

Induksi Kalus Eksplan Daun Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Menggunakan Kombinasi Air Kelapa dan IAA (Indole Acetic Acid)

Callus Induction of Porang (Amorphophallus muelleri Blume) Leaf Explant Using Combination of Coconut Water and IAA (Indole Acetic Acid)

Iren Enjelika Girsang, Ratih Restiani* dan Aniek Prasetyaningsih

Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia

Abstrak

Permintaan ekspor umbi Porang yang relatif tinggi tidak diimbangi dengan ketersediaan bibit tanaman. Kultur *in vitro* menjadi salah satu upaya perbanyakan yang efektif untuk menghasilkan bibit dengan sifat seragam secara cepat dalam jumlah yang tidak terbatas. Penambahan IAA dan air kelapa merupakan faktor penting untuk menginduksi kalus Porang. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi IAA dan air kelapa serta kombinasinya terhadap respons pembentukan kalus berdasarkan waktu munculnya kalus, persentase pertumbuhan kalus dan morfologi kalus meliputi tekstur dan warna. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial yaitu konsentrasi IAA (0; 0,5; 1,5 ; dan 2) ppm dan air kelapa (0; 5; 10; dan 15)%(v/v). Eksplan yang digunakan adalah bagian daun yang dikultur dalam medium MS selama 6 minggu. Hasil pengamatan menunjukkan semua perlakuan IAA dan air kelapa menghasilkan respons pertumbuhan kalus sebesar 100%. Perlakuan 5 ppm IAA dan 10% air kelapa berpengaruh terhadap kecepatan munculnya kalus yaitu 15 ± 2.83 HST. Dalam hal warna dan tekstur kalus, penambahan air kelapa pada konsentrasi (0, 5 dan 10) % dengan konsentrasi IAA lebih rendah (0 dan 0,5) ppm menghasilkan warna kalus putih kekuningan dengan tekstur kompak. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat mendukung upaya perbanyakan tanaman Porang secara *in vitro* melalui kultur kalus.

Kata Kunci: air kelapa, *Amorphophallus muelleri*, IAA, kalus, tunas adventif

Abstract

The relatively high export demand for Porang bulbs is not supported by the availability of plant seedlings. *In vitro* culture is one of the effective propagation efforts to produce seedlings with uniform traits faster than conventional culture in large quantities. The addition of IAA and coconut water is an important factor to induce Porang callus. Therefore, this study aims to determine the effect of IAA concentration and coconut water and their combination on callus formation based on callus emergence time, callus growth percentage and callus morphology including texture and color. This study used a factorial complete randomized design, which consists of IAA concentration (0; 0.5; 1.5; and 2) ppm and coconut water (0; 5; 10; and 15) % (v/v). Explants used were leaf parts cultured in MS medium for 6 weeks. The results showed that all treatments of IAA and coconut water produced a callus growth response of 100%. The treatment of 5 ppm IAA and 10% coconut water affects the speed of callus emergence which is 15 ± 2.83 HST. In terms of callus color and texture, the addition of coconut water at a concentration of (0, 5 and 10)% with a lower concentration of IAA (0 and 0.5) ppm produces yellowish white callus color with a compact texture. The information gathered from this study is expected to support attempts to *in vitro* propagation of Porang plants through callus culture.

Keywords: coconut water, *Amorphophallus muelleri*, IAA, callus, adventitious shoots

*** Corresponding author:**

Ratih Restiani

Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Jl. Wahidin Sudirohusodo 5-25 Yogyakarta 55224

E-mail: ratih.restiani@staff.ukdw.ac.id

Pendahuluan

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) atau Iles-iles merupakan tanaman umbi-umbian asli Indonesia dari famili Araceae yang umumnya tumbuh pada iklim tropis dengan intensitas penyinaran rendah seperti di perkebunan, agroforestri, ladang campuran dan hutan (Farlisa *et al.*, 2022; Aziz *et al.*, 2014). Tanaman Porang asal Indonesia saat ini menjadi salah satu komoditas ekspor dengan permintaan yang cukup tinggi ke berbagai negara seperti Jepang, Vietnam, Myanmar, Taiwan, dan Thailand karena kandungan glukomannannya yang tinggi sebesar 65% dibandingkan porang varietas lain (Ferziana *et al.*, 2021; Wahyuni *et al.*, 2020). Hal ini menjadikannya potensial dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan karena kandungan serat yang tinggi dan rendah kolesterol (Hardjo *et al.*, 2023; Wahyuni *et al.*, 2020). Namun demikian, permintaan ekspor porang yang tinggi tidak dapat terpenuhi karena ketersediaan bibit yang terbatas (Santosa, 2015). Salah satu penyebabnya adalah kendala perbanyakan tanaman Porang melalui umbi yang mengalami dormansi sehingga menyebabkan masa pertumbuhannya menjadi relatif lama dan serbuk sari yang steril menyebabkan biji relatif sulit dihasilkan (Ferziana *et al.*, 2021; Aziz *et al.*, 2014). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk memenuhi ketersediaan bibit Porang adalah melalui kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* merupakan teknik yang efektif untuk perbanyakan bibit tanaman dengan sifat seragam secara cepat dalam jumlah yang banyak dan bebas pathogen (Hardjo *et al.*, 2023). Beberapa penelitian terkait upaya perbanyakan tanaman Porang secara *in vitro* telah dilakukan melalui kultur kalus, organogenesis dan embriogenesis somatik menggunakan bagian umbi (Aziz *et al.*, 2014), tunas *in vitro* (Widoretno *et al.*, 2023), katak/bulbil (Hardjo *et al.*, 2023; Ferziana *et al.*, 2021), dan tangkai daun/petiole (Imelda *et al.*, 2008). Meskipun demikian, belum ada informasi mengenai perbanyakan tanaman Porang secara *in vitro* melalui kultur kalus menggunakan eksplan daun. Perbanyakan *in vitro* menggunakan eksplan daun yang

