

National Conference Proceedings of Agriculture

#### **Proceedings:**

## Penguatan Potensi Sumberdaya Lokal Guna Pertanian Masa Depan Berkelanjutan

Tempat: Politeknik Negeri Jember

Tanggal: 5-7 Juli 2023

#### **Publisher:**

**Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture** 

E-ISSN: 2964-0172

DOI: 10.25047/agropross.2023.470

# Pengaruh Pemberian Sitokinin Terhadap Kalus Tembakau Varietas Na-Oogst (*Nicotiana tabacum* L.) Melalui Kultur In Vitro

Effect of Cytokinin Administration on Tobacco Callus Variety Na-Oogst (Nicotiana tabacum L.) Through In Vitro Culture

Author(s): Dyah Nuning Erawati (1); Ramadhan Taufika (1)\*; Dirga Arya Adiwinata (1)

## **ABSTRAK**

Produksi Tembakau (Nicotiana tabacum L.) di Kabupaten Jember selama empat tahun terakhir mengalami fluktuasi. Kendala yang dihadapi petani dalam budidaya tembakau secara konvensional adalah pembibitan tembakau tergantung musim, bibit yang dihasilkan memiliki sifat tidak sama dengan induk, dan adanya kerusakan yang disebabkan oleh hama dan penyakit. Diperlukan suatu upaya untuk mengatasi kendala tersebut melalui kultur jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi sitokinin terhadap induksi kalus dan mengetahui konsentrasi sitokinin yang optimal terhadap induksi kalus tembakau Na-oogst. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yaitu pemberian sitokinin konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5 ppm dengan lima ulangan. Adapun parameter pada penelitian ini adalah persentase kalus, berat segar kalus, warna kalus, serta pertumbuhan dan perkembangan kalus. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa bertambahnya pemberian konsentrasi sitokinin berbanding lurus dengan pertambahan persentase pembentukan kalus, berat segar kalus, serta pertumbuhan dan perkembangan kalus. Berdasarkan semua parameter pengamatan, pemberian sitokinin konsentrasi 1,5 ppm terhadap adalah konsentrasi yang paling optimal.

## Kata Kunci:

Kalus;

na-oogst;

Sitokinin;

Tembakau

## Keywords: ABSTRACT

Callus;

Concentration;

Cytokinins;

Influence;

Tobacco

Tobacco (Nicotiana tabacum L.) production in Jember Regency has fluctuated over the last four years. Obstacles that are often faced by farmers in conventional tobacco cultivation are that the tobacco nursery depends on the season, the resulting seeds have different characteristics from the parents, and the damage caused by pests and diseases. An effort is needed to overcome these obstacles through tissue culture. The purpose of this study was to determine the effect of cytokinin concentrations on callus induction and to determine the optimal cytokinin concentrations for callus induction. This study used a completely randomized design (CRD) with four treatments, namely cytokinin concentrations of 0; 0.5; 1; 1.5 ppm with five replications. The parameters in this study were callus percentage, callus fresh weight, callus color, and callus growth and development. The results of this study indicate that the increase in the concentration of cytokinins is directly proportional to the increase in the percentage of callus formation, callus fresh weight, and callus growth and development. Based on all observed parameters, the administration of cytokinin at a concentration of 1.5 ppm was the most optimal concentration.

<sup>(1)</sup> Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

<sup>\*</sup> Corresponding author: ramadhantaufika@polije.ac.id

## **PENDAHULUAN**

Tembakau Produksi (Nicotiana tabacum L.) di Kabupaten Jember mengalami penurunan. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2021) tahun 2019-2021 hasil produksi tembakau secara berurut sebesar 269,80 ribu/ton; 261,40 ribu/ton; 236,90 ribu/ton. Oleh karena itu, diperlukan suatu upaya untuk meningkatkan produksi tembakau. Secara umum tembakau di Indonesia dapat dibedakan menurut musim tanamnya, yang dibedakan menjadi dua jenis, yaitu: tembakau Na-Oogst dan tembakau Voor-Oogst. Salah satu jenis tembakau Na-Oogst yang ada di wilayah Besuki yaitu tembakau Besuki tradisional Na-Oogst (BesNOTRA).

