

INDUKSI KALUS GAMBIR VARIETAS CUBADAK (*Uncaria gambir* ROXB.) DENGAN PEMBERIAN 2,4-D DAN KINETIN SECARA *IN VITRO*

Callus Induction of Gambir Cubadak Variety (Uncaria gambir Roxb.) With The Application Of 2.4-D And Kinetin In Vitro

Muhammad Rizal Daulay*, Rosmaina, Raudhatu Shofiah, Nida Wafiqah Nabila

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau

Jl. HR. Soebrantas km. 15 Pekanbaru Riau

Email*: mrizaldaulay@gmail.com

ABSTRACT

Gambir is one of the agricultural commodities with a high economic value and has many benefits that are used as raw materials for various industries. Utilization of gambier to produce secondary metabolites can be done by vegetative and generative propagation, but requires a long production time and has limited raw materials and the quality of the results is not uniform and the low quality produced. In vitro culture is one alternative that can be done to obtain secondary metabolites in a relatively short time by inducing callus. This study aims to obtain the optimal concentration of 2.4-D, kinetin and their interaction in inducing callus. This study used a 2 factor Randomized Group Design with 12 treatments and 3 groups. The first factor is 2.4-D which consists of four concentration levels: 0 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm) and the second factor is kinetin which consists of three concentration levels: 0 ppm; 0.5 ppm; 1 ppm). The observed parameters included time to callus appearance, percentage of callus explants, callus texture and color. The results showed that the average 2.4-D 3 ppm was able to accelerate callus induction with a time of 7.66 DAP with a callus color of 33.33% yellowish white and 33.33% compact texture and the interaction of 1 ppm 2.4-D and 1 ppm kinetin was optimal in inducing callus of gambier plants when callus appeared 9.72 DAP, callus color 61.11% yellowish white and callus texture produced 72.22% compact.

Keywords: auxin, cytokinin, prolifération, secondary metabolites

PENDAHULUAN

Gambir merupakan komoditas pertanian yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi serta memiliki prospek tinggi bagi petani maupun sebagai pemasok devisa negara (Untoro dkk., 2016). Nilai ekonomis gambir ditentukan dari kualitas ekstrak dari hasil pengepresan atau ekstraksi daun dan cabang muda tanaman gambir (Viena dan Nizar, 2019). Manfaat gambir yang digunakan oleh masyarakat membuktikan bahwa gambir mengandung senyawa metabolit sekunder (Melati dan Parbuntari, 2022). Gambir mengandung senyawa metabolit sekunder seperti katekin, *flourescein*, asam *catechutannat* dan *quercetin* dapat digunakan sebagai antioksidan alami, antibakteri, zat penyamak kulit, pestisida nabati dan bahan baku industri tekstil dan bahan baku obat (Aditya dan Ariyanti, 2016).

Berbagai potensi dari ekstrak gambir tersebut menjadikan permintaan terhadap gambir semakin meningkat dan kebutuhan industri dimana 96,88% gambir yang digunakan diimpor dari Indonesia dimana 80% ekspor gambir Indonesia berasal dari Sumatera Barat (Hernani dkk., 2020).

Hal ini menjadikan gambir sebagai salah satu komoditas ekspor unggulan Indonesia terkhususnya Sumatera Barat (Hardianti *et al.*, 2020).

Pemanfaatan gambir untuk menghasilkan metabolit sekunder dapat dilakukan secara perbanyakan vegetatif dan generatif, namun membutuhkan waktu produksi yang cukup lama dan memiliki keterbatasan bahan baku (Hernani dkk., 2020). Permintaan gambir yang terus meningkat mengharuskan dilakukannya peningkatan ketersediaan ekstrak gambir berkualitas. Kultur *in vitro* menjadi salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk memperoleh metabolit sekunder dalam waktu yang relatif singkat yaitu dengan cara menginduksi kalus (Lestari, 2021).

Penggunaan ZPT memiliki peran penting dalam proses kultur jaringan terutama dalam mengarahkan pertumbuhan kalus yang belum terdiferensiasi. Interaksi dan keseimbangan ZPT yang digunakan dalam media mampu menentukan pertumbuhan sel yang dikulturkan (Widyastuti dan Deviyanti, 2018). Kebutuhan ZPT sangat ditentukan oleh jenis tanaman artinya setiap tanaman membutuhkan jenis dan konsentrasi ZPT yang spesifik dan umumnya ZPT yang digunakan dalam menginduksi kalus adalah auksin seperti 2,4-D dan sitokinin seperti kinetin dalam kultur jaringan (Lestari, 2021).

