

Inisiasi Kalus Daun *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid dan Benzyl Adenine

Dinda Anggraeni^{1*}, Lily Ismaini², Muhammad Imam Surya², Hayatul Rahmi¹,
dan Nurcahyo Widyodaru Saputro¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian - Universitas Singaperbangsa Karawang,
Jalan H.S. Ronggo Waluyo, Telukjambe Timur, Karawang 41361 Jawa Barat

²Pusat Riset Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya dan Kehutanan - BRIN, Jalan Ir. H. Juanda
No.18 Bogor 16122 Jawa Barat

*Alamat korespondensi: dindaangraenii@gmail.com

INFO ARTIKEL

Diterima: 05-07-2022
Direvisi: 01-09-2022
Dipublikasi: 30-12-2022

ABSTRACT/ABSTRAK

Callus Initiation from *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd Leaves with Several Combination Concentrations of Plant Growth Regulator of 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid and Benzyl Adenine

Keywords:
Auxin, Callus,
Cytokinin, Javanese
ginseng, Leaves

The herb Javanese ginseng (*Talinum triangulare*) has therapeutic potential in all its sections. The main focus of this study was to optimize growth regulators for callus initiation of Javanese ginseng. This research was carried out at the Cibodas Botanical Gardens Tissue Culture Laboratory – National Research and Innovation Agency (BRIN) from August to November 2021. The study used a Completely Randomized Design (CRD) design with nine treatment combinations of 2,4-D (Dichlorophenoxyatic Acid) and Benzyl Adenine (BA) with three replications. Leaf explants with a diameter of 8 mm were planted in culture bottles containing Murashige and Skoog media mixed with combination of concentrations of growth regulators 2,4-D (0.5 ppm, 1 ppm, and 1.5 ppm) and BA (0.5 ppm, 1 ppm and 1.5 ppm), respectively. Planted explants were able to produce callus with the initial time of callus appearing between 13-22 days after initiation and had a crumb texture in all treatments. These treatments produced four callus colors: moderate yellow green, grayish yellow green, pale olive, and pale brown. The best concentration combination obtained was the D₂B₃ treatment (1 ppm 2,4-D + 1.5 ppm BA) which provided optimal growth for the callus length of 3.17 cm, the callus wet weight of 2.16 g and dry weight callus of 0.21 g.

Kata Kunci:
Auksin, Daun, Ginseng
jawa, Kalus, Sitokinin

Ginseng Jawa (*Talinum triangulare*) merupakan tanaman yang seluruh bagian tanamannya memiliki khasiat sebagai obat. Tujuan penelitian ini adalah optimalisasi zat pengatur tumbuh untuk inisiasi kalus ginseng jawa. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Kebun Raya Cibodas – Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) pada bulan Agustus sampai bulan November 2021. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sembilan kombinasi perlakuan 2,4-D (Dichlorophenoxyatic Acid) and Benzyl Adenine (BA) dengan tiga ulangan. Eksplan daun berdiameter 8 mm ditanam pada botol kultur berisi media *Murashige and Skoog* yang mengandung kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm) dan BA (0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm). Eksplan yang ditanam mampu menghasilkan kalus dengan waktu awal muncul kalus antara 13-22 hari

setelah inisiasi dan memiliki tekstur remah pada semua perlakuan. Terdapat empat warna kalus yang dihasilkan dari perlakuan ini, yaitu *moderate yellow green, grayish yellow green, pale olive dan pale brown*. Terdapat kombinasi konsentrasi terbaik diperoleh pada perlakuan D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) yang memberikan pertumbuhan optimal pada parameter panjang kalus sebesar 3,17 cm dan parameter berat basah kalus sebesar 2,16 gram serta berat kering kalus sebesar 0,21 gram

PENDAHULUAN

Tanaman ginseng jawa (*Talinum triangulare*) atau kolesom jawa merupakan tanaman obat herbal yang sampai saat ini banyak digunakan masyarakat Indonesia (Ekawati, 2018). Ginseng jawa terkenal akan khasiatnya untuk meningkatkan daya tahan tubuh serta menyembuhkan berbagai macam penyakit (Seswita, 2010).

Daun pada ginseng jawa berpotensi menjadi tanaman sayur berkhasiat obat (Susanti, 2012). Daunnya mengandung saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antiradang dan antivirus. Akarnya digunakan untuk obat batuk, tonikum dan obat kuat. Penggunaan ginseng secara teratur juga bermanfaat untuk meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah penyakit alzheimer, serta menurunkan kandungan gula bagi penderita diabetes (Seswita, 2010).

Banyaknya manfaat dari *T. triangulare* dapat dijadikan peluang untuk meningkatkan produksi sebagai tanaman obat dan sayuran. Ginseng jawa memiliki bentuk akar menggembung seperti ginseng impor sehingga khasiatnya disetarakan (Tando dkk., 2020). Harga yang lebih murah dan memiliki khasiat setara dapat menjadi peluang budidaya ginseng jawa menggantikan ginseng impor (Seswita, 2010). Lebih lanjut menurut Seswita (2010) produk yang berbahan baku ginseng jawa mulai banyak dijual hingga di ekspor.

Menurut Syakira (2018), selain kandungan utama yang terkandung dalam tanaman ginseng jawa seperti flavanoid, alkaloid dan saponin, tanaman ini juga mengandung vitamin A yang baik untuk kesehatan mata, vitamin C yang berfungsi untuk menjaga kekebalan tubuh serta kalsium yang baik untuk menjaga kesehatan tulang.

Kegiatan budidaya ginseng jawa dapat ditingkatkan melalui teknik kultur jaringan untuk mendapatkan hasil yang banyak dalam waktu yang relatif singkat. Media yang digunakan pada kultur jaringan merupakan faktor penentu keberhasilan tumbuhnya eksplan. Media yang baik mengandung unsur-unsur hara makro dan mikro, gula, vitamin

dan zat pengatur tumbuh. Komposisi media dalam kultur jaringan telah diformulasikan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan (Inkiriwang dkk., 2016).

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dalam waktu yang cukup singkat dan menghasilkan bibit yang banyak tanpa mengganggu keberadaan tanaman di lapangan karena hanya membutuhkan sedikit bagian tanaman untuk dikulturkan menjadi tanaman utuh. Bibit yang diperoleh dari metode ini seragam, relatif bebas penyakit serta dapat memenuhi kebutuhan bibit untuk jangka panjang (Astutik, 2007). Kultur jaringan juga merupakan alternatif dalam penyediaan tanaman untuk ekstrak obat-obatan yang dibutuhkan dalam jumlah banyak (Purwaningrum, 2013).

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Media ini banyak digunakan dalam perbanyakan kultur jaringan dibandingkan dengan media dasar lainnya. Kandungan media MS terdiri dari unsur hara makro, unsur hara mikro serta zat besi. Penambahan zat pengatur tumbuh pada media MS dapat menunjang pertumbuhan eksplan (Fauziah dkk., 2019).

Selain media, salah satu faktor eksternal untuk mendukung pertumbuhan eksplan adalah zat pengatur tumbuh (Wahyuni dkk., 2020). Zat pengatur tumbuh (ZPT) memiliki peranan penting dalam kultur jaringan karena memberikan pengaruh nyata (Budi, 2020). ZPT merupakan senyawa organik bukan hara yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman apabila diberikan dalam konsentrasi rendah. ZPT yang banyak digunakan dalam kultur jaringan yaitu golongan auksin dan sitokinin (Hariadi dkk., 2019).

