

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
eISSN: 2655-8122
<https://ejournal3.unud.ac.id/index.php/metamorfosa/>

Induksi Kalus dari Eksplan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* var. *rubrum*) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Pikloram dan BAP

Callus Induction from Red Ginger Rhizome Explants (*Zingiber Officinale* var. *rubrum*) with the Addition of Various Combinations of Picloram and BAP

Yuyun yunariyah^{1*}, Noor Aini Habibah¹

¹Department of Biology, Universitas Negeri Semarang, Sekaran Gunungpati, Semarang, Indonesia

*Email: yunariyahyuyun06@gmail.com

INTISARI

Tanaman jahe merah merupakan tanaman yang kaya akan metabolit sekunder. Metabolit sekunder bisa diproduksi lewat teknik kultur kalus melalui intervensi tambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). Sejumlah keunggulan penerapan teknik kultur kalus ialah mempermudah pengamatan morfologi, hemat tenaga dan waktu. Penelitian ini ditujukan guna menyelidiki pengaruh perlakuan BAP dan pikloram terhadap pertumbuhan kalus jahe merah. Studi ini mempergunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 4 x 4 dimana digunakan ZPT, BAP, dan pikloram melalui konsentrasi 0, 1, 2, dan 3 ppm. Eksplan ditanam dalam media MS steril. Kultur diinkubasi selama 90 hari. Indikator pertumbuhan kalus yang diobservasi yaitu: “waktu muncul kalus, persentase berkalus, morfologi kalus (warna dan tekstur kalus) dan pertumbuhan kalus”. Data waktu tumbuh kalus dan persentase kalus dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Dunn*. Data morfologi kalus (warna dan tekstur kalus) dan pertumbuhan kalus dianalisis dengan analisis deskriptif. Temuan penelitian mengindikasikan konsentrasi kombinasi BAP dan pikloram memengaruhi waktu muncul kalus dan persentase berkalus secara signifikan. Pemberian kombinasi 2 ppm BAP dan 3 ppm pikloram memperlihatkan waktu muncul kalus tercepat, yakni 31 hari setelah tanam (HST). Persentase berkalus untuk seluruh kombinasi adalah 100%. ZPT pikloram memengaruhi parameter waktu muncul kalus dan persentase eksplan berkalus secara signifikan dibandingkan dengan BAP. Kombinasi konsentrasi BAP dan pikloram yang optimal adalah 2 ppm BAP dan 3 ppm pikloram dengan waktu kemunculan kalus tercepat (31 HST), menghasilkan morfologi kalus berwarna putih dan dominan bertekstur remah.

Kata kunci: induksi kalus, jahe merah, BAP, pikloram

ABSTRACT

Red ginger is a plant rich in secondary metabolites. Secondary metabolites could be created using callus culture methods by adding plant growth regulators (PGRs). Some advantages of using callus culture techniques include facilitating morphological observation and saving labor and time. This investigation aims to determine the effect of BAP and picloram treatments on red ginger callus growth. This investigation utilized a completely randomized design (CRD) with a 4x4 factorial pattern, using BAP and picloram GRPs at concentrations of 0, 1, 2, and 3 ppm. The explants were planted in sterile MS medium. The cultures were incubated for 90 days. The observed callus growth indicators were: “callus emergence time, callus percentage, callus morphology (callus color and texture), and callus growth”. The data on callus growth time and callus percentage were analyzed using the *Kruskal-Wallis* test and further tested using the *Dunn* test. The data on callus morphology (color and texture) and callus growth were analyzed using descriptive analysis. The outcomes reflected that the combination of BAP and picloram concentrations had a significant effect on callus emergence time and callus percentage. The combination of 2 ppm

BAP and 3 ppm picloram showed the fastest callus emergence time, which was 31 days after planting (DAP). The callus percentage showed a percentage of 100% in all combinations. Picloram PGR significantly impacted the parameters of callus emergence time and explant callus percentage compared to BAP. The optimum combination of BAP and picloram concentrations was demonstrated in the treatment of 2 ppm BAP with 3 ppm picloram, which revealed the fastest callus emergence time of 31 DAP with white callus morphology and a predominantly crumbly texture.