Penelitian mengenai tanaman gambir di bidang kultur jaringan telah pernah dilakukan oleh Ferita dkk. (2000), mengenai perbanyakan tanaman gambir melalui induksi kalus secara *in vitro*, yang menginformasikan bahwa kadar 2,4-D dan kinetin yang seimbang sebesar 0,5 ppm dapat menginduksi kalus sebesar 5%. Lebih lanjut, penelitian yang dilakukan oleh Adri (2017), didapatkan bahwa ZPT 2,4-D pada konsentrasi 1 mg/l dapat menginduksi embriosomatik tanaman gambir secara langsung. Menurut Ruslan (2020), konsentrasi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin memberikan hasil yang signifikan untuk pertumbuhan kalus tanaman kopi.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Januari sampai Juli 2024, di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau yang terletak di Jalan H. R. Soebrantas, nomor 115 km 18 Kecamatan Tuah Madani, Pekanbaru.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet* (L AFC), *hotplate*, *autoclave*, timbangan analitik, plastik PP, *aluminium foil*, karet gelang, kertas label, kertas HVS, tisu, cawan Petri, gunting, pipet tetes, pinset, *scalpel*, botol kultur, gelas beaker, lampu bunsen, *magnetic stirrer*, pH meter, batang pengaduk, *handsprayer*, alat tulis, rak kultur, dan *smartphone*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gambir varietas Cubadak, media MS, 2,4-D, kinetin, sukrosa, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, *erythromycin*, *ketoconazole*, surfaktan, aquades, alkohol 70%, NaClO, fungisida dengan bahan aktif Mankozeb 80%, bakterisida dengan bahan aktif *Streptomisin Sulfat* 20%, spritus dan agar-agar bening.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang disusun menggunakan model Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor yaitu konsentrasi 2,4-D (P) dan Kinetin (K). Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut: Faktor pertama yaitu konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari: P0: 0 ppm; P1: 1 ppm; P2: 2 ppm; dan P3: 3 ppm. Faktor kedua yaitu konsentrasi kinetin yang terdiri dari: K0: 0 ppm; K1: 0,5 ppm; dan K2: 1 ppm. Sehingga diperoleh 12 kombinasi perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari 3 kelompok, sehingga terdapat 36 unit percobaan. Masing-masing unit percobaan terdiri atas 6 sampel, sehingga terdapat 216 unit percobaan.

Analisis Data

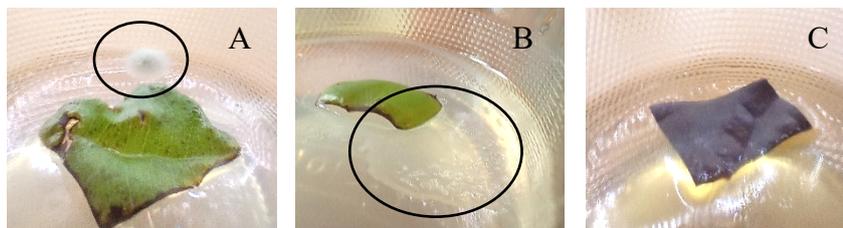
Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Anova, jika hasil analisis sidik ragam berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), pada tingkat peluang 0,05. Analisis sidik ragam dilakukan dengan menggunakan program SAS versi 9.1. Model linier uji statistik RAK faktorial menurut Mattjik dan Sumertajaya (2013) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + \epsilon_{ij}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Induksi kalus menggunakan eksplan daun gambir varietas Cubadak. Pada penanaman total 216 unit percobaan terdapat 81,94% eksplan berkalus, 12,96% eksplan mengalami kontaminasi dan 5,1% eksplan mengalami *browning* seperti pada Gambar 1. Kontaminasi merupakan kondisi lingkungan kultur yang terganggu akibat dari masuknya kontaminan baik jamur dan bakteri (Adihaningrum dan Rahayu, 2019). *Browning* disebabkan oleh senyawa fenolik yang diaktivasi oleh enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO) dan terjadi saat eksplan dilukai pada fase inisiasi (Putri dkk., 2023). Wulandari dkk. (2022) menyatakan bahwa persiapan dan pemeliharaan dalam kultur jaringan memerlukan sterilisasi media kultur, wadah kultur, jaringan tanaman serta sterilisasi semua peralatan yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan.



