalus terbukti sangat efektif, karena kalus dapat dimulai dari bagian tanaman manapun (Rasud and Bustaman, 2020). Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditanam dalam lingkungan yang terkendali. Kalus dapat diinisiasi dari hampir seluruh bagian tumbuhan, namun asal organ tersebut akan memengaruhi pembentukan kalus karena kecepatan pembelahan selnya berbeda-beda (Aspianti, 2016).



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2024 di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Pembenuhan Tanaman Hutan (BPTH) Wilayah II Makassar, Sulawesi Selatan.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), *autoclaf*, *oven*, timbangan analitik, *microwave*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, lampu bunsen, pH meter, micropipet, alat gelas standar (gelas piala, gelas ukur, botol kultur dan botol kultur), alat diseksi (pinset, gunting, cutter, gagang dan pisau skalpel), sprayer, rak kultur, korek api, alat tulis-menulis dan alat dokumentasi.

2.3 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan berasal dari daun muda tanaman Palapi yang diambil dari bibit Koleksi BPTH Wilayah II Makassar. Bibit tersebut berasal dari tegakan Palapi di Mamuju, Sulawesi Barat, yang kemudian dikembangkan di Persemaian Permanen unit Gowa. Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Murashige And Skoog* (MS) dan modifikasinya yang terdiri dari larutan stok mikro, stok makro, stok Fe, stok vitamin, *myo-inositol*, glukosa yang dipadatkan dengan agar-agar pematik. Bahan lain yang digunakan adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa *Benzy/ Amino Purine* (BAP) dan 2,4 Diklorofenoksiasetat. Bahan sterilisasi yang digunakan adalah aquades steril, alkohol 70%, spirtus, air dan *betadine*. Bahan tambahan yang digunakan adalah kertas saring, *plastic wrapping*, label, aluminium foil, *tissue*, kertas milimeter block, kain hitam, sarung tangan dan masker.

2.4 Prosedur Pelaksanaan

Pelaksanaan kegiatan dalam penelitian terdiri dari beberapa tahap yang dimulai dengan sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, sterilisasi sebelum penanaman, dan penanaman eksplan pada botol kultur yang telah diisi dengan media, serta pengamatan dan pengumpulan data.

2.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam kultur jaringan harus dalam keadaan bersih dan steril sehingga perlu dilakukan sterilisasi. Mencuci bersih dan mengeringkan alat-alat yang akan digunakan. Mensterilkan alat dan bahan seperti botol kultur dan aquades menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit. Mensterilkan gagang dan *scalpel* dalam oven pada suhu 150°C selama 2 jam dan dibungkus dengan kertas.



tempatkan di atas hot plate stirrer. Tambahkan gula, stok makro, stok mikro, FeSO₄, stok vitamin, dan *Myo-Inositol* sesuai konsentrasi masing-masing ke dalam gelas piala. Menambahkan aquades steril hingga volume mencapai 600 ml. Ukur pH larutan, pastikan berada di antara 5,6-5,8. Setelah pH sesuai, memasukkan 8 gram agar pematidat dan tambahkan aquades hingga volume mencapai 1000 ml. Kemudian, tambahkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berupa 2,4-Diklorofenoasetat dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) sesuai konsentrasi yang tercantum dalam **Tabel 1**. Panaskan larutan media menggunakan microwave hingga mendidih. Masukkan larutan media ke dalam botol kultur dan sterilkan botol-botol yang berisi media dengan *autoclave* pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit.

2.4.3 Sterilisasi Alat Sebelum Penanaman

Sterilisasi alat untuk penanaman dimulai dengan mensterilkan *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) menggunakan semprotan alkohol 70%. Alat-alat yang akan digunakan, termasuk botol kultur berisi media, lampu Bunsen, alat diseksi (pinset, spatula, pisau *scalpel*, gunting), tisu, *plastic wrapping*, kertas saring, cawan petri, tabung reaksi berisi alkohol, dan korek api, disemprotkan alkohol 70% sebelum dimasukkan ke dalam L AFC. L AFC dan sinar ultraviolet (UV) dinyalakan selama 220 menit. Mematikan UV dan lampu serta kipas pada L AFC dinyalakan, diikuti dengan memasukkan bahan eksplan yang akan ditanam. Lampu Bunsen dinyalakan dengan korek api, dan alat diseksi disterilkan dengan cara dibakar setelah sebelumnya dicelupkan ke dalam alkohol, kemudian didiamkan beberapa saat.