Keywords: Callus induction, red ginger, BAP, Picloram

PENDAHULUAN

Jahe merah adalah komoditas tanaman obat yang menjadi primadona dan diperdagangkan secara luas. Jahe merah digunakan untuk penyedap masakan dan pengobatan tradisional. Ada sejumlah senyawa kimia aktif yang terdapat pada jahe merah, diantaranya farnesol, aspartat, asam α -linolenat, asam klorogenat, kapsaisin, dan limonena (Anggraini, 2021). Senyawa metabolit lain yang terkandung pada rimpang jahe merah yaitu kurkumena, gingerol, geraniol, zingiberena, zingiberol, sagaol, gingerenon, zingiberena, dan zingiberol (Siregar *et al.*, 2022). Rimpang jahe merah sering dimanfaatkan sebagai agen antibakteri, antikanker, antioksidan, antidiabetes, nefroprotektif, hepatoprotektif, larvasida, analgesik, antiinflamasi dan imunomodulator (Syafitri *et al.*, 2018).

Peningkatan senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh melalui metode kultur induksi kalus. Tahap induksi kalus pada kultur *in vitro* ditujukan guna memperkaya sel kalus secara massal (Rasud & Bustaman, 2020). Keberhasilan induksi kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu zat pengatur tumbuh yang optimal, faktor lingkungan seperti pH, cahaya dan suhu, pemilihan bahan eksplan, serta keberhasilan sterilisasi. Studi Umar *et al.*, (2021) mengindikasikan bahwa kombinasi 3 mg/L BAP dan 5 mg/L IBA merupakan konsentrasi optimal untuk menginduksi pembentukan kalus pada eksplan *Curculigo latifolia* hingga 90%. Studi Wardani (2020) unjukkan bahwa konsentrasi 2,0 ppm BAP dan 1,0 ppm pikloram upakan intervensi paling optimal untuk menginduksi kalus *Pogostemon cablin*. Penelitian Gnasekaran *et al.* (2023) menunjukkan induksi kalus lebih awal yaitu (45 hari) pada eksplan daun jahe merah oleh 8 mg/l dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Keberhasilan induksi kalus tertinggi pada kultur meristem jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) mencapai 93.33% per eksplan. Presentase ini diperoleh pada minggu ke-8 pasca kultur melalui perlakuan kombinasi 1 mg/L 2,5-D dan 3mg/L BAP (Sitinjak *et al.*, 2006). Sementara itu, temuan Bakti *et al.* (2007) menunjukkan bahwa kalus embrionik bentuk pada perlakuan Picloram dengan konsentrasi 10 mg/L dan 20 mg/L. Sedangkan, perlakuan 3 mg/L 2,4-D menghasilkan persentase kalus tertinggi dengan karakteristik kompak dan berwarna kekuningan.

BAP dan pikloram adalah zat pengatur tumbuh yang ditambah pada media kultur. BAP (6-benzyl amino purine) adalah kelompok sitokinin yang mampu meningkatkan pembelahan sel, merangsang pertumbuhan, sintesis protein dan siklus sel. Pikloram adalah zat pengatur tumbuh jenis auksin yang dipergunakan dalam induksi kalus. Pikloram menginduksi kalus lebih responsif dibandingkan tipe auksin yang lain, namun penggunaan pikloram dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan keragaman somaklonal (Furqoni, 2010).

Setiap tanaman umumnya memerlukan nutrisi yang bervariasi untuk mencapai pertumbuhan yang optimal, begitu pula dengan eksplan yang ditanam melalui teknik kultur jaringan juga membutuhkan ZPT untuk pertumbuhan yang optimal. Berdasarkan latar belakang diatas terbukti bahwa ZPT dapat mempengaruhi induksi kalus pada tanaman termasuk pada jahe merah, sehingga perlu adanya penelitian tentang induksi kalus eksplan jahe merah dengan kombinasi konsentrasi pikloram dan BAP untuk mengetahui interaksi yang terjadi dan konsentrasi optimal ZPT dalam menginduksi kalus jahe merah.

