

INDUKSI KALUS EKSPLAN DAUN ANGGREK PENSIL (*Papillionanthe hookeriana* Rchb.F.) PADA KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN BAP***Callus induction Leaf Explants Pencil Orchid (*Papillionanthe hookeriana* Rchb.f.) on The Combination of Growth Regulators 2,4-D and BAP***Neliyati^{1*} dan Lizawati²^{1,2}Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, Muaro Jambi, Jambi 36361*Email : neliyati.sigan@unja.ac.id**Abstract**

The formation of callus is one of the indications of success in propagation through tissue culture. A crucial factor in callus induction is the accuracy in determining the type and concentration of auxin and cytokinin growth regulators in the culture media. This research aims to obtain the appropriate concentration of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) growth regulators that can induce the formation of embryonic callus propagules from pencil orchid plants using tissue culture propagation techniques. The treatments tested in this study were the application of several concentrations of auxin (2,4-D) at 0.5; 1.0; 1.5, and 2.0 ppm combined with cytokinin (BAP) at concentrations of 0.0 and 0.5 ppm. The experiment was arranged in a Completely Randomized Design (CRD) with 15 explants for each treatment. The parameters observed were the response time of the explant (swelling), the percentage of explants swelling, the appearance of callus, the percentage of explants forming callus, callus structure, and callus color. The results showed that the pencil orchid leaf explants responded by swelling and forming callus. Swelling occurred fastest two weeks after culturing. The highest percentage of swelling and callus formation was obtained from the treatment of MS media supplemented with a combination of 2,4-D 2.0 ppm + 0.5 ppm cytokinin BAP, with 100% of the explants swelling and 26,67% forming callus. The formed callus was friable in structure and white in color.

Keywords: *Callus, tissue culture, pencil orchid.***Abstrak**

Terbentuknya kalus merupakan salah satu indikasi keberhasilan dalam perbanyakan secara kultur jaringan. Faktor sangat menentukan dalam induksi kalus tersebut adalah ketepatan dalam menentukan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dalam media kultur. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) yang dapat menginduksi pembentukan propagule berupa kalus embrionik dari tanaman anggrek pensil dengan menggunakan teknik perbanyakan secara kultur jaringan. Perlakuan yang diuji pada penelitian ini adalah aplikasi beberapa konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) yaitu 0,5; 1,0; 1,5 dan 2,0 ppm yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh sitokinin (BAP) dengan konsentrasi 0,0 dan 0,5 ppm. Percobaan disusun dalam pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 15 eksplan setiap perlakuan. Parameter yang diamati adalah waktu eksplan berespon (membengkak), persentase eksplan membengkak, saat muncul kalus, persentase eksplan membentuk kalus, struktur kalus dan warna kalus. Hasil percobaan diperoleh bahwa eksplan daun anggrek pensil mengalami respon pembengkakan dan membentuk kalus. Pembengkakan terjadi paling cepat dua minggu setelah kultur. Persentase eksplan membengkak dan berkalus paling banyak diperoleh dari perlakuan media MS yang ditambah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh auksin 2,4-D 2,0 ppm + 0,5 ppm sitokinin BAP, yaitu eksplan yang membengkak sebanyak 100% dan eksplan berkalus 26,67%. Kalus yang terbentuk berstruktur remah, berwarna putih.

Kata kunci: *Kalus, kultur jaringan, anggrek pensil*

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hortikultura yang memiliki nilai estetika. Bentuk serta warna bunganya yang unik dan indah memiliki daya tarik tersendiri sehingga menjadikan anggrek banyak diminati. Keragaman bentuk bunga dan warna merupakan faktor penting pada tanaman anggrek, semakin unik dan langka semakin tinggi nilai ekonominya (Handoyo dan Prasetya, 2006).

Salah satu anggrek alam yang mempunyai pesona adalah anggrek pensil (*Papilionanthe hookeriana* (Rchb.f.)), dikenal sebagai anggrek rawa dan mendapat *First Class Certificate* sehingga dinobatkan sebagai Ratu Anggrek karena kecantikan bunganya oleh kerajaan Inggris pada th 1882 (Handini, 2019).

