

**PENGGUNAAN 2,4 D UNTUK INISIASI KALUS JARINGAN NUCELLUS
Mangifera odorata Griff. MELALUI BUDIDAYA JARINGAN**

*Application of 2,4 D for Callus Initiation of Mangifera odorata Griff.
Nucellar Tissue by Tissue Culture*

Chairani Siregar

Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura Pontianak

ABSTRACT

Application of 2,4 D for callus initiation from nucellar tissue of *Mangifera odorata* through tissue culture has been done at Biotechnology laboratory, Agriculture Faculty, University of Tanjungpura, Pontianak. The aim of this reseach was to describe the 2,4 D concentration in half strength MS medium on the nucellar callus formation of *Mangifera odorata*. This reseach has been conducted from April to July 2005, and Completely Randomized Design was applied, with 6 treatments and 4 replications in which each replication consist of 3 samples. The treatments level: d1= 1 ppm, d2= 1,2 ppm, d3= 1,4 ppm, d4= 1,6 ppm, d5= 1,8 ppm, d6= 2 ppm. The result showed that 1 ppm of 2,4 D gave the fastest callus formation (9,5 days), and the highest callus weight (85,95 mg).

Keywords : *Mangifera odorata*, 2,4 D, Callus, Tissue Culture

PENDAHULUAN

Mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang memiliki arti cukup penting bagi kita. Dari segi rasa kweni memang tidak terlalu enak untuk dikonsumsi, namun keistimewaannya justru terletak pada aromanya yang tajam. Budidayanya dilakukan sebagai tanaman pekarangan yang biasa dijadikan pembatas antar pekarangan tanpa perawatan yang intensif (Pracaya, 1987).

Mangga kweni secara umum diperbanyak dengan biji. Walaupun menghasilkan keturunan yang sama dengan induknya, tetapi tanaman asal biji tetap memerlukan waktu yang lama.

Dalam budidaya jaringan, menginduksi kalus merupakan suatu langkah penting. Setelah kalus terbentuk, diusahakan agar jaringan mengalami diferensiasi membentuk akar dan tunas. Media yang digunakan untuk pembentukan kalus dalam teknik kultur jaringan adalah media Murashige dan Skoog (MS), dengan menambahkan satu unsur yang menjadi penunjang bagi keberhasilan pembentukan kalus tersebut, yaitu menggunakan *Dicholorophenoxyacetic acid* atau disingkat 2,4 D (Gunawan, 1987).

2,4 D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin. Zat pengatur tumbuh ini merangsang pembentukan kalus, mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis sel,

jaringan dan organ. Selain itu 2,4 D mempunyai sifat stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim–enzim yang dikeluarkan oleh sel atau oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Gunawan, 1987). Penggunaan 2,4 D dengan konsentrasi 1-2 ppm dalam media setengah MS akan dapat menginisiasi kalus dari jaringan *nucellus*.

Kemampuan untuk mensintesis dan merombak serta kepekaan terhadap zat–zat tersebut untuk setiap spesies tanaman berbeda-beda. Oleh karena itu tidak ada satu konsentrasi tertentu bagi setiap penggunaan dalam kultur jaringan, sehingga perlu diadakan penelitian mengenai bagaimana memperbanyak mangga kweni dengan menggunakan jaringan *nucellus* dari bagian biji muda yang berumur 20 sampai 60 hari setelah *anthesis*. Pada umur tersebut jaringan *nucellus* masih terdapat pada biji dan belum tertutup oleh lapisan (*integumen*) biji. (Tjitrosomo, 1984 dan Evans, 1986)

Penelitian ini bertujuan mencari konsentrasi 2,4 D terbaik dalam penggunaannya sebagai zat pengatur tumbuh untuk inisiasi kalus jaringan *nucellus* mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.) melalui budidaya jaringan.

METODE PENELITIAN

1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas

Pertanian Universitas Tanjungpura, sejak 12 April hingga 12 Juli 2005.