BAHAN DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian terkait “pengaruh jenis dan konsentrasi pikloram dan BAP terhadap induksi kalus rimpang jahe merah” dilakukan pada bulan September 2022–April 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Penelitian ini menggunakan rimpang jahe merah. Eksplan yang dipilih merupakan bagian terdalam pada rimpang dengan diameter 1 cm². Variabel bebas terdiri dari ZPT, BAP, dan pikloram dengan konsentrasi 0, 1, 2, dan 3 ppm. Variabel terikat terdiri dari waktu muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus, morfologi kalus dan diameter kalus. Variabel kontrol meliputi media MS (Murashige & Skoog) dengan pH 5,6-6 yang diinkubasi pada rentang suhu 22⁰-24⁰C dan dalam kondisi pencahayaan gelap.

Bahan

Media perlakuan mencakup media MS (Murashige & Skoog), *myo-inositol*, gula, zat pematat (agar), ZPT BAP, dan pikloram dengan kombinasi BAP (0; 1; 2 dan 3 ppm) dan pikloram (0; 1; 2 dan 3 ppm), akuades, alkohol 96%, bakterisida, fungisida, rimpang jahe merah, spiritus, deterjen cair, natrium hipoklorit 10% (Bayclin), alkohol 70%, NaOH, dan HCl.

Pembuatan Media Tanam

Media perlakuan dibuat dengan mencampurkan *myoinositol* 0,1 g, gula 30 g, media dasar MS sebanyak 4,43 g, agar sebesar 8 g, dan akuades hingga satu liter. Selanjutnya derajat keasaman diukur menggunakan pH meter, bila pH terlalu rendah (asam) maka ditambahkan NaOH 1 N dan sebaliknya bila pH terlalu tinggi (basa) maka ditambahkan HCl 1 N. BAP dan pikloram ditambahkan ke media sesuai dengan formulasi media yang dibuat. Tahap selanjutnya media dihomogenkan dengan penangas air selama 20 menit. Kemudian media dituang ke dalam botol ± 25 ml, ditutup rapat selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121⁰ C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit. Lalu media disimpan selama 3 hari untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminasi.

Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi rimpang dilakukan dengan cara mengalirkan rimpang dibawah air mengalir selama 30 menit selanjutnya direndam pada larutan antiseptik selama 40 menit, dilanjutkan dengan pembilasan memakai aquades steril dalam 5 menit selama 3 kali, rimpang lalu direndam dalam larutan fungisida dan bakterisida selama 40 menit kemudian dicuci dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali. Pada kegiatan tersebut dilangsungkan di luar *laminar air flow*.

Eksplan dipindahkan ke *laminar air flow* lalu direndam dalam larutan Bayclin (Natrium hipoklorit 10%) 100% selama 10 menit dan dilanjutkan dengan perendaman dengan larutan Bayclin 70% selama 10 menit, selanjutnya dibilas dengan aquades steril dalam waktu 5 menit sebanyak 3 kali. Kemudian eksplan direndam dengan alkohol 70% selama 3 menit, dan dibilas dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali.

Penanaman

Penanaman dilakukan di *laminar air flow*. Eksplan yang sudah steril ditempatkan pada bagian atas cawan petri steril. Bagian rimpang yang sudah mati karena sterilisasi dibuang dengan menggunakan alat diseksi. Bagian dalam dipotong dengan ukuran 1x1x1 cm. Eksplan dipindahkan dan ditanam di dalam botol steril berisi media MS steril yang mengandung ZPT sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan. Pasang tutup botol kemudian dilapisi plastik wrap dan diberi label tanggal penanaman kemudian simpan eksplan dalam ruang inkubasi dengan pencahayaan gelap.

Pengambilan Data

Kalus diobservasi di hari ke-1 hingga hari ke-90 pasca tanam. Parameter yang diamati yaitu “waktu muncul kalus, persentase berkalus, morfologi kalus dan pertumbuhan kalus”. Analisis data waktu muncul kalus dan persentase berkalus menggunakan *software* SPSS versi 26 dengan uji Kruskal-Wallis. Apabila didapatkan pengaruh yang nyata dari tiap perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji *Dunn* untuk analisis beda pengaruh taraf perlakuan. Sementara pengamatan morfologi kalus dan pertumbuhan kalus dilakukan secara visual, kemudian dianalisis secara deskriptif pada 60 HST.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Kalus

Data waktu muncul kalus dianalisis dengan menggunakan *software* SPSS versi 26. Data rerata waktu muncul kalus disajikan pada Tabel 1. Yang dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk menyelidiki adakah pengaruh pada setiap perlakuan. Perolehan uji *Kruskal-Wallis* mengindikasikan skor signifikansi $0,000 < 0,05$, yang berarti bahwa penambahan kombinasi pikloram dan BAP memengaruhi waktu muncul kalus.

