

Kajian Kombinasi Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh TDZ dan Benzil Adenin Terhadap Perkembangan Kalus Durian Merah

(Study on Growth Regulating Substance Treatment Combination of TDZ and Benzyl Adenine on the Development of Red Durian Callus)

¹Khoirul Bariyyah dan ¹Putri Istianingrum

¹Staf Pengajar Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Perikanan, Universitas 17 Agustus 1945 Banyuwangi

Jl. Laksda Adi Sucipto, Taman Baru, Kec. Banyuwangi, Kabupaten Banyuwangi
Telp. 0333-411428, email: khoirulbariyyah@untag-banyuwangi.ac.id

ABSTRACT

Red durian plants have the potential to be developed because they have high economic value. Red durian plants are propagated conventionally in two ways, namely through seeds and shoot grafts. Propagation using shoot graft creates a new problem for red durian farmers, namely a decrease in fruit production on the parent plant due to large amounts of scion. One alternative to the propagation of red durian seeds without damaging the parent plant can be done by using tissue culture techniques. The explants used in this study was durian callus. The callus was grown on B5 media treated with a plant growth regulator combination in the form of TDZ consisting of six treatments, namely 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 ppm and BA consisting of five treatment, namely 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 ppm. This research was conducted to determine the best dose of combination treatment of tidiazuron (TDZ) with BA in the formation of shoots from red durian callus through tissue culture. The results showed that at the age of 6 months after culture, red durian callus had a color change from yellow to green in the TDZ treatment 1.6 ppm + BA 1.2 ppm.

Keywords : culture, callus, red durian

PENDAHULUAN

Banyuwangi memiliki beragam jenis durian merah yang berpotensi untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi tinggi. Buah durian merah mengandung kadar antosianin yang tinggi, kaya protein fitosterol dan fitohormon sehingga dapat berfungsi sebagai antistres, antihipertensi, dan afrodisiaka (Rusmiati, 2013). Tanaman durian merah diperbanyak secara konvensional dua cara yaitu melalui biji dan sambung pucuk (*minigrafting*). Perbanyakan durian merah

menggunakan biji menyebabkan timbulnya keragaman corak warna daging buah, rasa dan aroma pada buah. Sedangkan perbanyakan menggunakan sambung pucuk menimbulkan permasalahan baru bagi petani durian merah yaitu terjadi penurunan produksi buah pada tanaman induk akibat pengambilan entres dalam jumlah besar.

Salah satu alternatif perbanyakan bibit durian merah tanpa merusak tanaman induk dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Teknik ini hanya

membutuhkan sedikit bahan tanam (eksplan) untuk pembibitan tetapi dapat menyediakan bibit dalam jumlah besar. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan yaitu media dasar, zat pengatur tumbuh, serta lingkungan kultur seperti pencahayaan maupun kelembaban dan suhu ruangan (Lestari, 2012). Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses-proses biologi dalam jaringan tanaman (Gaba, 2015). Peran zat pengatur tumbuh antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur jaringan dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses pertumbuhan tumbuh dan perkembangan jaringan (Lestari, 2012).

Selain zat pengatur tumbuh, faktor eksplan juga menjadi penentu keberhasilan kultur jaringan. Dalam penelitian ini eksplan yang digunakan adalah kalus durian merah yang berasal dari kotiledon durian merah. Kalus merupakan kumpulan masa sel yang belum terorganisasi (*amorphous*) yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus (Fauziyyah, dkk., 2012). Kalus-kalus tersebut selanjutnya akan

diregenerasi untuk ditumbuhkan tunas pada media B5.