2. Bahan dan Alat

Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: eksplan biji mangga kweni yang diambil jaringan *nucellus*nya dari buah berumur 20 - 30 hari setelah *anthesis*, zat pengatur tumbuh 2,4 D, media setengah MS, bacto agar, aquades steril, KOH, HCL 0,1 N, alkohol 70%, vitamin C dan *clorox*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: seperangkat alat laboratorium, *disecting set*, botol kultur, *hand sprayer*, *masker*, kulkas, *laminar air flow cabinet*, tutup kepala, plastik, kamera, kertas sampul, karet gelang dan alat tulis.

Variabel pengamatan yang dilakukan terhadap eksplan biji kweni (*Mangifera odorata* Griff.) adalah waktu terbentuknya kalus, persentase eksplan membentuk kalus, dan berat kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Waktu terbentuknya kalus (hari)

Pengamatan terhadap variabel waktu terbentuknya kalus dilakukan setiap hari setelah penanaman eksplan sampai pada waktu terbentuknya kalus. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis Keragaman Penggunaan 2,4 D Terhadap Waktu Terbentuknya Kalus

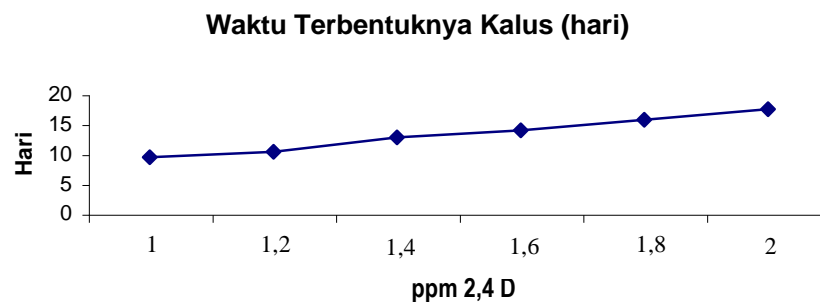
Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	189,65	37,93	63,21**	2,77	4,25
Galat	18	10,75	0,60			
Total	23	200,40				

Keterangan : ** Berpengaruh Sangat Nyata
 Sumber : Hasil Analisis Data (2005)

KK = 6 %

Berdasarkan analisis keragaman, penggunaan 2,4 D terhadap waktu terbentuknya kalus pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan dengan penggunaan zat pengatur tumbuh 2,4 D berpengaruh sangat nyata. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa eksplan dapat membentuk kalus dalam

waktu yang berbeda sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Perlakuan ke-1 (d_1) dapat membentuk kalus rata-rata 9,5 hari, sedangkan perlakuan ke-6 rata-rata membentuk kalus 17,5 hari. Hubungan antara waktu pembentukan kalus dengan konsentrasi 2,4 D dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini:



Gambar 1. Hubungan Antara Pemberian 2,4 D dan Waktu Terbentuknya Kalus (hari)

Selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi 2,4 D yang terbaik dari perlakuan yang dicobakan, digunakan

uji BNJ (Beda Nyata Jujur), seperti yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) penggunaan 2,4 D Terhadap Waktu Terbentuknya kalus (hari)

Perlakuan	Rerata	Beda
d ₁ (1 ppm)	9,50	a
d ₂ (1,2 ppm)	10,40	a
d ₃ (1,4 ppm)	12,80	b
d ₄ (1,6 ppm)	13,97	b
d ₅ (1,8 ppm)	15,75	c
d ₆ (2 ppm)	17,50	d

BNJ 5% = 1,70

Sumber : Analisis Data, 2005

Hasil uji BNJ 5 % pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa perlakuan d₆ (2 ppm) berbeda nyata dengan semua perlakuan: d₁ (1 ppm), d₂ (1,2 ppm), d₃ (1,4 ppm), d₄ (1,6 ppm), dan d₅ (1,8 ppm).

Berdasarkan hasil uji BNJ terlihat bahwa pemberian 2,4 D dengan konsentrasi 1 ppm memberikan rerata waktu terbentuknya kalus tercepat yaitu 9,5 hari.

Menurut Wattimena (1989) bahwa auksin secara fisiologis, berpengaruh terhadap pengembangan sel, phototropisme, geotropisme, dominansi apikal, inisiasi akar, partenokarpi, absisi, pembentukan kalus dan respirasi. Hormon auksin di dalam tubuh tanaman disintesis di meristem apikal pada ujung batang / tunas-tunas muda yang ditransport ke seluruh tubuh tanaman yang memerlukan melalui jaringan parenkim yang bersinggungan dengan berkas pembuluh.

