

## Pengaruh Hormon Indole Butyric Acid (IBA) dan 6-Benzyl Amino Purin (BAP) terhadap Induksi Kalus *Piper betle L. var Nigra*

Junairiah,<sup>1\*)</sup> Artifa Rachmah,<sup>1)</sup> Yosephine Sri Wulan Manuhara<sup>1)</sup>, Ni'matuzahroh<sup>1)</sup> Lilis Sulistyorini<sup>2)</sup> Surahmaida<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

<sup>2)</sup>Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya

<sup>3)</sup>Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya

<sup>\*)</sup>E-mail: [alip.jun1@gmail.com](mailto:alip.jun1@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA (*Indole Butyric Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) yang paling baik untuk induksi kalus sirih hitam (*Piper betle L.*). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 25 perlakuan dan setiap perlakuan memiliki 6 ulangan sehingga terdapat 150 unit eksperimen. Pada tahap kultur kalus dilakukan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh IBA dan BAP ke dalam medium *Murashige and Skoog* (MS). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh IBA dan BAP dengan kombinasi konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap waktu induksi kalus, berat segar dan berat kering kalus sirih hitam. Hasil penelitian menunjukkan waktu tercepat pembentukan kalus pada IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L yaitu 10 hari. Berat segar dan berat kering tertinggi pada IBA 2,0 mg/L dan 2,0 mg/L yaitu 0,8507 gram untuk berat segar dan 0,0769 untuk berat kering. Warna kalus adalah putih kehijauan dengan tekstur kompak dan remah.

**Kata kunci:** Induksi kalus, *Piper betle L.*, *Indole Butyric Acid*, *6-Benzyl Amino Purine*.

## The Effect of Indole Butyric Acid Hormone (IBA) and 6-Benzyl Amino Purin (BAP) on The Induction of *Piper betle L. var Nigra* Callus

### ABSTRACT

The purpose of this research to determine the effect of the combination concentration of growth regulators IBA (*Indole Butyric Acid*) and BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) was best for callus induction black betel (*Piper betle L.*). This research used completely randomized design with 25 treatments and 6 replicates of each treatment, hence there were 150 experimental units. At this stage of callus culture was done by adding the growth regulators IBA and BAP into *Murashige and Skoog* (MS). The test results showed that plant growth regulators IBA and BAP in combination with different concentrations of influence on callus induction time, fresh weight and dry weight callus *Piper betle L.* The results showed the fastest time of callus formation at IBA 2,0 mg/L and BAP 2,0 mg/L at 10 days. Fresh weight and dry weight of the highest in the IBA 2,0 mg/L and BAP 2,0 mg/L were 0,8507 grams and 0,0769 grams fresh weight to dry weight. The color of callus was white greenish with compact and friable texture.

**Keywords:** Callus induction, *Piper betle L.*, *Indole Butyric Acid*, *6-Benzyl Amino Purine*.

### 1. PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat yang ada di Indonesia adalah sirih hitam. Sirih hitam secara empiris memiliki banyak efek farmakologi, namun penelitian ilmiah tanaman ini belum banyak dilakukan. Telah dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dengan metoda peredaman radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) dari daun sirih hitam, dengan hasil penelitian ekstrak daun sirih hitam dengan tiga

kepolaran yang berbeda memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH<sup>[1]</sup>.

Sirih hitam mengandung senyawa-senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, plevonolad, tannin, dan minyak atsiri<sup>[2]</sup>. Kandungan minyak atsiri pada sirih memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus viridans*, *Actinomyces viscosus*, dan *Staphylococcus aureus*<sup>[3]</sup> Sirih hitam juga

