

Pengaruh hormon 2,4-dichlorophenoxyacetic acid Terhadap Induksi Kalus Tanaman Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.))

*Effect of hormone 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on Callus Induction of Sorghum Plants (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Using Spindle Leaf Explants*

Didik Pudji Restanto*^{1,2}, Arya Wiranegara¹, Parawita Dewanti^{1,2}, Budi Kristanto¹, Sholeh Avivi^{1,2}

¹Plant Tissue Culture Laboratory, Agronomy Departement, Faculty of Agriculture University of Jember

²Center for Development Advance Sciences and Technology (CDAST) University of Jember

e-mail: *¹restanto.lemlit@unej.ac.id

ABSTRAK

Tanaman sorgum merupakan tanaman pangan serealia yang banyak ditanam selain padi, jagung, kedelai, gandum dan barley. Kendala dalam pengembangan sorgum di Indonesia yaitu minimnya varietas yang ada, sehingga diperlukan induksi kalus yang nantinya memudahkan dalam pengembangan bioteknologi dan menghasilkan varietas unggul yang baru. Kalus didapatkan dengan metode kultur jaringan karena memiliki sifat yang sama dengan tanaman induknya. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Perbanyakkan dilakukan dengan menggunakan eksplan *spindle leaf* tanaman sorgum yang berusia 1 bulan. Eksplan ditanam pada media perlakuan dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan perlakuan konsentrasi berbeda. Penelitian ini disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan hasil berbeda nyata pada setiap variabel pengamatan. Perlakuan terbaik dalam menumbuhkan kalus yaitu dengan pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 2 ppm karena mampu membentuk kalus pada usia 13,2 HST, membentuk persentase kalus sebanyak 96% dibandingkan perlakuan lainnya, serta berwarna putih kekuningan dan bertekstur remah yang menandakan kalus memiliki kualitas yang baik dan selnya aktif membelah.

Kata kunci: Sorgum, *dichlorophenoxyacetic acid*, kalus, In Vitro

ABSTRACT

Sorghum is a cereal food crop that is widely grown in addition to rice, corn, soybeans, wheat and barley. The obstacle in the development of sorghum in Indonesia is the lack of existing varieties, so callus induction is needed which will facilitate the development of biotechnology and produce new superior varieties. Callus obtained by tissue culture method because it has the same properties as the parent plant. The research was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jember. Propagation was carried out using spindle leaf explants of 1 month old sorghum plant. The explants were grown on treatment media with growth regulator 2,4-D with different concentrations of treatment. This study was arranged in a completely randomized design with 5 treatments and 5 replications. The results showed that the results were significantly different for each observation variable. The best treatment in growing callus was by giving 2,4-D with a concentration of 2 ppm because it was able to form callus at the age of 13.2 DAP, formed a callus percentage of 96% compared to other treatments, and had a yellowish white color and crumb texture which indicated the callus had good quality. good and the cells are actively dividing.

Keywords: Sorghum, 2,4-D, callus, in vitro

PENDAHULUAN

Tanaman sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) merupakan tanaman serealia yang banyak digunakan sebagai bahan pangan, pakan ternak, biofuel serta kepentingan industri lainnya (Nurmala, 1997). Tanaman sorghum memiliki kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang cukup tinggi utamanya pada lahan marginal yang panas dan kering (Kusumawati dkk., 2013). Sorghum merupakan komoditas pangan yang berpotensi dikembangkan di Indonesia untuk mendukung ketahanan pangan karena mudah beradaptasi terhadap lingkungan (Subagio and Aqil, 2013). Pengembangan tanaman sorghum di Indonesia masih rendah karena minimnya varietas unggul yang tersedia, selain itu produktivitasnya yang masih rendah serta tingginya serangan hama penyakit menyebabkan masyarakat jarang membudidayakan tanaman sorghum (Tarigan dkk., 2013). Pengembangan tanaman sorghum terus dilakukan agar menghasilkan varietas unggul sehingga dapat meningkatkan hasil produktivitasnya.