Anggrek pensil (*Papilionanthe hookeriana* Rchb.f.) merupakan salah satu jenis anggrek yang termasuk dalam jenis tumbuhan yang dilindungi menurut Peraturan Pemerintah Nomor 77 tahun 1999 tentang pengawetan jenis tumbuhan dan satwa, serta spesies ini terancam jurang kepunahan karena degradasi habitat, pencurian dan perambahan. Ini tercantum dalam Apendiks II CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna dan Flora*) pada tahun 2013. Dalam Peraturan Pemerintah tersebut dijelaskan bahwa tumbuhan dan satwa adalah bagian dari sumber daya alam yang tidak ternilai harganya sehingga kelestariannya perlu dijaga melalui upaya pengawetan jenis.

Di Provinsi Jambi anggrek pensil ditemukan dalam kawasan Taman Nasional Berbak dan Sembilang yaitu hidup pada batang rasau (*Pandanus helicopus*) yang berada di tepi sungai. Dalam Kawasan Taman Nasional Berbak dan Sembilang, tidak kurang dari 261 jenis tumbuhan (dari 73 famili) telah teridentifikasi. 23 jenis Palembang, 63 jenis Anggrek hutan dan 10 jenis Pandan (IMC Campus, 2017).

Perlindungan dan pengembangan terhadap anggrek pensil sebagai potensi ekonomi perlu dilakukan. Hal ini dikarenakan anggrek pensil memiliki nilai estetika yang tinggi dari bunganya. Hasan (2016) menjelaskan anggrek pensil memiliki warna bunga yang menarik dengan warna petal putih semburat keunguan, bibir ungu bergaris dan bercorak putih, keping sisi berwarna ungu dan juga berpotensi sebagai induk untuk persilangan. Kesegaran bunganya cukup lama yakni mencapai 22 hari.

Masalah yang dihadapi dalam perbanyakan generative anggrek pensil secara konvensional adalah sulitnya buah terbentuk dan secara

vegetative melalui pemisahan rumpun akan menghasilkan anakan yang sangat terbatas jumlahnya dan butuh waktu yang lama. Metode perbanyakan dengan memanfaatkan Teknik kultur jaringan diharapkan dapat menjadi solusi yang tepat dan cepat dalam rangka memperbanyak tanaman anggrek pensil.

Keberhasilan dari teknik kultur jaringan ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan dan morfogenesis jaringan yang dikulturkan. Pertumbuhan dan morfogenesis jaringan sangat dipengaruhi diantaranya oleh jenis media dan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh merupakan salah satu komponen tumbuh yang sulit untuk ditinggalkan, terutamaimbangan antara auksin dan sitokinin. Masalah yang dihadapi dalam penggunaan zat pengatur tumbuh adalah ketepatan memilih jenis dan konsentrasi yang sesuai dengan jenis tanaman dan fisiologis dari jaringan eksplan yang ditumbuhkan. Demikian pula dengan umur fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan sangat menentukan daya totipotensinya untuk tumbuh dan berkembang. Setiap jenis tanaman dan jaringan akan memberikan respon yang berbeda terhadap zat pengatur tumbuh.

Sampai saat ini, penelitian mengenai kultur jaringan anggrek pensil masih sangat terbatas. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Romeida *et al.* 2016 pada anggrek pensil yang berasal dari endemik Bengkulu menggunakan eksplan daun diperoleh kalus embriogenik pada media yang ditambah zat pengatur tumbuh 2,4-D 1,0 ppm dan kalus berproliferasi membentuk plb hanya 11%. Kegiatan Konservasi *Papilionanthe hookeriana* di Kebun Raya-LIPI dilakukan oleh Handini (2019), meliputi penyimpanan biji dan perbanyakan secara kultur jaringan dengan tujuan dari penyimpanan biji adalah untuk memperpanjang masa simpan biji dan menjaga ketersediaan benih anggrek ini. Sedangkan kegiatan perbanyakan secara kultur jaringan dilakukan untuk dapat menghasilkan bibit anggrek pensil dalam jumlah yang banyak sehingga ketersediaan di alam akan terjaga. Untuk anggrek pensil yang berasal dari Provinsi Jambi sampai saat ini belum ada penelitian untuk memperbanyak tanaman tersebut dengan metode kultur jaringan baik dari eksplan generatif (biji) maupun bagian vegetatif tanaman tersebut.