menghasilkan senyawa yaitu eugenol yang dapat berkhasiat sebagai antiseptik<sup>[4]</sup>. Saat ini pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat terus meningkat. Peningkatan kebutuhan akan bahan baku tersebut sejalan dengan kembalinya masyarakat memanfaatkan tanaman sebagai bahan obat alami. Pemanfaatan untuk memperoleh metabolit sekunder sangat bergantung terhadap keterbatasan bahan baku tanaman, sehingga diperlukan waktu yang cukup lama untuk memperoleh metabolit sekunder<sup>[5]</sup>. Teknik kultur jaringan memberikan alternatif terhadap usaha perbanyak tanaman secara vegetatif dalam skala yang lebih besar dalam upaya konservasi dan pengembangan tanaman sirih di masa yang akan datang. Ada beberapa kelebihan yang diperoleh dari perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan diantaranya adalah dapat menghasilkan tanaman yang homogen, berkualitas tinggi, jumlah yang tidak terbatas, bebas hama dan penyakit, menghasilkan klon yang lebih unggul, dapat diperbanyak dalam waktu yang relatif singkat, tidak dibatasi oleh waktu, tetapi membutuhkan keahlian khusus. Keberhasilan kultur *in vitro* ditentukan oleh media dan macam tanaman<sup>[6,7]</sup>.

Media *Murashige* dan *Skoog* (MS) digunakan untuk hampir semua macam tanaman, terutama tanaman herbasius. Media MS memiliki kandungan garam-garam yang lebih tinggi dari pada media lain, disamping kandungan nitratnya juga tinggi<sup>[8]</sup>. Komponen media MS terdiri dari berbagai kandungan unsur-unsur makro dan mikro, sumber karbon, vitamin, asam amino zat pengatur tumbuh serta bahan organik kompleks lainnya<sup>[9]</sup>. Kombinasi penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin dan sitokinin mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Jika rasio sitokinin dan auksin relatif seimbang maka eksplan akan membentuk massa sel yang bersifat meristematis dan terus melakukan pertumbuhan. Peran utama fisiologis sitokinin (BAP) adalah mendorong pembelahan sel, sedangkan auksin (IBA) berperan terhadap pelonggaran dinding sel dengan melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat pada dinding sel<sup>[10,11]</sup>.

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas, maka dilakukan penelitian induksi kalus eksplan daun sirih hitam (*Piper betle* L.) dengan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP, untuk mengetahui keberhasilan optimasi induksi kalus.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), timbangan analitik, kertas payung, *aluminium foil*, kertas pH, botol kultur, cawan petri, gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, pipet, *magnetic stirrer*, pinset, bunsen, gunting, kompor listrik, pengaduk, oven, *sprayer*, dan kamera digital.

### 2.2. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun sirih hitam (*Piper betle* L.) yang masih muda, terdapat pada urutan daun kedua sampai keempat dari bagian pucuk tanaman. Tanaman sirih hitam ini diperoleh dari Pasar Bratang, Surabaya. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi bahan penyusun media *Murashige* dan *Skoog* (MS) (lampiran 1), zat pengatur tumbuh *Indole Butyric Acid* (IBA) dan *6-Benzil Amino Purin* (BAP), spiritus, *liquid detergent*, *aquades* steril, *clorox* 20% dan alkohol 70%.

### 2.3. Pembuatan media

Pembuatan media *Murashige* dan *Skoog* (MS) dengan volume 1000 mL, dilakukan dengan cara menimbang bahan makronutrien (1650 mg  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; 1900 mg  $\text{KNO}_3$ ; 440 mg  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 370 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 170 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dan dilarutkan satu per satu dalam erlenmeyer 1000 mL yang berisi 500 mL *aquades* steril menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah seluruh bahan larut, ditambahkan 5 mL larutan stok zat besi, 1 mL mikronutrien, 4 mL stok vitamin, zat pengatur tumbuh auksin (IBA) dan sitokinin (BAP) sesuai konsentrasi yang dikehendaki, 100 mg myo-inositol dan 30 gram sukrosa ditimbang kemudian dilarutkan dalam *aquades* steril secara berurutan.