Menurut Thompson dan Stahly (1959, dalam Abidin, 1982), pertumbuhan yang lambat disebabkan oleh konsentrasi auksin yang tinggi melebihi konsentrasi optimum sehingga

dapat menghambat pembesaran sel (*cell enlargement*). Penambahan auksin pada konsentrasi rendah, memberikan pengaruh dan rangsangan kuat pada sel-sel meristem apikal batang dan koleoptil (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Pengaruh auksin (2,4 D) terhadap sel menunjukkan bahwa auksin (2,4 D) yang berikatan dengan Ca dapat meningkatkan sintesa protein dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat berdifusi ke dalam sel, akibatnya terjadi kenaikan volume sel. Dengan adanya sintesa protein, maka dapat digunakan untuk membentuk dinding sel yang baru dalam proses pertumbuhan sel. Akibat terjadinya perbedaan tekanan osmotik pada jaringan dan media menyebabkan semua unsur yang diberikan pada media akan berdifusi ke dalam jaringan eksplan.

Berdasarkan analisis keragaman pada Tabel 1, perlakuan 2,4 D yang diberikan pada jaringan *nucellus* biji mangga kweni berpengaruh sangat nyata terhadap waktu terbentuknya kalus. Hal ini dikarenakan adanya penambahan 2,4 D sebagai auksin pada

konsentrasi tertentu dapat merangsang pembentukan kalus dan mempengaruhi morfogenesis sel, jaringan dan organ.

2. Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)

Pengamatan terhadap persentase pertumbuhan kalus biji kweni dilakukan pada akhir penelitian. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap perlakuan membentuk kalus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh perlakuan 2,4 D: d₁ (1 ppm 2,4 D), d₂ (1,2 ppm 2,4 D), d₃ (1,4 ppm 2,4 D), d₄ (1,6 ppm 2,4 D), d₅ (1,8 ppm 2,4 D), dan d₆ (2 ppm 2,4 D) yang diberikan pada jaringan *nucellus* biji mangga kweni, dapat membentuk kalus sesuai dengan perlakuan yang diberikan.

Pembentukan kalus dimulai dari akibat luka potongan pada eksplan dan penambahan zat pengatur tumbuh. Proses pembentukan kalus dimulai dengan terdeferensiasinya sel akibat dari pembelahan sel, pemanjangan sel, dan penambahan volume karena terjadinya tekanan turgor sel sehingga sel menjadi besar. Proses ini disebut dengan tumbuh dan ini dapat dilihat dengan terjadinya pembengkakan pada jaringan eksplan yang dikulturkan. Setelah terjadi proses diferensiasi sel kemudian jaringan akan mengalami dediferensiasi sel yaitu jaringan yang sudah terdeferensiasi

menjadi tidak terdeferensiasi dan pada akhirnya akan terbentuk kalus. Pembentukan kalus ditandai dengan adanya tonjolan kecil pada eksplan yang dikulturkan, kemudian kalus akan mengalami proliferasi dan bertambah banyak (Soeryowinoto, 1996).

Inisiasi kalus dimulai dengan pertumbuhan sel parenkim yang terletak pada epidermis atau tepat di bawah permukaan eksplan. Beberapa eksplan akan membentuk kantong-kantong kecil yang berisi sel meristematik yang disebut sel meristematoid yang perkembangannya berasal dari satu jenis sel saja. Sel meristematoid yang dimaksud adalah sel yang mempunyai respon terhadap faktor zat pengatur tumbuh baik auksin maupun sitokinin yang diberikan (Katuuk, 1989).