Beberapa penelitian kultur jaringan pada ginseng jawa dengan penambahan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin telah dilakukan. Wardani dkk. (2004) menyatakan bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh auksin 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic Acid) dan sitokinin kinetin pada eksplan daun ginseng jawa mampu

menginduksi kalus di sepanjang irisan daun pada umur 7 - 10 hari setelah dikulturkan. Pada parameter pengamatan laju pertumbuhan kalus dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin memberikan hasil yang berbeda nyata dengan mengamati peningkatan berat basah kalus.

Penelitian selanjutnya oleh Savithamma *et al.* (2010) yang menambahkan sitokinin BA (*Benzyl adenin*) pada eksplan tangkai daun ginseng menunjukkan hasil tertinggi pada pengamatan tunas. Penambahan BA baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan kinetin keduanya menunjukkan hasil tertinggi pada pengamatan regenerasi tunas.

Penambahan BA juga diketahui memberikan hasil tertinggi pada pengamatan tinggi tunas. Karupiah & Hing (2016) menyatakan bahwa inisiasi kalus pada tanaman *Talinum paniculatum* dengan perlakuan kombinasi ZPT 2,4-D 2 mg/l dan BA 2,5 mg/l menunjukkan hasil terbaik dengan persentase tumbuhnya kalus sebanyak 100%. Perlakuan dengan persentase tumbuhnya kalus terendah diperoleh pada perlakuan ZPT yang auksin dan sitokinin digunakan secara tunggal dengan persentase tumbuh kalus 0%.

Selanjutnya penelitian yang menambahkan ZPT kombinasi 2,4-D 0,3 mg/l dan BA 0,1 mg/l pada daun jati belanda yang dikulturkan menggunakan media MS juga dapat menghasilkan kalus dengan diameter terbesar yaitu 28,77 mm dengan struktur kalus remah berwarna putih kekuningan. Dilaporkan dari penelitian tersebut bahwa penambahan 2,4-D 0,3 mg/l dan BA 0,1 mg/l merupakan kombinasi yang optimal dalam pembelahan sel (Syahid dkk., 2010). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan perlakuan dan kombinasi yang tepat dari pemberian beberapa ZPT auksin 2,4-D dan sitokinin BA terhadap pertumbuhan kalus ginseng jawa *T. triangulare* pada media MS.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Kebun Raya Cibodas – Badan Riset

dan Inovasi Nasional (BRIN) pada bulan Agustus sampai bulan November 2021.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah eksplan daun ginseng jawa, media Murashige dan Skoog (Phytotechlab), larutan stok 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic Acid) konsentrasi 10 mg/ml (Phytotechlab), larutan stok BA (Benzyl Adenin) konsentrasi 1 mg/mL (Phytotechlab), agar (Caisson Labs), sukrosa (Caisson Labs), PPM (*Plant Preservative Mixture*), NaOH 1 N, KCl 1 N, aquades steril, spirtus, alkohol 70%, klorox, tween 80. Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah *autoclave*, *laminar air flow* (LAF), *cork borer*, timbangan analitik, oven, termohigrometer, *aluminium foil*, dan *Munsell Color Chart for Plant Tissue*.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Segmen daun berdiameter 8 mm digunakan sebagai eksplan dan ditanam pada botol kultur berisi media *Murashige and Skoog* (MS). Perlakuan yang diberikan merupakan kombinasi auksin 2,4-D (0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm) dan sitokinin BA (0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm).

Penelitian dilakukan dengan sembilan perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 27 unit percobaan. Botol kultur disimpan pada ruang kultur pada suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$ dengan lama penyinaran 12 jam periode terang dan 12 jam periode gelap.

Sterilisasi eksplan

Metode sterilisasi yang dilakukan terdiri dari lima metode dengan menggunakan bahan sterilan dan konsentrasi yang berbeda. Setiap tahapan dalam proses sterilisasi terdiri atas proses pencucian, pembilasan atau perendaman. Lebih lanjut, setiap metode sterilisasi minimal di ulang sebanyak tiga kali. Setelah proses sterilisasi, eksplan berdiameter 8 mm ditanam ke dalam botol kultur yang berisi media MS.

Tabel 1. Lima metode sterilisasi eksplan daun *T. triangulare*

Tahap	Metode 1	Metode 2	Metode 3	Metode 4	Metode 5
1	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen
2	Tween 80 selama 30 detik	Tween 80 selama 30 detik	Tween 80 selama 30 detik	Tween 80 selama 30 detik	Tween 80 selama 30 detik
3	Fungisida selama 10 menit	Fungisida selama 10 menit	Bakterisida dan fungisida selama 10 menit	Bakterisida dan fungisida selama 30 menit	Fungisida selama 45 menit
4	Clorox 10% selama 5 menit	Clorox 10% LAF selama 5 menit	Clorox 5% LAF selama 3 menit	Clorox 5% LAF selama 5 menit	Bakterisida selama 30 menit
5	Clorox 5% selama 10 menit	Clorox 5% LAF selama 10 menit	Clorox 10% LAF selama 3 menit	Clorox 10% LAF selama 5 menit	Clorox 20% LAF selama 10 menit
6	Ditanam	Alkohol 96% selama 30detik	Ditanam	Alkohol 70% selama 1 menit	Clorox 10% LAF selama 15 menit
7	-	Ditanam	-	Ditanam	PPM 200 µl selama 30 menit
8	-	-	-	-	Alkohol 70% selama 30 detik
9	-	-	-	-	Ditanam

Parameter Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan terhadap kemunculan kontaminasi, warna dan tekstur kalus, waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus, ukuran kalus, luas permukaan kalus, dan berat kalus. Pengamatan luas permukaan kalus dilakukan pada akhir pengamatan dengan cara mendokumentasikan bagian bawah kalus dengan penggaris sebagai skala kemudian diolah menggunakan aplikasi *image-j* untuk memperoleh luas permukaan kalus. Demikian pula dengan berat kalus, diamati pada pengamatan terakhir.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Apabila hasil analisis ragam menunjukkan hasil berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*) dengan tingkat kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan pada penelitian ini dilakukan untuk mengurangi kontaminasi yang muncul pada eksplan daun *T. triangulare*. Kontaminasi yang terjadi selama penelitian berlangsung disebabkan oleh fungi dan bakteri. Eksplan yang terkontaminasi oleh jamur ditandai

dengan munculnya hifa berwarna putih pada permukaan eksplan daun, sementara eksplan yang terkontaminasi oleh bakteri ditandai dengan munculnya cairan lendir bening yang berada di sekitar eksplan. Kemunculan kontaminan dengan waktu terlama terjadi pada 11 hari setelah inisiasi (hsi). Hal ini menunjukkan bahwa kontaminasi yang terjadi merupakan kontaminasi internal. Kontaminasi internal merupakan kontaminan yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri (Zulkarnain, 2009). Menurut Shofiyani & Damajanti (2015), kontaminasi internal terjadi dalam waktu lebih dari 10 hari, sementara kontaminasi eksternal terjadi dalam waktu kurang dari 10 hari.