Kemudian mengukur pH larutan 5,6-5,8 dengan *universal indicator paper*. Bila terlalu asam maka ditambahkan beberapa tetes KOH 1N dan apabila terlalu basa ditambahkan HCl 1N menggunakan pipet. Selanjutnya ditambahkan *aquades* steril hingga volume akhir menjadi 1000 mL. Media pertumbuhan MS yang dibuat merupakan media padat, sehingga perlu ditambahkan 8 gram agar-agar kemudian dipanaskan dengan kompor listrik sambil diaduk hingga larut. Pada keadaan cair, media dibagi dalam botol kultur  $\pm 20$  mL/botol.

Botol kultur yang telah berisi larutan media selanjutnya ditutup dengan *aluminium foil* dan diberi label sesuai dengan perlakuan. Setelah itu botol kultur yang berisi medium disterilkan dengan

menggunakan *autoclave* pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 1,2 atm selama 15 menit. Kemudian medium yang sudah steril disimpan di ruang penyimpanan pada suhu kamar.

#### 2.4. Penanaman eksplan

Daun sirih hitam yang masih muda (daun urutan kedua dan keempat dari bagian pucuk tanaman) digunakan sebagai eksplan dicuci terlebih dahulu menggunakan detergen sebelum digunakan, dan dibilas menggunakan air yang mengalir. Eksplan yang telah dicuci dimasukkan kedalam *Laminar Air Flow*, kemudian eksplan direndam menggunakan alkohol 70% selama enam menit dan dibilas menggunakan *aquades* steril sebanyak tiga kali, lalu direndam *clorox* 20% lalu kocok halus selama 10 menit.

Larutan *clorox* 20% dibuang dan eksplan dibilas menggunakan *aquades* steril sebanyak tiga kali. Eksplan yang telah dicuci diambil dengan menggunakan pinset lalu diletakkan kedalam *petridish* yang telah dialasi kertas saring. Eksplan daun sirih dipotong dengan ukuran ± 1 cm<sup>2</sup> kemudian diletakkan kedalam botol kultur sesuai dengan perlakuan. Setiap botol kultur diisi dengan tiga eksplan. Setelah itu botol yang ditanami eksplan ditutup menggunakan *aluminium foil* dan dilapisi dengan *plastic wrap* yang rapat.

Kemudian botol tersebut diletakkan ke ruang inkubasi dengan suhu 20-25 °C yang dilengkapi dengan pencahayaan, intensitas cahaya yang dibutuhkan berkisar 400-3000 lux. Cahaya yang digunakan lampu neon putih 40 watt dengan jarak lampu 1,5-2 meter dari rak tempat botol kultur.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Pengaruh pemberian kombinasi konsentrasi IBA dan BAP terhadap lama waktu induksi dan persentase eksplan membentuk kalus daun sirih hitam (*Piper betle* L.)

Induksi kalus disebabkan oleh luka atau irisan eksplan sebagai respon terhadap hormon baik secara eksogen maupun endogen. Berdasarkan tabel 3.1 perlakuan IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L mampu menginduksi kalus lebih cepat dari perlakuan yang lain dengan rerata lama waktu induksi kalus 9,67 ± 0,82 hari. Sedangkan waktu induksi terlama dihasilkan pada perlakuan IBA 0,5 mg/L dan BAP 0,0 mg/L dengan rerata lama waktu induksi kalus 23,67 ± 1,86 hari. Hal ini bergantung dari respon

setiap eksplan, karena selain penambahan zat pengatur tumbuh berupa auksin dan sitokinin pada media, respon sel-sel eksplan juga dipengaruhi hormon endogen dan sifat kompeten dari setiap eksplan (12). Pada perlakuan IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L mampu menginduksi kalus lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya dikarenakan pada kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L mampu bekerja optimal untuk mendorong terjadinya pembentukan kalus pada eksplan daun sirih hitam.