masih muda memiliki kelebihan yaitu mengandung sel-sel kompeten penyusun jaringan parenkim yang aktif membelah sehingga eksplan lebih responsif dalam membentuk kalus (Restiani *et al.*, 2022). Selain itu, penggunaan eksplan dari daun dan tangkai daun tanaman Porang tidak perlu merusak umbi dan tanaman induknya serta relatif lebih mudah diperoleh dibandingkan bagian bulbil/katak dan bijinya (Hardjo *et al.*, 2023; Ferziana *et al.*, 2021; Imelda *et al.*, 2008).

Keberhasilan perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro*, salah satunya dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dan senyawa organik kompleks ke dalam media (Habibah *et al.*, 2019). ZPT berperan penting dalam mengatur arah regenerasi eksplan membentuk kalus, tunas atau akar. Regenerasi eksplan dipengaruhi oleh jenis dan rasio konsentrasi ZPT meliputi auksin dan sitokinin (Ferziana *et al.*, 2021; Habibah *et al.*, 2019). Salah satu jenis auksin yang umum digunakan dalam menginduksi kalus adalah IAA (*Indole Acetic Acid*). IAA merupakan salah satu jenis auksin alami yang dihasilkan oleh tanaman dan berperan dalam memacu pemanjangan sel. Penggunaan IAA pada konsentrasi yang relatif rendah terhadap sitokinin dapat meningkatkan persentase induksi kalus dan mempercepat pembentukan kalus (Yuniastuti *et al.*, 2018).

Selain ZPT, penambahan senyawa organik kompleks seperti air kelapa juga dapat bermanfaat sebagai sumber sitokinin alami seperti zeatin dan beberapa asam amino yang dibutuhkan dalam pembelahan sel dan morfogenesis (Wahyono *et al.*, 2020). Michael (2011) membuktikan bahwa penambahan air kelapa pada konsentrasi tinggi yaitu 7,5 dan 10 % (v/v) dalam medium MS menginduksi pembentukan kalus embriogenik dari eksplan ujung tunas tanaman kentang manis sebesar 40 dan 100%. Berbagai penelitian kultur *in vitro* tanaman Porang yang telah dilakukan umumnya menggunakan kombinasi auksin jenis 2,4-D (2,4- Diklorofenoksi Asetat) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) serta sitokinin jenis BA (*Benzyl Adenine*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) (Hardjo *et al.*, 2023; Farlisa *et al.*,

2022; Ferziana *et al.*, 2021; Aziz *et al.*, 2014; Imelda *et al.*, 2008). Namun, sampai saat ini informasi mengenai induksi kalus eksplan daun Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) menggunakan kombinasi IAA dan air kelapa belum tersedia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi IAA dan air kelapa serta kombinasinya terhadap respon pembentukan kalus berdasarkan waktu munculnya kalus, persentase pertumbuhan kalus dan morfologi kalus meliputi tekstur dan warna. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai konsentrasi IAA dan air kelapa yang optimal terhadap induksi kalus eksplan daun guna mendukung upaya penyediaan bibit tanaman Porang secara *in vitro*.

Materi dan Metode

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, autoklaf, oven, *Laminar Air Flow* (LAF), botol kultur, petridish, pinset, scalpel, mata pisau, dan pinset. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman Porang berumur 4 bulan (Gambar 1), medium Murashige and Skoog (MS), IAA, air kelapa, detergen, fungisida, bakterisida, alkohol dan asam askorbat. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dua faktor yaitu konsentrasi IAA (0; 0,5; 1,5 ; dan 2) ppm dan air kelapa (0; 5; 10; dan 15) % (v/v) dengan variasi perlakuan sebagai berikut:

Tabel 1. Variasi konsentrasi IAA dan air kelapa dalam medium MS

Konsentrasi Air Kelapa (Ak)	Konsentrasi IAA (I)			
	I ₀	I ₁	I ₂	I ₃
Ak ₀	Ak ₀ I ₀	Ak ₀ I ₁	Ak ₀ I ₂	Ak ₀ I ₃
Ak ₁	Ak ₁ I ₀	Ak ₁ I ₁	Ak ₁ I ₂	Ak ₁ I ₃
Ak ₂	Ak ₂ I ₀	Ak ₂ I ₁	Ak ₂ I ₂	Ak ₂ I ₃
Ak ₃	Ak ₃ I ₀	Ak ₃ I ₁	Ak ₃ I ₂	Ak ₃ I ₃

Persiapan Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman porang yang berasal dari Desa Giriharjo, Kecamatan Panggang, Kabupaten Gunung Kidul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Tanaman Porang yang digunakan sebagai sumber eksplan berumur

4 bulan dengan kondisi sehat dan daun berwarna hijau (Gambar 1). Tanaman Porang diidentifikasi terlebih dahulu di laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah *Amorphophallus muelleri* Blume.