Berdasarkan kemunculan kontaminasi pada eksplan yang disterilisasi dengan lima metode sterilisasi (Tabel 2), rata-rata waktu munculnya kontaminasi yaitu tujuh hari. Waktu munculnya kontaminasi terlama yaitu 11 hari diperoleh pada eksplan yang disterilisasi dengan metode sterilisasi kelima, sedangkan waktu kontaminasi tercepat yaitu empat hari ditunjukkan pada eksplan yang disterilisasi dengan metode dua. Pengamatan warna kalus pada penelitian ini mengacu pada buku *Munsell Color Chart for Plant Tissue*.

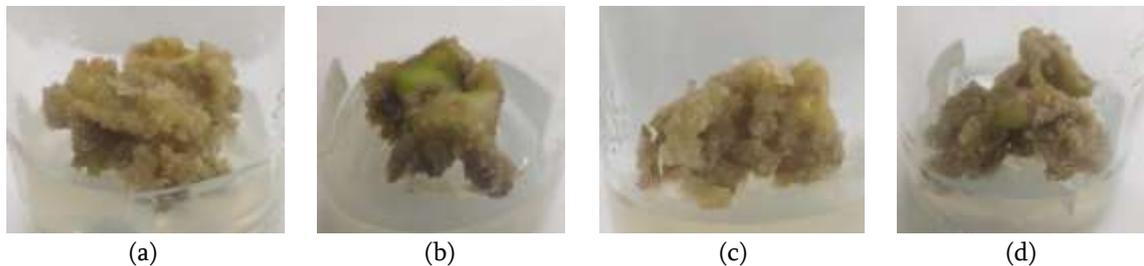
Tabel 2. Rekapitulasi hasil perbandingan metode sterilisasi daun *T. triangulare*

Metode sterilisasi	Warna eksplan setelah sterilisasi	Lama waktu munculnya kontaminasi	Persentase kontaminasi	Kontaminan
Metode 1	Moderate Yellow Green	7 hari	86%	Fungi dan Bakteri
Metode 2	Moderate Yellow Green	4 hari	70%	Fungi dan Bakteri
Metode 3	Strong Yellow Green	6 hari	100%	Fungi dan Bakteri
Metode 4	Strong Yellow Green	7 hari	58%	Fungi dan Bakteri
Metode 5	Strong Yellow Green	11 hari	39%	Fungi

Warna dan Tekstur Kalus

Warna kalus merupakan salah satu penanda pertumbuhan eksplan yang menggambarkan secara visual sehingga dapat diketahui sel-sel kalus aktif membelah atau sudah mati (Indah & Ermavitalini, 2013). Warna kalus pada akhir pengamatan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 3. Warna akhir

kalus menunjukkan warna yang berbeda pada semua perlakuan kombinasi penambahan ZPT. Warna kalus umumnya didominasi oleh warna hijau kuning keabuan (*grayish yellow green*) pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₁B₂ (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₃B₁ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), dan D₃B₂ (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA).



Gambar 1. Warna kalus *T. Triangulare* (a) *moderate yellow green*, (b) *grayish yellow green*, (c) *pale olive*, (d) *pale brown*.

Tabel 3. Warna akhir kalus *T. triangulare* pada media MS yang ditambahkan dengan berbagai kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BA.

Parameter	Perlakuan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BA								
	D ₁ B ₁	D ₁ B ₂	D ₁ B ₃	D ₂ B ₁	D ₂ B ₂	D ₂ B ₃	D ₃ B ₁	D ₃ B ₂	D ₃ B ₃
Warna akhir kalus	<i>grayish yellow green</i>	<i>grayish yellow green</i>	<i>pale olive</i>	<i>moderate yellow green</i>	<i>moderate yellow green</i>	<i>pale brown</i>	<i>grayish yellow green</i>	<i>grayish yellow green</i>	<i>moderate yellow green</i>

Keterangan : Kode perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₁B₂ (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₁B₃ (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D₂B₁ (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₂B₂ (1 ppm 2,4-D + 1 ppm), D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D₃B₁ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₃B₂ (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₃B₃ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA)

Hasil pengamatan secara visual menunjukkan bahwa warna kalus yang dihasilkan pada eksplan bervariasi. Warna pada kalus menunjukkan fase pertumbuhan pada sel dan daya regenerasi sel. Warna putih menunjukkan sel-sel yang masih muda dan aktif membelah, warna kuning atau putih kekuningan menunjukkan bahwa sel-sel dewasa menuju fase pembelahan aktif (Armila dkk., 2014). Warna kekuningan pada kalus menunjukkan bahwa kalus berkembang dengan baik dan aktif membelah. Konsentrasi auksin 2,4-D yang diberikan juga

memengaruhi warna kuning pada kalus karena berkaitan dengan menurunnya kandungan klorofil pada kalus (Rahayu dkk., 2003). Dalam kultur *in vitro*, cahaya dapat menghambat kerja auksin sehingga meningkatkan kerja enzim untuk pembentukan klorofil dan memberikan warna hijau pada kalus (Yuniardi, 2019). Perubahan warna kalus menjadi kecoklatan (*browning*) terjadi pada perlakuan D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), menandakan kalus mulai mengalami oksidasi yang menyebabkan pertumbuhan kalus dan proses

pembelahan sel menjadi lambat. Browning pada kalus juga menandakan pertumbuhan dan perkembangan kalus memasuki fase penuaan sehingga menyebabkan produksi metabolit sekunder menurun (Purnamaningsih & Ashrina, 2011). Senyawa fenol yang berlebihan pada jaringan yang mulai terbentuk akibat perlakuan pada eksplan (Sugiyarto & Kuswandi, 2014).

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dibedakan menjadi kalus kompak dan kalus remah. Hasil pengamatan akhir terhadap tekstur kalus *T. triangulare* menunjukkan bahwa kalus yang terbentuk pada semua perlakuan bersifat remah. Kalus yang baik memiliki tekstur yang remah. Kalus bertekstur remah dianggap baik karena mudah dipisahkan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi serta dapat meningkatkan aerasi oksigen antar sel (Rasud & Bustaman dkk., 2020). Dengan demikian, upaya untuk perbanyak jumlah kalus untuk menghasilkan metabolit sekunder lebih mudah untuk dilakukan. Yelnitis (2012) menyatakan bahwa terbentuknya kalus remah juga dipengaruhi oleh auksin yang diberikan pada media dikombinasikan dengan ZPT lain seperti sitokinin. Dilaporkan pula bahwa peningkatan konsentrasi auksin 2,4-D yang dikombinasikan dengan sitokinin thidiazuron meningkatkan persentase kalus remah pada daun ramin. Semakin tinggi pemberian 2,4-D maka semakin cepat kemampuan sel untuk membelah membentuk kalus bertekstur remah (Fadhilah dkk., 2015). Selain penambahan 2,4-D, kalus remah terbentuk akibat pengaruh pemberian sitokinin BA pada media yang telah mengandung auksin. Lebih lanjut penelitian yang dilakukan

Marthani dkk. (2016) juga memberikan hasil tekstur kalus remah seiring dengan peningkatan konsentrasi BA yang diberikan pada eksplan *Mucuna pruriens*.