Pengaruh penambahan IBA dan BAP terhadap waktu induksi kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.), menyatakan bahwa hasil terbaik dalam penelitian tersebut adalah dengan penambahan IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L yaitu 28 hari. Sedangkan dalam penelitian ini didapatkan hasil terbaik waktu induksi kalus adalah 10 hari pada penambahan IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L (13).

Pada tabel 3.1 menunjukkan bahwa semua eksplan pada setiap perlakuan dapat membentuk kalus, dengan persentase 100%. bahwa pada kombinasi IBA dan BAP (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0) eksplan dapat membentuk kalus dengan persentase 100% (14).

**Tabel 1. Rerata lama waktu induksi kalus dan persentase eksplan yang membentuk kalus daun sirih hitam pada media MS dengan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP**

No.	Konsentrasi ZPT (mg/L)		Kode	Rerata lama waktu induksi kalus (hari)	Persentase eksplan membentuk kalus (%)
	IBA	BAP			
1	0,0	0,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>0,0</sub>	29 ± 5,62 <sup>a</sup>	100
2	0,0	0,5	I <sub>0,0</sub> B <sub>0,5</sub>	17 ± 1,09 <sup>ab</sup>	100
3	0,0	1,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>1,0</sub>	18 ± 1,09 <sup>abc</sup>	100
4	0,0	1,5	I <sub>0,0</sub> B <sub>1,5</sub>	15 ± 1,55 <sup>bcd</sup>	100
5	0,0	2,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>2,0</sub>	14,67 ± 1,97 <sup>bcde</sup>	100
6	0,5	0,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>0,0</sub>	23,67 ± 1,86 <sup>af</sup>	100
7	0,5	0,5	I <sub>0,5</sub> B <sub>0,5</sub>	18,17 ± 1,33 <sup>abcdeg</sup>	100
8	0,5	1,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>1,0</sub>	14,5 ± 1,64 <sup>bcdegh</sup>	100
9	0,5	1,5	I <sub>0,5</sub> B <sub>1,5</sub>	13,5 ± 0,55 <sup>dghi</sup>	100
10	0,5	2,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>2,0</sub>	16,5 ± 1,64 <sup>abcdeghij</sup>	100
11	1,0	0,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>0,0</sub>	19,83 ± 0,41 <sup>acfgjk</sup>	100
12	1,0	0,5	I <sub>1,0</sub> B <sub>0,5</sub>	16,5 ± 0,55 <sup>abcdeghijl</sup>	100
13	1,0	1,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>1,0</sub>	13,5 ± 0,55 <sup>dehijm</sup>	100
14	1,0	1,5	I <sub>1,0</sub> B <sub>1,5</sub>	17,5 ± 0,55 <sup>abcdeghijn</sup>	100
15	1,0	2,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>2,0</sub>	13 ± 2,19 <sup>bcdeghijlmno</sup>	100
16	1,5	0,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>0,0</sub>	20,5 ± 1,64 <sup>abcfgjknop</sup>	100
17	1,5	0,5	I <sub>1,5</sub> B <sub>0,5</sub>	11 ± 1,09 <sup>ehimnoq</sup>	100
18	1,5	1,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>1,0</sub>	13,5 ± 0,84 <sup>dehijmoqr</sup>	100

19	1,5	1,5	I <sub>1,5</sub> B <sub>1,5</sub>	11,5 ± 0,55 <sup>dehoqrs</sup>	100
20	1,5	2,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>2,0</sub>	10,5 ± 0,55 <sup>eoqst</sup>	100
21	2,0	0,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>0,0</sub>	20,5 ± 0,55 <sup>actlqkpu</sup>	100
22	2,0	0,5	I <sub>2,0</sub> B <sub>0,5</sub>	14,5 ± 1,64 <sup>bcdghijlmnoqrstv</sup>	100
23	2,0	1,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>1,0</sub>	12,5 ± 2,95 <sup>bcdghijlmnoqrstv</sup>	100
24	2,0	1,5	I <sub>2,0</sub> B <sub>1,5</sub>	10,67 ± 0,82 <sup>choqstv</sup>	100
25	2,0	2,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>2,0</sub>	9,67 ± 0,82 <sup>oqstwx</sup>	100

