

**EFFECT OF GIVING 2,4-D (DICLORO FENOKSIASETAT)
HORMONE AND BAP (BENZYL AMINO PURIN) TOWARDS THE
DEVELOPMENT OF KALUS JERUK KUOK (*Citrus Nobilis Lour*) AS
A MODULE PROGRAMME OF LEARNING BIOLOGY IN SENIOR
HIGH SCHOOL.**

Sri Eggi Lesmanawati¹, Imam Mahadi², Wan Syafi'i³

e-mail: srieggilesmanawati@gmail.com , i_mahadi@yahoo.com, wansya_ws@yahoo.com
phone: +6282381547998

*Biology Education Study Program,
Faculty of Teacher Training and Education
University of Riau*

Abstract: *This study aimed to determine the effect of the hormone combination with 2,4-D and BAP on callus growth Jeruk kuok (*Citrus nobilis Lour*) and to generate learning module design in senior high school biology. This study used a Factorial Completely Randomized Design from 5 x 4 with three replications. The first factor of 2,4-D (D) consists of 5 levels: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, 3 mgL⁻¹, and 4 mgL⁻¹. The second factor of BAP (B) consists of levels: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, and 3 mgL⁻¹. The parameters measured were the time appeared callus, percentage of callus, callus width and texture of the callus. Data were analyzed using ANAVA and tested further with DMRT at 5% level. The results showed that the effect of 2,4-D and BAP significantly influenced the growth of Jeruk Kuok. The combination of 2,4-D and BAP showed the fastest callus in treatment of D₄B₂ compared to treatment D₀B₀. The combination of 2,4-D and BAP indicated that 8 treatments had a 100% live percentage value of D₃B₀, D₃B₁, D₃B₂, D₃B₃, D₄B₀, D₄B₁, D₄B₂, and D₄B₃. The combination of 2,4-D and BAP shows the highest rate of callus width at D₃B₂ treatment. The combination of 2,4-D and BAP shows the best callus texture on the treatment of D₂B₃, D₃B₀, D₃B₁, and D₃B₂. The best treatment of the combination of 2,4-D and BAP hormones is in the treatment of D₂B₃ to produce embryogenic callus so that it can be used for cell suspension cultures. The results of this study can be used as the design of learning resources in the form of modules in the concept of modern biotechnology high school class XII.*

Keywords: *2,4-D, BAP, Callus cultures, Module*

**PENGARUH PEMBERIAN HORMON 2,4-D (DIKLORO
FENOKSIASETAT) DAN BAP (BENZYL AMINO PURIN)
TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS JERUK KUOK (*Citrus
nobilis* Lour) SEBAGAI RANCANGAN MODUL
PEMBELAJARAN BIOLOGI DI SMA**

Sri Eggi Lesmanawati¹, Imam Mahadi², Wan Syafi'i³

e-mail: srieggilesmanawati@gmail.com , i_mahadi@yahoo.com, wansya_ws@yahoo.com
phone: +6282381547998

Program Studi Pendidikan Biologi,
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Riau

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) dan untuk menghasilkan rancangan modul pada pembelajaran Biologi di SMA. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktorial dari 5 x 4 dengan tiga ulangan. Faktor pertama 2,4-D (D) terdiri dari 5 level: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, 3 mgL⁻¹, dan 4 mgL⁻¹. Faktor kedua BAP (B) terdiri dari level: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, dan 3 mgL⁻¹. Parameter yang diukur adalah waktu muncul kalus, persentase jumlah kalus, lebar kalus dan tekstur kalus. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA dan diuji lebih lanjut dengan DMRT pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan pengaruh 2,4-D dan BAP secara signifikan mempengaruhi pertumbuhan kalus Jeruk Kuok. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan muncul kalus tercepat pada perlakuan D₄B₂ dibandingkan perlakuan D₀B₀. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan bahwa 8 perlakuan memiliki nilai persentase hidup 100% yaitu D₃B₀, D₃B₁, D₃B₂, D₃B₃, D₄B₀, D₄B₁, D₄B₂, dan D₄B₃. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan rerata lebar kalus tertinggi yaitu pada perlakuan D₃B₂. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan tekstur kalus terbaik pada perlakuan D₂B₃, D₃B₀, D₃B₁, dan D₃B₂. Perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang terbaik adalah pada perlakuan D₂B₃ untuk menghasilkan kalus embriogenik sehingga dapat digunakan untuk kultur suspensi sel. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai rancangan sumber belajar dalam bentuk Modul dalam konsep bioteknologi modern kelas XII SMA.