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian perbanyakan anggrek pensil *Papilionanthe hookeriana* melalui teknik kultur jaringan. Sebagai tahap awal perlu dicari kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang tepat konsentrasinya yang dapat

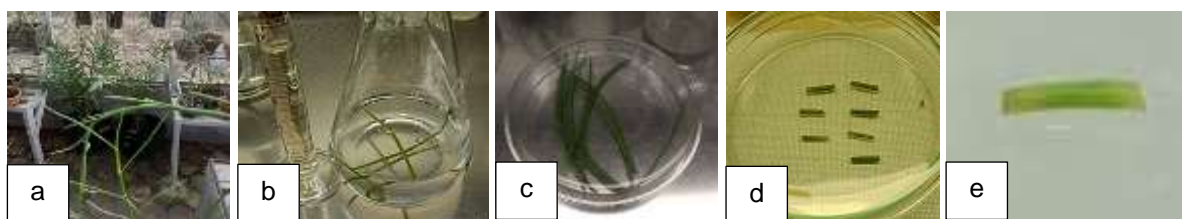
menginduksi kalus pada tanaman anggrek pensil asal Jambi secara kultur jaringan. Pada penelitian ini zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah auksin 2,4-D dan sitokinin BAP.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi dari bulan Juni sampai November 2019. Bahan yang digunakan sebagai eksplan adalah daun anggrek pensil (*Papilionanthe hookeriana*) yang berasal Balai Taman Nasional Berbak dan Sembilang Provinsi Jambi. Komposisi Media dasar *Murashige and Skoog* (MS), zat pengatur tumbuh auksin 2,4-D (*Dichlorophenoxy acetic Acid*) sitokinin BAP (*Benzylamino purine*). Bahan sterilant (detergen, aquades, HgCl₂, *Natrium hypo chloride*, alkohol dan *Bethadine*), pembenah pH media yaitu HCl 1 N, KOH 1 N. Kemasaman medium ditetapkan $5,8 \pm 0,02$ sebelum dipadatkan dengan agar (*Difco Bacto*) 0,8% (w/v) dan dibagi-bagi ke dalam botol kultur sebanyak 20 mL per botol. Selanjutnya medium

di-autoklaf pada tekanan 1,06 kg cm⁻² pada suhu 121°C selama 15 menit.

Perlakuan yang dicobakan adalah kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5 dan 2,0 ppm dengan BAP 0,0 dan 0,5 ppm pada media MS. Percobaan disusun dalam pola Rancangan Acak Lengkap, setiap perlakuan terdiri atas 15 eksplan yang ditanam di dalam botol kultur yang terpisah. Eksplan disterilisasi dengan cara daun dicuci dengan deterjen pada air mengalir, direndam dalam larutan HgCl₂ 0,1% selama 30 menit. Eksplan dibilas dengan air steril dan direndam dalam larutan NaClO 10% selama 10 menit dan dibilas dengan air steril, selanjutnya direndam dalam larutan betadin 10% selama 5 menit dan dibilas 3 kali dengan air steril. Eksplan dipotong 1 cm dan ditanam pada media sesuai perlakuan. Eksplan ditempatkan di dalam kondisi gelap total selama 15 hari sebelum dipindahkan ke rak kultur di dalam ruang kultur. Suhu di dalam ruang kultur dipertahankan $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dan fotoperiodesitas 16 jam per hari dengan intensitas cahaya lebih-kurang $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ yang berasal dari lampu TL putih. Prosedur isolasi penanaman eksplan ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses penanaman eksplan: a) daun anggrek pensil (eksplan) yang telah dicuci pada air mengalir; b) perendaman eksplan pada larutan NaClO 10%; c) eksplan yang telah steril; d) penanaman eksplan pada media kultur; dan e) pengamatan perkembangan eksplan pada media kultur