### 3.2. Pengaruh pemberian kombinasi konsentrasi IBA dan BAP terhadap berat segar dan berat kering kalus sirih hitam (*Piper betle L.*)

Pertumbuhan kalus dapat diketahui melalui berat segar dan berat kering kalus. Berdasarkan hasil pengamatan (Tabel .2) dapat diketahui bahwa pada perlakuan konsentrasi IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L memiliki nilai rerata berat segar dan berat kering kalus terbaik, yaitu rerata berat segar 0,8507 gram dan rerata berat kering 0,0769 gram. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA 2,0 mg/L dan BAP 0,0 mg/L memiliki nilai rerata berat segar dan berat kering kalus paling terendah, dengan nilai rerata masing-masing 0,0554 gram dan 0,0057 gram. Hasil berat segar dan berat kering kalus yang berbeda-beda tersebut dikarenakan tidak semua sel memiliki respon yang sama terhadap suatu ZPT yang diberikan.

**Tabel 2** Rerata berat segar dan berat kering kalus sirih hitam selama 8 minggu masa kultur

No.	Konsentrasi ZPT (mg/L)		Kode	Rerata berat segar kalus (gram)	Rerata berat kering kalus (gram)
	IBA	BAP			
1	0,0	0,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>0,0</sub>	0,0125 ± 0,0028 <sup>a</sup>	0,0019 ± 0,0005 <sup>a</sup>
2	0,0	0,5	I <sub>0,0</sub> B <sub>0,5</sub>	0,3478 ± 0,0918 <sup>b</sup>	0,0325 ± 0,0086 <sup>b</sup>
3	0,0	1,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>1,0</sub>	0,3626 ± 0,0499 <sup>bc</sup>	0,0376 ± 0,004 <sup>bc</sup>
4	0,0	1,5	I <sub>0,0</sub> B <sub>1,5</sub>	0,4953 ± 0,0625 <sup>bcd</sup>	0,0488 ± 0,0042 <sup>bcd</sup>
5	0,0	2,0	I <sub>0,0</sub> B <sub>2,0</sub>	0,3993 ± 0,1228 <sup>bcd</sup>	0,0376 ± 0,0119 <sup>bcd</sup>
6	0,5	0,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>0,0</sub>	0,0649 ± 0,0101 <sup>f</sup>	0,0064 ± 0,0013 <sup>f</sup>
7	0,5	0,5	I <sub>0,5</sub> B <sub>0,5</sub>	0,4982 ± 0,0175 <sup>bdeg</sup>	0,0019 ± 0,0031 <sup>bdeg</sup>
8	0,5	1,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>1,0</sub>	0,3822 ± 0,0321 <sup>bdeh</sup>	0,0375 ± 0,0058 <sup>bcdgh</sup>
9	0,5	1,5	I <sub>0,5</sub> B <sub>1,5</sub>	0,3684 ± 0,0946 <sup>bcdgh</sup>	0,0364 ± 0,0099 <sup>bcdgh</sup>