Kata kunci: 2,4-D, BAP, Kultur Kalus, Modul.

PENDAHULUAN

Salah satu jenis jeruk lokal yang sangat digemari konsumen adalah jeruk kuok yang sering disebut dengan jeruk kuok. Kabupaten Kampar pada awal tahun 2002 merupakan sentra penghasil jeruk terbesar di Provinsi Riau dengan jenis *Citrus nobilis* Lour. yang lebih dikenal dengan nama jeruk kuok (Sri Cahyati et al, 2016). Perbanyak jeruk kuok memiliki kendala karena adanya berbagai penyakit sehingga produksi jeruk kuok semakin menurun. Pengadaan bibit jeruk kuok asal Kampar perlu penanganan tersendiri karena secara konvensional memerlukan waktu yang relatif lama dan menghasilkan jumlah bibit yang sedikit (Nurul Hidayati dkk, 2014).

Kultur jaringan merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mendapatkan bibit tanaman unggul yang banyak dan dalam waktu yang singkat. Menurut Gunawan (1992) kultur jaringan merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan dan organ dalam medium aseptik sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi membentuk tanaman lengkap kembali. Semua jaringan pada tumbuhan dapat dijadikan objek kultur jaringan, salah satunya adalah kalus yang nantinya disebut kultur kalus. Kalus merupakan kumpulan sel tanaman yang belum berdiferensiasi namun secara genetik bersifat poliplodi, yaitu perubahan genetik (Imam Mahadi, 2012).

Kegiatan penelitian nantinya akan dimanfaatkan sebagai rancangan di dalam pembuatan modul yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan ajar dalam mata pelajaran biologi kelas XII SMA pada Kompetensi Dasar (KD) 3.1 menganalisis hubungan antara faktor internal dan eksternal dengan proses pertumbuhan dan perkembangan pada makhluk hidup berdasarkan hasil percobaan dan KD 3.10 yaitu memahami tentang prinsip-prinsip bioteknologi yang menerapkan bioproses dalam menghasilkan produk baru untuk meningkatkan kesejahteraan manusia dalam berbagai aspek kehidupan. Modul dijadikan sebagai sumber belajar pendukung dalam proses pembelajaran karena kegiatan praktikum kultur jaringan masih jarang dilakukan di sekolah disebabkan oleh keterbatasan fasilitas sarana prasarana laboratorium. Oleh karena itu, diperlukan rancangan sumber belajar berupa modul sehingga membantu peserta didik untuk memahami konsep kultur jaringan khususnya kultur kalus.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri atas 2 tahap, yaitu tahap pertama kultur kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) dilakukan dilabor Bioteknologi Universitas Islam Riau, sedangkan tahap kedua, perancangan modul dilakukan di kampus Universitas Riau pada bulan April - Agustus 2017. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol kultur, spatula, pengaduk, gelas piala, cawan petri, gelas ukur, timbangan analitik, pH meter digital, autoclave, laminar air flow cabinet yang dilengkapi dengan lampu UV, ruang inkubasi yang dilengkapi dengan AC, alat diseksi seperti pinset, pisau, dan scapel, lampu spiritus, hand sprayer, rak kultur dengan lampu 2000 lux, kamera, pipet tetes, pipet mikro, pipet ukur, kompor, kertas label, dan panci, sedangkan bahan yang digunakan bibit *ex vitro* jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) yang telah dikultur, media MS (Murashige dan Skoog), agar-agar swallow 7 gr/l, sukrosa 30 gr/l, tween 80, fungisida, larutan bayclin, hormon 2,4-D dan BAP, alkohol 96%, aquades steril, NaOH 0,1 N dan