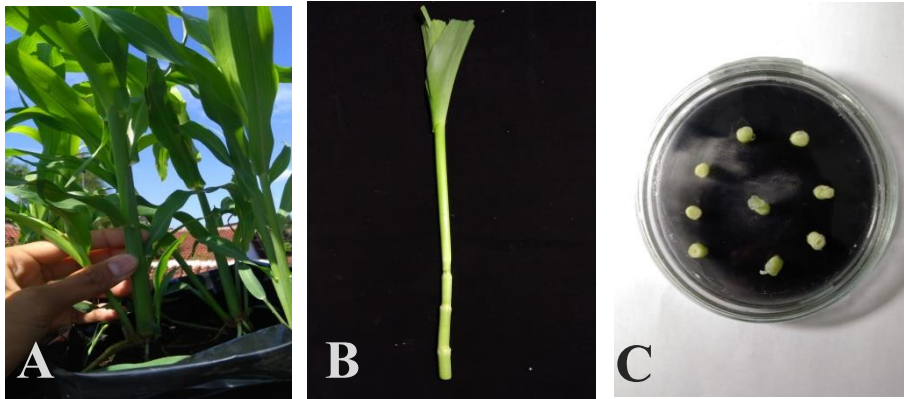
Pendekatan bioteknologi terus dilakukan untuk meningkatkan varietas sorghum. Salah satu pendekatan bioteknologi yang dapat membantu meningkatkan varietas tanaman sorghum yaitu melalui perbanyakan vegetatif dengan metode kultur jaringan. Pengembangan melalui metode kultur jaringan nantinya menghasilkan kalus yang digunakan untuk perbaikan sifat tanaman sehingga menghasilkan varietas unggul (Husni dkk., 2010). Kendala dalam pengembangan sorghum melalui kultur jaringan yaitu eksplan tanaman sorghum mengeluarkan senyawa fenolik (*browning*) pada eksplan yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Dreger *et al.*, 2019).

Pencoklatan pada eksplan yang sering terjadi pada perbanyakan melalui kultur jaringan disebabkan oleh eksplan maupun zat pengatur tumbuh yang digunakan (Hutami, 2016). Eksplan daun menggulung (*spindle leaf*) dipilih karena memiliki jaringan meristematik yang aktif membelah sehingga presentase keberhasilannya lebih tinggi (Suminar *et al.*, 2016). Sedangkan zat pengatur tumbuh yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan kalus diantaranya yaitu auksin dan sitokinin (Widiastoety, 2014). Zat pengatur tumbuh auksin yang digunakan yaitu 2,4-D (*Dichloropenoxyacetic acid*) karena memiliki tingkat efektif lebih tinggi dalam pembentukan kalus serta poliferasi kultur embrionik dibandingkan golongan auksin lainnya (Sianipar *et al.*, 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu pengembangan melalui metode kultur jaringan untuk mendapatkan komposisi media yang sesuai dalam pembentukan kalus sehingga dapat mengurangi resiko pencoklatan. Selain itu penggunaan eksplan *spindle leaf* diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan dalam pembentukan kalus melalui metode kultur jaringan. Tujuan dari penelitian ini yaitu memberikan informasi mengenai komposisi media yang sesuai dalam induksi kalus tanaman sorghum dengan menggunakan eksplan *spindle leaf*. Hasil penelitian nantinya diharapkan dapat menjadi acuan dalam pengembangan tanaman sorghum hingga dapat menghasilkan varietas unggul baru.

METODE PENELITIAN

Bahan tanam *in vitro*, Bahan tanam yang digunakan dalam perbanyakan melalui metode kuljar yaitu menggunakan eksplan *spindle leaf*, dimana eksplan berpengaruh terhadap keberhasilan dalam perbanyakan melalui kultur jaringan. Eksplan *spindle leaf* didapatkan pada tanaman lapang yang berusia 1 bulan yang ditanam pada polybag di dalam greenhouse agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.



Gambar 1. Bahan tanam yang akan digunakan: (a) tanaman sorgum berumur 1 bulan, (b) bagian ruas dari ujung yang digunakan sebagai eksplan *spindle leaf*, (c) eksplan ditanam pada media perlakuan.