Gambar 1. Morfologi daun Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) berumur 4 bulan (sumber: dokumentasi pribadi)

Pembuatan Media MS

Pembuatan media mengacu pada (Murashige & Skoog, 1962) dengan penambahan 30 g sukrosa sebagai sumber karbohidrat, 100 mg myo-inositol sebagai sumber vitamin, 100 mg/L asam askorbat, air kelapa yang diperoleh dari buah kelapa yang masih muda dengan daging buah lunak dan IAA (*Indole Acetic Acid*) pada konsentrasi yang bervariasi (Tabel 1). pH media diatur menjadi 5,7-5,8 menggunakan 0,1N NaOH atau HCl kemudian larutan media yang telah diberi agar dihomogenisasikan menggunakan *hot plate* dan *magic stirrer* sampai terlarut, lalu larutan media dituang ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml dilanjutkan sterilisasi basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

Alat yang digunakan sebelumnya disterilisasi dengan metode kering menggunakan oven pada suhu 150°C selama 1 jam. Sterilisasi ruang tanam *Laminar Air Flow* (LAF) dilakukan dengan cara

disemprotkan menggunakan alkohol 70% (v/v) kemudian dibersihkan menggunakan tisu. Semua alat untuk proses penanaman (inokulasi) seperti pisau scalpel, dan bunsen yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam LAF dengan disemprotkan alkohol 70%, kemudian disterilisasi selama 1 jam menggunakan sinar UV.

Sterilisasi dan Inokulasi Eksplan

Eksplan daun yang telah diisolasi dari tanaman porang dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Eksplan selanjutnya direndam ke dalam larutan Tween 80, detergen cair, dan air (3 tetes Tween 80 : 3 mL detergen : 27 mL air) selama 25 menit, lalu dibilas sebanyak tiga kali menggunakan akuades steril dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Eksplan selanjutnya dibawa ke dalam LAF untuk dilakukan sterilisasi menggunakan fungisida (3 g/100 mL) selama 30 menit, lalu dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Eksplan selanjutnya direndam dalam larutan bakterisida (3 g/100 mL) selama 30 menit, lalu dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Tahap berikutnya eksplan direndam dalam HgCl₂ 0,05% (b/v) selama 20 menit, lalu dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Eksplan yang telah steril dipotong berukuran 1 x 1 cm di atas kertas saring steril dalam petridish, dan diinokulasikan ke dalam botol kultur masing-masing sebanyak 1 eksplan dengan posisi bagian abaksial daun menghadap ke medium. Kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu 25 °C selama 24 jam terang dan penyinaran menggunakan lampu TL putih.

Pengamatan

Pengamatan terhadap eksplan daun Porang dilakukan terhadap waktu muncul kalus, persentase kalus dan morfologi kalus meliputi warna dan tekstur setiap dua hari sekali selama 6 MST (Minggu Setelah Tanam). Penentuan persentase kalus dihitung berdasarkan rumus di bawah ini:

$$\text{Persentase Kalus (\%)} = \frac{\text{jumlah eksplan berkalus}}{\text{total eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

(Budisantoso *et al.*, 2017)

Analisis Data

Data kuantitatif diolah menggunakan *Microsoft Excel* dan disajikan dalam bentuk tabel. Data kualitatif berupa fase pembentukan kalus dan morfologi kalus disajikan dalam bentuk gambar. Data kualitatif dan kuantitatif selanjutnya dianalisis secara deskriptif