Budidaya tembakau secara tradisional tidak dapat memenuhi permintaan karena budidaya pasar tembakau dengan biji menghasilkan karakteristik individu genetik yang heterogen karena tembakau bisa melakukan penyerbukan dan karakteristik genetik yang diwariskan tidak persis sama sama aslinya. Tingkat kematangan buah dari masing-masing tanaman tidak sama dan benih tidak dapat dipanen secara bersamaan. Selain itu, budidaya tembakau melalui biji, rentan terhadap penyakit. Salah satu alternatif untuk budidaya tembakau adalah melalui kultur jaringan.

Beberapa keuntungan dari budidaya tembakau melalui kultur jaringan adalah dapat diperolehnya bibit tembakau yang banyak dan memiliki sifat yang konsisten. Melalui metode kultur jaringan, tembakau bisa ditanam dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat dan menghasilkan keturunan yang sama seperti induknya. Budidaya tembakau dengan metode kultur jaringan dapat dilakukan kapan saja karena tidak bergantung pada musim (Desriatin, 2009).

Penelitian ini menggunakan zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin karena dapat meningkatkan perkembangan kultur sel tanaman serta pertumbuhan dan pembelahan. Sitokinin juga mengatur dengan baik proses pembusukan yang menyebabkan kematian sel tumbuhan dan menunda penuaan daun, bunga maupun buah. Penyemprotan sitokinin pada bunga berfungsi untuk menjaga kesegaran bunga. Selama pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama dengan auksin menghasilkan efek interaktif pada diferensiasi jaringan (Hendayrono dan Wijiyani, 2012).

Pendahuluan berisi latar belakang atau permasalahan pokok dan tujuan penelitian. Latar belakang merupakan alasan dilakukannya penelitian yang didukung landasan teori dan hasil penelitian terkini (*state of the art*) terutama dari acuan primer seperti jurnal, prosiding, skripsi, tesis, dan desertasi. Pendahuluan ditulis tidak melebihi 1000 kata.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember pada bulan Juli sampai dengan Desember 2022. Rancangan kegiatan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan 4 (empat) perlakuan, antara lain: K1 = BAP 0,0 ppm; K2 = BAP 0,5 ppm; K3 = BAP 1,0 ppm; K4 = BAP 1,5 ppm. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali, sehingga menghasilkan 20 unit percobaan.

Data berat segar kalus yang diperoleh dianalisis menggunakan (ANOVA). Jika terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilakukan analisis lanjutan menggunakan Uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat kepercayaan 5%.

# HASIL DAN PEMBAHASAN Persentase Kalus

Hasil pengamatan kalus yang muncul dari eksplan yang ditanam pada media dengan ZPT sitokinin 0 ppm sampai 1,5 ppm dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase pembentukan kalus

Two or it i discinuos pointe differentiali ituros	
Perlakuan	Persentase pembentukan kalus
	(%)
K1	0%
K2	3%
K3	5%
K4	8%

Keterangan: angka tersebut merupakan hasil dari persentase pembentukan kalus

Hasil dari perhitungan persentase kalus menunjukkan bahwa perlakuan pada perlakuan **K**1 hanya menghasikan persentase kalus 0%, perlakuan K2 kalus menghasilkan persentase 3%. perlakuan K3 menghasilkan persentase kalus 5%, perlakuan K4 menghasilkan persentase kalus 8%. Media penambahan BAP K1 (0 ppm) tidak mengalami pembentukan kalus hal ini dikarenakan komponen yang terkandung dalam media tidak ada zat pengatur tumbuh sehingga tidak dapat menginduksi pembentukan kalus dan menjadi perlakuan dengan nilai paling rendah karena tidak ada kalus yang muncul sampai pengamatan.