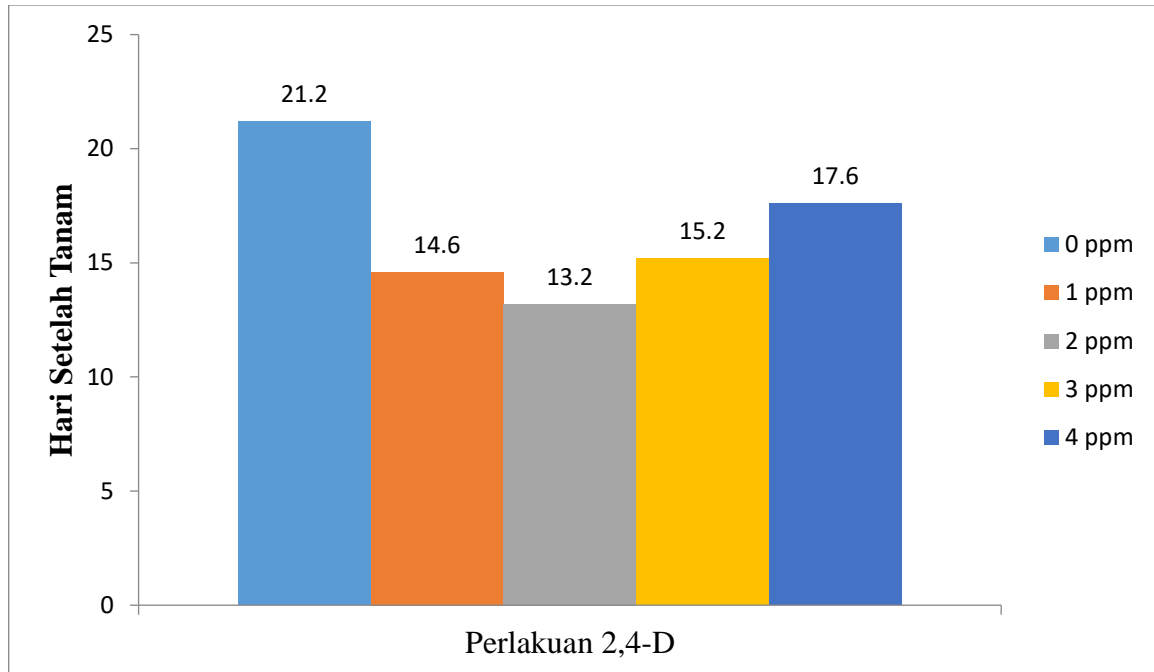
Eksplan diambil dengan cara memangkas 2 ruas dari ujung tanaman sorgum. Eksplan disterilisasi di dalam *laminar air flow* dengan cara merendam bagian ujung ke dalam alkohol 96%. Kemudian eksplan dibakar diatas bunsen sambil dikelupas bagian daun terluar (2-3 helai) hingga terlihat bagian *spindle leaf* berwarna putih. Eksplan diambil di bagian 1 cm diatas titik tumbuh dan dipotong kurang lebih 1 cm. Eksplan yang sudah dipotong ditanam pada media perlakuan induksi kalus.

Media tanam yang digunakan untuk induksi kalus terdiri dari MS basal, sukrosa (30 gr), agar (8 gr) serta hormon 2,4-D sesuai dengan perlakuan. Konsentrasi hormon 2,4-D yang digunakan terdiri dari 5 taraf yaitu 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana tiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan. Apabila terdapat hasil berbeda nyata maka akan dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf 5%. Pengamatan induksi kalus dilakukan setiap hari selama 4 minggu dan disimpan dalam kondisi ruang gelap.

HASIL DAN PEMBAHASAN

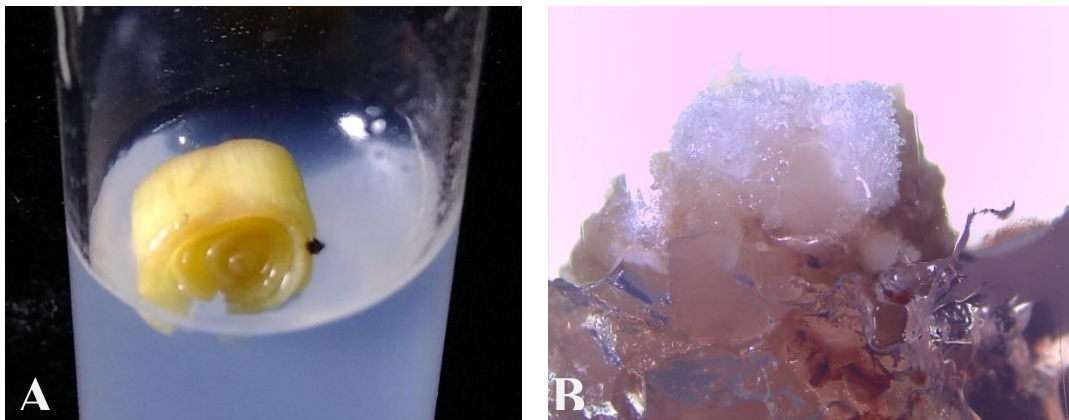
Pengembangan dalam induksi kalus tanaman sorgum dilihat dari beberapa faktor keberhasilan, salah satunya kedinihan eksplan membentuk kalus. Kalus akan muncul pada bagian eksplan yang diiris dan ditandai dengan munculnya benjolan berwarna putih, bertekstur remah dan berkembang secara terus menerus. Kalus terbentuk akibat adanya hormon yang terdapat pada media dan merespon jaringan yang terluka hingga tumbuh secara terus menerus (Indah and Ermavitalini, 2013). Kecepatan pembentukan kalus dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan, konsentrasi hormone dan komposisi media yang digunakan pada saat induksi. Keseimbangan antara konsentrasi zat pengatur tumbuh terhadap eksplan akan berpengaruh terhadap kecepatan pembentukan kalus (Kurniati *et al.*, 2016).