Peubah yang diamati adalah jumlah eksplan membesar, waktu eksplan membesar, jumlah eksplan yang membentuk kalus, saat muncul kalus, struktur kalus, dan warna kalus. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan standart deviasi dan tabulasi. Di samping disajikan dalam bentuk angka, data hasil pengamatan yang merupakan data kualitatif disajikan dalam bentuk visual berupa gambar untuk mendukung data kuantitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase eksplan membesar dan waktu eksplan membesar

Eksplan daun anggrek pensil *Papilionanthe hookeriana* yang dikultur pada media MS ditambah dengan kombinasi zat pengatur

tumbuh (ZPT) 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang berbeda memberikan respon awal yang sama, yaitu terjadinya pembengkakan eksplan. Namun persentase eksplan membesar dan waktu awal membesar berbeda. Rata-rata persentase eksplan membesar dan waktu mulai membesar disajikan pada Tabel 1. Tampilan eksplan yang membesar disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3. Persentase eksplan yang membesar paling banyak diperoleh dari perlakuan media MS dengan kombinasi ZPT 2,0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP yaitu $100 \% \pm 0,0$ dengan waktu mulai membesar rata-rata $19 \pm 0,58$ HSK. Persentase eksplan membesar paling sedikit diperoleh dari perlakuan 0,5 ppm 2,4-D tanpa BAP yaitu $26,67 \% \pm 6,67$ dengan rata-rata waktu membesar $26,67 \pm 8,74$ HSK.

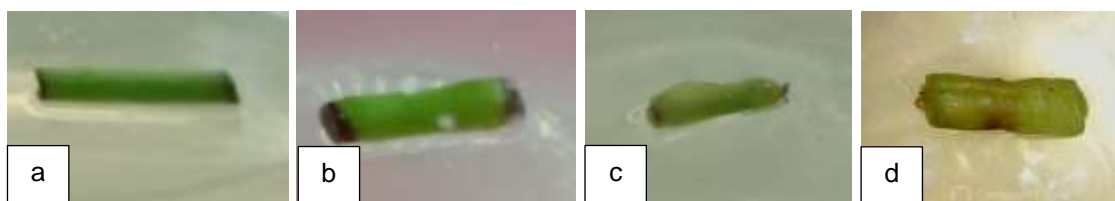
Tabel 1. Persentase eksplan daun anggrek Pencil (*Papilionanthe hookeriana*) membengkak dan waktu awal membengkak pada media MS + 2,4-D dan BAP 30 HSK

Perlakuan	Eksplan Membengkak (%)	Waktu Membengkak (HSK)
MS+0.5 ppm 2.4 D	26,67± 6,67	26,67± 8,74
MS+1,0 ppm 2.4 D	53,33 ± 6,67	22,44 ± 4,73
MS+1.5 ppm 2.4 D	33,33 ± 6,67	16,00 ± 0,00
MS+2,0 ppm 2.4 D	46,67 ± 13,33	19,00± 2,00
MS+0.5 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	86,67± 6,67	26,55 ± 2,14
MS+1,0 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	60,00 ± 11,55	22,17 ± 2,43
MS+1.5 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	53,33 ± 6,67	19,67± 1,33
MS+2,0 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BA	100,00 ± 0,0	19,00 ± 0,58