Thidiazuron merupakan kelompok sitokinin yang sangat kuat untuk pembentukan pucuk (Sugito, dkk., 2006). Sedangkan zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenin*) paling banyak digunakan untuk memacu penggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang kuat dibanding kinetin (Zaer dan Mapes, 1982). Flick *et al.*, (1993) menyatakan bahwa pada umumnya tanaman memiliki respon yang lebih baik terhadap BA dibandingkan terhadap kinetin dan 2-iP sehingga BA lebih efektif untuk produksi tunas *in vitro*. Kombinasi perlakuan TDZ dan BA diharapkan dapat terjadi pembentukan tunas dari kalus durian merah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dosis terbaik kombinasi perlakuan tidiazuron (TDZ) dengan BA dalam pembentukan tunas dari kalus durian merah melalui kultur jaringan.

Kombinasi perlakuan TDZ dan BA diharapkan dapat terjadi pembentukan tunas dari kalus durian merah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dosis terbaik kombinasi perlakuan tidiazuron (TDZ) dengan BA dalam pembentukan tunas dari kalus durian merah melalui kultur jaringan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan fakultas pertanian dan perikanan universitas 17 agustus 1945 Banyuwangi pada bulan Maret – November 2020.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Laminar Air Flow (LAF)*, autoklaf, pinset, gelas ukur, timbangan digital, *magnetic stirrer*, kompor, petridisk, gelas kultur, *scalpel*, pH meter, pipet tetes. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kalus durian merah, media B5, agarose, sukrosa, air kelapa, thidiazuron (TDZ), Benzil Adenin (BA), aquades, NaOH, HCl, *Plant Persevative Mixture (PPM)*, *aluminium foil*, *plastik wrap*.

Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Media Tanam dan Kombinasi Perlakuan

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media B5 yang mengandung gula 3%, agar 8 g/l dan air kelapa 3%. Selanjutnya di dalam media tersebut ditambahkan kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh TDZ dan BA. Perlakuan ZPT BA (I) terdiri dari lima taraf perlakuan yaitu 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 ppm dan Tidiazuron (T) terdiri dari enam taraf perlakuan yaitu 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 ppm. Sehingga terdapat 25 kombinasi perlakuan dan tiap kombinasi

perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Media tersebut di sterilisasi di dalam autoklaf pada temperatur 121°C tekanan 17,5 psi selama 20-30 menit. Selanjutnya setelah sterilisasi media diinkubasi dalam rak kultur pada suhu 25 °C selama 7 hari.

2. Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan berasal dari kalus durian meah yang berasal dari kotiledon durian merah yang berumur 2 bulan. Percobaan ini menggunakan bahan alkohol 70%, betadine, aquades, dan kalus durian merah. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat standart kultur jaringan.

Parameter Pengamatan

Adapun Parameter yang diamati meliputi (1) persentase tingkat kontaminasi kalus durian merah, (2) jenis kontaminan kalus durian merah, (3) warna kalus durian merah dan (4) Umur Muncul SE.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis Kontaminan pada Media dengan Kombinasi Perlakuan TDZ dan BA

Penelitian ini menggunakan media B5 dengan menggunakan perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan BA dengan konsentrasi perlakuan BA terdiri dari lima taraf yaitu 0; 0,3; 0,6; 0,9 dan 1,2 ppm dan konsentrasi perlakuan TDZ terdiri dari lima taraf yaitu 0; 0,4; 0,8; 1,2 dan 1,6 ppm. Hasil pengamatan

secara visual menunjukkan bahwa kalus durian merah yang ditumbuhkan pada media dengan kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh TDZ dan BA mengalami kontaminasi pada minggu ke delapan

setelah kultur dengan tingkat kontaminasi 100% pada kombinasi perlakuan TDZ 0 ppm + BA 0,3 ppm, TDZ 1,2 ppm + BA 0,3 ppm, TDZ 1,2 ppm + BA 0,9 ppm, dan TDZ 0,8 ppm + BA 1,2 ppm (Tabel 1).