Kalus memiliki peranan yang penting dalam pengembangan kegiatan pemuliaan tanaman. Kedinihan munculnya kalus mempengaruhi efisiensi dan efektifitas waktu dalam kegiatan perbanyakan tanaman sehingga membantu mempercepat proses kegiatan penelitian dalam pemuliaan tanaman (Humaira and Amien, 2019). Gambar 2 menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi hormone 2,4-D terhadap kecepatan munculnya kalus pada eksplan tanaman sorgum. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan terbaik dalam inisiasi kalus yaitu 2 ppm 2,4-D karena dapat membentuk kalus tercepat yaitu 13,2 hari setelah tanam dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Konsentrasi hormone yang kurang tepat berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus. Menurut (Indah and Ermavitalini, 2013).



Gambar 2. Grafik pengaruh hormon 2,4-D terhadap kedinian munculnya kalus tanaman sorgum

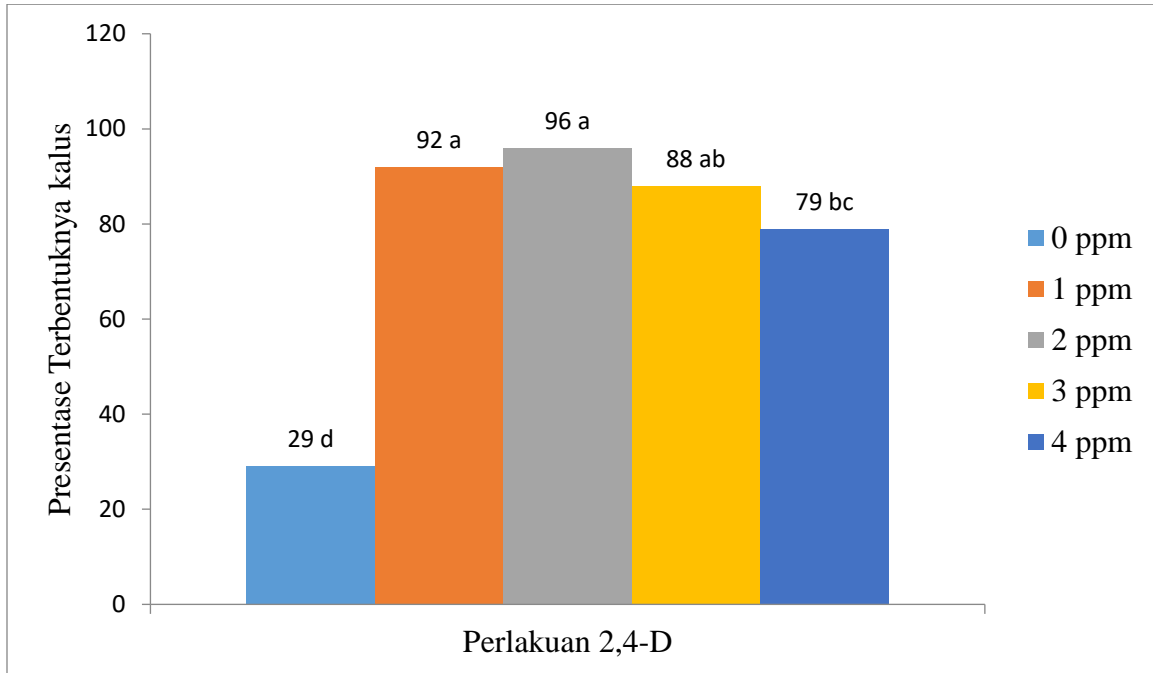
Gambar 3 menunjukkan pembentukan kalus dari bahan tanam *spindle leaf*. Pemberian zat pengatur tumbuh pada media menyebabkan eksplan merespon dengan cara mengembang dan membengkak hingga muncul kalus pada tiap irisannya. Penggunaan hormon 2,4-D dengan konsentrasi 2 ppm memicu pembentukan kalus lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Perbedaan konsentrasi hormone 2,4-D pada setiap perlakuan berpengaruh nyata terhadap kecepatan pembentukan kalus pada tanaman sorgum.