Gambar 1. Kondisi Eksplan: Terkontaminasi (A) Jamur, (B) Bakteri, dan (C) Browning

Waktu Muncul Kalus

Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian ZPT 2,4-D dan kinetin pada media MS memberikan pengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus eksplan gambir varietas Cubadak. Seluruh perlakuan mampu menginduksi kalus dengan interval muncul kalus pada 7,66-16,12 HST.

Tabel 1. Waktu Muncul Kalus Eksplan Daun Gambir Varietas Cubadak

2,4-D	Kinetin		
	0 ppm	0,5 ppm	1 ppm
0 ppm	25,5 ^a	16,12 ^b	15,08 ^c
1 ppm	8,78 ^{hi}	10,77 ^d	9,72 ^{ef}
2 ppm	8,55 ⁱ	10,11 ^e	9,11 ^{gh}
3 ppm	7,66 ^j	9,39 ^{fg}	8,46 ⁱ

Keterangan: Superskrip yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 5\%$).

Pada penelitian ini, perlakuan kontrol dapat menginduksi kalus pada 25,5 HST dan hal ini berbeda dengan penelitian Begawan (2024) yang tidak mampu menginduksi kalus dan sesuai dengan penelitian Utomo (2023) bahwa waktu muncul kalus pada eksplan daun gambir pada perlakuan kontrol dapat menginduksi kalus pada 24,76 HST pada eksplan daun gambir. Menurut Firdansha (2022), pada perlakuan kontrol atau tanpa adanya pemberian ZPT, kalus juga dapat terbentuk dikarenakan ZPT endogen yang ada dalam eksplan tanaman sudah mampu untuk memacu terbentuknya kalus pada eksplan.

Menurut Waryastuti dkk. (2017), semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, induksi kalus semakin cepat terjadi karena 2,4-D lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan tanaman. Hal ini sesuai dengan penelitian Restanto dkk. (2021) yang menyatakan bahwa pemberian ZPT pada media menyebabkan eksplan merespon dengan cara mengembang dan membengkak dan penggunaan ZPT 2,4-D dengan konsentrasi tinggi memicu pembentukan kalus lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Kecepatan induksi pada tiap eksplan akan berbeda-beda tergantung jenis eksplannya dan munculnya kalus merupakan reaksi penutupan jaringan akibat adanya pelukaan pada jaringan tersebut, yang mana pembentukan kalus pada jaringan luka dipicu oleh adanya ZPT auksin dan sitokinin endogen (Khoiriyah dkk., 2023).

Persentase Eksplan Berkalus

Berdasarkan data pada Tabel 2, perlakuan kontrol memberikan persentase terbentuknya kalus paling rendah diantara seluruh perlakuan. Persentase terbentuknya kalus eksplan daun gambir pada perlakuan kontrol yaitu 22,22%. Hal ini sesuai dengan penelitian Utomo (2023) bahwa induksi kalus eksplan daun gambir pada perlakuan kontrol hanya sebesar 38% dan berbeda dengan penelitian Begawan (2024) yang persentase eksplan berkalus pada perlakuan kontrol yaitu 0%.

Pada penelitian ini, persentase eksplan berkalus tertinggi terdapat pada perlakuan kombinasi 2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin yaitu 100%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Silvina dkk, (2021) bahwa konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang diberikan mampu menginduksi kalus dengan baik. Menurut Lestari (2021), penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur jaringan dapat meningkatkan konsentrasi ZPT endogen di dalam sel sebagai pemicu pertumbuhan dan perkembangan pada jaringan.

Tabel 2. Persentase Eksplan Berkalus Daun Gambir Varietas Cubadak pada 30 HST

2,4-D	Kinetin		
	0 ppm	0,5 ppm	1 ppm
0 ppm	22,22 ^d	88,88 ^{ab}	83,33 ^{bc}
1 ppm	88,88 ^{ab}	83,33 ^{bc}	88,88 ^{ab}
2 ppm	88,88 ^{ab}	83,33 ^{bc}	100 ^a
3 ppm	83,33 ^{bc}	94,44 ^{ab}	72,22 ^c

Keterangan: Superskrip yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 5\%$).