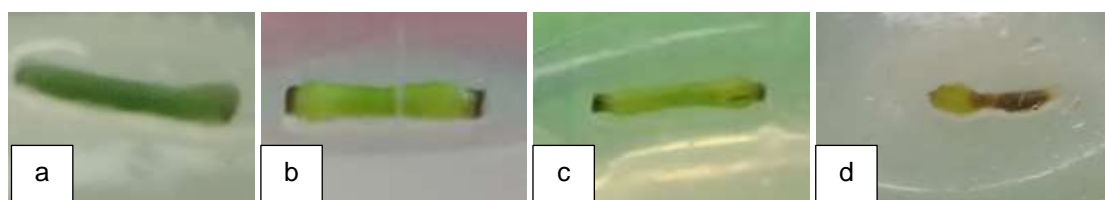
Keterangan:

HSK : Hari Setelah Kultur

± : Nilai Standard Error



Gambar 2. Perkembangan eksplan anggrek pencil pada media MS + 2,0 ppm 2,4- D + 0,5 ppm BAP: a) minggu ke-1, b) minggu ke-3, c) minggu ke-5, dan d) minggu ke-7



Gambar 3. Perkembangan eksplan anggrek pencil pada media MS+ 0,5 ppm 2,4- D+0,5 ppm BAP: a) minggu ke-1, b) minggu ke-3, c) minggu ke-5, dan d) minggu ke-7

Pembengkakan terjadi ditandai dengan membesarnya eksplan daun yang dikultur. Hal ini diduga adanya respon sel-sel dari eksplan terhadap penyerapan air, nutrisi dan zat pengatur tumbuh pada media yang menyebabkan sel membesar. Hasil penelitian Ajjiah et al. (2010) menjelaskan bahwa pembengkakan eksplan adalah tahap awal pembentukan kalus yang mengindikasikan aktifitas sel pada eksplan serta menandakan sel pada eksplan membesar. Terjadinya pembesaran sel tanaman dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh auksin. Mekanisme auksin dalam pembesaran sel dengan cara mengaktifkan pompa ion pada plasma membran, mempertahankan pH dinding sel menjadi asam (pH4), dinding sel menjadi longgar dan tekanan dinding sel menjadi berkurang sehingga air masuk ke dalam sel dan terjadi pembesaran dan elongasi pada sel (Salisbury dan Ross. 1995).

Besarnya persentase eksplan membengkak yang diperoleh dari perlakuan kombinasi ZPT

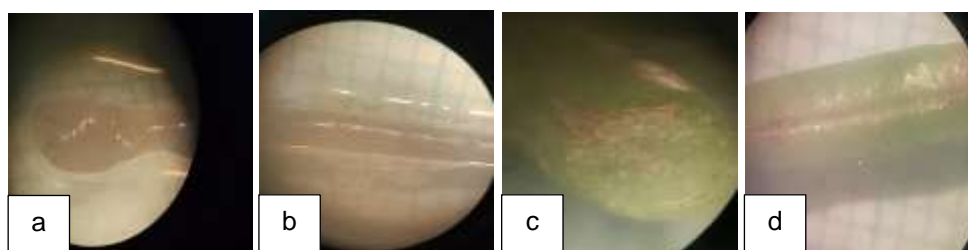
auksin 2,0 ppm 2,4-D dan ZPT sitokinin 0,5 ppm BAP, hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi kombinasi auksin dan sitokinin tersebut sesuai dengan kebutuhan sel untuk membesar dari eksplan daun anggrek pencil.

Persentase eksplan berkalus dan Waktu muncul kalus

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua perlakuan media MS dengan ZPT auksin 2,4-D dan sitokinin BAP dapat menginduksi kalus dari eksplan daun anggrek pencil. Pembentukan kalus terjadi pada perlakuan media MS+1,5 ppm 2,4-D, MS+2,0 ppm 2,4 D dan semua kombinasi perlakuan 2,4-D + BAP. Persentase eksplan membentuk kalus dan waktu muncul kalus berdasarkan perlakuan disajikan pada Tabel 2 dan tampilan kalus yang terbentuk disajikan pada Gambar 4.