3. Berat Kalus (mg)

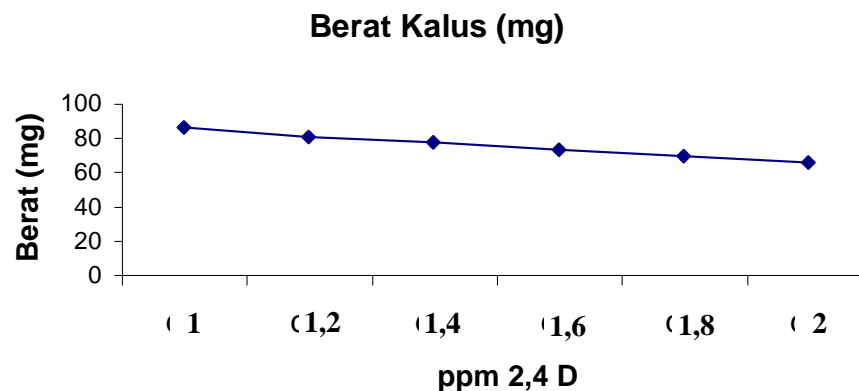
Pengamatan terhadap berat kalus eksplan dilakukan pada akhir penelitian. Analisis keragaman dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 2,4 D berpengaruh sangat nyata. Berat kalus tertinggi terdapat pada perlakuan d₁ yaitu rata-rata 85,95 mg dan berat terendah adalah perlakuan d₆ yaitu rata-rata 65,27 mg. Hubungan antara berat kalus dengan konsentrasi 2,4 D dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Analisis Keragaman Penggunaan 2,4 D Terhadap Berat Kalus

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	1150,38	230,07	48,84**	2,77	4,25
Galat	18	84,77	4,71			
Total	23	1235,15				

Keterangan : ** Berpengaruh Sangat Nyata
 Sumber : Hasil Analisis Data (2005)

KK = 3%

**Gambar 2. Hubungan Antara Pemberian 2,4 D dan Berat Kalus (mg).**

Selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi 2,4 D yang terbaik diantara perlakuan yang dicobakan, digunakan

uji BNJ (Beda Nyata Jujur), seperti yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Beda Nyata Jujur Penggunaan 2,4 D Terhadap Berat Kalus (mg)

Perlakuan	Rerata	Beda
d ₆ (2 ppm)	65,27	a
d ₅ (1,8 ppm)	69,07	a
d ₄ (1,6 ppm)	72,42	b
d ₃ (1,4 ppm)	76,85	bc
d ₂ (1,2 ppm)	80,27	c
d ₁ (1 ppm)	85,95	d

BNJ 5% = 4,84

Sumber : Analisis Data, 2005

Hasil uji BNJ 5 % pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa perlakuan d_1 (1 ppm) berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya: d_2 (1,2 ppm 2,4 D), d_3 (1,4 ppm 2,4 D), d_4 (1,6 ppm 2,4 D), d_5 (1,8 ppm 2,4 D), dan d_6 (2 ppm 2,4 D). Uji BNJ menunjukkan bahwa pemberian 2,4 D dengan konsentrasi 1 ppm memberikan rerata berat kalus tertinggi, yaitu 85,95 mg.

Penurunan berat kalus terjadi seiring adanya peningkatan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan pada eksplan kweni. Hal ini diduga konsentrasi auksin di dalam jaringan telah melebihi konsentrasi optimum. Disamping itu menurut George dan Sherrington (1984) dan Hartmann dan Kester (1975), dalam pembentukan kalus, banyaknya protein, lemak, karbohidrat yang terdapat dalam jaringan sangat mempengaruhi jumlah kalus yang terbentuk karena komponen-komponen ini merupakan sumber energi atau tenaga dalam pembentukan kalus, jadi semakin banyak jumlah kalus yang terbentuk akan mempengaruhi berat kalus yang terbentuk pula.

Pemberian 2,4 D dengan konsentrasi yang tertinggi yaitu 2 ppm menghasilkan kalus yang sangat rendah dan mempengaruhi berat kalus yang terbentuk yaitu rata-rata 65,27mg. Konsentrasi 2,4 D dapat mempengaruhi eksplan karena telah melebihi konsentrasi optimum untuk

pertumbuhan eksplan disamping itu di dalam vakuola banyak terdapat senyawa *flavons* dan *quinons* yang pada proses oksidasi akan berikatan dengan oksigen menghasilkan *brown polimers* yang menyebabkan eksplan menjadi coklat. Selanjutnya eksplan akan kering dan mati. Hal ini diduga karena pemberian 2,4 D yang berlebihan fungsinya berubah sebagai herbisida (Hendaryono, 1994).