10	0,5	2,0	I <sub>0,5</sub> B <sub>2,0</sub>	0,5862 ± 0,0786 <sup>degij</sup>	0,05478 ± 0,0069 <sup>deghij</sup>
11	1,0	0,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>0,0</sub>	0,0743 ± 0,0146 <sup>fk</sup>	0,00702 ± 0,0013 <sup>fk</sup>
12	1,0	0,5	I <sub>1,0</sub> B <sub>0,5</sub>	0,1975 ± 0,0,0124 <sup>beil</sup>	0,0202 ± 0,003 <sup>beil</sup>
13	1,0	1,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>1,0</sub>	0,3499 ± 0,0452 <sup>bcdghi</sup>	0,035 ± 0,0037 <sup>bcehim</sup>
14	1,0	1,5	I <sub>1,0</sub> B <sub>1,5</sub>	0,6406 ± 0,0418 <sup>dejn</sup>	0,0543 ± 0,0076 <sup>bcdghijn</sup>
15	1,0	2,0	I <sub>1,0</sub> B <sub>2,0</sub>	0,8127 ± 0,0487 <sup>o</sup>	0,0702 ± 0,0056 <sup>jno</sup>
16	1,5	0,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>0,0</sub>	0,0692 ± 0,0231 <sup>akp</sup>	0,0061 ± 0,0017 <sup>fkp</sup>
17	1,5	0,5	I <sub>1,5</sub> B <sub>0,5</sub>	0,2982 ± 0,0185 <sup>bceimq</sup>	0,0327 ± 0,0043 <sup>bcehimq</sup>
18	1,5	1,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>1,0</sub>	0,2969 ± 0,0181 <sup>bceimqr</sup>	0,0305 ± 0,0021 <sup>bcehimqr</sup>
19	1,5	1,5	I <sub>1,5</sub> B <sub>1,5</sub>	0,7694 ± 0,0773 <sup>inos</sup>	0,0647 ± 0,0145 <sup>bcdghijmn</sup>
20	1,5	2,0	I <sub>1,5</sub> B <sub>2,0</sub>	0,6567 ± 0,0323 <sup>enst</sup>	0,0557 ± 0,0075 <sup>defghijnost</sup>
21	2,0	0,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>0,0</sub>	0,0554 ± 0,0079 <sup>fkpu</sup>	0,0057 ± 0,0018 <sup>akpu</sup>
22	2,0	0,5	I <sub>2,0</sub> B <sub>0,5</sub>	0,7372 ± 0,0429 <sup>inostv</sup>	0,066 ± 0,0081 <sup>degnostv</sup>
23	2,0	1,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>1,0</sub>	0,7599 ± 0,1093 <sup>ginostv</sup>	0,0714 ± 0,011 <sup>dginostv</sup>
24	2,0	1,5	I <sub>2,0</sub> B <sub>1,5</sub>	0,7985 ± 0,0805 <sup>inostvw</sup>	0,0683 ± 0,0107 <sup>deginostvw</sup>
25	2,0	2,0	I <sub>2,0</sub> B <sub>2,0</sub>	0,8507 ± 0,0734 <sup>ostvwx</sup>	0,0769 ± 0,0108 <sup>ginostvwx</sup>

Setiap sel mempunyai kepekaan sendiri terhadap ZPT yang diberikan, selain itu waktu pembelahan sel untuk memperbanyak diri tidaklah sama karena siklus selnya akan selalu berbeda-beda. Perbedaan laju pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kemampuan jaringan untuk menyerap zat-zat hara yang tersedia, hal ini banyak dipengaruhi oleh aerasi dan tekstur kalus. Kalus yang terlalu padat dan kompak mempunyai kemampuan menyerap zat hara lebih rendah daripada tekstur kalus yang tidak terlalu padat (15).

Pengaruh penambahan IBA dan BAP terhadap berat segar dan berat kering kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.), menyatakan bahwa hasil terbaik dalam penelitian tersebut adalah dengan penambahan IBA 1,5 mg/L dan BAP 1,5 mg/L yaitu 0,2260 gram untuk rerata berat segar dan 0,0432 gram untuk rerata berat kering. Selain itu menurut Akaneme dan Ene (2005) pada kombinasi konsentrasi IBA 2,0 mg/L dan BAP 0,5 mg/L diperoleh berat segar kalus *Pinus caribaea* Mor. tertinggi yaitu 0,693 gram (13).

### 3.3. Pengaruh pemberian kombinasi konsentrasi



### **IBA dan BAP terhadap morfologi kalus daun sirih hitam (*Piper betle L.*)**

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa tekstur kalus yang dihasilkan pada penelitian ini bertipe remah, kompak dan remah. (Tabel .3). Kalus hasil dari perlakuan terbaik dapat dilihat pada Gambar 1.