Tabel 1. Pengaruh kombinasi BAP dan pikloram pada rerata waktu muncul Kalus Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Zat pengatur tumbuh BAP	Pikloram	Rerata waktu muncul (HST) $\pm$ standar deviasi
0	0	43,00 $\pm$ 0,000 ^b
	1	39,00 $\pm$ 1,225 ^{ab}
	2	36,80 $\pm$ 0,837 ^b
	3	32,00 $\pm$ 1,000 ^{ab}
1	0	47,00 $\pm$ 0,000 ^b
	1	37,60 $\pm$ 1,140 ^b
	2	35,60 $\pm$ 0,894 ^a
	3	31,60 $\pm$ 0,894 ^a
2	0	41,00 $\pm$ 0,000 ^b
	1	38,40 $\pm$ 1,140 ^b
	2	34,00 $\pm$ 1,000 ^{ab}
	3	31,00 $\pm$ 2,739 ^a
3	0	-
	1	38,00 $\pm$ 1,414 ^b
	2	34,4 $\pm$ 2,881 ^a
	3	31,40 $\pm$ 3,582 ^a

Keterangan: N/A: Tidak ada data; label huruf berpangkat yang sama dalam kolom yang bersesuaian menandakan tidak terdapatnya perbedaan nyata, sementara variasi huruf yang bervariasi mencatatkan terdapatnya perbedaan yang nyata

Berdasarkan hasil tersebut, bisa dilaksanakan uji lanjut mempergunakan uji *Dunn*. Perolehan uji lanjut *Dunn* mengindikasikan, perlakuan 3 ppm pikloram berpengaruh signifikan terhadap waktu muncul kalus. Perlakuan yang menunjukkan munculnya kalus tercepat yaitu pada kombinasi 2 ppm BAP + 3 ppm pikloram dan 1 ppm BAP + 3 ppm pikloram yang ditunjukkan dengan nilai *Mean Ranks* pada uji *Kruskal-Wallis* sebesar 31,00 HST. kapasitas eksplan dalam mengkonstruksi kalus dipengaruhi oleh pengaruh lingkungan kultur, umur eksplan, genotip eksplan, ZPT endogen, dan reaktivitas tiap eksplannya (Zulkarnain *et al.*, 2015). Perlakuan muncul kalus terlama yaitu pada perlakuan 1 ppm BAP + 0 ppm Pikloram dengan nilai *Mean Ranks* sebesar 47,00 HST. Munculnya kalus yang memakan waktu lebih dari

60 hari diakibatkan oleh formulasi konsentrasi ZPT yang kurang ideal, yang pada gilirannya menekan perkembangan kalus pada eksplan. Di samping itu, hambatan pertumbuhan ini diduga kuat terjadi karena interaksi hormon internal dan eksternal pada jaringan eksplan belum mampu menstimulasi pembentukan kalus secara responsif (Afiyah *et al.*, 2022). Interaksi antara auksin eksogen dan auksin internal jaringan berfungsi memacu elongasi sel, yang kemudian dikombinasikan dengan peranan hormon sitokinin eksternal untuk menginduksi aktivitas pembelahan sel secara optimal (Sari *et al.*, 2021).