Tabel 2. Persentase eksplan daun angrek Pencil (*Papilionanthe hookeriana*) yang membentuk kalus dan rerata waktu berkalus pada media MS yang diberi ZPT 2,4-D dan BAP delapan minggu setelah kultur.

Perlakuan	Eksplan Berkalus	Waktu Eksplan Berkalus (HSK)
MS+0.5 ppm 2.4 D	0,0 (0/15)	0
MS+1,0 ppm 2.4 D	0,0 (0/15)	0
MS+1.5 ppm 2.4 D	6,67 (1/15)	36
MS+2,0 ppm 2.4 D	6,67 (1/15)	32
MS+0.5 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	20,0 (3/15)	31
MS+1,0 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	6,67 (1/15)	53
MS+1.5 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	6,67 (1/15)	45
MS+2,0 ppm 2.4 D + 0.5 ppm BAP	26,67 (4/15)	31



Gambar 4. Kalus yang terbentuk pada media MS dengan kombinasi 2,4-D+BAP: a) media MS+ 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, b) media MS+ 1,0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, c) media MS+ 2,0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, dan d) media MS+ 2,0 ppm 2,4-D

Berdasarkan Tabel 2 dapat dijelaskan pengaruh pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP persentase pembentukan kalus paling banyak terjadi pada kombinasi zat pengatur tumbuh 2,0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP yaitu 26,67%. Waktu pembentukan kalus mulai terjadi pada minggu ke lima setelah kultur. Pembentukan kalus terjadi pada eksplan yang telah membengkak dan selanjutnya merekah/membelah sehingga timbul perlukaan. Dengan adanya perlukaan tanaman akan berespon menutupi luka dengan cara terjadinya pembelahan sel yang cepat dan tidak terdiferensiasi, hal ini diistilahkan dengan terbentuknya kalus. Kalus terbentuk dari proses pembelahan sel yang berada dibagian dalam atau sel-sel parenkima. Kalus terbentuk pada eksplan yang sudah membengkak yang masih berwarna hijau

Besarnya persentase eksplan membentuk kalus dan waktu yang relative lebih cepat yaitu 31 HSK pada perlakuan media MS + 2,0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP diduga pada kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh tersebut memenuhi kebutuhan terhadap zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan untuk eksplan daun angrek pencil berespon meginduksi kalus. Kombinasi yang tepat serta seimbang antara auksin dan sitokinin pada eksplan dapat menyebabkan terjadinya induksi kalus (George

dan Sherington, 1984). Dalam hal ini auksin bekerja dalam pembengkakan/ pembesaran sel sedangkan sitokinin berperan dalam pembelahan sel. Dengan demikian, pada kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat maka sel-sel eksplan dapat berdediferensiasi menjadi kalus.

Perlakuan media MS + 0,5 ppm 2,4-D dan perlakuan media MS + 1,0 ppm 2,4-D tidak terbentuk kalus eksplan daun angrek pencil. Tidak terbentuknya kalus diduga tidak cukupnya konsentrasi zat pengatur tumbuh dan belum seimbang kebutuhan perbandingan antara zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin serta adanya perbedaan kemampuan jaringan menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media induksi kalus tersebut. Selanjutnya eksplan yang tidak membentuk kalus mengalami perubahan warna dari hijau menjadi coklat kemudian mati, hal ini diduga diantaranya disebabkan oleh bahan sterilan yang dapat mempengaruhi/ merusak sel sehingga cepatnya eksplan mencoklat. sel yang meristematik dan selanjutnya melakukan pembelahan serta terdiferensiasi.

Keberhasilan eksplan membentuk kalus sangat ditentukan oleh beberapa factor, diantaranya adalah genotipe tanaman, zat pengatur tumbuh baik jenis maupun konsentrasi zat pengatur tumbuh tersebut. Zat pengatur

tumbuh memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Faktor yang perlu mendapat perhatian dalam penggunaan zat pengatur tumbuh antara lain jenis yang akan digunakan, konsentrasi, urutan penggunaan dan periode masa induksi kultur (Gunawan 1995). Menurut George dan Sherrington (1984), bahwa untuk induksi kalus tanaman dikotil diperlukan auksin dengan konsentrasi tinggi dan sitokinin pada konsentrasi rendah sedangkan pada tanaman monokotil pembentukan kalus hanya membutuhkan auksin yang tinggi tanpa sitokinin. Hal ini mengindikasikan bahwa setiap genotipe tanaman/jenis tanaman tidak selalu sama dalam respon terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan.