HCl 0,1 N, karet gelang, tissue gulung, dan plastik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktorial dari 5 x 4 dengan 3 ulangan sehingga terdapat 60 unit percobaan. Faktor pertama 2,4-D (D) terdiri dari 5 level: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, 3 mgL⁻¹, dan 4 mgL⁻¹. Faktor kedua BAP (B) terdiri dari level: 0 mgL⁻¹, 1 mgL⁻¹, 2 mgL⁻¹, dan 3 mgL⁻¹. Parameter yang diukur adalah waktu muncul kalus, persentase jumlah kalus, lebar kalus dan tekstur kalus. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA dan diuji lebih lanjut dengan *DMRT* pada taraf 5%. Langkah perancangan moul menggunakan model ADDIE (*Analysis, Design, Development, Implementation dan Evaluation*) namun, pada penelitian ini hanya dilaksanakan sampai tahap *design*. Hasil penelitian kultur kalus akan dijadikan sebagai rancangan modul dalam pembelajaran biologi materi Bioteknologi modern kelas XII SMA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini mengukur waktu muncul kalus, persentase jumlah kalus, lebar kalus dan tekstur kalus. Adapun penjabaran hasil parameter yang diukur adalah sebagai berikut:

1. Waktu muncul kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour)

Hasil pengamatan terhadap laju pertumbuhan muncul tunas embrio jeruk kuok menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata. Berdasarkan tabel anava, parameter waktu muncul kalus menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel yaitu 35,96 lebih besar dari 1,58 pada uji lanjut *DMRT* taraf 5 %, sehingga H₁ diterima dan H₀ ditolak. Rerata waktu muncul kalus jeruk kuok dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Rerata Waktu Muncul Kalus yang tumbuh pada Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) dengan kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP (HSK).

Parameter	Perlakuan 2,4-D dan BAP				
	B0	B1	B2	B3	
Waktu Muncul Kalus	D0	9,67 lmn	10,33 no	11,33 o	11 no
	D1	7,33 ghij	7,67 hijk	8 ijkl	8,67 jklm
Kalus	D2	6,33 efgh	6 defg	6 defg	6,67 fghi
	D3	6 defg	5,67 de	5 cd	4,67 bcd
	D4	4 abc	3,67 ab	3,33 a	3,33 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap baris menunjukkan beda nyata pada taraf 5% pada uji wilayah berganda Duncan $\alpha = 0,05$ D = 2,4-D B = BAP

Pada Tabel 1. data yang diperoleh menunjukkan waktu muncul kalus yang paling cepat terdapat pada perlakuan D₄B₂ dan D₄B₃ yaitu 33,33 HSK. Hal ini disebabkan karena pengaruh penambahan 2,4-D dalam media ternyata efektif untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan semakin meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Auksin berupa 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air,

menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1982).

Rerata waktu muncul kalus yang paling lama terdapat pada perlakuan D_0B_2 yaitu 11,33 HSK yang jenis eksplannya adalah batang seperti yang terlihat pada Gambar 1. Ini berarti kalus muncul pada waktu yang lama hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut ditambahkan 2 mgL^{-1} BAP saja, sehingga belum optimal untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Hal ini dapat dibuktikan dengan peningkatan konsentrasi hormon yang ditambahkan dalam media dapat meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Hormon endogen tersebut juga mampu memacu sel untuk berkembang dan memperbanyak diri tetapi waktu yang dibutuhkan cenderung lama yaitu 12 HSK karena jumlah hormon yang tidak tersedia secara pasti. Hal ini membuktikan bahwa terbentuknya kalus sangat dipengaruhi oleh peran jenis zat pengatur tumbuh. Menurut Zulfiqar (2009) kondisi tersebut membuktikan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari hormon yang ada dalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media.