Gambar 3. Proses awal kemunculan kalus a) Eksplan *spindle leaf* baru ditanam, b) kemunculan kalus pada perlakuan 2,4-D konsentrasi 2 ppm di usia 13,2 hari setelah tanam

Variabel pengamatan lainnya yang menentukan keberhasilan eksplan dalam membentuk kalus selain kedinian munculnya kalus yaitu presentase terbentuknya kalus. Presentase terbentuknya kalus yang terbaik yaitu terdapat pada perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 2 ppm dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Presentase keberhasilan eksplan dalam membentuk kalus pada konsentrasi 2 ppm 2,4-D yaitu 96%. Kalus akan terbentuk pada jaringan yang terluka pada eksplan akibat pemotongan, sehingga sel pada

eksplan akan mengalami perubahan sebagai upaya dalam memperbaiki jaringan yang rusak. Setiap perlakuan memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam membentuk kalus. Hal tersebut karena kalus memiliki daya kepekaan yang berbeda terhadap media karena adanya pengaruh zat pengatur tumbuh yang diberikan (Trimulyono, dkk. 2004).



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap presentase terbentuknya kalus pada eksplan

Kalus yang dihasilkan belum tentu memiliki kualitas yang baik. kualitas kalus dapat dilihat dari pengamatan tekstur maupun warna kalus yang dihasilkan sehingga nantinya dapat diketahui sel tersebut aktif membelah atau mengalami stagnasi pada pembelahannya sehingga mengalami penurunan aktivitas pembelahan (Rasud and Bustaman, 2020). Indikator warna kalus dapat menentukan umur dan kualitas kalus karena warna yang terbentuk akan menentukan sel tersebut aktif membelah atau mati. Kalus yang memiliki kualitas yang baik yaitu berwarna putih kekuningan karena selnya aktif membelah. Perubahan warna kalus diawali dengan berwarna putih, kemudian menjadi kekuningan hingga berwarna coklat. Warna kalus dipengaruhi oleh komposisi media yang digunakan serta faktor lingkungan seperti cahaya (Junairiah *et al.*, 2018).

Tabel 1. Tekstur dan warna kalus pada eksplan *spindle leaf* tanaman sorgum

| No. | Perlakuan | Tekstur Kalus | Warna Kalus |
|-----|-------------|---------------|-------------------|
| 1. | 0 ppm 2,4-D | Bernodul | Kuning Kecoklatan |
| 2. | 1 ppm 2,4-D | Remah | Putih Kekuningan |
| 3. | 2 ppm 2,4-D | Remah | Putih kekuningan |
| 4. | 3 ppm 2,4-D | Remah | Putih Kekuningan |
| 5. | 4 ppm 2,4-D | Remah | Putih |

Warna kalus yang berbeda pada perlakuan menunjukkan tingkat perkembangan kalus serta tekstur kalus yang dihasilkan pada Tabel 1. Kalus yang terbaik dihasilkan pada perlakuan 2 ppm karena menghasilkan kalus berwarna putih kekuningan yang menandakan selnya masih aktif membelah. Sedangkan kalus yang berwarna putih menandakan kalus masih terlalu muda dan kalus berwarna kuning kecoklatan menandakan jika telah terjadi penurunan aktivitas pembelahan. Kualitas kalus dapat dilihat dari tekstur kalus yang dihasilkan. Kalus yang memiliki kualitas baik yaitu bertekstur remah karena sel-selnya mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal (Arianto *et. al.*, 2013). Kalus yang terbaik dihasilkan pada perlakuan 2 ppm 2,4-D karena menghasilkan kalus bertekstur remah dan bernodul yang berpotensi membentuk kalus embrionik dengan presentase lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal tersebut karena konsentrasi yang pas pada hormone 2,4-D sehingga berperan terhadap pelonggaran serat dinding sel. Pelonggaran tersebut menyebabkan dinding sel menjadi lebih fleksibel dan memudahkan nutrisi dari media terserap ke eksplan secara difusi. Penyerapan zat hara tersebut menyebabkan sel-sel akan terus tumbuh secara tidak terkontrol dan membentuk kalus yang ditandai dengan munculnya benjolan putih pada eksplan yang terluka (Muliati, T. Nurhidayah, 2017).