"Menurut (Anindiyati & Erawati, 2020) Konsentrasi sitokinin BAP dari 0,5 ppm sampai 1,5 ppm mampu merangsang pembentukan kalus karena sitokinin BAP merangsang pembelahan penggandaan kalus, mendorong proliferasi meristem dan mendorong ujung pembentukan klorofil kalus, Pembentukan Kalus terbentuk karena terjadi kerusakan yang disebabkan oleh eksplan sehingga sel-sel pada eksplan memperbaiki sel yang Lapisan sel mengencang rusak. menyebabkan sel membengkak membelah". Eksplan yang tumbuh pada 0,0 ppm hanya mengalami pembengkakan, tetapi pada konsentrasi lain semua eksplan berdiferensiasi membentuk kalus. Pertumbuhan dimungkinkan pada eksplan

yang 0,5 ppm sampai 1,5 ppm karena eksplan merespon dengan baik terhadap media tanam.

## Kriteria Kalus

Pengamatan kriteria kalus pada ini meliputi warna kalus dan tekstur kalus. *Warna kalus* 

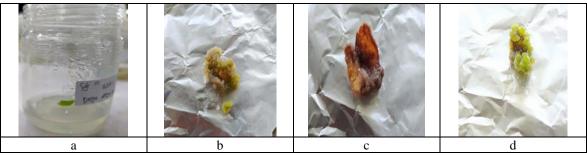
Pengamatan warna kalus menggambarkan penampakan visual sel kalus sehingga derajat pembelahan sel aktif diketahui. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mulai dari minggu keempat warna kalus yang terbentuk adalah warna putih. Pengamatan mulai minggu keempat sampai kedelapan kalus yang terbentuk berwarna putih. Mulai minggu kesepuluh, semua perlakuan menunjukkan warna kalus berubah menjadi coklat putih kekuningan.

Perubahan warna kalus menunjukkan perubahan tahap pertumbuhan sel dari sel muda dan aktif yang berwarna putih membelah menjadi sel dewasa yang berwana kuning. "Menurut (Rasud dan Bustaman, 2020) Perubahan warna pada kalus tersebut disebabkan karena adanya sintesis zat fenolik di dalam sel atau kalus".

## Tekstur Kalus

Tekstur kalus diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu kalus kompak (compact atau nonfriable), kalus sedang (intermediate), dan kalus remah (friabel). Berdasarkan hasil pengamatan, pemberian sitokinin jenis BAP pada konsentrasi (0,5 ppm - 1,5 ppm) menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. "Menurut (Rasud & Bustaman, 2020)

Pengamatan pada tekstur kalus yaitu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus dan mengetahui apakah sel masih aktif membelah atau sudah berhenti membelah".



Gambar 1. Menunjukkan tekstur dan warna dari kalus

Keterangan: Tekstur dan warna kalus tembakau. (a) Perlakuan K1, (b) Perlakuan K2, (c) Perlakuan K3, (d) Perlakuan K4. (Sumber: koleksi pribadi)

Penambahan konsentrasi BAP yang dihasilkan pada pengamatan ini tidak mempengaruhi tekstur kalus berpengaruh terhadap warna kalus. Pada konsentrasi ppm eksplan 1,5 menginduksi kalus lebih cepat daripada konsentrasi lainnya. Hal ini dikarenakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan atau digunakan pada eksplan untuk menginisiasi kalus sudah cukup tinggi, sehingga pada konsentrasi 1,5 ppm sudah mampu menginduksi terbentuknya kalus. Menurut (Purba et al., 2017) yang menyatakan bahwa konsentrasi paling baik untuk menginduksi kalus pada tanaman tembakau adalah 1,5 ppm".

## Berat Segar Kalus

Berat segar kalus yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik Hasil analisis statistik ragam. menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh penambah terhadap berat segar kalus. Adapun rata rata berat segar kalus pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Setelah diperoleh data berat basah kalus selanjutnya dilakukan analisa data dengan menggunakan analisa sidik ragam dan diperoleh hasil bahwa pemberian BAP tidak memberikan pengaruh terhadap berat segar kalus. Tetapi, jika dilihat berdasarkan rata-rata berat segar kalus. Maka secara berikut ratarata berat segar kalus dari yang paling besar ke terkecil adalah K4,K2,K3,K1.