Tabel 1. Tingkat Kontaminasi Eksplan (Kalus Durian Merah) pada Perlakuan kombinasi TDZ dengan BA

| Perlakuan | BA 0 ppm | BA 0,3 ppm | BA 0,6 ppm | BA 0,9 ppm | BA 1,2 ppm |
|--------------------|----------|------------|------------|------------|------------|
| TDZ 0 ppm | 0% | 100% | 66.7% | 33,3% | 67,3% |
| TDZ 0,4 ppm | 0% | 33,3% | 0% | 0% | 33,3% |
| TDZ 0,8 ppm | 0% | 0% | 0% | 0% | 100% |
| TDZ 1,2 ppm | 66.7% | 100% | 0% | 100% | 33,3% |
| TDZ 1.6 ppm | 0% | 0% | 66.7% | 33,3% | 67,3% |

Tabel 2. Menunjukkan bahwa Jenis kontaminan yang muncul pada media kultur jaringan kalus durian merah dengan kombinasi perlakuan TDZ dan BA adalah jamur. Jamur yang tumbuh di dalam media perlakuan memiliki ciri-ciri yaitu koloninya berwarna putih, permukaan koloni licin, miselium tidak berwarna,

tidak memproduksi spora, tidak berhifa, tidak memiliki tangkai spora. Ciri-ciri tersebut menurut Oratmangun, dkk., (2017) termasuk dalam deskripsi jenis ragi *Sacharomyces*. Di dalam media kultur *Sacharomyces* memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂ yang bersifat toksik bagi eksplan.

Tabel 2. Jenis Kontaminan eksplan (kalus durian merah) pada Perlakuan kombinasi TDZ dengan BA

| Perlakuan | BA 0 ppm | BA 0,3 ppm | BA 0,6 ppm | BA 0,9 ppm | BA 1,2 ppm |
|--------------------|----------|------------|------------|------------|------------|
| TDZ 0 ppm, | - | Jamur | Jamur | Jamur | Jamur |
| TDZ 0,4 ppm | - | Jamur | - | - | Jamur |
| TDZ 0,8 ppm | - | - | - | - | Jamur |
| TDZ 1,2 ppm | Jamur | Jamur | - | Jamur | Jamur |
| TDZ 1.6 ppm | - | - | Jamur | Jamur | Jamur |

*Keterangan : - =kontaminasi

Kontaminasi jamur pada kultur jaringan menyebabkan eksplan yang di tanam pada media kultur mengalami kematian. Kematian eksplan

mengakibatkan tidak adanya respon nodul maupun pertumbuhan tunas terhadap media hormon. Hal ini ditengarai disebabkan karena adanya senyawa

sterilan yang bersifat fitotoksik sehingga meracuni jaringan tanaman (Mng'omba, Sileshi, du Toit, & K., 2012). Eksplan yang terkontaminasi pada kultur in vitro umumnya disebabkan oleh mikroba. Tajuddin, dkk (2014), berpendapat bahwa kontaminan ini jika tidak dihilangkan maka akan hidup dan berkembang di dalam kultur sehingga dapat menghambat, bahkan menyebabkan kematian eksplan. Daud, dkk (2012) menyatakan jika mikroba penyebab kematian kultur jaringan adalah sebagian besar berupa jamur dan bakteri. Mikroba dapat hadir di dalam eksplan (endofitik) atau dapat muncul kembali dari penanganan proses sterilisasi yang buruk, yang disebabkan kondisi tidak higienis di dalam laboratorium atau dari peralatan laboratorium yang digunakan, termasuk laboran. Oyebanji et al. (2009) menambahkan, mikroba bersaing dengan kultur atau tanaman untuk mendapatkan nutrisi. Kehadiran mikroba pada kultur in vitro mengakibatkan meningkatnya angka kematian, penurunan pertumbuhan, nekrosis jaringan dan berkurangnya proliferasi tunas.