Hasil

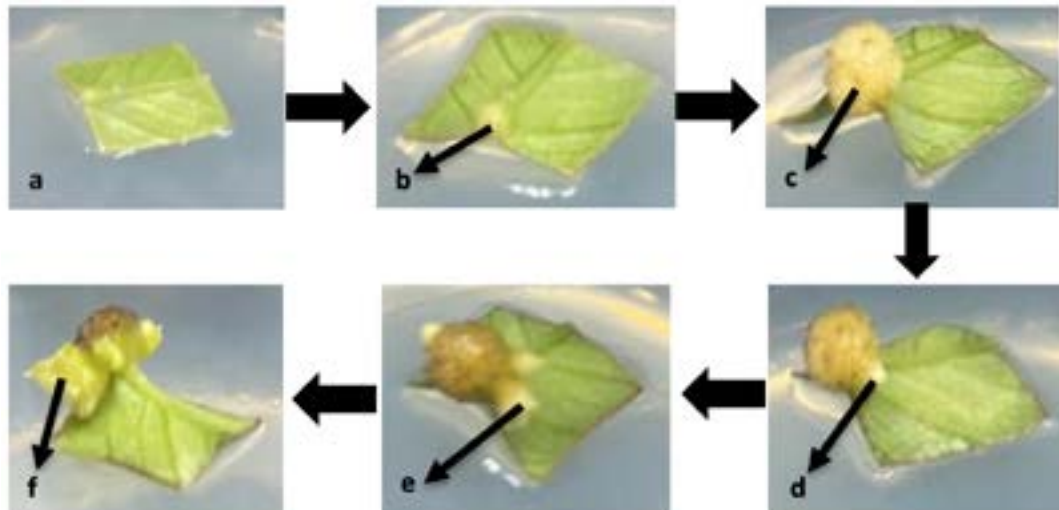
Tahap Pertumbuhan Kalus dan Tunas Eksplan Daun Porang

Gambar 2 menunjukkan tahap pertumbuhan kalus dan tunas pada eksplan daun *Amorphphallus muelleri* Blume selama enam minggu pengamatan. Tahap pertumbuhan meliputi pelengkungan eksplan daun, pembengkakan eksplan yang terjadi pada bagian ujung ibu tulang daun, pembentukan tonjolan berwarna putih hingga coklat dan terbentuk calon tunas melalui kalus (tunas adventif).

Tahap induksi kalus pada eksplan daun Porang diawali dengan adanya pelengkungan dan pembengkakan daun diikuti terbentuk tonjolan berwarna putih yang selanjutnya disebut kalus. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Munasiyah (2021) yang menyatakan bahwa pertumbuhan kalus porang diawali dengan pembengkakan pada ujung eksplan yang mengalami pelukaan atau kontak langsung dengan media serta kalus yang muncul pada bagian yang mengalami pelukaan merupakan respon alami dari jaringan sel untuk menutupi luka. Selain itu, Imelda *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa selama satu minggu pertama setelah inokulasi terjadi pembengkakan pada salah satu atau bahkan pada kedua ujung potongan tangkai daun *Amorphphallus muelleri* Blume. Fase perkembangan selanjutnya, terbentuk tonjolan-tonjolan kecil pada bagian ujung tangkai daun yang membengkak yang kemudian tumbuh menjadi bakal tunas melalui proses organogenesis.

Pengaruh Konsentrasi IAA dan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Porang

Respon pertumbuhan kalus diukur berdasarkan waktu munculnya kalus dan



Gambar 2. Tahap pertumbuhan kalus dan tunas adventif eksplan daun *Amorphophallus muelleri* Blume pada media MS dengan penambahan 10% air kelapa dan 1,5 ppm IAA selama 6 minggu (a) pelengkungan daun (b) pembengkakan bagian ujung ibu tulang daun (c). pembentukan kalus di bagian ujung ibu tulang daun pada minggu ketiga, (d-f) tunas adventif muncul dari kalus pada minggu keempat hingga keenam

persentase kalus yang disajikan pada Tabel 2. Eksplan daun Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) yang ditumbuhkan pada media MS (*Murashige and Skoog*) dengan kombinasi IAA (*Indole Acetic Acid*) dan air kelapa selama 6 minggu menunjukkan respons pertumbuhan kalus sebesar 100% pada semua perlakuan. Namun, setiap perlakuan menunjukkan waktu muncul kalus yang berbeda.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi IAA dan air kelapa terhadap pertumbuhan kalus eksplan daun *Amorphophallus muelleri* Blume selama 6 MST

Perlakuan	Waktu Muncul Kalus (HST)	Persentase Kalus (%)
Ak ₀ I ₀	-	-
Ak ₀ I ₁	33±4.24	100
Ak ₀ I ₂	20±5.66	100
Ak ₀ I ₃	21±1.41	100
Ak ₁ I ₀	25±2.83	100
Ak ₁ I ₁	42±1.41	100
Ak ₁ I ₂	18±1.41	100
Ak ₁ I ₃	24±2.83	100
Ak ₂ I ₀	26±4.24	100
Ak ₂ I ₁	24±1.41	100
Ak ₂ I ₂	15±2.83	100
Ak ₂ I ₃	18±5.66	100
Ak ₃ I ₀	42±1.41	100
Ak ₃ I ₁	37±1.41	100
Ak ₃ I ₂	17±1.41	100
Ak ₃ I ₃	25±4.24	100

Keterangan : (-) kalus tidak tumbuh, HST (Hari Setelah Tanam)