Tabel 2. Rata-rata berat segar kalus

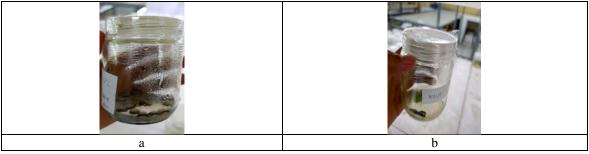
Rata-rata berat segar kalus (gr)
0gr
0,372gr
0,26gr
0,532gr
49%

Keterangan: Hasil dari penghitungan rata rata berat segar kalus K1)0,0 ppm, K2)0,5 ppm, K3)1,0 ppm, K4)1,5 ppm

Dari hasil perhitungan rata-rata berat segar kalus pada perlakuan konsentrasi K1 menghasilkan rata-rata 0% dam hanya mengalami pembengkakakn saia. perlakuan pada K2 konsentrasi menghasilkan rata-rata 0,372 gr, perlakuan pada konsentrasi K3 menghasilkan ratarata 0,26 gr, Meskipun terjadi kontaminasi, yang ditambahkan masih konsentrasi mampu merangsang aktivitas enzim metabolik pada eksplan sehingga memungkinkan terbentuknya kalus, perlakuan konsentrasi K4 menghasilkan rata-rata paling tinggi yaiut 0,532 gr. Media dengan konsentrasi 1,5 ppm (K4) dapat menghasilkan kalus dengan berat segar tertinggi. Hal ini karena pemberian konsentrasi BAP 1,5 ppm pada media menyeimbangkan konsentrasi sitokinin yang terkandung dalam eksplan. Diketahui bahwa "menurut (Purba dkk, 2017) keseimbangan konsentrasi sitokinin dalam kultur in vitro merangsang pembentukan kalus melalui interaksi ekspansi dan pembelahan sel". Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, terdapat beberapa eksplan

yang pertumbuhannya terhambat. Faktor tersebut disebabkan oleh kontaminasi yang merupakan kendala umum yang sering dijumpai dalam perbanyakan kultur in vitro. Beberapa kontaminan seperti jamur dan bakteri ditemukan dalam pengamatan

ini. Munculnya jamur dan bakteri pada permukaan media dapat menghambat pertumbuhan eksplan, bahkan kontaminasi tersebut dapat menyebabkan kematian pada eksplan tersebut. Dapat dilihat pada Gambar 2.



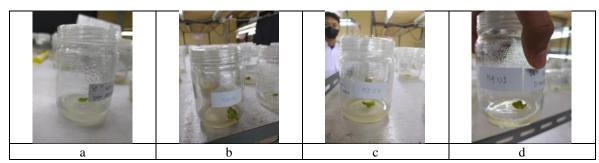
Gambar 2. Sampel kontaminasi jamur dan bakteri pada penelitian tersebut Keterangan: eksplan yang terkontaminasi jamur dan eksplan yang terkontaminasi oleh bakteri.

"Menurut (Karunia Illahi dkk, 2022) Perbedaan antara kedua jenis kontaminasi antara bakteri dan jamur ini dapat dilihat dengan ciri fisik yang terlihat di sekitar eksplan atau media. Jika eksplan yang kontaminasi oleh bakteri tampak basah dan berlendir sedangkan kontaminasi yang ditimbulkan oleh jamur eksplan mengering dan muncul hifa yang ditandai dengan garis-garis putih". Selain beberapa faktor kontaminasi yang telah disebutkan di atas, faktor sterilitas ruang iuga dapat menyebabkan kontaminasi. "Menurut (Nadhifah, 2020) ruang yang sudah steril bisa menjadi tidak steril saat musim hujan, ketika bakteri dan jamur dapat menyerang dari luar dan meningkatkan kelembapan

sehingga mempercepat perkembangan mikroorganisme".