Tekstur kalus kompak merupakan efek dari sitokinin yang berperan dalam transport zat hara. Sistem transport sitokinin dari bagian basal ke apeks akan membawa air dan zat hara melalui pembuluh pengangkut dan mempengaruhi potensial osmotik dalam sel. Penambahan sukrosa dalam medium akan mengalir melalui pembuluh floem dan menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut muncul akibat adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara (sukrosa) dari medium akan masuk kedalam sel melalui cara osmosis. Hal ini akan membuat dinding-dinding sel semakin kaku, sehingga sel kalus akan menjadi kompak <sup>[16]</sup>.

Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak <sup>[17]</sup>.

Dalam penelitiannya tentang pengaruh penambahan IBA dan BAP terhadap morfologi kalus eksplan lengkung (*Dimocarpus longan Lour*), menyatakan bahwa dalam penelitian tersebut dengan penambahan kombinasi ZPT IBA dan BAP (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 mg/L) menghasilkan kalus berwarna putih kecokelatan dengan tekstur kompak dan remah <sup>[14]</sup>. Kalus yang terbentuk dari eksplan daun binahong (*Anredera cordifolia L.*) pada media kombinasi IBA 0,5 ppm dan BAP 0,5 ppm berwarna hijau dengan tekstur kompak <sup>[18]</sup>.



**Gambar 1. Morfologi kalus dari perlakuan IBA 2 mg/L dan BAP 2 mg/L umur 8 minggu**

#### **4. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan

sebagai berikut:

1. Kombinasi konsentrasi IBA dan BAP berpengaruh terhadap lama waktu induksi kalus sirih hitam (*Piper betle L.*), pada konsentrasi IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L menunjukkan hasil lama waktu paling cepat dari ke-24 perlakuan yang lain dalam menginduksi kalus sirih hitam, yaitu  $\pm 9,67$  hari (10 hari). Variasi konsentrasi IBA dan BAP berpengaruh terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus sirih hitam.
2. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP berpengaruh terhadap berat segar dan berat kering kalus sirih hitam. kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimal untuk berat segar dan berat kering kalus sirih hitam adalah IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L, yang menghasilkan rerata berat segar dan berat kering kalus sirih hitam tertinggi, yaitu 0,8507 gram dan 0,0769 gram.
3. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP mempengaruhi morfologi kalus eksplan daun sirih hitam. Morfologi kalus yang terbentuk memiliki variasi warna dan tekstur. Beberapa kalus yang dominan terbentuk memiliki warna putih kecokelatan dan tekstur kompak dan remah.
4. Perbandingan konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP yang optimal untuk induksi kalus sirih hitam adalah IBA 2,0 mg/L dan BAP 2,0 mg/L. Pada konsentrasi tersebut rerata berat segar dan berat kering tertinggi yang dihasilkan adalah 0,8507 gram dan 0,0769 gram kalus sirih hitam.

Saran dari penelitian ini adalah penambahan kombinasi konsentrasi IBA dan BAP mampu mempercepat waktu induksi kalus dan meningkatkan berat segar serta berat kering kalus, sehingga pemberian kombinasi IBA dan BAP pada konsentrasi yang lebih tinggi perlu dilakukan untuk lebih mempercepat waktu induksi kalus dan meningkatkan berat segar serta berat kering kalus.