Waktu Muncul Kalus

Salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur jaringan adalah munculnya kalus pada eksplan. Selama masa inkubasi, kalus mulai muncul pada minggu ke 2. Ditandai dengan pembengkakan pada eksplan pada bagian sayatan. Hal ini disebabkan karena adanya rangsangan dari jaringan untuk menutupi luka pada eksplan (Indah & Ermavitalini, 2013). Kalus terbentuk pada permukaan eksplan dan luka irisan yang ditandai dengan pembengkakan. Kalus yang muncul mulai diamati apabila ukurannya sudah mencapai 0,5 cm.

Tabel 4 menunjukkan semua perlakuan eksplan daun *T. triangulare* berhasil menumbuhkan kalus dengan waktu muncul kalus yang beragam. Kalus mulai muncul pada perlakuan D₂B₁ (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA) dihari ke 13 hsi. Sementara untuk perlakuan D₂B₂ (1 ppm 2,4-D + 1 ppm BA) dan D₃B₁ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA) menunjukkan waktu muncul kalus yang sama pada hari ke 14 hsi. Perlakuan D₁B₃ (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) memunculkan kalus pada 15 hsi. Hal ini disebabkan oleh kombinasi auksin dan sitokinin dapat meningkatkan kemampuan sel untuk membelah sehingga merangsang pembentukan kalus lebih cepat. Penambahan auksin 2,4-D dalam konsentrasi tinggi akan memberikan respon pembengkakan pada kalus sedangkan kombinasi auksin dan sitokinin memicu pembentukan kalus (Sitinjak dkk., 2015).

Tabel 4. Waktu muncul kalus dan persentase terbentuknya kalus *T. triangulare* pada media MS yang ditambahkan dengan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BA

Parameter	D ₁ B ₁	D ₁ B ₂	D ₁ B ₃	D ₂ B ₁	D ₂ B ₂	D ₂ B ₃	D ₃ B ₁	D ₃ B ₂	D ₃ B ₃
Waktu muncul kalus (hsi)	22	22	15	13	14	22	14	22	22
Persentase eksplan berkalus (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Keterangan : HSI : hari setelah inisiasi. Kode perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₁B₂ (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₁B₃ (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D₂B₁ (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₂B₂ (1 ppm 2,4-D + 1 ppm), D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D₃B₁ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₃B₂ (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₃B₃ (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA)

Waktu kemunculan kalus paling lambat terjadi pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D₁B₂ (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D₃B₂ (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D₃B₃ (1,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA). Perlakuan tersebut menunjukkan waktu kemunculan kalus paling lambat pada 22 hsi. Perbandingan konsentrasi dan ZPT kelima

perlakuan di atas kurang optimal untuk memunculkan kalus. Penambahan BA dalam jumlah yang terlalu kecil atau terlalu besar dapat menghambat pertumbuhan kalus. Indah & Ermavitalini (2013) menyatakan perlakuan 0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA pada daun tanaman nyimplung menunjukkan waktu kemunculan kalus terlama. Hal ini diakibatkan karena kombinasi konsentrasi ZPT

yang diberikan tidak tepat sehingga menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan. Terhambatnya pertumbuhan diduga karena hormon endogen dan eksogen pada eksplan tidak merangsang pertumbuhan kalus dengan cepat.

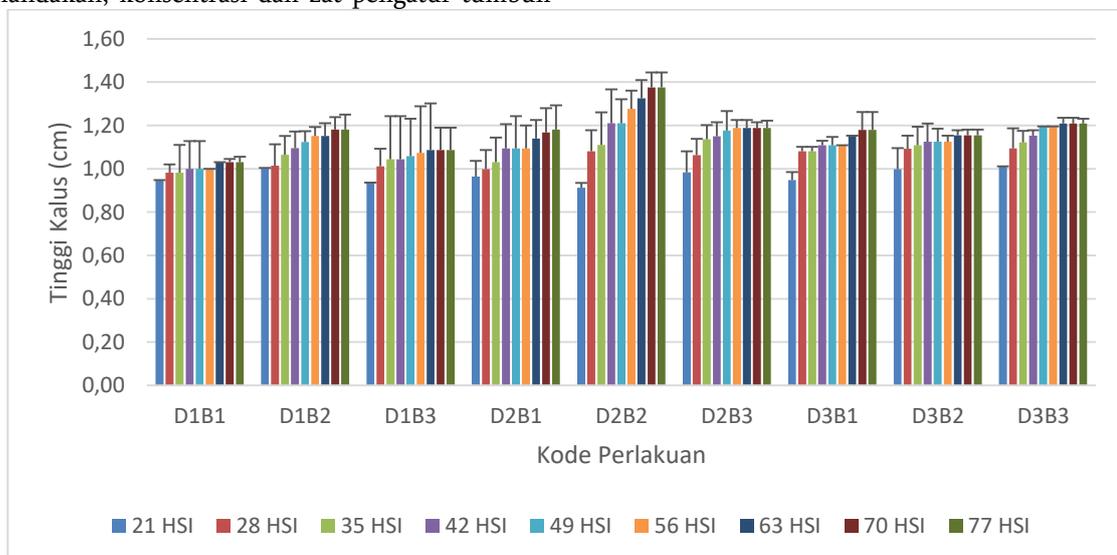
Persentase Eksplan Berkalus

Persentase eksplan berkalus diamati dengan melihat pertumbuhan eksplan tanpa adanya kontaminasi yang terjadi baik pada eksplan maupun media tanam. Berdasarkan Tabel 4 diperoleh data bahwa tidak ada kontaminasi yang terjadi pada eksplan baik kontaminasi jamur maupun bakteri. Persentase eksplan berkalus pada semua perlakuan sebesar 100%. Keberhasilan eksplan berkalus pada semua perlakuan disebabkan oleh interaksi antara auksin dan sitokinin yang ditambahkan pada media serta konsentrasi yang sesuai dalam menumbuhkan kalus. Karjadi & Buchory (2008), menyebutkan bahwa interaksi auksin dan sitokinin dengan hormon endogen menentukan pola pertumbuhan eksplan. Jumlah dan jenis ZPT yang diberikan akan menentukan ZPT endogen pada eksplan akan mendukung atau menghambat kinerja ZPT. Interaksi pada ZPT yang diberikan dengan hormon endogen oleh sel tanaman akan menentukan arah perkembangan suatu kultur. Dalam penelitian yang dilakukan, berbagai macam konsentrasi ZPT 2,4-D dan BA dapat menginduksi kalus pada eksplan daun *T. triangulare*. Hal ini menandakan, konsentrasi dan zat pengatur tumbuh