Pertumbuhan dan perkembangan

Pengamatan pertumbuhan dan perkembangan kalus merupakan salah satu indikator penentu dalam pelaksanaan jaringan tanaman tembakau. Parameter ini diamati secara visual dari luar botol saat kalus yang tumbuh di permukaan daun tembakau diamati dari awal setelah inokulasi sampai minggu ke-12. Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu sekali, sehingga menemukan perbedaan tidaklah sulit. Eksplan tembakau mulai timbul kalus pada minggu ke-4, ditandai dengan munculnya bercak-bercak putih yang tumbuh langsung di sekitar daun.



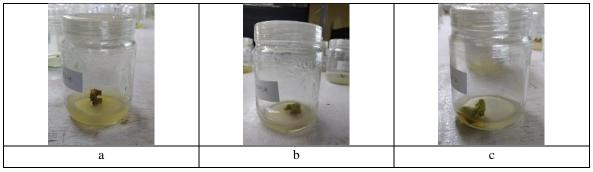
Gambar 3. merupakan kalus yang baru tumbuh

Keterangan: eksplan daun tembakau mulai membengkak dan mulai muncul kalus. a konsentrasi 0,0, b)konsentrasi 0,5 ppm, c) konsentrasi 1,0 ppm, d) konsentrasi 1,5 ppm

Kalus yang muncul di permukaan eksplan ditandai dengan munculnya jaringan berwarna putih pada irisan eksplan dan sayatan pada permukaan eksplan yang kemudian berkembang menjadi bercak-bercak bening kecil dan agregat kalus. Eksplan membengkak dan berubah warna dari putih kekuningan

menjadi cokelat menunjukkan bahwa kalus muncul dari eksplan yang ditanamkan.

Pada umur 8 minggu setelah tanam pada media diperoleh kalus dengan tekstur kompak dan padat, berwarna putih kekuningan, kecoklatan dan bening serta agak cair dan berwarna hijau. Dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Pertumbuhan dan perkembangan kalus pada perlakuan (a) 0,5 ppm, (b) 1,0 ppm, (c) 1,5 ppm menggunakan media sitokinin jenis BAP Keterangan: pertumbuhan dan perkembangan eksplan daun tembakau

Kalus berwarna hijau ini ditandai dengan adanya kalus yang kaya klorofil akibat pemberian sitokinin terutama jenis BAP yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus dan faktor lingkungan yaitu paparan cahaya. Pada pembentukan kalus, kondisi gelap atau terang tampaknya tidak mempengaruhi pembentukan kalus, tetapi kondisi kalus berpengaruh. Tekstur kalus yang didapatkan dengan perlakuan BAP berupa kalus yang kompak sesuai dengan pernyataan "Menurut Nisak et al., (2012) bahwa tekstur kalus yang kompak sitokinin adalah efek dari berpengaruh terhadap potensi air sel". Hal ini berlanjut sampai potensi air dan potensi osmotik seimbang. "Menurut (Sugiyarto & Kuswandi, 2014) Penambahan sitokinin mempengaruhi pembelahan sel sehingga pembentukan dinding sel lebih cepat dan kalus terkompresi.. Pada bagian bawah kalus juga tampak berair, hal ini dikarenakan permukaan bawah bersentuhan langsung dengan media dan berperan sebagai area penyerapan media".

#### **KESIMPULAN**

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dapat Penambahan zpt sitokinin tidak berpengaruh nyata terhadap induksi kalus N. Tabacum; Penambahan zpt sitokinin perlakuan K4(1,5)ppm) memberikan nilai vang lebih baik dibanding perlakuan K1 (0,0 ppm), K2 (0,5 ppm) dan K3 (1,0 ppm).

## DAFTAR PUSTAKA

Ali, M., & Hariyadi, B. W. 2018. Teknik Budidaya Tembakau. *Universita Merdeka Surabaya*.