Berdasarkan beberapa hasil penelitian terhadap induksi kalus pada beberapa tanaman menunjukkan respon yang berbeda-beda terhadap jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Romeida et al. (2016) pada anggrek pensil yang berasal dari endemik Bengkulu menggunakan eksplan daun diperoleh kalus embriogenik pada media yang ditambah zat pengatur tumbuh 2,4-D 1,0 ppm dan kalus berproliferasi membentuk plb hanya 11%. Hasil penelitian Budisantoso et al. (2017) diperoleh pembentukan kalus pada eksplan daun anggrek Vanda terjadi pada media yang diberi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2,0 ppm. Pada penelitian Mahadi et al. (2017) induksi kalus dari eksplan jeruk kasturi menggunakan 2,4-D dan BAP menunjukkan hasil induksi kalus terbaik dengan konsentras 2,0 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP. Hasil penelitian Lizawati et al. (2020) pada eksplan daun muda *Coffea liberika* L. pembentukan kalus terjadi pada media MS + 1,0 ppm 2,4-D + 1,0 ppm 2iP. Perlakuan pemberian kombinasi BAP 0.025 ppm + NAA 3 ppm pada media kultur memberikan respon terbaik dalam induksi kalus anggrek *Dendrobium* Hibrida (*Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum*) melalui somatik embriogenesis dengan rerata presentase pembentukan kalus sebesar 67%, dan waktu pembentukan kalus pada 14 hari setelah tanam (Sasmita et al. 2022). Hasil penelitian Hany et al. (2023). konsentrasi 2 mg/L 2,4-D merupakan konsentrasi terbaik dalam induksi kalus dengan warna kalus hijau kekuningan dengan tekstur remah dan bersifat meristematis pada anggrek *Dendrobium bicolor*.

Kalus yang terbentuk pada pada eksplan daun anggrek pensil pada semua perlakuan berwarna putih dengan struktur remah. Kalus warna putih menunjukkan adanya kandungan pati

dan belum mengandung klorofil. Lizawati et al. (2020), menjelaskan bahwa kalus berwarna putih, krem, atau kekuningan menandakan sel sedang tumbuh, sedangkan kalus berwarna coklat menunjukkan penurunan pertumbuhan. Kalus yang mempunyai warna kemerahan dan kecoklatan menandakan kalus sudah dewasa, dan kalus berwarna putih transparan menunjukkan kalus embrionik (Rahayu dan Suharyanto, 2020).

Eksplan yang telah membentuk kalus dengan perkembangan kalus sangat lambat, sampai 6 minggu setelah terbentuknya kalus, jumlah kalus yang dihasilkan pada eksplan tersebut masih sangat sedikit dan sebagian kalus tidak berkembang bahkan mencoklat. Hal ini dapat disebabkan karena timbulnya senyawa fenolik yang keluar dari eksplan tersebut. Menurut Wattimena (1988) bahwa, asam-asam fenolik bersama-sama dengan asam absisik (ABA) merupakan inhibitor endogen yang menghambat terbentuknya kalus dan menghambat perkembangan kalus selanjutnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan percobaan yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa respon eksplan daun anggrek pensil terhadap beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin (2,4-D dan BAP) berupa pembengkakan eksplan dan pembentukan kalus. Persentase pembengkakan paling banyak yaitu 100%, diperoleh dari perlakuan media MS yang ditambah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2,0 ppm + 0,5 ppm BAP. Induksi kalus paling banyak diperoleh dari perlakuan media MS ng ditambah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 2,0 ppm dan 0,5 ppm BAP, yaitu 26,67%, kalus yang terbentuk berwarna putih dengan struktur remah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Jambi atas dukungan finansial untuk meaksanakan penelitian melalui Skema Penelitian Dasar tahun anggaran 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjiah N, IM Tasma, E Hadipoentyanti. 2010. Induksi kalus Vanili (*Vanilla planifolia* ANDREW.) dari eksplan daun dan buku. *Buletin RISTR I* (5).
- Budisantoso I, N Amalia dan Kamsiah. 2017. In Vitro Callus Induction from Leaf Explants