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa eksplan yang diinokulasi dalam medium MS dengan penambahan 10% air kelapa dan 1,5 ppm IAA (Ak₂I₂) menunjukkan waktu pertumbuhan kalus tercepat (15±2.83 HST) dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya. Sebaliknya, eksplan yang diinokulasi dalam medium MS dengan penambahan 0,5 ppm IAA dan 5% air kelapa (Ak₁I₁) dan medium MS dengan penambahan air kelapa saja sebesar 15% tanpa IAA menunjukkan waktu pertumbuhan kalus terlama (42±1.41 HST) dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa pembentukan kalus pada eksplan daun Porang membutuhkan kombinasi antara IAA dengan konsentrasi yang tidak terlalu tinggi (1,5 ppm) dan air kelapa dengan konsentrasi 10%. Peningkatan konsentrasi air kelapa sebesar 15% tanpa dikombinasikan dengan IAA sebagai sumber auksin memberikan penurunan respons pembentukan kalus ditunjukkan melalui waktu munculnya kalus yang semakin lama. Hasil ini sejalan dengan penelitian Michael (2011) yang melaporkan bahwa penambahan air kelapa pada konsentrasi 7,5 dan 10 % (v/v) dalam medium MS dapat meningkatkan respons pertumbuhan kalus embriogenik dari eksplan ujung tunas tanaman kentang manis. Namun, hasil penelitian ini

berbanding terbalik dengan penelitian Yuniastuti *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa penggunaan IAA pada konsentrasi yang relatif rendah terhadap sitokinin dapat meningkatkan persentase induksi kalus dan mempercepat pembentukan kalus dari eksplan batang *Sterculia foetida*. Penambahan IAA pada konsentrasi yang relatif tinggi (1,5 ppm) dibandingkan air kelapa menunjukkan respons pertumbuhan kalus pada eksplan daun Porang menjadi lebih cepat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rao & Purohit (2006) bahwa auksin pada konsentrasi relatif tinggi dibandingkan sitokinin menstimulus pembentukan kalus lebih cepat dan penghambatan terhadap morfogenesis. Perbedaan hasil penelitian ini sangat mungkin disebabkan karena jenis tanaman, tipe eksplan dan respon jaringan dari setiap eksplan terhadap ZPT dan air kelapa yang digunakan berbeda (Bidabadi & Mohan Jain, 2020).

Selain mendukung pertumbuhan kalus pada eksplan daun, penambahan IAA dan air kelapa pada konsentrasi (5% air kelapa + 1,5 ppm IAA), (10% air kelapa + 2 ppm IAA) dan (15% air kelapa + 1,5 ppm IAA) juga menunjukkan adanya pembentukan tunas adventif melalui kalus (organogenesis tidak langsung) (Tabel 3). Penelitian yang dilakukan oleh Nandariyah *et al.* (2021) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi air kelapa dan NAA ke dalam medium memberikan respons pertumbuhan tunas per eksplan yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan auksin dan sitokinin eksogen dapat meningkatkan jumlah planlet. Aplikasi sitokinin dan auksin eksogen penting dalam kultur jaringan untuk merangsang berbagai perkembangan tanaman dan fisiologis serta menginduksi pembentukan kalus.

Pengaruh Konsentrasi IAA dan Air Kelapa terhadap Morfologi Kalus Eksplan Daun Porang







Berdasarkan hasil pengamatan morfologi kalus (warna dan tekstur) dari berbagai perlakuan IAA dan air kelapa selama 6 minggu, terdapat 3 macam warna kalus yang muncul yaitu warna putih








kekuningan, kuning kecoklatan, dan coklat kehitaman. Pada pengamatan morfologi tekstur kalus didapatkan satu macam tekstur kalus yaitu kompak (Tabel 3). Data morfologi kalus menunjukkan bahwa pada penambahan IAA tunggal ke dalam medium MS menghasilkan warna kalus yang berbeda. Pada perlakuan Ak_0I_1 (0% air kelapa + 0,5 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna putih kekuningan, perlakuan Ak_0I_2 (0% air kelapa + 1,5 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna kuning kecoklatan dan perlakuan Ak_0I_3 (0% air kelapa + 2 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna coklat kehitaman.




Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi auksin (IAA) dan air kelapa yang digunakan maka warna kalus yang dihasilkan akan mengalami kecoklatan atau kehitaman. Penurunan warna kalus ini disebabkan oleh adanya akumulasi senyawa fenolik di dalam sel yang mengalami oksidasi sehingga menimbulkan warna kecoklatan atau kehitaman. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Emile *et al.* (2019) dimana penambahan auksin dengan konsentrasi tinggi menyebabkan peningkatan kandungan senyawa fenolik di dalam eksplan. Pada perlakuan air kelapa tunggal yaitu Ak_1I_0 (5% air kelapa + 0 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna kuning kecoklatan, Ak_2I_0 (10% air kelapa + 0 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna putih kekuningan dan Ak_3I_0 (15% air kelapa + 0 ppm IAA) menghasilkan kalus berwarna kuning kecoklatan. Perubahan warna pada eksplan daun porang menunjukkan adanya respons penggunaan auksin eksogen dan sitokinin yang terkandung dalam air kelapa.