Pengaruh Kombinasi TDZ dengan BA Terhadap Warna Kalus Durian Merah

Hasil pengamatan secara Visual menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi BA dengan TDZ pada kalus tebu memperlihatkan warna yang berbeda pada masing-masing kombinasi perlakuan (Tabel 3). Kalus merupakan kumpulan sel yang tidak terorganisasi dan aktif membelah diri yang sering terjadi karena pelukaan jaringan. Warna kalus dapat mengindikasikan perubahan perkembangan kalus. Kalus yang terang atau putih dapat mengindikasi bahwa kondisi kalus masih cukup baik. Perbedaan warna kalus bisa disebabkan oleh respon terhadap hormon baik secara eksogen maupun endogen yang diperlakukan pada kalus. Pada umur tiga bulan setelah kultur di media kombinasi TDZ dengan BA kalus yang paling baik ditunjukkan pada media TDZ 0 ppm + BA 0 ppm dengan warna kalus kuning kehijauan. Kalus berwarna kuning kehijauan dengan tekstur kalus yaitu kompak (*non friable*). Kalus yang berwarna hijau merupakan kalus yang di dalam sel-selnya terkandung klorofil (Rosyidah, dkk, 2014) yang kemungkinan besar akan mampu berkembang membentuk tunas. Akan tetapi pada umur 6 bulan, kalus tersebut justru mengalami kematian (Tabel 4).

Tabel 3. Warna Kalus Durian Merah pada Perlakuan kombinasi TDZ dengan BA pada umur 3 bulan

| Perlakuan | BA 0 ppm | BA 0,3 ppm | BA 0,6 ppm | BA 0,9 ppm | BA 1,2 ppm |
|-----------|----------|------------|------------|------------|------------|
|-----------|----------|------------|------------|------------|------------|

| | | | | | |
|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| TDZ 0 ppm | Kuning kehijauan | - | Kuning kecoklatan | putih | kuning |
| TDZ 0,4 ppm | Putih | coklat | Kuning kecoklatan | kuning | Kuning |
| TDZ 0,8 ppm | putih | Kuning kecoklatan | Kuning Kecoklatan | kuning | - |
| TDZ 1,2 ppm | Kuning | - | Putih | - | Kuning |
| TDZ 1.6 ppm | Kuning | putih | Kuning | kuning | Kuning |

*Keterangan : - =kontaminasi

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada umur 6 bulan terjadi perubahan warna kalus durian merah perubahan warna kalus ini mengindikasikan adanya perkembangan kalus (Tabel 4). Pada bulan ke enam setelah kultur, perkembangan kalus terbaik ditunjukkan pada kombinasi

perlakuan TDZ 1,6 ppm + BA 1,2 ppm. pada perlakuan tersebut kalus durian merah mengalami perubahan dari warna kuning menjadi warna hijau dengan tekstur padat dan keras yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik (Gambar 2).

Tabel 4. Warna Kalus Durian Merah pada Perlakuan kombinasi BA dengan TDZ pada umur 6 bulan

| Perlakuan | BA 0 ppm | BA 0,3 ppm | BA 0,6 ppm | BA 0,9 ppm | BA 1,2 ppm |
|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| TDZ 0 ppm | hitam | - | hitam | Putih | - |
| TDZ 0,4 ppm | coklat | - | coklat | - | - |
| TDZ 0,8 ppm | kuning | coklat | hitam | - | - |
| TDZ 1,2 ppm | - | - | - | - | - |
| TDZ 1.6 ppm | kuning | - | - | Kuning | Hijau |

*Keterangan : - =kontaminasi

Menurut Widyawati (2010), warna kalus semakin gelap (menjadi coklat) berarti pertumbuhan kalus semakin menurun. Warna kalus yang hijau disebabkan adanya konsentrasi sitokinin (BA) yang tinggi dalam media. Berdasarkan penelitian yang dilakukan

oleh Husni (2005), penampakan kalus yang dapat beregenerasi membentuk tunas berasal dari kalus embriogenik yang ditandai dengan adanya nodul yang mengkilap berwarna hijau kekuningan dan kemudian membentuk bakal tunas dan tunas (Hartati, 2018).