- of *Vanda* sp Stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika* 9 (3) (2017) 492-497
- George E.F, P. D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture: Handbook and Directory of Comercial Laboratories*. England: Exegetics Limited.
- Gunawan, L.W 1995. *Teknik Kultur In Vitrodalam Hortikultura*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Handini E, 2019. Seed storage and micropropagation of pencil orchid (*Papilionanthe hookeriana*) in Bogor Botanic Gardens. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 5: 7-12. ISSN: 2407-8050, DOI: 10.13057/psnmbi/m050102
- Handoyo dan Prasetya. 2006. *Native Orchid of Indonesia*. Perhimpunan Anggrek Indonesia. Jakarta.
- Hany I.P., Z.A Noli, dan M. Idris. 2023. Callus Induction of *Dendrobium discolor* Through The Thin Cell Layer (TCL) Technique Added with 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. *Jurnal Biologi Tropis*, 23 (4b): 75 – 80 DOI: <http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v23i4b.5808>
- Hasan, H. 2016. *Berita Resmi PVT Pendaftaran Varietas Lokal*. No. Publikasi: 27/BR/PVL/102016, Anggrek Pensil (*Papilionanthe hookeriana*).
- IMC Campus. 2017. *Mengunjungi "Amazonnya" Jambi di Taman Nasional Berbak dan Sembilang Tanjung Jabung Timur*" <https://campus.imcnews.id/read/mengunjungi-amazonnya-jambi-di-taman-nasional-berbak-dan-sembilang-tanjung-jabung-timur>, diakses 20 Pebruari 2019.
- Irawati. 2009. Self and cross inoculation of *Papilionanthe hookeriana* and *Taeniophyllum obtusum* orchid mycorrhiza. *Buletin Kebun Raya Indonesia* 12 (1): 11-18.
- Lizawati, L., Zulkarnain, Z., Neliyati, N. 2020. The effect of 2,4-D and 2-iP on callus proliferation and development on immature leaf explants of *Liberica* coffee (*Coffea liberica* L.). *Analele Universităţii din Oradea, Fascicula Biologie*. Tom. XXVII, Issue: 1, 2020, pp. 39-42
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. 2017. Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan 2,4-D dan BAP dengan metode in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84-89.
- Rahayu, S. dan Suharyanto. 2020. Induksi Kalus 2,4-D dan BAP pada Eksplan Daun Vegetatif dan Generatif Tempuyung (*Souchus arvensis* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 2(3): 479 – 486.
- Romeida, A., D. W. Ganefianti and Rustikawati. 2016. Embryogenic callus induction of pencil orchid (*Papilionanthe hookeriana* Rchb.f.) through in vitro culture. *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*, 6: 196-200
- Salisbury, Frank B and Cleon W Ross; diterje.: Diah R Lukman; Sumaryono; peny.: Sofia Niksolihin).1995. *Fisiologi tumbuhan: Biokimia tumbuhan*. (Ed. ke-4.). Bandung: Penerbit ITB.
- Sasmita H.D., P Dewanti, dan F N Alfian. 2022. Somatik Embrioge nesis Anggrek *Dendrobium lasianthera* x *Dendrobium antennatum* dengan penambahan BA dan NAA. *J. Agron. Indonesia*, Agustus 2022, 50(2):202-208
- Wattimena G. A. 1988. *Zat pengatur tumbuh*. Pusat Antara Universitas. Institut Pertanian Bogor.