Persentase Berkalus

Lestari (2011) mengungkapkan, media kultur dengan penambahan auksin dan sitokinin berimplikasi pada peningkatan akumulasi zat pengatur tumbuh endogen seluler, yang kemudian menginduksi percepatan proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Selain hal tersebut, media MS yang mengandung komposisi lengkap juga menjadi penunjang pertumbuhan kalus. Kombinasi antara auksin dan sitokinin memberikan respon dalam pertumbuhan berkalus. Perolehan persentase berkala bisa dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase pembentukan kalus pada eksplan Jahe merah (*Zingiber officinale* var. rubrum)

Zat pengatur tumbuh		Rerata persentase berkalus (%)
BAP	Pikloram	
0	0	20
	1	100
	2	100
	3	100
1	0	20
	1	100
	2	100
	3	100
2	0	20
	1	100
	2	100
	3	100
3	0	-
	1	100
	2	100
	3	100

Keterangan: N/A: Tidak ada data; label huruf berpangkat yang sama menandakan tidak terdapatnya perbedaan nyata, sementara variasi huruf yang bervariasi mencatatkan terdapatnya perbedaan yang nyata.

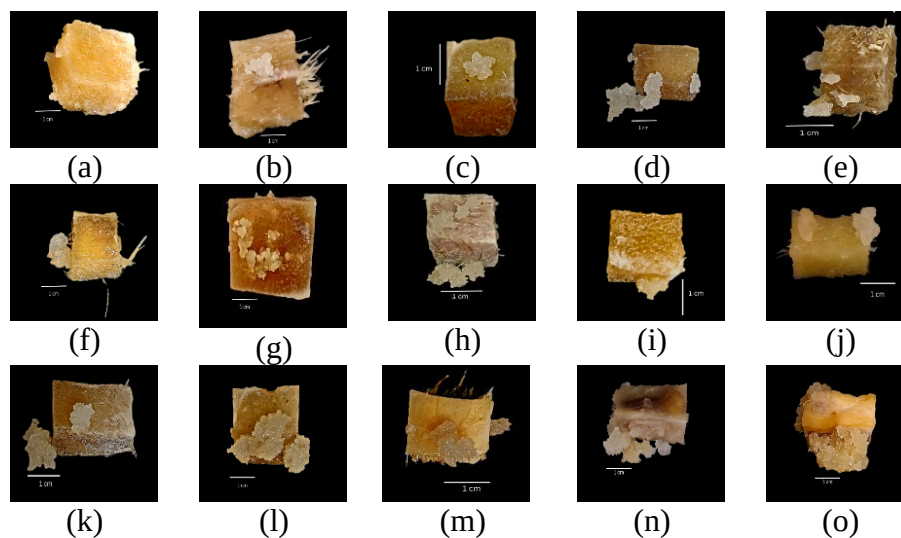
Perlakuan kombinasi antara BAP dengan pikloram menunjukkan persentase berkalus sebesar 100%. Perlakuan tanpa pikloram menunjukkan nilai persentase tertinggi sebesar 20% yaitu pada perlakuan 1 dan 2 ppm BAP tanpa pikloram. Hal ini juga berlaku pada media kontrol dimana dari lima pengulangan terdapat 1 botol yang berkalus. Perlakuan 3 ppm BAP tanpa penambahan pikloram tidak menunjukkan adanya pembentukan kalus pada semua pengulangan. Konsentrasi pikloram yang tinggi menyebabkan penghambatan pembelahan dan pertumbuhan sel (de Moura *et al.* 2017).

Morfologi Kalus

Morfologi kalus diobservasi di hari ke-90 pasca tanam. Morfologi kalus diobservasi secara visual, meliputi warna kalus dan tekstur kalus. Pada penelitian ini, kalus yang didapat dominan memperlihatkan tekstur remah dan warna putih. Namun pada beberapa perlakuan menghasilkan kalus berwarna kuning seperti pada perlakuan: “1 ppm BAP + 2 ppm Pikloram, 2 ppm BAP + 0 ppm Pikloram, 2 ppm BAP + 3 ppm Pikloram, 3 ppm BAP + 1 ppm Pikloram dan 3 ppm BAP + 3 ppm Pikloram” (Gambar 1).

Warna kalus menunjukkan adanya pertumbuhan eksplan yang bisa diidentifikasi lewat visual, yang menjadikan sel-sel kalus aktif mengalami pembelahan ataupun mati. Berdasarkan pengamatan selama 90 hari, dapat diketahui bahwa kalus awalnya memperlihatkan warna putih, lalu berangsur menjadi putih kekuningan hingga kuning pucat. Warna putih pada kalus mengindikasikan terdapatnya fase sel-sel yang masih belum matang dan aktif mengalami pembelahan (Armila *et al.*, 2014).