Tekstur Kalus

Tekstur kalus dalam pertumbuhan kalus terdapat tiga macam tekstur yaitu kompak, intermediet, dan remah (Mushtofa, 2018). Kalus remah memiliki sel yang dapat dipisahkan menjadi sel tunggal karena memiliki ruang antar sel yang besar, kalus kompak merupakan kalus yang tidak bisa dipisahkan menjadi sel tunggal karena bertekstur padat, sedangkan kalus yang memiliki tekstur remah dan kompak disebut intermediet (Setiawati dkk., 2021). Tabel 3 menunjukkan persentase tekstur kalus pada induksi kalus gambir varietas Cubadak dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi yang berbeda memiliki tekstur yang beragam.

Komposisi media, ZPT, dan komponen tanaman sumber eksplan yang digunakan menyebabkan perbedaan tekstur kalus (Sugiyarto dan Kuswandi, 2014). Nisak dkk. (2012) menyatakan bahwa tekstur kalus yang remah disebabkan ZPT auksin menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel menjadi longgar, sehingga air dapat masuk ke dalam dinding sel dengan cara osmosis sehingga sel mengalami pemanjangan. Kalus yang remah mengandung banyak air karena belum mengalami pengerasan dinding sel, serta antara kumpulan sel yang satu dengan yang lain relatif mudah untuk dipisahkan.

Tabel 3. Persentase Tekstur Kalus Eksplan Daun Gambir Varietas Cubadak pada 30 HST

2,4-D	Tekstur	Kinetin		
		0 ppm	0,5 ppm	1 ppm
0 ppm	Remah	0	66,67	72,22
	Kompak	22,22	22,22	11,11
	Intermediet	0	0	0
1 ppm	Remah	77,78	27,78	11,11
	Kompak	11,11	55,55	72,22
	Intermediet	0	5,55	5,55
2 ppm	Remah	66,67	16,67	55,56
	Kompak	22,22	50	16,67
	Intermediet	0	16,67	27,77
3 ppm	Remah	44,44	38,89	38,89
	Kompak	33,33	22,22	27,77
	Intermediet	5,55	33,33	5,55

Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari ZPT yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Auksin akan melonggarkan serat-serat dinding sel, sehingga dinding sel lebih fleksibel dan nutrisi yang terkandung dalam medium akan masuk secara difusi. Hal ini akan terus berlangsung

sampai potensial air dan potensial osmotik seimbang dan sel menjadi membengkak. Sel membengkak dengan adanya penambahan sitokinin akan mempengaruhi pembelahan dan pemanjangan sel sehingga pembentukan dinding sel semakin cepat dan kalus menjadi kompak (Ulva dkk., 2019).

Pada penelitian ini, penggunaan 2,4-D dengan konsentrasi tertinggi 3 ppm menghasilkan tekstur kalus kompak 33,33%, hal ini sesuai dengan penelitian Begawan (2024) yang menyatakan bahwa konsentrasi tinggi 3 ppm 2,4-D akan menghasilkan kalus padat 100% dan sesuai dengan penelitian Khalida (2019) yang menyatakan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D yang semakin tinggi menghasilkan kalus yang bertekstur remah. Pada penelitian induksi kalus gambir varietas Cubadak dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi yang berbeda terlihat pada pemberian kinetin secara tunggal mampu membentuk kalus namun dalam bentuk lebih kecil dan sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian Sudarjad dan Wijaya (2019) menyatakan penggunaan kinetin dengan konsentrasi 1 mg/l + NAA 0 mg/l tidak menghasilkan kalus karena tidak adanya auksin sehingga pertumbuhan kalus terhambat pada daun pule pandak.

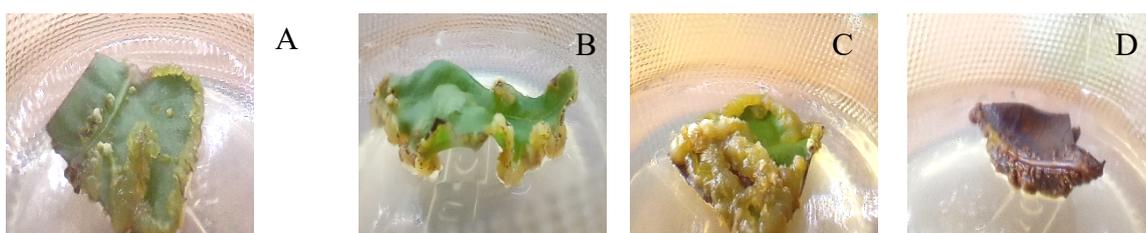


Gambar 3. Tekstur Kalus: (A) 3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm Kinetin Bertekstur Remah, (B) 1 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin Bertekstur Kompak, (C) 3 ppm 2,4-D Bertekstur Intermediet