4. Rangkuman Hasil Penelitian

Rekapitulasi hasil pengamatan pengaruh penggunaan 2,4 D untuk inisiasi kalus biji mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.) melalui budidaya jaringan dapat dilihat pada Tabel 5.

Pemberian 2,4 D konsentrasi 1 ppm dalam media kultur pada perlakuan d_1 diperoleh waktu tercepat terbentuknya kalus yaitu rata-rata 9,5 hari. Sedangkan waktu terlama adalah pada perlakuan d_6 (2 ppm) yaitu rata-rata 17,5 hari.

Variabel pengamatan terhadap persentase eksplan membentuk kalus menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberikan pada eksplan kweni dapat membentuk kalus dalam waktu yang berbeda-beda. Demikian pula halnya, pemberian 2,4 D sesuai perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap berat kalus eksplan mangga kweni.

Tabel 5. Rekapitulasi Hasil Penelitian

Perlakuan	Variabel Pengamatan		
	Waktu Terbentuknya Kalus (hari)	Persentase Eksplan Membentuk kalus (%)	Berat Kalus (mg)
d ₁ (1 ppm)	9,50	75,00	85,95
d ₂ (1,2 ppm)	10,40	91,66	80,27
d ₃ (1,4 ppm)	12,80	91,66	76,85
d ₄ (1,6 ppm)	13,97	100	72,42
d ₅ (1,8 ppm)	15,75	91,66	69,07
d ₆ (2 ppm)	17,50	83,33	65,27

Sumber: Data Hasil Penelitian (2005)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh 2,4 D berpengaruh sangat nyata terhadap waktu terbentuknya kalus, persentase terbentuknya kalus dan berat kalus.

rendah dari 1 ppm untuk menginisiasi kalus.

DAFTAR PUSTAKA

SIMPULAN DAN SARAN

1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian penggunaan 2,4 D untuk inisiasi kalus biji mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.) maka diambil kesimpulan bahwa pemberian 2,4 D pada media ½ MS dengan konsentrasi 1 ppm memberikan pengaruh terbaik untuk inisiasi kalus jaringan *nucellus* biji mangga kweni karena dapat membentuk kalus tercepat dengan rata-rata 9,5 hari dan memberikan jumlah kalus terbanyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

2. Saran.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan media ½ MS dengan konsentrasi 2,4 D yang lebih

Abidin, Z. 1990. **Dasar-dasar tentang Zat Pengatur Tumbuh Tanaman**. Angkasa. Bandung.

Evans, D.A, Sharp, W,R and Ammirato, P.V. 1986. **Handbook of Plant Cell Culture, Techniques and Application**. Macmillan Publishing Company. New York.

Gasperzs, V. 1991. **Metode Perancangan Percobaan**. Bandung.

George, F.E dan D.P Sherrington. 1984. **Plant Propagation by Tissue Culture**. Exegetic Limited. England.

Gunawan, L.W. 1987. **Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan**.

Laboratorium Kultur Jaringan
Tanaman Pusat Antar
Universitas Bioteknologi IPB.
Bogor.

Hardanto. 1994. **Pengembangan teknik
Kultur Jaringan Pada *Pinus
merkusii***

Hartmann, H.T and D.E Kester. 1975.
***Plant Propagation, Principle
and Practices.*** Prentice-Hall,
Inc, Englewood Cliffs, New
Jersey.

Katuuk, J.R.P. 1989. **Teknik Kultur
Jaringan Dalam
Mikropropagasi
Tanaman.** Depdikbud Dirjen
Dikti. Jakarta.

Pracaya. 1987. **Bertanam Mangga.**
Penebar Swadaya. Jakarta.

Suryowinoto, M. 1996. **Pemuliaan
Tanaman secara *in-Vitro*.**
Kanisius. Yogyakarta.

Tjitrosomo, S.S. 1984. **Botani Umum.**
Angkasa. Bandung.

Wattimena, G.A. 1989. **Zat Pengatur
Tumbuh Tanaman.** PAU. IPB.
Bogor.