#### **5. UCAPAN TERIMAKASIH**

Terimakasih kami ucapkan kepada DRPM DIKTI yang telah mendanai penelitian ini dalam skim PTUPT

#### **6. KONFLIK KEPENTINGAN**

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian,

kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Rashif HR, Syafnir L, dan Rismawati E. **Uji Aktivitas antioksidan ekstrak bertingkat daun sirih hitam (*Piper acre Blume.*) dengan peredaman radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil).** Bandung: Prodi farmasi FMIPA, Universitas Islam Bandung; 2015.
2. Rija'i AJ. **Telaah fitokimia kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle L.*) dan uji bioktivitasnya terhadap larva udang (*Artemia salina Leach.*)** (skripsi). Bandung: Universitas Islam Bandung; 2015.
3. Hermawan A, Eliyani H, dan Tyasningsih W. **Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk.** Surabaya: Universitas Airlangga; 2007.
4. Sastrohamidjojo, S. **Obat asli Indonesia.** Edisi VI. Jakarta: Dian Rakyat; 2001.
5. Lestari EG. dan Mariska I. **Kultur *in vitro* sebagai metode pelestarian tumbuhan Obat Langka.** *Buletin Plasma Nutfah.* 1997; II(1): 1-8.
6. Azwin IZS. dan Supriyanto. **Penggunaan BAP dan thidiazuron untuk perbanyak tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis Lamk.*).** Bogor: *Media Konservasi.* 2006; XI(3): 98-104.
7. Elimasni I, Nurwahyuni, dan Sofyan MZ. **Inisiasi *in vitro* biji muda terong belanda (*Solanum betaceum Cav.*) Berastagi Sumatera Utara pada komposisi media dan zat tumbuh yang berbeda.** *Jurnal Biologi Sumatera.* 2006;1(1)
8. Siregar LH, Siregar LAM, dan Putri LAP. **Pengaruh benzil amino purin dan asam asetat naftalena terhadap pertumbuhan akar *Boesenbergia flava* secara *in vitro*.** *Jurnal Online Agroekoteknologi.* 2013; 1(3)
9. Zulkarnain. **Kultur jaringan tanaman; solusi perbanyak tanaman budi daya.** Jakarta: Bumi Aksara; 2011.
10. Paramartha AI, Ermavitalini D, dan Nurfadilah S. **Pengaruh penambahan kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium taurulinum J.J Smith* secara *in vitro*.** *Jurnal Sains dan Seni ITS.* 2012; 1(1).
11. Taiz L dan Zeiger E. ***Plant physiology.* 3<sup>rd</sup> edition.** Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publishers; 2002.
12. Santoso U dan Nursandi F. **Kultur jaringan tanaman.** Malang: UMM Press; 2002.
13. Ari NT. **Pengaruh variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh *indole butyric acid (IBA)* dan *Benzyl amino purin (BAP)* terhadap induksi kalus dan kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum Ruiz dan Pav.*)** (skripsi). Tidak dipublikasikan. Universitas Airlangga; 2015.
14. Widyarso M. **Kajian penggunaan BAP dan IBA untuk merangsang pembentukan tunas lengkung (*Dimocarpus longan Lour*) varietas pingpong secara *in vitro*.** (skripsi). Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret; 2010.
15. Lakitan B. **Fisiologi pertumbuhan dan perkembangan tanaman.** Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada; 1996.
16. Purwianingsih, Widi., Kusdianti R, dan Yuniarti L. **Anatomi kalus yang berasal dari eksplan daun *Catharanthus roseous (L. G. Don (Tapak Dara).*** *Jurnal Seminar Nasional Bioteknologi;* 2007.
17. Tsuru M. **Comparative Effect of different types of cytokinin for shoot formation and plant regeneration in leaf-derived callus of lavender (*Lavandula vera DC.*)** Japan: Laboratory of Plant Breeding Science, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Shimogamo-Hangi Sakyoku, Kyoto; 1998:606-8522.
18. Sugiyarto L. dan Kuswandi PC. **Induksi kalus daun binahong (*Anredera cordifolia L.*) dalam upaya pengembangan tanaman obat tradisional.** *Yogyakarta: Jurdik Biologi, Universitas Negeri Yogyakarta (UNY).* *Journal Sains Dasar;* 2014: 3 (1): 56 – 60.