Pada penelitian ini, tekstur gambir varietas Cubadak menghasilkan tekstur remah, kompak dan intermediet, sesuai dengan tekstur kalus daun gambir Pakpak Bharat penelitian Begawan (2024). Indah dan Ermivitalini (2013) menjelaskan bahwa kalus yang baik untuk digunakan sebagai penghasil metabolit sekunder adalah kalus yang memiliki tekstur kompak, dimana tekstur kompak mengandung metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan kalus yang remah ataupun intermediet. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Retnaningati dkk. (2021) yang menyatakan bahwa tekstur kalus kompak daun teh yang terbentuk menghasilkan metabolit sekunder lebih tinggi 1,9- 2,4 kali dibandingkan dengan kalus remah.

Warna Kalus

Hasil induksi kalus gambir varietas Cubadak dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi yang berbeda menghasilkan beberapa variasi warna kalus seperti putih kehijauan, putih kekuningan, putih kecoklatan dan coklat dan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Warna Kalus: (A). Putih Kehijauan, (B). Putih Kekuningan, (C). Putih Kecoklatan, (D). Coklat

Pada perlakuan 2,4-D dan kinetin secara tunggal memiliki warna putih kehijauan hingga putih kecoklatan, sedangkan untuk perlakuan kombinasi menghasilkan warna dominan putih kekuningan. Tabel 4 menunjukkan persentase warna kalus pada induksi kalus gambir varietas Cubadak dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi yang berbeda memiliki warna yang beragam.

Tabel 4. Persentase Warna Kalus Eksplan Daun Gambir Varietas Cubadak pada 30 HST

2,4-D	Warna Kalus	Kinetin		
		0 ppm	0,5 ppm	1 ppm
0 ppm	Putih Kehijauan	22,22	38,89	0
	Putih Kekuningan	0	50	33,33
	Putih Kecoklatan	0	0	50
	Coklat	0	0	0
1 ppm	Putih Kehijauan	33,33	27,78	11,11
	Putih Kekuningan	55,55	50	61,11
	Putih Kecoklatan	0	11,11	16,66
	Coklat	0	0	0
2 ppm	Putih Kehijauan	55,55	11,11	11,11
	Putih Kekuningan	33,33	61,11	61,11
	Putih Kecoklatan	0	11,11	27,78
	Coklat	0	0	0
3 ppm	Putih Kehijauan	0	27,78	0
	Putih Kekuningan	33,33	44,44	5,55
	Putih Kecoklatan	50	22,22	50
	Coklat	0	0	16,66