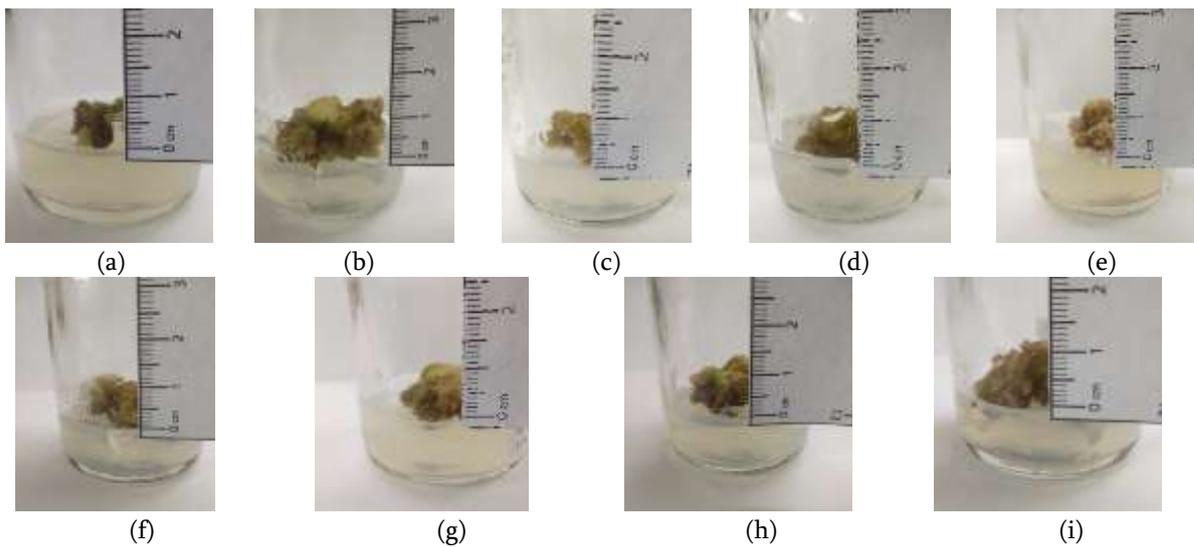
yang diberikan mampu menginduksi kalus dengan baik. Pemilihan eksplan yang digunakan juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan kalus. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun. Sejalan dengan Purnamaningsih & Ashrina (2011), menyatakan bahwa pembentukan kalus dipengaruhi oleh jenis eksplan dan ZPT yang digunakan. Eksplan daun dengan jaringan meristematik lebih mudah membentuk kalus dibandingkan jaringan yang sudah tua.

Ukuran Kalus

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan pemberian 2,4-D dan BA yang diberikan pada media tanam terhadap tinggi kalus (Gambar 2; Gambar 3). Namun, terjadi peningkatan tinggi kalus dari awal pengamatan hingga akhir pengamatan. Hal ini diduga zat pengatur tumbuh 2,4-D yang diberikan mempengaruhi pertumbuhan kalus. Harahap dkk. (2018) melakukan pengujian pada daun *Ananas comosus* dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, diperoleh hasil bahwa pemberian 2,4-D tanpa kinetin menghasilkan tinggi kalus tertinggi. Hal ini menandakan, pemberian 2,4-D memberikan pengaruh terhadap tinggi kalus. Penambahan 2,4-D dalam media dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus.



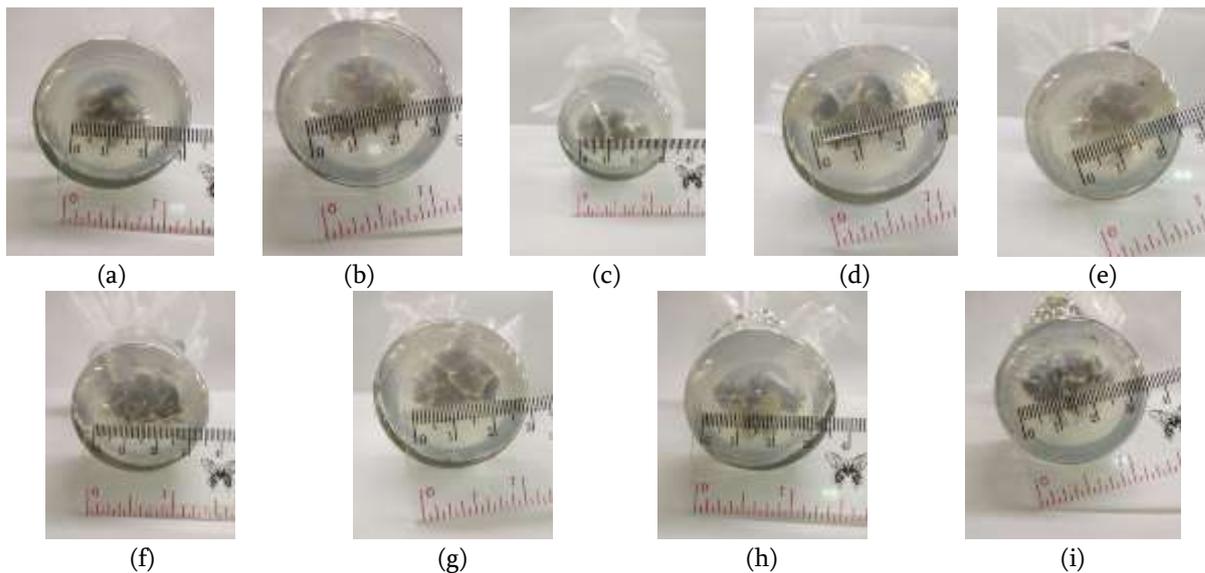
Gambar 2. Rata-rata tinggi kalus *T. Triangulare*. Kode perlakuan D1B1 (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D1B2 (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D1B3 (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D2B1 (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D2B2 (1 ppm 2,4-D + 1 ppm), D2B3 (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D3B1 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D3B2 (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D3B3 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA). HSI : hari setelah inisiasi.



Gambar 3. Tinggi kalus *T. Triangulare* (a) 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (b) 0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (c) 0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA, (d) 1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (e) 1 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (f) 1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA, (g) 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (h) 1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (i) 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA.

Pada parameter panjang kalus hasil analisis sidik ragam yang diperoleh pada sembilan perlakuan yang dikulturkan selama 77 hsi mengalami peningkatan panjang kalus. Pengukuran panjang

kalus dilakukan setiap minggu menggunakan penggaris dengan mengukur bagian terpanjang pada kalus (Gambar 4).



Gambar 4. Panjang Kalus (a) 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (b) 0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (c) 0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA, (d) 1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (e) 1 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (f) 1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA, (g) 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA, (h) 1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA, (i) 1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA.

Berdasarkan data pada Tabel 5, dapat diketahui bahwa pada 77 hsi rata-rata panjang kalus terbesar terdapat pada perlakuan D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) yaitu memiliki rata-rata panjang kalus sebesar 3,17 cm, sementara untuk rata-rata

panjang kalus terendah pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA) sebesar 1,67 cm. Hal ini menunjukkan kombinasi auksin 2,4-D dan sitokinin BA yang diberikan pada media memberikan pengaruh terhadap panjang kalus. Pemanjangan

pada kalus terjadi karena adanya keseimbangan pada zat pengatur tumbuh yang diberikan sehingga memengaruhi pembelahan sel. Hal ini dapat dikaitkan dengan pendapat Mufida (2008), menyatakan bahwa pada konsentrasi yang rendah, zat pengatur tumbuh berada dalam jumlah yang kurang sehingga tidak mampu mendorong pertumbuhan sel tanaman lebih cepat. Apabila pada konsentrasi tinggi, zat pengatur tumbuh berada dalam jumlah yang berlebihan sehingga menekan pertumbuhan terutama dalam pembelahan dan pemanjangan sel.