Gambar 1. Kalus yang terbentuk pada perlakuan D_0B_2 yaitu 11,33 HSK

2. Persentase jumlah kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour)

Persentase jumlah kalus dari hasil analisis varians menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata. Berdasarkan tabel anava, parameter persentase jumlah kalus jeruk kuok menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel yaitu 14,88 lebih besar dari 1,85 pada uji lanjut *DMRT* taraf 5 %, sehingga H_1 diterima dan H_0 ditolak. Rerata persentase jumlah kalus jeruk kuok dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rerata Persentase Jumlah Kalus pada Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) dengan kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP

Parameter	Perlakuan 2,4-D dan BAP				
		B0	B1	B2	B3
Persentase	D0	0 a	0 a	0 a	16,67 ab
	D1	50 cde	50 cde	33,33 bc	41,67 bcd
Jumlah	D2	66,66 def	66,66 def	83,33 fg	83,33 fg
Kalus	D3	100 gh	100 gh	100 gh	100 gh
	D4	100 gh	100 gh	100 gh	100 gh

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap baris menunjukkan beda nyata pada taraf 5% pada uji wilayah berganda Duncan $\alpha = 0,05$ D = 2,4-D B = BAP

Pada Tabel 2. dapat dilihat bahwa hampir semua perlakuan yaitu $D_3B_0 - D_4B_3$ menunjukkan persentase tumbuh eksplan mencapai 100%, hal ini disebabkan karena eksplan yang digunakan adalah jaringan muda yang memiliki sifat maristematik yang memiliki hormon endogen yang aktif membelah dan kemudian dikombinasikan dengan hormon eksogen dari kelompok auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) namun, yang paling berperan adalah auksin karena jika dilihat, bahwa perlakuan tanap hormon auksin seperti D_0B_0 , D_0B_1 , D_0B_2 , dan D_0B_3 tidak menghasilkan kalus. Menurut Imam Mahadi (2016) hormon auksin sangat berperan dalam proses merangsang pembelahan sel tanaman.

Untuk rerata persentase jumlah kalus yang paling rendah ada pada perlakuan D_0B_0 yaitu kontrol yang berarti tidak ada penambahan kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D dan BAP yaitu dengan rerata persentase 0% hal ini disebabkan karena pengaruh hormon endogen yang terdapat pada eksplan itu sendiri sehingga mampu mendorong terbentuknya kalus dalam persentase yang kecil seperti dilihat pada Gambar 2. Oleh karena itu tingkat rerata pertumbuhan kalus tidak terlalu tinggi. Sedangkan pada perlakuan D_2B_3 tingkat rerata persentase jumlah kalus lebih tinggi yaitu sekitar 83,33 % hal ini disebabkan karena pemberian hormon BAP konsentrasinya lebih tinggi dari perlakuan D_2B_0 yaitu 66,66%.



Gambar 2. Eksplan Kalus yang terbentuk pada perlakuan D_0B_0 (kontrol)

3. Lebar kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour)

Hasil analisis untuk parameter lebar kalus yang terbentuk menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata. Berdasarkan tabel anava, parameter muncul tunas F hitung lebih besar dari F tabel yaitu tabel yaitu 11,02 lebih besar dari 1,77 pada uji lanjut *DMRT* taraf 5 %, sehingga H_1 diterima dan H_0 ditolak. Rerata lebar kalus jeruk kuok dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata Lebar Kalus pada Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) dengan kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP (cm)

Parameter	Perlakuan 2,4-D dan BAP				
	B0	B1	B2	B3	
Lebar kalus	D0	0,40 c	0,37 b	0,37 b	0,30 a
	D1	0,87 j	0,9 k	0,93 l	0,97 m
	D2	0,87 j	0,9 k	0,93 l	0,97 m
	D3	0,53 e	0,57 f	0,97 m	0,40 c
	D4	0,73 g	0,80 h	0,83 i	0,87 j