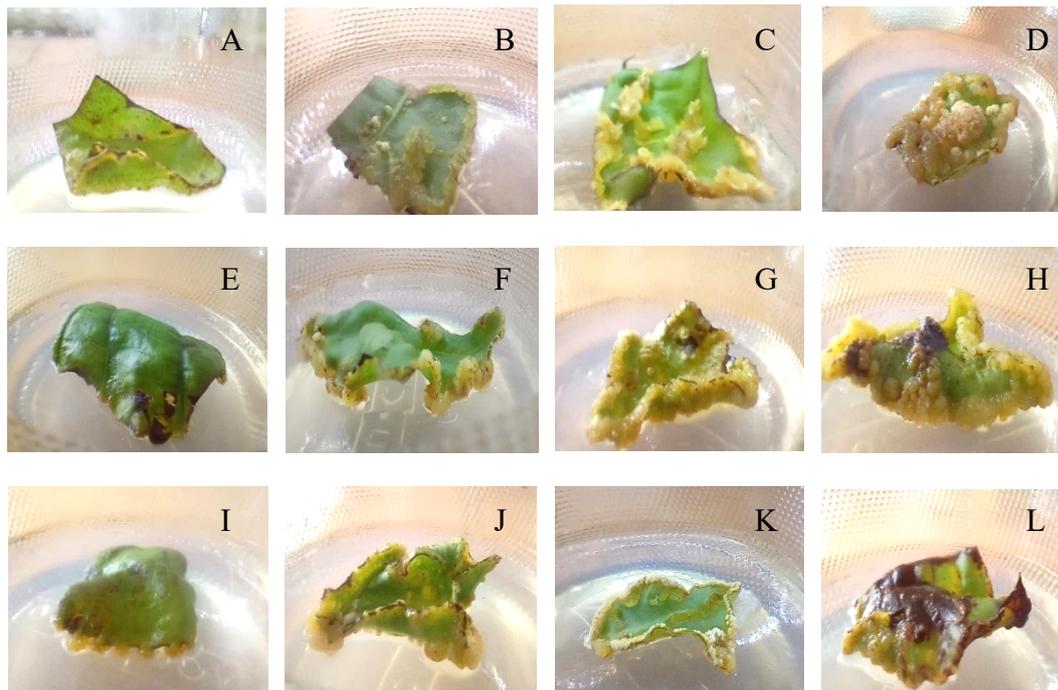
Warna kalus yang berbeda-beda pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa terdapat tingkat perkembangan yang berbeda-beda pada kalus dan penentuan karakter kalus yang baik dapat dilihat dari warna kalus yang dihasilkan. Warna putih kehijauan merupakan kalus yang cukup baik dan mengindikasikan adanya kandungan klorofil pada kalus serta menunjukkan bahwa sel belum terdiferensiasi dan mencirikan kondisi meristematik atau embrionik (Prashariska *et al.*, 2021). Maulana dkk. (2019) menyatakan bahwa kalus yang berwarna putih kekuningan adalah kalus yang baik dan mengindikasikan pada sel kalus terdapat pigmen flavonoid (Ekawati *et al.*, 2022). Kalus yang mempunyai warna putih kekuningan menunjukkan bahwa kalus mempunyai sel dewasa yang masuk dalam fase pembelahan sel aktif (Rahayu dan Suharyanto, 2020).

Berdasarkan Tabel 4 pada penelitian ini, warna kalus pada konsentrasi 3 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin mengindikasikan terbentuknya kalus berwarna coklat pada perlakuan tersebut. Hal ini terjadi akibat respon penggunaan konsentrasi 2,4-D yang tinggi pada eksplan gambir dan sel-sel yang berwarna kecokelatan merupakan massa sel yang menuju fase penuaan dapat menyebabkan perubahan warna kalus dan berujung kematian pada eksplan (Rasid dan Bustaman, 2020). Hal ini sesuai dengan Azizah (2017) yang menjelaskan bahwa oksidasi fenol menyebabkan pencoklatan medium dan kematian pada eksplan, pencoklatan juga dapat disebabkan karena terdapat luka akibat pemotongan pada jaringan sehingga luka tersebut menyebabkan stres.

Mushtofa (2018) menyatakan sitokinin yang diberikan dalam media kultur mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses

metabolisme dan sintesis klorofil, sedangkan menurut Mahadi dkk. (2016), pemberian auksin berupa 2,4-D semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan dalam media mempengaruhi penurunan kandungan klorofil dan karotenoid.

Salah satu faktor penentu kualitas kalus selain tekstur kalus adalah warna kalus yang dihasilkan. Begawan (2024) menyatakan penggunaan ZPT 2,4-D dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada eksplan daun gambir menghasilkan warna kalus seperti putih kehijauan, putih kekuningan, dan putih kecoklatan. Hasil pengamatan kalus daun gambir varietas Cubadak dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin pada konsentrasi berbeda dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Warna Kalus Setiap Perlakuan pada 30 HST: A) Kalus Berwarna Putih Kehijauan (0 ppm 2,4-D + 0 ppm kinetin), B) Kalus Berwarna Putih Kehijauan (1 ppm 2,4-D + 0 ppm Kinetin), C) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (2 ppm 2,4-D + 0 ppm Kinetin), D) Kalus Berwarna Putih Kecoklatan (3 ppm 2,4-D + 0 ppm Kinetin), E) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm Kinetin), F) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm Kinetin), G) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm Kinetin), H) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm Kinetin), I) Kalus Berwarna Putih Kecoklatan (0 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin), J) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (1 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin), K) Kalus Berwarna Putih Kekuningan (2 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin), L) Kalus Berwarna Putih Kecoklatan (3 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin).