Anindiyati, I., & Erawati, D. N. 2020. Induksi Tunas Tembakau (Nicotiana tabacum L) Varietas Kasturi 2 dengan Variasi Konsentrasi BAP secara In Vitro. Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences, 4(1), 18–25.

Badan Pusat Statistik. 2021. *Produksi Tanaman Perkebunan* (pp. 1–2). https://bps.go.id/indicator/54/132/1/p roduksi-tanaman-perkebunan.html

Desriatin, N. L. 2009. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan

- Kinetin Terhadap Morfogenesis Pada Kultur In Vitro Tanaman Tembakau (Nicotiana tabacum L. var. Prancak-95). *Kultur Jaringan Tembakau*.
- Dyah Nuning Erawati, U. F. dan S. H. P. B.
  A. P. pada I. T. R. O. B. A. P. on C. F.
  I. T. W. B. 2017. Peran Benzyl Amino
  Purine pada Induksi Tunas Kultur
  Tembakau White Burley The Role Of
  Benzyl Amino Purine on Culture Full
  Induction Tobacco White Burley. Staf
  Pengajar Produksi Tanaman
  Perkebunan, Politeknik Negeri
  Jember Jalan Mastrip Kotak Pos 164
  Jember Abstract, 17, 127–131.
- Eurika, N., & Hapsari, A. I. 2017. Analisis Potensi Tembakau Na Oogst sebagai Sumber Belajar Biologi. *Jurnal Biologi Dan Pembelajaran Biologi*, 2(2), 11–22. http://jurnal.unmuhjember.ac.id/inde x.php/BIOMA/article/view/824
- Hendayrono dan Wijiyani. 2012. Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif-Modern. Kanisius.
- Karunia Illahi, A., Ratnasari, E., Dewi, S. K., Biologi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., & Surabaya, N. (2022). Pengaruh 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Diospyros discolor Willd pada Media MS secara in Vitro The Effect of 2,4-D on Callus Growth of Diospyros discolor Willd in Media MS in Vitro. 11, 369–377. https://journal.unesa.ac.id/index.php/l enterabio/index369
- Kusdianti, R. 2014. Morfologi Tumbuhan. *Penuntun Praktikum Morfologi Tumbuhan*.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., dan Sari, Y. 2016. Callus Induction of Calamansi (Citrus microcarpa) Using 2,4-D and BAP Hormones by in vitro Methods. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84–89. https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84

- Nadhifah, L. R. 2020. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (Nicotiana tabacum L) var. Kemloko Secara In Vitro. In Molecules (Vol. 2, Issue 1).
- Parmana, D. 2015. Pengaruh Konsentrasi 2.4-D Hormon (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (Nicotiana tabacum L.) Melalui Kultur In Vitro. In Digital Resposotory Universitas Jember. http://repository.unej.ac.id/bitstream/ handle/123456789/65687/110210103 033 Deni
  - Parmana.pdf?sequence=1&isAllowe d=v
- Purba, R. V., Yuswanti, H., & Astawa, I. N. G. 2017. Induksi Kalus Eksplan Daun Tanaman Anggur (Vitis vinivera L.) dengan Aplikasi 2,4-D Secara In Vitro. Jurnal Agroekoteknologi Tropika (Journal of Tropical Agroecotechnology),
- Rasud, Y., & Bustaman. 2020. Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (Syizigium aromaticum L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia, 25(1), 67–72.
- 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.
- Unswagati, H. 2013. Pengertian, Tahapan, Macam-macam dan Manfaat Kultur Jaringan.
- Widyastuti, N dan Deviyanti, J. 2018. *Kltur Jaringan Teori dan Praktik Perbanyakan Tanaman Secara In-Vitro*. Andi Yogyakarta.
- Yelnititis 2012. (n.d.). Pembentukan Kalus Remah Dari Eksplan Daun Ramin ( Gonystylus bancanus (Miq) Kurz.) [ Friable callus induction from leaf

explant of ramin ( Gonystylus bancanus ( Miq ) Kurz .)] Yelnititis Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan e.