Menurut Rasud & Bustaman (2020), warna dan tekstur kalus menggambarkan penampilan visual sel-sel kalus yang digunakan sebagai penanda untuk menentukan kualitas suatu kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan sel-selnya. Kalus berwarna putih menunjukkan sel-sel muda yang masih aktif membelah. Kalus yang berwarna putih kekuningan adalah sel-sel yang menuju fase akhir pembelahan aktif. Warna kalus kecoklatan atau kehitaman menunjukkan

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi IAA dan air kelapa terhadap morfologi kalus eksplan daun *Amorphphallus muelleri* Blume selama 6 MST

No	Konsentrasi ZPT		Morfologi Kalus		Foto
	Air Kelapa (%)	IAA (ppm)	Warna	Tekstur	
1	0	0	-	-	
2	0	0,5	Putih kekuningan	Kompak	
3	0	1,5	Kuning kecoklatan	Kompak	
4	0	2	Coklat kehitaman	Kompak	
5	5	0	Kuning kecoklatan	Kompak	
6	5	0,5	Putih kekuningan	Kompak	

7	5	1,5	Kuning kecoklatan	Kompak	
8	5	2	Coklat kehitaman	Kompak	
9	10	0	Putih kekuningan	Kompak	
10	10	0,5	Coklat kehitaman	Kompak	
11	10	1,5	Kuning kecoklatan	Kompak	
12	10	2	Kuning kecoklatan	Kompak	
13	15	0	Kuning kecoklatan	Kompak	

14	15	0,5	Coklat kehitaman	Kompak	
15	15	1,5	Coklat kehitaman	Kompak	
16	15	2	Kuning kecoklatan	Kompak	

sel-sel yang menuju fase penuaan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua kalus yang terbentuk semula berwarna putih. Warna kalus yang dihasilkan tersebut perlahan berubah menjadi putih kekuningan hingga coklat kehitaman pada minggu berikutnya. Perubahan warna pada kalus tersebut menunjukkan adanya perubahan fase pertumbuhan dari sel-sel yang muda dan aktif membelah menjadi sel-sel yang dewasa. Berdasarkan hasil pengamatan akhir warna kalus (Tabel 3) dari 16 perlakuan yang diberikan diperoleh sebanyak 3 perlakuan menghasilkan kalus berwarna putih kekuningan, 7 perlakuan menghasilkan kalus berwarna kuning kecoklatan, dan 5 perlakuan menghasilkan kalus berwarna coklat kehitaman. Warna kalus pada pengamatan akhir menunjukkan warna yang berbeda pada semua perlakuan yang dilakukan.

Pembahasan

Pembentukan kalus pada eksplan diawali dengan terjadinya pembengkakan. Hal ini dapat disebabkan karena eksplan menyerap air dan nutrisi yang ada dalam medium kultur sehingga terjadi peningkatan

ukuran sel (Wijaya *et al.*, 2020). Pada tahap berikutnya, kalus mulai terbentuk pada bagian eksplan hasil pemotongan. Pemotongan eksplan memberikan stimulus berupa perlukaan. Stimulus perlukaan ini yang mengaktifkan gen faktor transkripsi *WIND1* (*Wound Induced Dedifferentiation 1*) dan selanjutnya mengekspresikan hormon sitokinin endogen untuk menginisiasi proses penutupan luka dalam bentuk dediferensiasi dan proliferasi sel membentuk kalus (Restiani *et al.*, 2022; Habibah *et al.*, 2016; Ikeuchi *et al.*, 2013). Selain stimulus berupa perlukaan, pembentukan kalus pada eksplan juga dapat disebabkan karena adanya rasio ZPT dan senyawa organik kompleks eksogen dan interaksinya terhadap hormon endogen yang secara alami ada dalam eksplan (Bidabadi & Mohan Jain, 2020).

Pemberian variasi konsentrasi air kelapa seimbang dengan IAA khususnya pada Ak_2I_2 menunjukkan adanya pertumbuhan tunas sebesar 50%. Pada penelitian Nandariyah *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa pemberian variasi konsentrasi air kelapa seimbang dengan IAA khususnya pada Ak_2I_2 menunjukkan adanya pertumbuhan tunas sebesar 50%. Pada penelitian Nandariyah *et al.*, (2021)

menunjukkan bahwa perlakuan auksin 1,5 ppm + air kelapa 10% dapat mempercepat pembentukan tunas dibandingkan dengan yang tidak diberikan auksin. Selain itu pemberian konsentrasi seimbang akan meningkatkan jumlah tunas terutama pada perlakuan auksin 1,5 ppm + air kelapa 10%. Pada penelitian ini, tunas tumbuh hanya pada beberapa perlakuan saja. Hal ini dikarenakan setiap tanaman memiliki respon pertumbuhan yang berbeda terhadap ZPT tersebut. Kondisi eksplan mempengaruhi pertumbuhan dan keberhasilan kultur seperti faktor genetik, jenis eksplan, ukuran, umur, dan status fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Dalam menyerap sitokinin eksogen juga tidak semua tumbuhan dapat merespon penambahan tunas karena tumbuhan memiliki kandungan sitokinin endogen yang cukup.