Kalus berwarna kuning ataupun putih kekuningan mengindikasikan, sel-sel menuju dewasa. Sesuai dengan pernyataan Armila *et al.*, 2014 mengungkapkan, variasi visual berupa perubahan warna kalus menjadi indikator transisi fase pertumbuhan dan potensi regenerasi sel. Penampakan warna putih merepresentasikan sel-sel juvenil yang memiliki laju pembelahan aktif, sementara gradasi warna kuning hingga putih kekuningan memperlihatkan fase transisi sel dewasa menuju pembelahan seluler. Lebih lanjut, George dan Sherrington (1984) menjelaskan bahwa transformasi warna tersebut timbul akibat berlangsungnya proses sintesis zat fenolik pada jaringan kalus.



Gambar 1. Tampilan kalus hasil kultur eksplan jahe merah

Keterangan:

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| a. 0 ppm BAP + 0 ppm Pikloram; | i. 2 ppm BAP + 0 ppm Pikloram; |
| b. 0 ppm BAP + 1 ppm Pikloram; | j. 2 ppm BAP + 1 ppm Pikloram; |
| c. 0 ppm BAP + 2 ppm Pikloram; | k. 2 ppm BAP + 2 ppm Pikloram; |
| d. 0 ppm BAP + 3 ppm Pikloram; | l. 2 ppm BAP + 3 ppm Pikloram; |
| e. 1 ppm BAP + 0 ppm Pikloram; | m. 3 ppm BAP + 1 ppm Pikloram; |
| f. 1 ppm BAP + 1 ppm Pikloram; | n. 3 ppm BAP + 2 ppm Pikloram; |
| g. 1 ppm BAP + 2 ppm Pikloram; | o. 3 ppm BAP + 3 ppm Pikloram |
| h. 1 ppm BAP + 3 ppm Pikloram; | |

Karakteristik tekstur adalah parameter utama yang digunakan untuk pengevaluasian tingkat perkembangan kalus. Morfologi teksturnya dikelompokkan ke dalam tiga kategori, meliputi tipe remah, tipe kompak, serta gabungan keduanya. Tipe kompak memiliki spesifikasi berupa ikatan sel yang rapat dan membentuk tonjolan pejal, sementara tipe remah menunjukkan susunan sel yang renggang serta mudah hancur. Keragaman tekstur kalus tersebut sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor penentu, meliputi: "jenis tanaman sumber eksplan, komposisi hara media, jenis zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan pertumbuhan" (Nasution, 2019).

Temuan studi mengindikasikan kalus yang terbentuk dominan bertekstur remah, namun pada perlakuan kontrol menunjukkan hasil kalus yang bertekstur kompak, yakni efek dari sitokinin yang berfungsi mentransport zat hara (Setiawati *et al.*, 2019). Kalus tipe kompak dinilai mampu mengakumulasi senyawa metabolit sekunder dengan lebih baik di tengah aktivitas pembelahan sel yang lebih rendah

daripada kalus remah. Akibat karakteristik tersebut, kalus kompak menunjukkan kapasitas biosintesis metabolit sekunder yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kalus remah (Indah 2013). Kalus yang remah memiliki sel yang daya proliferasinya lebih cepat dibandingkan pada kalus kompak, sehingga kalus yang remah lebih baik digunakan untuk subkultur dalam perbanyakan tanaman. Metabolit sekunder yang didapat melalui kultur kalus umumnya memperlihatkan variasi jenis beragam, dikarenakan kerap munculnya zat-zat alkaloid (Sugiyarto, 2014).

Proses pengangkutan air yang dipengaruhi oleh hormon sitokinin lewat jaringan pengangkutan turut memodulasi potensial osmotik sel. Di sisi lain, kandungan sukrosa dalam media menstimulasi tekanan turgor akibat perbedaan konsentrasi larutan, yang kemudian memfasilitasi masuknya air dan nutrisi ke dalam sel via osmosis. Mekanisme tersebut mengakibatkan kekakuan pada dinding sel, yang selanjutnya menjadi faktor pembentuk morfologi kalus bertekstur pejal atau kompak. Tekstur kalus merupakan penanda utama untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan oleh eksplan. Kalus dengan tipe kompak memiliki tekstur yang tidak mudah terpotong dan terlihat padat.