KESIMPULAN

Konsentrasi 3 ppm 2,4-D adalah konsentrasi yang optimal untuk induksi kalus karena rata-rata muncul pada 7,66 HST dengan warna 33,33% putih kekuningan dan bertekstur 33,33% kompak. Konsentrasi 0,5 ppm kinetin adalah konsentrasi yang optimal untuk induksi kalus karena rata-rata muncul pada 16,12 HST dengan warna 50% putih kekuningan dan bertekstur 22,22% kompak. Interaksi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin adalah interaksi yang optimal untuk induksi kalus karena rata-rata muncul pada 9,72 HST, dengan warna 61,11% putih kekuningan dan bertekstur 72,22% kompak.

DAFTAR PUSTAKA

- Adihaningrum, H. dan T. Rahayu. (2019). Potensi biosida serbuk pelepah pisang kepok pada kultur *in vitro* benih beras hitam. *In Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek (SNPBS) ke-IV*. 2(5): 133-141.
- Aditya, M. dan P. R. Ariyanti. (2016). Manfaat gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai antioksidan. *Jurnal Majority*, 5 (3): 129-133.
- Adri, R. F. (2017). Pengaruh 2, 4-D terhadap induksi embrio somatik tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Jurnal Menara Ilmu*, 11(75): 135-141.
- Azizah, R. (2017). Pertumbuhan kalus kopi liberika tungkal jambi (*Coffea liberica* var. *Liberica* cv. Tungkal Jambi) dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin secara *in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. Jambi.
- Begawan, S. P. (2024). Induksi kalus tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) asal pakpak bharat dengan penambahan 2,4-D dan kinetin secara *in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru
- Ekawati, Y., A. Anggraeni., A. D. Prawestri. (2022). Induksi kalus sisik umbi (*Lilium longiflorum* Thunb.) oleh auksin dan sitokinin, serta respons pertumbuhannya secara *in vitro*. *Agrosaintek*, 6(2): 28-37.
- Ferita, I., S. Benni, dan Djafarudin. (2000). Perbanyakkan gambir (*Uncaria gambir*) melalui induksi kalus secara *in vitro*. *Stigma*, 7(1): 12–16.
- Firdansha, S. (2022). Respon pertumbuhan hasil kultur jaringan tanaman pacat (*Harpullia arborea* (Blanco) Radlk.) dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA. *Thesis*. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. Jambi.
- Hardianti, D., I. Fedri dan Alfikri. (2020). Sistem pemasaran gambir dengan pendekatan SCP (*structure, conduct, performance*) di Kecamatan Kapur IX, Kabupaten Lima Puluh Kota. *Prosiding Webinar Nasional Series: Sistem Pertanian Terpadu dalam Pemberdayaan Petani di Era New Normal*, 3(6): 447-463.
- Hernani., T. Hidayat, dan S. I. Kailaku. (2020). *Teknologi pengolahan dan pengembangan produk olahan daun gambir*. IAARD Press. Jakarta. 52 hal.
- Indah, P. N. dan 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): 237-352.
- Khalida, A., Suwirman dan Z. A. Noli. (2019). Induksi kalus anggrek lilin (*Aerides odorata* Lour.) Dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 7(2): 109-117.
- Khoiriyah, S., D. Santosa, dan I. Purwantini. (2023). Efek kombinasi 2,4-D dan kinetin pada pembentukan kalus daun *Catharanthus roseus* (L.) G. Don serta deteksi alkaloidnya. *Majalah farmaseutik*, 19(3): 385-393.