2.4.4 Perisapan Eksplan

Sumber eksplan yang digunakan adalah eksplan jaringan muda daun Palapi dari tanaman yang sehat, tidak terinfeksi hama dan penyakit. Sterilisasi yang dilakukan pada luar laminar dengan mencuci eksplan dibawah air kran yang mengalir, membersihkan menggunakan deterjen sambil digosok lalu dicuci kembali menggunakan air kran, membilas eksplan menggunakan aquades steril hingga bersih. Sedangkan sterilisasi dalam laminar dilakukan dengan merendam eksplan dalam alkohol 70% selama 20 detik, membilas kembali dengan aquades steril 3x selama 5 menit, mensterilkan dengan *sodium hypochlorite* (*Bayclin* 50%) selama 2 menit, membilas dengan aquades steril 3x selama 5 menit, merendam pada larutan *betadine*.

2.4.5 Penanaman Eksplan

Penanaman dilakukan dalam L AFC dengan eksplan tanaman dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi kertas saring menggunakan pinset, dan bagian daun tanaman dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ukuran 1 cm. Menanam eksplan ke dalam botol kultur yang didekatkan dengan lampu bunsen menggunakan pinset. Setelah selesai menanam, botol kultur dan merekatkannya dengan *plastic wrapping* yang telah disiapkan. Memberi tanda pada botol-botol yang telah ditanami dengan menggunakan label. Setelah selesai penanaman, nama media dan jenis perlakuan yang diberikan dicatat dan dimasukkan ke rak kultur dalam keadaan gelap (tanpa cahaya).



2.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktorial yang terdiri dari 10 perlakuan masing-masing diulang sebanyak 3 kali, dengan demikian terdapat 30 unit percobaan. Rancangan penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rancangan Perlakuan dengan Berbagai Konsentrasi ZPT

Perlakuan	Jenis Media
M ₀ (MS)	Tanpa 2,4-D dan BAP
M ₁	MS + 3 ppm 2,4-D + BAP 0,5 ppm
M ₂	MS + 3,5 ppm 2,4-D + BAP 0,5 ppm
M ₃	MS + 4 ppm 2,4-D + BAP 0,5 ppm
M ₄	MS + 3 ppm 2,4-D + BAP 0,75 ppm
M ₅	MS + 3,5 ppm 2,4-D + BAP 0,75 ppm
M ₆	MS + 4 ppm 2,4-D + BAP 0,75 ppm
M ₇	MS + 3 ppm 2,4-D + BAP 1 ppm
M ₈	MS + 3,5 ppm 2,4-D + BAP 1 ppm
M ₉	MS + 4 ppm 2,4-D + BAP 1 ppm

2.6 Variabel Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah penanaman selama 30 hari. Variabel yang diamati meliputi:

- Waktu tumbuh kalus (hari setelah tanam/HST), pengamatan yang ditandai adanya pembengkakan atau munculnya jaringan putih kehijauan pada permukaan eksplan pada setiap perlakuan.
- Warna kalus, pengamatan dilakukan setiap 1 x seminggu dengan mengamati secara visual dan diakhir pengamatan dilakukan menggunakan buku *Muncell color plant*.
- Presentase eksplan hidup dan eksplan mati, pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan 4 Minggu Setelah Tanam (MST) menurut Hasmawati (2019) presentase eksplan hidup dan mati dihitung dengan menggunakan rumus berikut:
 - Presentase eksplan hidup

$$\% \text{ eksplan hidup} = \frac{\Sigma \text{eksplan hidup}}{\Sigma \text{jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$



Presentase eksplan mati

$$\% \text{ eksplan mati} = \frac{\Sigma \text{eksplan mati}}{\Sigma \text{jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

- d. Tekstur kalus, pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan (4 MST) dengan mengamati apakah kalus termasuk remah (*frible*), kompak (*non friable*), dan intermediet.
- e. Berat kalus, pengukuran dilakukan pada akhir pengamatan (4 MST), dengan menggunakan neraca analitik.

2.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisis Data

Analisis data yang digunakan menggunakan Microsoft Excel dan program SPSS dalam analisis ragam (ANOVA/*Analysis of variance*), jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