Pembengkakan pada eksplan menunjukkan adanya aktivitas pembelahan sel pada jaringan eksplan, dimana pembengkakan merupakan tahapan dalam pembentukan dan pemanjangan sel (Ajijah dkk., 2010). Fitroh dkk. (2018) menyatakan bahwa pembengkakan terjadi akibat pengaruh 2,4-D di dalam media tanam, ditandai dengan perubahan pada bekas pelukaan yang membuat jaringan eksplan menebal. Adanya luka irisan juga membantu 2,4-D berdifusi kedalam jaringan tanaman sehingga menstimulasi pembelahan sel.

Tabel 5. Rata-rata panjang kalus *T. triangulare* yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BA

Kode perlakuan	Rata-rata panjang kalus (cm)							
	21 hsi	35 hsi	42 hsi	49 hsi	56 hsi	63 hsi	70 hsi	77 hsi
D ₁ B ₁	0,85 b	1,50 b	1,50 b	1,50 b	1,57 b	1,67 b	1,67 b	1,67 b
D ₁ B ₂	0,95 b	2,07 a	2,17 a	2,40 a	2,57 a	2,70 a	2,77 a	2,77 ab
D ₁ B ₃	1,22 b	1,17 b	1,33 b	1,43 b	2,23 ab	2,23 ab	2,23 ab	2,37 ab
D ₂ B ₁	1,31 ab	1,50 b	1,50 b	1,50 b	1,90 b	1,90 ab	2,03 b	2,33 ab
D ₂ B ₂	1,13 b	1,50 b	1,60 b	1,73 b	2,40 a	2,40 a	2,47 ab	2,63 ab
D ₂ B ₃	1,41 ab	1,93 ab	2,00 ab	2,33 ab	2,50 a	2,50 a	2,83 a	3,17 a
D ₃ B ₁	1,11 b	1,33 b	1,33 b	1,43 b	1,53 b	1,53 b	1,77 b	1,83 b
D ₃ B ₂	1,41 ab	1,80 ab	1,80 b	1,80 b	2,27 ab	2,33 a	2,57 ab	2,67 ab
D ₃ B ₃	1,41 ab	1,83 ab	1,97 ab	2,17 ab	2,40 a	2,40 a	2,50 ab	2,70 ab
KK	18%	16%	17%	19%	12%	13%	14%	14%

Keterangan: Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf yang sama pada setiap kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada LSD taraf 5%. HSI : hari setelah inisiasi

Luas Permukaan Kalus

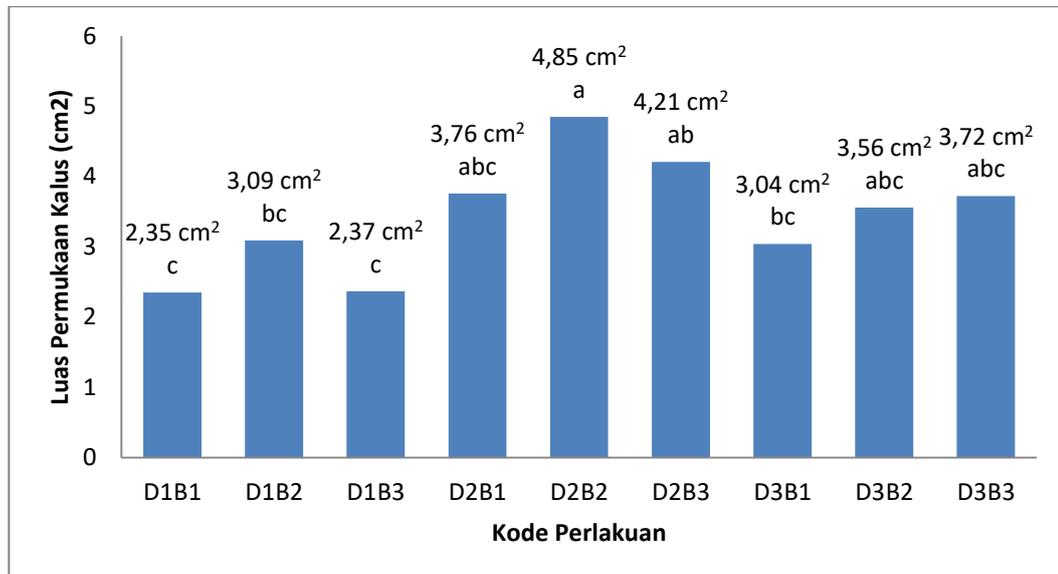
Hasil uji LSD pada luas permukaan kalus *T. triangulare* berdasarkan Gambar 3 menunjukkan luas permukaan kalus terbesar terdapat pada perlakuan D₂B₂ (1 ppm 2,4-D + 1 ppm BA) sebesar 4,85 cm², sedangkan luas permukaan terkecil terdapat pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA) sebesar 2,35 cm². Luas permukaan kalus ini dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D dan BA yang diberikan. Dengan penambahan zat pengatur tumbuh eksogen pada media menyebabkan peningkatan zat pengatur tumbuh endogen tanaman. Peningkatan zat pengatur tumbuh

menyebabkan tanaman menjadi stres sehingga terjadi pembelahan sel secara terus menerus pada jaringan yang dapat menyebabkan ukuran kalus dapat bertambah luas atau besar (Yelnitis & Komar, 2010).

Perbedaan pada luas permukaan kalus ini dipengaruhi oleh kepekaan dan daya serap kalus terhadap media dan zat pengatur tumbuh yang diberikan (Trimulyono dkk., 2004). Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang diberikan pada perbandingan tepat memengaruhi pembelahan dan pertumbuhan sel (Rahayu dkk., 2003). Marlin dkk. (2012), yang menyatakan bahwa pada kultur jantung

pisang curup diperoleh diameter kalus terbesar dari eksplan yang dikulturkan pada 2 ppm BAP + 2 ppm 2,4-D sebesar 2,5 cm. Hal ini didukung juga dengan penelitian Royani dkk. (2015) pada tanaman *Arachis*

hypogaea bahwa 3 ppm 2,4D + 1 ppm BA yang ditambahkan pada media dengan konsentrasi tepat berpengaruh terhadap ukuran kalus terbesar sebesar 1,8 cm.