- Lestari, E. G. (2021). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1): 63-68.
- Mahadi, I., W. Syafi'i, dan Y. Sari. (2016). Pengaruh pemberian hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*). *Jurnal of Biogenesis*, 12(2): 99-104.
- Mattjik, A. A. dan Sumertajaya. (2013). *Perancangan percobaan dengan aplikasi sas dan minitab*. IPB Press. Bogor. 350 hal.
- Maulana, R., D. P. Restanto, dan S. Slameto. (2019). Pengaruh konsentrasi 2,4 *dichlorophenoxyacetic acid* (2, 4-D) terhadap induksi kalus tanaman sorgum. *Jurnal Bioindustri*, 1(2): 138-148.
- Melati, M. dan H. Parbuntari. (2022). Screening fitokimia awal (analisis qualitative) pada daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) asal siguntur muda. *Periodic*, 11(3): 88-92.
- Mushtofa, A. (2018). Pengaruh kombinasi 2,4-D (*2,4 dichlorophenoxyacetic acid*) dan kinetin terhadap induksi kalus nilam aceh varietas sidikalang (*Pogostemon calbin* Benth.) melalui teknik *in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Nisak, K., T. Nurhidayati, dan K. L. Purwani. (2012). Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau (*Nicotiana tabacum*) var. pracak 95. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 1(1): 1-6.
- Prashariska, K., A. Pitoyo dan Solichatun. (2021). Pengaruh *indole-acetic acid* (IAA) dan benzyl amino purine (BAP) terhadap induksi dan deteksi alkaloid kalus kamilen (*Matricaria chamomilla* L.). *Innofarm*, 23(2): 104-114.
- Putri, H. A., A. S. Handini., S. Madusari, dan J. P. Sitohang. (2023). Penghambatan pencoklatan (browning) pada kultur *in vitro* kelapa sawit menggunakan beberapa antioksidan. *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 23(3): 265-271.
- Rahayu, S. dan Suharyanto. (2020). Induksi kalus 2,4-D dan BAP pada eksplan daun vegetatif dan generatif tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 2(3): 479 – 486.
- Rasid, Y. dan Bustaman. (2020). Induksi kalus secara *in vitro* dari daun cengkeh (*Syigizium aromaticum* L.) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(1): 67-72.
- Restanto, D. P., A. Wiranegara., P. Dewanti., B. Kristanto, dan S. Avivi. (2021). Pengaruh hormon 2, 4-*dichlorophenoxyacetic acid* terhadap induksi kalus tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* (L.). *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 19(1): 12-18.
- Retnaningati, D., H. Hermanto., E. Purwijantiningasih, dan H. R. L. Solle. (2021). Pertumbuhan kalus dan produksi katekin pada kultur *in vitro* kalus teh (*Camelia sinensis* L.) dengan penambahan elisor Ca^{2+} dan Cu^{2+} . *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 192-202.
- Ruslan, P. W. (2020). Induksi kalus tanaman kopi robusta (*Coffea canephora* L.) asal sinjai dengan penambahan hormon 2, 4-D (*dichlorophenoxy acetic acid*) dan kinetin (6-*furfuryl amino purine*) secara *in vitro*. *Disertasi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Setiawati, T., A. L. Astuti., M. Nurzaman, dan N. Ratningsih. (2021). Analisis pertumbuhan dan kandungan total flavonoid kultur kalus krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan pemberian asam 2,4 diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan air kelapa. *Jurnal Pro-Lite*, 8(1):32-44.
- Silvina, F., I. Isnaini, dan W. Ningsih. (2021). Induksi kalus daun binahong merah (*Basella rubra* L.) dengan pemberian 2, 4-D dan kinetin. *Jurnal Agro*, 8(2): 274-286.
- Sudarjad, H. dan N. R. Wijaya. (2019). Pengaruh kinetin dan NAA terhadap induksi kalus pule pandak (*Rauvolfia serpentina* L.) Bent. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(2): 68-74.
- Sugiyarto, L. dan C. P. Kuswandi. (2014). Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzil Amino Purin (BAP) terhadap pertumbuhan kalus daun binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta analisis kandungan flavonoid total. *Jurnal Penelitian Saintek*, 19(1): 23-30.
- Ulva, M., Y. Nurchayati., E. Prihastanti., dan N. Setiari. (2019). Pertumbuhan kalus tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varietas permata fl dari jenis eksplan dan konsentrasi sukrosa yang berbeda secara *in vitro*. *Life Science*, 8(2): 160-169.
- Untoro, M., E. Fachriyah, dan D. Kusrini. (2016). Isolasi dan identifikasi senyawa golongan alkaloid dari rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(2): 58-62.
- Utomo, A. T. G. (2023). Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) secara *in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Padang.
- Viena, V. dan M. Nizar. (2018). Studi kandungan fitokimia ekstrak etanol daun gambir asal aceh tenggara sebagai anti diabetes. *Jurnal Serambi Engineering*, 3(1): 240-247.
- Waryastuti, D. E., L. Setyobudi, dan T. Wardiyati. (2017). Pengaruh tingkat konsentrasi 2, 4-D dan BAP pada media MS terhadap induksi kalus embriogenik temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Disertasi*. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang.
- Widyastuti, N. dan J. Deviyanti. (2018). *Kultur jaringan teori dan praktik perbanyakan tanaman secara in-vitro*. Andi Yogyakarta. Yogyakarta. 328 hal.
- Wulandari, S., Y. S. Nisa., T. Taryono., S. Indarti, dan R. S. Sayekti. (2022). Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2): 16-19.