Diameter Kalus

Pertumbuhan kalus diamati dengan melihat diameter kalus dengan skala proliferasi kualitatif dengan rentang 1–4. Pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, misalnya keadaan lingkungan inkubasi, auksin dan sitokinin eksogen maupun endogen, media, dan umur eksplan. Pengukuran diameter kalus dihitung setelah 90 hari masa inkubasi.

Tabel 4. Diameter kalus pada eksplan Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*)

Zat pengatur tumbuh		Parameter pertumbuhan kalus
BAP	Pikloram	
0	0	+
	1	++
	2	+
	3	+++
1	0	++
	1	++
	2	+++
	3	+++
2	0	++
	1	+
	2	+++
	3	+++
3	0	-
	1	+++
	2	++++
	3	++++

Keterangan: Pertumbuhan kalus dianalisis secara deskriptif dengann memberikan skoring:

a. ++++: diameter kalus 1,6 – 2,0 cm b. +++: diameter kalus 1,1 -1,5 cm c. ++: diameter kalus 0,5 – 1,0 cm d. +: diameter kalus 0,0 – 0,5 cm

Pertumbuhan pada kalus yang terbentuk diukur dengan pengukuran yang didasarkan pembesaran kalus jahe merah. Adanya pertumbuhan kalus ditandai dengan penambahan diameter kalus, hal ini menunjukkan adanya penambahan jumlah sel-sel sebagai materi genetik untuk terus berkembang. Pada studi ini hasil pertumbuhan kalus optimal ditunjukkan pada perlakuan 3 ppm BAP dengan 3 ppm pikloram,

hal ini ditunjukkan dengan kalus yang terbentuk lebih tinggi dengan diameter lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penempatan eksplan pada tempat gelap mempengaruhi efektivitas kerja ZPT, cahaya mempengaruhi metabolisme sel dan efektifitas kerja ZPT dalam media. Cahaya mampu mendegradasi auksin mengakibatkan transfer auksin ke sel terhambat sehingga pemanjangan sel juga akan terhambat (Kusumayati, 2015). Chawla (2009) menyebutkan bahwa pentingnya cahaya dalam kultur jaringan terletak pada pengaruhnya terhadap fotomorfogenesis. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi gelap dan kondisi terang mempengaruhi pembentukan kalus. Keadaan pertumbuhan kalus pada kultur jaringan dipengaruhi oleh fotoperiodisitas, kualitas dan intensitas cahaya (Siregar *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Konsentrasi optimal ZPT BAP dan pikloram untuk induksi kalus jahe merah adalah 2 ppm BAP dan 3 ppm pikloram dengan waktu inkubasi tercepat 31 hari. Semua perlakuan dengan kombinasi menunjukkan adanya pertumbuhan kalus dengan nilai persentase 100%. Pada perlakuan konsentrasi 3 ppm BAP + 3 ppm pikloram menghasilkan pertumbuhan kalus terbesar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Warna dan tekstur kalus pada semua perlakuan adalah putih hingga kekuningan dengan dominan kalus bertekstur remah.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiyah, N., Surya, M. I., Ismaini, L., Azizah, E., & Saputro, N. W. (2022). Inisiasi Kalus Secara In Vitro dari Daun *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. *Buletin Kebun Raya*, 25(3), 121–130. <https://doi.org/10.55981/bkr.2022.801>
- Anggraini, D. (2021). Penerapan Terapi Kompres Jahe Terhadap Penurunan Nyeri Pada Pasien Gout Arthritis: Literature Review. *Lentera Perawat*, 2(1), 1-7. <https://doi.org/10.52235/lp.v2i1.155>
- Armila, N. K. P., Bustami, M. U., & Basri, Z. (2014). Sterilisasi dan Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu secara In Vitro. *E-Journal Agrotekbis*, 2(2), 129–137.
- Bakti, C., Wattimena, G. A., & Witjaksono. (2007). Pengaruh Berbagai Macam Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Embriogenesis Pada Jahe. *Zuriat*, 18(1), 40-46
- Chawla H. S. (2009). *Introduction to Plant Biotechnology* (3rd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315275369>
- de Moura, L. C., Xavier, A., da Cruz, A. C. F., Gallo, R., Gatti, K. C., Miranda, N. A., & Otoni, W. C. (2017). Effects of Explant Type, Culture Media and Picloram and Dicamba Growth Regulators on Induction and Proliferation of Somatic Embryos in *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Revista Arvore*, 41(5), 1–10. <https://doi.org/10.1590/1806-90882017000500002>.
- Furqoni, H. 2010. Induksi Embrio Somatik Meln (*Cucumis melo* L.) pada Beberapa Media yang Dilengkapi Dengan Auksin dan Sitokinin. (Skripsi, Institut Pertanian Bogor).
- George, E.F., & P.D. Sherrington, 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd.
- Gnasekaran, P., Rahman, Z. A., Chew, B. L., Uddain, J., Solayappan, M., Jeng, N. Y. C., Appalasamy, S., Mariappan, V., Wahyuni, D. K., & Subramaniam, S. (2023). Picloram Enhanced the Callus Induction, Growth Kinetics, Antioxidant Potentials, and Secondary Metabolites Production of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Callus Cultures. *Research Square*, 41. <https://doi.org/https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2698252/v1>.
- Kusumayanti, N., Nurlaelih, E. E., & Setyobudi, L. 2015. Tingkat Keberhasilan Pembentukan Buah Tiga Varietas Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pada Lingkungan yang Berbeda. *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(8), pp, 683-688. <https://doi.org/10.21176/protan.v3i8.250>.
- Lestari, E. G. (2011). Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan.