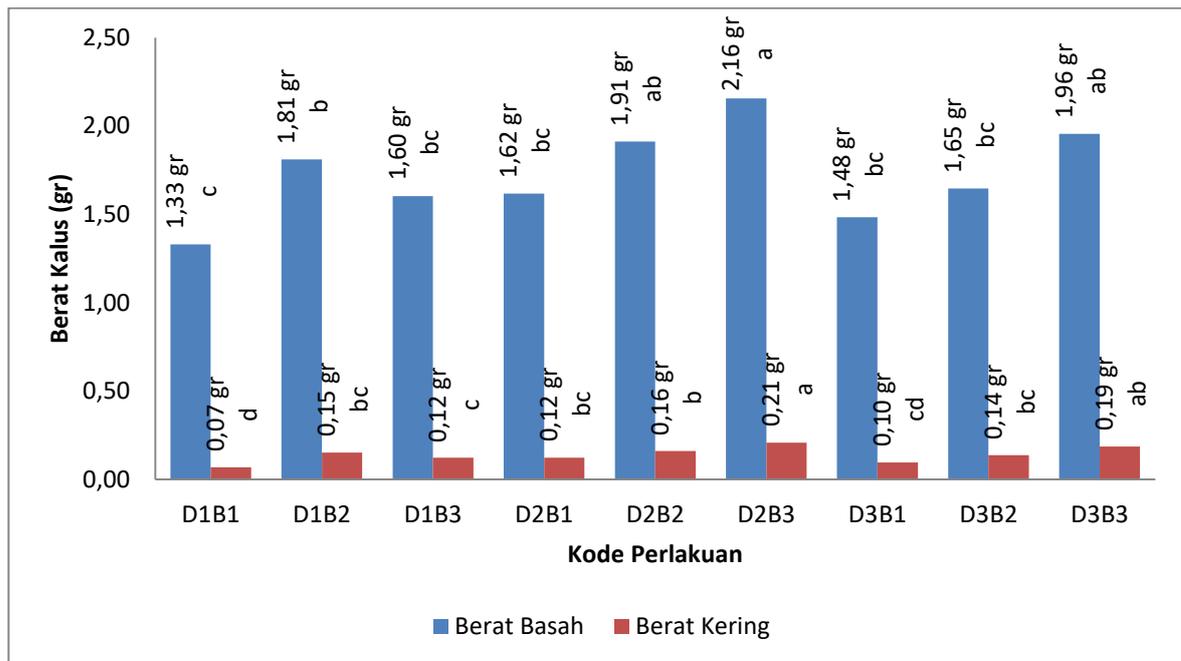
Gambar 5. Rata-rata luas permukaan kalus *T. Triangulare*. Kode perlakuan D1B1 (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D1B2 (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D1B3 (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D2B1 (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D2B2 (1 ppm 2,4-D + 1 ppm), D2B3 (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D3B1 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D3B2 (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D3B3 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA).

Berat Kalus

Hasil uji LSD pada berat basah kalus dan berat kering kalus *T. triangulare* (Gambar 6) menunjukkan berat basah kalus terbesar terdapat pada perlakuan D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) sebesar 2,16 g. Nisak dkk. (2012), menyatakan bahwa pemberian kombinasi auksin NAA dan sitokinin BA berpengaruh terhadap bertambahnya bobot segar kalus *Nicotiana tabacum* L. Sementara berat basah terkecil terdapat pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA). Hal ini diduga karena konsentrasi auksin dan sitokinin yang diberikan belum mampu merangsang sel untuk membelah. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Silvina dkk. (2021), pembelahan sel yang optimal dapat menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal sehingga menambah berat segar kalus. Hasil berat kalus yang berbeda-beda menandakan bahwa sel pada tanaman memiliki respon kemampuan absorpsi air yang berbeda (Junairiah dkk., 2018). Berat basah kalus juga dipengaruhi oleh tekstur kalus, Ayuningrum dkk. (2015) menyatakan semakin remah kalus yang diperoleh maka

pembelahan sel semakin cepat sehingga terjadi penambahan massa kalus dan peningkatan berat.

Hasil uji LSD pada berat kering kalus *T. triangulare* (Gambar 6) menunjukkan berat kering kalus terbesar terdapat pada perlakuan D₂B₃ (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) sebesar 0,21 g. Shofiyani dan Agus (2017) menyatakan bahwa zpt 2,4-D dan BA yang diberikan memacu pertumbuhan pada sel, ditandai dengan pertambahan ukuran dan bobot yang bersifat *irreversible* sehingga berdampak pada peningkatan bobot kering. Sedangkan berat kering terkecil terdapat pada perlakuan D₁B₁ (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA). Hal ini disebabkan karena pemberian konsentrasi 2,4-D dan BA kurang tepat sehingga pertumbuhannya lambat. Pertumbuhan kalus yang lambat disebabkan oleh eksplan yang lebih memproduksi metabolit sekunder dibandingkan pertumbuhan kalus sehingga menyebabkan berat kalus yang rendah (Mariamah dkk., 2017). Sejalan dengan Julianti dkk. (2021) yang menyatakan bahwa kandungan air pada kalus kering telah menghilang, namun di dalam sel masih terdapat biomassa yang digunakan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada kalus yaitu flavonoid.



Gambar 6. Rata-rata berat basah dan kering kalus *T. triangulare*. Kode perlakuan D1B1 (0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D1B2 (0,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D1B3 (0,5 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D2B1 (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D2B2 (1 ppm 2,4-D + 1 ppm), D2B3 (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA), D3B1 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA), D3B2 (1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm BA), D3B3 (1,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BA).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, metode sterilisasi 5 (pencucian dengan detergen, tween 80 selama 30 detik, fungisida selama 45 menit, bakterisida selama 30 menit, clorox 20% dalam LAF selama 10 menit, Clorox 10% dalam LAF selama 15 menit, PPM 200 µl selama 30menit, alkohol 70% selama 30detik, ditanam) merupakan metode terbaik dalam sterilisasi eksplan daun *T. Triangulare*. Aplikasi kombinasi konsentrasi auksin 2,4-D dan sitokinin BA memberikan pengaruh yang signifikan pada proses induksi dan pertumbuhan kalus *T. triangulare*. Perlakuan D2B3 (1 ppm 2,4-D + 1,5 ppm BA) memberikan hasil pertumbuhan kalus yang optimal pada parameter panjang kalus, berat basah dan berat kering.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kedeputan Bidang Ilmu Pengetahuan Teknik LIPI yang telah membiayai kegiatan ini melalui “Kegiatan Penelitian Program Prioritas Nasional di Lingkungan Deputi Bidang Ilmu Pengetahuan Teknik Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Tahun 2021”.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjiah, N, I Darwati, Yudiwanti, dan Roostika I, 2010. Embrio somatik purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). Jurnal Littri. 16: 56–63
- Armila, NKP, MU Bustami, dan Z Basri, 2014. Sterilisasi dan induksi kalus bawang merah (*Allium Ascalonicum* L.) lokal Palu secara in vitro. E-Journal Agrotekbis. 2: 129–137
- Astutik, 2007. Kajian zat pengatur tumbuh ddalam perkembangan kultur jaringan krisan. Buana Sains. 7: 113–121
- Ayuningrum, K, I Budisantoso, dan Kamsinah, 2015. Respon pemberian hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur kalus kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) secara in vitro. Biosfera. 32: 59-65
- Budi, RS, 2020. Uji komposisi zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan eksplan pisang Barangan (*Musa paradisiaca* L.) pada media MS Secara in vitro. BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology). 3: 101–111
- Ekawati, R, 2018. Produksi pucuk dan kandungan flavonoid tanaman kolesom pada cekaman naungan. Jurnal Hortikultura Indonesia. 9: 216–223