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap baris menunjukkan beda nyata pada taraf 5% pada uji wilayah berganda Duncan $\alpha = 0,05$ D = 2,4-D B = BAP

Dari Tabel 3. menunjukkan bahwa rerata lebar kalus Jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) berkisar dari 0,30 cm sampai dengan 0,97 cm hal ini disebabkan karena perbedaan konsentrasi hormon auksin dan sitokinin yang diberikan jika konsentrasi auksin lebih besar dari pada sitokinin maka kalus akan terbentuk, sedangkan jika konsentrasi sitokinin yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi auksin maka yang terbentuk bukanlah kalus, melainkan tunas. Dari tabel tersebut dilihat dari reratanya, kombinasi perlakuan dengan lebar kalus tertinggi terdapat pada perlakuan 3 mgL^{-1} 2,4-D dan 2 mgL^{-1} BAP dengan lebar kalus 0,97 cm hal ini dikarenakan pemberian hormon 2,4-D lebih banyak, sesuai dengan pendapat Indah dan Ermavitalini (2013) bahwa hormon 2,4-D sebagai hormon tunggal mampu menginduksi kalus paling banyak dibandingkan dengan hormon BAP dan lebar kalus terendah terdapat pada perlakuan D_0B_3 dengan lebar kalus 0,30 cm.

Pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal. Dengan demikian, semakin cepat sel-sel dalam memanfaatkan hormon pertumbuhan, maka semakin cepat pula terjadi peningkatan jumlah sel-sel tersebut. Hal ini akan menambah lebar kalus terutama pada perlakuan D_3B_2 (Gambar 3). Pertumbuhan kalus dapat mengarah ke pembentukan tunas *adventitious* jika perlakuan mengarah pada tingginya konsentrasi sitokinin berbanding auksin dan ini dapat membentuk pucuk (Balilashaki *et al.* 2015)



Gambar 3. Lebar Kalus yang terbentuk pada perlakuan D_3B_2

4. Tekstur kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour)

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus yang baik diasumsikan memiliki tekstur remah (*friable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena akan membentuk kalus embriogenik, yaitu kalus yang mengarah menjadi pembentukan embrio somatic. Berdasarkan hasil pengamatan, dilihat dari Tabel 4 tekstur kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan umumnya adalah bertekstur remah dengan warna yang bervariasi.

Tabel 4. Tekstur Kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour)

Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP (mg/l)	Tekstur kalus
D_0B_0 (0 mgL^{-1} 2,4-D + 0 mgL^{-1} BAP)	Kompak, berwarna hijau
D_0B_1 (0 mgL^{-1} 2,4-D + 1 mgL^{-1} BAP)	Kompak, berwarna hijau
D_0B_2 (0 mgL^{-1} 2,4-D + 2 mgL^{-1} BAP)	Kompak, berwarna hijau
D_0B_3 (0 mgL^{-1} 2,4-D + 3 mgL^{-1} BAP)	Kompak, berwarna hijau
D_1B_0 (1 mgL^{-1} 2,4-D + 0 mgL^{-1} BAP)	Kompak, berwarna hijau
D_1B_1 (1 mgL^{-1} 2,4-D + 1 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_1B_2 (1 mgL^{-1} 2,4-D + 2 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_1B_3 (1 mgL^{-1} 2,4-D + 3 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_2B_0 (2 mgL^{-1} 2,4-D + 0 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_2B_1 (2 mgL^{-1} 2,4-D + 1 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_2B_2 (2 mgL^{-1} 2,4-D + 2 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kehijauan
D_2B_3 (2 mgL^{-1} 2,4-D + 3 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kekuningan
D_3B_0 (3 mgL^{-1} 2,4-D + 0 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kekuningan
D_3B_1 (3 mgL^{-1} 2,4-D + 1 mgL^{-1} BAP)	Remah, berwarna putih kekuningan