Gambar 1. Kalus berwarna hijau pada perlakuan TDZ 1,6 ppm + BA 1,2 ppm

SIMPULAN

Media B5 dengan penambahan zat pengatur tumbuh TDZ 1,6 ppm + BA 1,2 ppm memberikan pengaruh baik terhadap kemunculan SE.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Kemeristekdikti, Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan dana guna pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Daud, N.H., S. Jayaraman dan R. Mohamed. 2012. Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Aspac J Mol Biol Biotechnol*, 20(1) : 55 – 58.

Fauziyyah, D., T. Hardiyati, dan Kamsinah. 2012. Upaya Memacu Pembentukan Kalus Eksplan Embrio Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merrill)

Dengan Pemberian Kombinasi 2.4-D dan Sukrosa Secara Kultur In Vitro. *Jurnal Pembangunan Pedesaan* 12 (I) : 30 - 37

Flick, C.E., D.A. Evans, and W.R. Sharp. 1993. Organogenesis. In D.A. Evans, W.R.Sharp, P.V. Amirato, and T. Yamada (eds.) *Handbook of Plant Cell Culture* Collier Macmillan. Publisher London. p. 13-81.

Gaba, V.P. 2005. Plant Growth Regulator. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) *Plant Tissue Culture and Development*. CRC Press. London. p. 87-100.

Hartati, H. Agani, N. S. Hartati, E. Sudarmonowati. 2018. Kecepatan Regenerasi Kalus Somatik Embriogenik Terung Pada Beberapa Media. *Jurnal Ilmu Dasar* 9 (2) :125-134.

Husni A. 2005. Regenerasi Protoplas Tanaman Terung dan Ketahanan Regeneran Terhadap Penyakit Bakteri Layu. *Berita Biologi*. 7: 285-292.

- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7(1):63-68
- Mng'omba, S.A., G. Sileshi dan E.S. du Toit. 2012. Efficacy and Utilization of Fungicides and Other Antibiotics for Aseptic Plant Cultures. In D. Dhanasekaran (Ed.), *Fungicides for Plant and Animal Diseases* (pp. 245–254). InTech Europe. <https://doi.org/10.5772/1130>.
- Oratmangun, K.M., D. Pandiangan dan F.E. Kandou. 2017. Deskripsi Jenis-jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 6(1) : 47 – 52.
- Oyebanji, O.B, O. Nweke, O. Odebunmi, N.B. Galadima, M.S. Idris, U.N. Nnodi, A.S. Afolabi dan G.H. Ogbadu. 2009. Simple, effective and economical explantsurface sterilization protocol for cowpea, rice and sorghum seeds. *Afr J. Biotechnol* 8(20) : 5395-5399.
- Rosyidah, M., Evie, R., dan Yuni, S.R. 2014. Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan 6-Benzylamino Purin (BAP) pada Media MS secara In Vitro. *Jurnal Biologi*. Vol 3(3). Hal : 147-153.
- Rusmiati, E. Mulyono, S. Ashari, M.A. Widodo, dan L. Basir. 2013. Eksplorasi, Inventarisasi dan Karakterisasi Durian Merah Banyuwangi.*online*. <https://jurnal.fmipa.unila.ac.id/semirata/article/view/622/442>. Diakses pada 27 Oktober 2020.
- Sugito, H., Y. Santosa, E. Sandra. 2006. Penggunaan Thidiazuron, 2, 4 – D Dan Giberellin Dalam Pembentukan Embrio Somatik Pule Pandak (*Rauwolfia Serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz) Melalui Kultur In Vitro. *Media Konservasi* Vol. Xi, No. 2 : 66-71.
- Tajuddin, T., Karyanti, T. Sukarnih, N. Haska. 2014. A revised method for sucker sterilization to support the in vitro propagation of sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.). *J. Bioteknologi Biosains Indonesia*, 1(1) : 21 – 26. doi: 10.29122/jbbi.v1i1.548.
- Widyawati, G. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L. Tesis. Biosains. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Zaer and Mapes. 1982. Action of growth regeneration. In Bonga and Durzan (eds.) Tissue Culture in Forestry.

Martinus Nijhoff London. p. 231-235.