Menurut Hariyati *et al.* (2016), warna kalus merupakan salah satu indikator kualitas kalus. Warna kalus hijau kekuningan menunjukkan kalus dalam kondisi baik, selain itu kalus hijau menunjukkan pembentukan klorofil. Sugiyarto & Kuswandi (2014), menyatakan bahwa warna hijau kalus merupakan akibat pengaruh sitokinin dalam pembentukan klorofil. Berdasarkan Cortleven *et al.* (2016), sitokinin secara langsung mengatur gen biosintesis klorofil. Warna kalus yang dihasilkan pada perlakuan ini didominasi oleh warna kuning kecoklatan. Warna kuning pada kalus menunjukkan bahwa sel masih aktif beregenerasi pada usia matang atau dewasa. Penelitian yang dilaporkan oleh Elaleem *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa tekstur, warna, dan struktur kalus dipengaruhi dengan formulasi medium serta konsentrasi dan jenis zat pengatur yang digunakan.

Kualitas kalus yang dihasilkan juga dapat dilihat berdasarkan tekstur kalus. Melalui pengamatan visual pada tekstur kalus dapat diketahui sel masih aktif membelah atau sudah mengalami penurunan dalam proses pembelahan selnya. Tekstur kalus dibedakan menjadi tiga macam yaitu tekstur remah (*friable*), intermediet (*intermediate*), dan kompak (*compact* atau *nonfriable*) (Hariyati *et al.*, 2016). Dari hasil penelitian

yang ditunjukkan pada Tabel 3 diketahui bahwa seluruh perlakuan konsentrasi menghasilkan tekstur kalus yang kompak. Kalus dengan struktur kompak memiliki tekstur yang padat dan keras sehingga sulit untuk dipisahkan. Hal yang menyebabkan kalus bertekstur kompak adalah adanya proses lignifikasi sehingga kalus memiliki tekstur yang lebih keras dan juga dapat dipengaruhi oleh efek zat pengatur tumbuh (hormon) yang berperan dalam transport zat hara (Rasud dan Bustaman, 2020). Menurut Nadeak *et al.* (2012), struktur kalus kompak memiliki peluang yang lebih besar untuk dikembangkan dan ditumbuhkan lebih lanjut menjadi tanaman utuh secara langsung. Tekstur kalus kompak bernodul menunjukkan bahwa kalus tersebut memiliki potensi untuk membentuk embrio.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan IAA pada variasi konsentrasi (0,5, 1,5 dan 2) ppm dan air kelapa (5, 10 dan 15) % (v/v) ke dalam medium MS berpengaruh terhadap induksi kalus eksplan daun Porang sebesar 100% selama 6 minggu inkubasi. Medium MS dengan penambahan 1,5 ppm IAA dan 10% air kelapa berpengaruh terhadap kecepatan munculnya kalus yaitu 15 ± 2.83 HST. Dalam hal warna dan tekstur kalus, penambahan air kelapa pada konsentrasi (0, 5 dan 10) % dengan konsentrasi IAA lebih rendah (0 dan 0,5) ppm menghasilkan warna kalus putih kekuningan dengan tekstur kompak.

Daftar Pustaka

- Aziz, M. M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. S. (2014). Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara In Vitro Callus. *LenteraBio*, 3(2), 109–114.
- Bidabadi, S. S., & Mohan Jain, S. (2020). Cellular, molecular, and physiological aspects of in vitro plant regeneration. *Plants*, 9(6), 10–13. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>
- Budisantoso, I., Amalia, N., & Kamsinah, K. (2017). In Vitro Callus Induction from