D ₃ B ₂ (3 mgL ⁻¹ 2,4-D + 2 mgL ⁻¹ BAP)	Remah, berwarna putih kekuningan
D ₃ B ₃ (3 mgL ⁻¹ 2,4-D + 3 mgL ⁻¹ BAP)	Kompak, berwarna kuning
D ₄ B ₀ (4 mgL ⁻¹ 2,4-D + 0 mgL ⁻¹ BAP)	Kompak, berwarna kuning
D ₄ B ₁ (4 mgL ⁻¹ 2,4-D + 1 mgL ⁻¹ BAP)	Kompak, berwarna coklat
D ₄ B ₂ (4 mgL ⁻¹ 2,4-D + 2 mgL ⁻¹ BAP)	Kompak, berwarna coklat
D ₄ B ₃ (4 mgL ⁻¹ 2,4-D + 3 mgL ⁻¹ BAP)	Kompak, berwarna coklat

Berdasarkan tabel 4, dapat dilihat bahwa kalus dengan tekstur remah merupakan kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang mudah lepas yaitu pada perlakuan D₁B₁, D₁B₂, D₁B₃, D₂B₀, D₂B₁, D₂B₂, D₂B₃, D₃B₀, D₃B₁, dan D₃B₂. Terbentuknya kalus yang bertekstur remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Ini berarti tekstur kalus yang rapuh dihasilkan dari kombinasi hormon auksin dan sitokinin. Andaryani dalam Luluk Wahyuningtiyas dkk (2014) menyatakan bahwa kalus remah yang terbentuk pada eksplan, ikatan antar selnya tampak renggang, mudah dipisahkan dan jika di ambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan ada yang menempel pada pinset. kalus remah terlihat memiliki sel-sel yang kecil dan bergerombol dan jika diambil sel-selnya mudah lepas.

Menurut Dian (2004), warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik. Warna hijau disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi 2,4-D dan BAP yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Leupin (2000) bahwa perubahan warna kalus menjadi putih kehijauan, kemungkinan pada sel kalus sudah mulai terbentuk klorofil.

Pertumbuhan kalus Jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) semakin menurun dan tidak bertahan lama kemudian mati secara perlahan pada minggu ke 7 yang diawali dengan gejala perubahan warna menjadi coklat (*browning*). Hal ini diduga karena selama masa perkembangannya kalus yang semakin lama berada pada media tanam akan mengalami degradasi fisiologis atau penurunan tingkat fisiologi tanaman akibat kekurangan unsur hara atau hormon tumbuhnya sehingga kalus menunjukkan ciri ketuaan pada sel sehingga menyebabkan warna kalus berubah menjadi coklat (*browning*).

5. Kalus Embriogenik

Kalus embriogenik adalah kumpulan sel-sel yang mulai terjadi proliferasi yang akan membentuk embrio somatik akibat dari sifat totipotensi sel tumbuhan yaitu kemampuan sel dalam berdiferensiasi yang mengarah pada pembentukan embrio. Agar kalus dapat digunakan sebagai bahan awal suspensi adalah sel kalus yang embriogenik mempunyai ciri-ciri tekstur kalus remah dan mudah terurai, warna kalus putih hingga kuning, tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik, dan sel-selnya mudah berkembang biak (Imam Mahadi, 2011). Sedangkan kalus yang non embriogenik berwarna kuning kecoklatan, agak pucat dan lembek berair sehingga sulit dipisahkan (Peterson & Smith, 1991). Dalam hal ini, kalus yang berstruktur kompak diindikasikan sebagai kalus yang tidak embriogenik (*non friable*).