- Jurnal AgroBiogen*. 7(1). 63. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. (2016). Callus Induction of Calamansi (*Citrus microcarpa*) Using 2,4-D and BAP Hormones by In Vitro Methods. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(2). 84–89. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Nasution, N. H., & Nasution, I. W. (2019). The Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induction of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 305(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/305/1/012049>.
- Rasud, Y., & Bustaman. (2020). In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Setiawati, T., Ayalla, A., & Witri, A. (2019). Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). *Jurnal EduMatSains*. 3(2). 119–132.
- Siregar, P. N. B., Pedha, K. I. T., Resmianto, K. F. W., Chandra, N., Vinsensia, N. M., & Riswanto, F. D. O. (2022). Review: Kandungan Kimia Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan Pembuktian In Silico sebagai Inhibitor SARS-CoV-2. *Jurnal Pharmascience*. 9(2). 185-200 <https://doi.org/10.20527/jps.v9i2.13149>
- Sitinjau, R. R., Rostiana, O., Karyono, & Supriatun, T. (2006). 2,4-D dan BA Terhadap Induksi kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rose.). *Berita biologi*. 8(2). 115-120.
- Syafitri, D. M., Levita, J., Mutakin, M., & Diantini, A. (2018). A Review: Is Ginger (*Zingiber officinale* var. Roscoe) Potential for Future Phytomedicine. *Indonesian Journal of Applied Sciences*. 8(1). 1-6. <https://doi.org/10.24198/ijas.v8i1.16466.g7858>
- Umar, A. H., Ratnadewi, D., Rafi, M., Sulistyaningsih, Y. C., & Hamim, H. (2021). Callus of *Curculigo latifolia* Dryand. ex W.T. Aiton: Initiation, Regeneration, Secretory Structure and Histochemistry. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 948(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/948/1/012051>
- Wardani, D., K. (2020). Induksi Kalus Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dengan Pemberian Konsentrasi Auksin Jenis 2, 4-D (Dichlorophenoxyacetic Acid) dan Pikloram. *Jurnal Indonesia Sosial Sains*, 1(05), 396-401. <https://doi.org/10.36418/jiss.v1i5.73>
- Zulkarnain, Neliyati, & Lizawati. (2015). Callus Proliferation from Immature Leaf Explants of Durian (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat) with the Addition of Pikloram and BAP. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 4(3). 107. <https://doi.org/10.29244/jhi.4.3.107-114>