- Leaf Explants of *Vanda* sp Stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(3), 492. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11018>
- Cortleven, A., Marg, I., Yamburenko, M. V., Schlicke, H., Hill, K., Grimm, B., Schaller, G. E., & Schmülling, T. (2016). Cytokinin regulates the etioplast-chloroplast transition through the two-component signaling system and activation of chloroplast-related genes. *Plant Physiology*, 172(1), 464–478. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00640>
- Emile, M., Claude, S., Apollin, M. F., Doungous, O., Njukeng, J. N., Nicolas, N., & Denis, O. N. (2019). Influence of Exogenous Auxins on Phenolic Compounds Contents and Polyphenol oxidasic and Peroxidasic Activities in Root Differentiation in *Gnetum* spp. *Agricultural Sciences*, 10(08), 1073–1089. <https://doi.org/10.4236/as.2019.108081>
- Farlisa, V. Y., Dewanti, P., Hariyono, K., Handoyo, T., & Restanto, D. P. (2022). Induksi Somatic Embryogenesis dan Kultur Suspensi Sel pada Tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Induction of Somatic Embryogenesis and Cell Suspension Culture in *Amorphophallus muelleri* Blume. *Agriprima Journal of Applied Agricultural*, 111–123. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v6i1.448>
- Ferziana, F., Erfal, L., Maulida, D., Sari, R. M., & Yuniardi, F. (2021). In vitro regeneration of porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) at several concentrations of BAP (benzyl amino purine). *International Conference On Agriculture and Applied Science (ICoAAS) 2021, November*, 76–83. <https://jurnal.polinela.ac.id/ICoAAS2020/article/view/2487%0Ahttps://jurnal.polinela.ac.id/ICoAAS2020/article/view/2487/1486>
- Habibah, N. A., Moeljopawiro, S., Dewi, K., & Indrianto, A. (2016). Flavonoid Production in Callus Cultures from Mesocarp *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 8(2), 214. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v8i2.6632>
- Habibah, N. A., Nugrahaningsih, W. H., Ulung Anggraito, Y., Mukhtar, K., Wijayanti, N., Mustafa, F., & Rostriana, Y. (2019). Effect of Growth Regulators on Cell Growth and Flavonoid Production in Cell Culture of *Elaecarpus grandiflorus*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 391(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/391/1/012061>
- Hardjo, P. H., Wijaya, A. N., Savitri, W. D., & Irawati, F. (2023). Plant Regeneration in *Amorphophallus muelleri* Blume through Organogenic. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 15(1), 60–66. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v15i1.40501>
- Hariyati, M., Bachtiar, I., & Sedijani, P. (2016). Induksi Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dengan Pemberian Benzil Amino Purin (BAP) dan Dichlorofenoksi Acetil Acid (2,4 D). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.37>
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: Mechanisms of induction and repression. *Plant Cell*, 25(9), 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Imelda, M., Wulansari, A., & Poerba, Y. S. (2008). Shoot regeneration from leaf petioles of *iles-iles* (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 9(3), 173–176. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090304>
- Michael, P. S. (2011). Effects of coconut water on callus initiation and plant regeneration potentials of sweetpotato. *Journal and Proceedings of the Royal Society of New South Wales*, 144(3–4), 91–101. <https://doi.org/10.5962/p.361652>
- Munasiyah. (2021). *Induksi Kalus Porang (Amorphophallus muelleri Blume) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyladenine (BA) secara In Vitro*. Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nadeak, R., Anna, N., Batara, E., Siregar, M., Kehutanan, S., Pertanian, F., & Utara, U. S. (2012). *Respon Eskplan Biji Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk .) terhadap Pemberian NAA dan IBA Secara In Vitro*. 7. <https://www.neliti.com/journals/peronema-forestry-science-journal>
- Nandariyah, Mahmudah, L. S., Arniputri, R. B., & Sakya, A. T. (2021). The effect of NAA and coconut water combination on garlic (*Allium sativum* L.) tissue culture. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 905(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/905/1/012036>
- Rao, M. S., & Purohit, S. D. (2006). In vitro shoot bud differentiation and plantlet regeneration in *Celastrus paniculatus* Willd. *Biologia Plantarum*, 50(4), 501–506. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0079-0>
- Rasud, Y., & Bustaman, B. (2020). In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzigium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Restiani, R., Dolonseda, A. C., Kaban, S. M. P., Hutabarat, C. T., Sekar, A. A., Meliana, F. A., Linardi, M., Verrell, N., & KY, A. A. B. (2022). Efficient Callus and Shoot Induction Protocol from Leaf and Node Explants of Javanese Ginseng (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.). *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 9(12), 223–231. <https://doi.org/10.36347/sjavs.2022.v09i12.003>
- Santosa, E. (2015). Pengembangan Tanaman Iles-Iles Tumpangsari Untuk Kesejahteraan Petani Dan Kemandirian Industri Pangan Nasional. *RISALAH KEBIJAKAN PERTANIAN DAN LINGKUNGAN: Rumusan Kajian Strategis Bidang Pertanian Dan Lingkungan*, 1(2), 73. <https://doi.org/10.20957/jkebijakan.v1i2.10288>
- Sugiyarto, L., & Kuswandi, P. (2014). Pengaruh 2, 4-Diklorofenoksiasetat (2, 4-D) Dan Benzyl Aminopurin (Bap) Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (Anredera. *Jurnal Penelitian Saintek*, 23–30. <http://journal.uny.ac.id/index.php/saintek/article/view/2322>
- Wahyono, N. D., Hasanah, N., & Nurprahastani, N. (2020). Optimization of sterilization techniques and effects of coconut water for the induction of shoots of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Food and Agricultural Sciences: Polije Proceedings Series*, 3(1), 10–18.
- Wahyuni, K., Rohmah, M., Ambari, Y., & Romadhon, B. (2020). Pemanfaatan Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Bl) Sebagai Bahan Baku Keripik. *Jurnal Karinov*, 3(1), 1–4.
- Widoretno, W., Azriningsih, R., Sukmadjaja, D., & Rosyidah, M. (2023). In Vitro Induction and Identification of Polyploid *Amorphophallus muelleri* Blume Plants by Colchicine Treatment. *Agrivita*, 45(1), 87–97. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v45i1.3992>
- Wijaya, R., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2020). Pengaruh Kitosan terhadap Produksi Saponin Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) Tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) memiliki budidaya tanaman secara aseptis pada suatu diketahui berkontribusi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Di Era Pandemi COVID-19, September*, 252–261.
- Yuniastuti, E., Widodo, C. E., Samanhudi, & Delfianti, M. N. I. (2018). Effect of benzyl amino purine and indole-3-acetic acid on propagation of *Sterculia foetida* in vitro. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 142, 3–8.