Untuk mendapatkan kalus yang embriogenik, kita dapat melakukan subkultur secara berulang sehingga akan didapat kalus yang memiliki struktur yang lebih remah. Pada umumnya kalus remah dapat dihasilkan secara langsung dari berbagai jenis tanaman dan tipe eksplan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan 2,4-D menjadi 2 mgL⁻¹ dan dikombinasikan dengan BAP memberikan respon yang paling baik terhadap kalus yang dikulturkan. Tabel 4.4, memperlihatkan persentase kalus remah yang dihasilkan dari semua perlakuan yang diuji yaitu mencapai 50%. Perlakuan kombinasi 2 mgL⁻¹ 2,4-D dikombinasikan dengan BAP 3 mgL⁻¹ menghasilkan kalus remah dengan visual yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kalus yang dihasilkan dari perlakuan ini sangat remah dan mudah dipisahkan dan kandungannya sedikit (Gambar 4).



Gambar 4. Kalus yang memiliki tekstur remah pada perlakuan D₂B₃

Penambahan 2,4-D dalam media ternyata efektif untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan semakin meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Auksin berupa 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1982). Struktur kalus remah sangat berkolerasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai. Untuk mendapatkan kalus yang embriogenik, kita dapat melakukan subkultur secara berulang sehingga akan didapat kalus yang memiliki struktur yang lebih remah (Kristina, 2008).

Analisis Potensi dan Pengembangan Rancangan Modul Pembelajaran dari Hasil Penelitian

Hasil penelitian tentang kultur kalus jeruk kuok (*Citrus nobilis* Lour) berpotensi sebagai modul pembelajaran pada konsep bioteknologi modern kelas XII materi kultur jaringan khususnya kultur kalus. Berikut merupakan tabel analisis kompetensi dasar yang berkaitan dengan hasil penelitian.

Tabel 5. Analisis Kompetensi Dasar yang berkaitan dengan hasil penelitian

Satuan Pendidikan	Kelas	Kompetesi Dasar	Uraian Materi	Potensi Pengembangan
SMA	XI	3.3 Menganalisis keterkaitan antara struktur sel pada jaringan tumbuhan dengan fungsi organ pada tumbuhan.	Jaringan Tumbuhan	LKPD
	XII	3.1 Menjelaskan pengaruh factor internal dan factor eksternal terhadap pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup.	Pertumbuhan dan Perkembangan	Modul
	XII	3.10.Menganalisis prinsip-prinsip Bioteknologi dan penerapannya sebagai upaya peningkatan kesejahteraan manusia.	Bioteknologi	Modul

Dapat dilihat pada Tabel 5. analisis diperoleh 3 kompetensi dasar yang berpotensi sebagai rancangan sumber belajar sesuai dengan hasil penelitian ini yaitu KD 3.3 di kelas XI, KD 3.1 di kelas XII semester 1 dan KD 3.10 kelas XII semester 2. Pada KD 3.3 kelas XI, penelitian tentang kultur kalus ini berkaitan dengan struktur jaringan dan fungsi organ tumbuhan pada KD 3.1 kelas XII semester 1, berkaitan dengan hubungan antara faktor internal dan eksternal dengan proses pertumbuhan dan perkembangan pada makhluk hidup sedangkan pada KD 3.10 kelas XII semester 2 berkaitan dengan prinsip-prinsip bioteknologi yang menerapkan bioproses dalam menghasilkan produk baru untuk meningkatkan kesejahteraan manusia. KD yang paling berkaitan dengan penelitian ini yakni, 3.1 dan 3.10 dimana pada penelitian ini dapat diketahui pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan serta faktor-faktor yang mempengaruhinya melalui percobaan kultur jaringan. Dari keterkaitan KD 3.1 kelas XII dan KD 3.10 kelas XII maka bahan ajar yang berpotensi untuk dikembangkan yaitu berupa modul untuk Pembelajaran Biologi di SMA, dari analisis KD tersebut dapat dijadikan acuan dalam tahap perancangan modul pembelajaran Biologi di SMA.