KESIMPULAN

Pemberian hormon 2,4-D pada konsentrasi 2 ppm merupakan perlakuan terbaik dalam induksi kalus tanaman sorgum, karena mampu menghasilkan kalus lebih cepat yaitu 13,2 HST dibandingkan perlakuan lainnya. Konsentrasi 2 ppm 2,4-D memiliki presentase pembentukan kalus 96% serta kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan dengan tekstur remah yang menandakan kalus yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Arianto, Basri, Z. and Ulfa Bustamil, M. (2013). Induction of callus on two Sulawesi Superior Cacao Clones (*Theobroma cacao* L.) at various 2,4-Dichlorophenoxy Aceti. *Agrotekbis*. No 3, Vol 1, hal. 249211.
- Dreger, M., R. Mol. A. Deja, E. Raj, G. Mankowska, and K. Welgus. (2019). Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In Vitro Cell Development Biology*, Vol. 55(1), hal. 190–198.
- Humaira, A. and Amien, S. (2019). Induksi Kalus Lima Kultivar Seledri (*Apium graveolens* L.) Dengan Sukrosa Dan Berbagai Konsentrasi Maltosa, *Agrin*, Vol. 23(1), hal. 1–11.
- Husni, A., Purwito, A. and Mariska, I. (2010) Regenerasi Jeruk Siam melalui Embriogenesis Somatik, *AgroBiogen*, Vol. 6(2), hal. 75–83.
- Hutami, S. (2016). ULASAN Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan, *Jurnal AgroBiogen*, Vol. 4(2), hal 83-88.
- Indah, P. and Ermavitalini, D. (2013). Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Putri, *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, Vol. 2(1), hal. 1–6.
- Junairiah, D. A. Sofiana, Y. S. A. Manuhara, dan Surahmaida. (2018). Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl . dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin, Vol. 3(2), hal. 41–46.

- Kurniati, R., A. Purwito, G. A. Wattimena, B. Marwoto, Supenti. (2016). Induksi Kalus dan Bulblet serta Regenerasi Tanaman Lili Varietas Sorbon dari Tangkai Sari Bunga, *Jurnal Hortikultura*, Vol. 22(4), hal. 303-308.
- Kusumawati, A., Putri, N. E. and Suliansyah, I. (2013). Karakteristik dan Evaluasi Beberapa Genotipe Sorgum, Vol. 4(1), hal. 7–11.
- Muliati, T. Nurhidayah, N. (2017). Media On The In Vitro Development Of *Sansevieria macrophylla*, *Jom Faperta*, Vol. 4(1), hal. 1–13.
- Nurmala, Tati S. W. (1997). *Serealia Sumber Karbohidrat Utama*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Rasud, Y. and Bustaman, B. (2020). In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations, *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol. 25(1), hal. 67–72.
- Sianipar, N. F., G. A. Wattimena, H. Aswidinnoor, M. Thenawidjaya S., N. T. Mathius dan G. Ginting. (2007). Karakterisasi secara Morfologi Abnormalitas Embrio Somatik Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dari Eksplan Daun, *Jurnal AgroBiogen*, Vol. 3(1), hal 32-39.
- Subagio, H. and Aqil, M. (2013). Pengembangan Produksi Sorgum Di Indonesia, *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian*, Vol. 1, hal. 199–214.
- Suminar, E., D. S. Sorbana, A. Nuraini, S. Mubarak, P. Suryatmana, Y. Sihombing dan C. Angel. (2016). Regenerasi Berbagai Jenis Eksplan Nilam Klon Sidikalang dan Aplikasi *Azotobacter* pada Tahap Aklimatisasi, *Agrikultura*, Vol. 27(2), hal. 72–82.
- Tarigan, D. H., Irmansyah, T. and Purba, E. (2013). Pengaruh Waktu Penyiangan Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Beberapa Varietas Sorgum (*Sorgum bicolor* (L.) Moench), *Agroteknologi*, Vol. 2(2337), hal. 86–94.
- Trimulyono, G., Solichatum, dan Marliana, S.D. (2004). Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Palauan Asam Asam α -Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. No. 1, Vol. 2, 9-13.
- Widiastoety, D., (2014). Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Mokara (Effect of Auxin and Cytokinin on the Growth of Mokara Orchid Plantlets), *Hortikultura*, Vol. 24(3), hal. 230–238.