- Fadhilah, N, ZA Noli, dan Suwirman, 2015. Induksi kalus *Artemisia vulgaris* L . dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 4: 216–222
- Fauziah, RH, F Kusmiyati, and S Anwar. 2019. *Lilium longiflorum* plant growth with a combination of Naphthylacetic Acid (NAA) and 6-Benzylaminopurine (BAP) in vitro. Journal Tropical Crop Science and Technology. 1 : 7 –92
- Fitroh, AI, R Dwiyani, IKA Wijaya, dan H Yuswanti, 2018. Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus daun stroberi (*Fragaria* sp.) dengan media alternatif nutrisi hidroponik AB Mix. E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika. 7: 304–315
- Harahap, F, E Djulia, D Purnama, Nusyirwan, S Rahayu, R Poerwanto, dan KR Ananda, 2018. Pertumbuhan kalus nanas (*Ananas comosus* L.) Siphatar dengan eksplan daun in vitro hasil perlakuan zat pengatur tumbuh. Seminar Nasional Biologi Dan Pembelajarannya
- Hariadi, H, Y Yusnita, M Riniarti, dan D Hapsoro, 2019. Pengaruh arang aktif, benziladenin, dan kinetin terhadap pertumbuhan tunas jati solomon (*Tectona grandis* Linn. F.) in vitro. Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati. 5: 21–30
- Indah, PN, dan D Ermavitalini, 2013. Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Jurnal Sains Dan Seni Pomits. 2: 1–6
- Inkiriwang, AEB, J Mandang, dan S Runtunuwu. 2016. Substitusi media Murashige dan Skoog/MS dengan air kelapa dan pupuk daun majemuk pada pertumbuhan anggrek *Dendrobium* secara in vitro. Jurnal Bioslogos. 6: 16-19
- Julianti, RF, Y Nurchayati, dan N Setiari, 2021. Produksi flavonoid pada kalus tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) secara in vitro dalam medium MS dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 8: 141-149
- Junairiah, DA Sofiana, YS Wulan Manuhara, dan Surahmaida, 2018. Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*. 3: 41–46.
- Karjadi, AK, dan A Buchory. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, dan Pikloram. *Jurnal Hortikultura*. 18: 1–9.
- Karuppiah, P, and W Hing. 2016. Callus induction of leaf expalnts of *Talinum paniculatum*. *Proceeding of Sixth International Conference on Advances in Applied Science and Environmental Engineering*. America
- Mariamah, Mukarlina, dan R Linda. 2017. Pertumbuhan kalus tanaman markisa (*Passiflora* sp.) dengan penambahan Naphtalene Acetic Acid (NAA) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Protobiont*. 6: 37–41
- Marlin, Yulian, & Hermansyah, 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang ‘Curup’ Dengan Pemberian Sukrosa, Bap Dan 2,4-D. *J. Agrivigor*, 11: 275–283
- Marthani, QKA. 2016. Kalogenesis Eksplan Setengah Biji Koro Benguk Secara in vitro Menggunakan BAP dan NAA. Skripsi. Universitas Negeri Semarang, Semarang
- Mufida. 2008. Pertumbuhan Buah Naga pada Berbagai Konsentrasi Kombinasi Sitokinin-Auksin secara in Vitro. Skripsi. Universitas Tadulako.
- Nisak, K, T Nurhidayati, dan KI Purwani. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 1: 1–6
- Purnamaningsih, R, dan M Ashrina. 2011. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Induksi kalus dan kandungan artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi*. 10: 481–489
- Purwaningrum, Y. 2013. Kultur kalus sebagai penghasil metabolit sekunder berupa pigmen. *Agriland*. 2: 117–127
- Rahayu, B, Solichatun, dan E Anggarwulan, 2003. Pengaruh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan flavonoid kultur kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*. 1: 1–6
- Rasud, Y, and B Bustaman. 2020. In vitro callus induction from clove (*Syzygium aromaticum* L.) leaves on medium containing various auxin concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25: 67–72
- Royani, I, L Zulkifli, dan P Sedijani. 2015. Induksi kalus kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) varietas Kelinci dengan Perlakuan 2,4-D dan

- BAP. Journal Penelitian Pendidikan IPA. 1: 69-76
- Savithramma, N, S Ankanna, B Prabha and A Sasikala. 2010. Micropropagation of *Talinum cuneifolium* (Vahl.) Willd. through petiole culture. Asian Journal of Environmental Science. 5: 158-163
- Seswita, D. 2010. Som Jawa (*Talinum paniculatum*) ginseng Indonesia penyembuh berbagai penyakit. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman. 16: 21-23
- Shofiyan, A, dan AM Purnawanto, 2017. Pertumbuhan kalus kencur (*Kaemferia galanga* L) pada komposisi media dengan perlakuan sukrosa dan zat pengatur tumbuh (2,4-D dan benzil aminopurin). Agritech. 19: 55-64
- Shofiyan, A, dan N Damajanti. 2015. Pengembangan metode sterilisasi pada berbagai eksplan guna meningkatkan keberhasilan kultur kalus kencur (*Kaemferia galanga* L). Agritech. 19: 55 - 64
- Silvina, F, I Isnaini, dan W Ningsih, 2022. Induksi kalus daun binahong merah (*Basella rubra* L.) dengan pemberian 2,4-D dan kinetin. Jurnal Agro. 8: 274-286
- Sitinjak, MA, MN Isda, dan S Fatonah. 2015. Induksi kalus dari eksplan daun in vitro keladi tikus (*Typhonium* sp.) dengan perlakuan 2,4-D dan kinetin. Al-Kauniyah Jurnal Biologi. 8: 32-39
- Sugiyarto, L, dan PC Kuswandi. 2014. Induksi kalus daun binahong (*Anredera cordifolia* L.) dalam upaya pengembangan tanaman obat tradisional. Jurnal Sains Dasar. 3: 56-60
- Susanti, H. 2012. Produksi Protein Dan Antosianin Pucuk Kolesom (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) dengan Pemupukan Nitrogen+Kalium dan Interval Panen. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Syahid, SF, NN Kristina, dan D Seswita. 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: 1-5
- Syakira, S. 2018. 11 Waterleaf Health Benefits, Prevent Bp to Cancer. T Health. Tersedia online pada: <https://thehealthbenefitsof.com/waterleaf-health-benefits/> (diakses 24 Mei 2021)
- Tando, E, S Sarjoni, M Abid, dan WS Murni. 2020. Inovasi teknologi dalam upaya peningkatan pertumbuhan dan produksi tanaman kolesom (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) sebagai tanaman berkhasiat obat. Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-8
- Trimulyono, G, S Solichatun, dan SD Marlina. 2004. Pertumbuhan kalus dan kandungan minyak atsiri nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan perlakuan asam α -Naftalen Asetat (NAA) dan kinetin. Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry. 2: 9-14
- Wahyuni, A, B Satria, dan A Zainal. 2020. Induksi kalus gaharu dengan NAA dan BAP secara in vitro. Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi. 22: 39-44
- Wardani, DP, S Solichatun, dan AD Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada variasi penambahan asam 2,4- Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan kinetin. Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry. 2: 35-43
- Yelnititis. 2012. Pembentukan kalus remah dari eksplan daun ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan. 6: 181-194
- Yelnititis dan TE Komar. 2010. UPAYA Induksi Kalus Embriogenik Dari Potongan Daun Ramin. Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project
- Yuniardi, F. 2020. Aplikasi dimmer switch pada rak kultur sebagai pengatur kebutuhan intensitas cahaya optimum bagi tanaman in vitro. Indonesian Journal of Laboratory. 1: 8
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Hal 92-99.