SIMPULAN DAN REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Kombinasi 2,4-D dan kinetin berpengaruh terhadap pertumbuhan Kultur Embrio Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour). Adapun rincian dari hasil penelitian sebagai berikut:

1. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan muncul kalus tercepat pada perlakuan D₄B₂ dibandingkan perlakuan D₀B₀. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan bahwa 8 perlakuan memiliki nilai persentase hidup 100% yaitu D₃B₀, D₃B₁, D₃B₂, D₃B₃, D₄B₀, D₄B₁, D₄B₂, dan D₄B₃. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan rerata lebar kalus tertinggi yaitu pada perlakuan D₃B₂. Kombinasi 2,4-D dan BAP menunjukkan tekstur

kalus terbaik pada perlakuan D₂B₃, D₃B₀, D₃B₁, dan D₃B₂. Perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang terbaik adalah pada perlakuan D₂B₃ untuk menghasilkan kalus embriogenik sehingga dapat digunakan untuk kultur suspensi sel.

2. Berdasarkan hasil dari data penelitian berpotensi sebagai salah satu sumber belajar berupa modul yang dapat membantu peserta didik dalam belajar pada konsep bioteknologi modern bagi siswa SMA kelas XI1.

Rekomendasi

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan kultur kalus untuk menghasilkan embrio somatik untuk mendapatkan bibit yang mempunyai variasi genetik.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dari implementasi dan evaluasi modul dalam kegiatan pembelajaran di Sekolah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 1982. *Dasar – dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Angkasa. Bandung.
- Balilashaki, Vahedi, dan Karimi. 2015 In Vitro direct regeneration from node and leaf explant of *Phalaenopsis* cv. Surabaya. *Plant Tissue Culture and Bitechology*. 25(2) : 193-205
- Dian Pramita Wardani, Solichatun, Ahmad Dwi Setyawan, 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum Gaertn* Pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin, *Biofarmasi* 2 (1); 35-43
- Gunawan. 1992. *Tekhnik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Imam Mahadi. 2011. Pematahan Dormansi Biji kenerak (*Goniothalamus umbrosusu*) Menggunakan hormon 2,4-D dan BAP Secara Mikropropagasi. *Sagu*. 10(1): 20-23
- Imam Mahadi, Wan Syafi'i dan Yeni Sari. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 21(2):84-89. ISSN 0853-4217

- Imam Mahadi, Sri Wulandari, Wan Syafi'i, Firman Syah dan Widia. 2016. Mikropropagasi In Vitro Jeruk Kuok (*Citrus nobilis* Lour) Menggunakan Hormon 2,4-D dan TDZ (Thidiazuron). *Prosiding Seminar Nasional Pertanian dan Peternakan*. 21 September 2016. FAPERTA UIN Suska Riau. Pekanbaru
- Indah dan Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-diclorophenoxyacetit acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1) : 2337-3520
- Leupin, Ruth E., Leupin Mariane, Charles Ehret, Karl H. Erismann, and Witholt Bernard. 2000. Compact Callus Induction and Plant Regeneration of A Non-Flowering Vitiver From Java. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Switzerland*. 62 : 115-123
- Luluk Wahyuningtiyas, Ruri Siti Resmisari, M. Si, Ach. Nashichuddin, M. A. 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia Mangium*) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP Pada Media MS. *Jurnal*. Malang
- Nurul Hidayanti, Wahyu Lestari, Mayta Novaliza Isda. 2014. Induksi Tunas In Vitro Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour) Asal Kampar dari Eksplan Tunas Apeks Dan Nodus In Vitro. *JOMFMIPA*. 1(2) : 275-282
- Peterson, G., R. Smith. 1991. Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of American and international rice varieties. *Plant Cell Rep* (1)10: 35-38
- Sri Cahyati, Mayta Novaliza Isda, Wahyu Lestari. 2016. Induksi Tunas dari Eksplan Kotiledon dan Epikotil In Vitro Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour) Asal Kampar pada Media MS. *Jurnal Riau Biologia*. 1(5) : 31-38