

**PÉNGARUH AUKSIN (AA DAN 2,4-D) DAN ZAT PENGHAMBAT
TUMBUH (ANCYMICIDOL) TERHADAP REGENERASI KALUS *Dianthus*
caryophyllus Linn.**

**(INTERACTION OF THE EFFECT OF AUXIN (IAA AND 2,4-D) AND
PLANT GROWTH RETARDANT (ANC YMIDOL) ON CALUS
REGENERATION OF *Dianthus caryophyllus* Linn.)**

Oleh :

*Nurhajati Ansori, G. A. Wattimena, Lyvi Winata dan
Soleh Solahuddin*

Abstrak. The present experiment is a continuation of the earlier two experiments, namely (1) the effect of auxin, part of plant, and variety in inducing shoot initiation, and (2) the effect of auxin and cytokinin in inducing shoot initiation and callus formation.

Three factors are used in the present experiment, these are (1) auxin (0.05 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l IAA), (2) ancytidol (0.00, 0.75, 1.50, 2.25, 3.00, and 3.75 mg/l), and (3) part of shoot (based and tip).

The result shows that ancytidol are significantly effective on shortening of internodes, while shoot based gives good explant for calus regeneration.

The combination of 0.05 mg/l 2,4-D and 1.5 mg/l ancytidol is very promising in inducing callus.

The regeneration of callus to form root and shoot is around 80 - 100 % and is strongly influence by ancytidol and auxin.

Ringkasan. Percobaan ini merupakan lanjutan dari dua percobaan terdahulu, yaitu (1) pengaruh auksin, bahan tanaman dan varietas terhadap induksi tunas, dan (2) pengaruh auksin dan sitokinin terhadap induksi tunas dan kalus.

Perlakuan pada percobaan ini terdiri dari 3 faktor yaitu (1) auksin (0.05 mg/l 2,4 -D dan 0.1 mg/l IAA), (2) ancytidol (0.00, 0.75, 1.50, 2.25, 3.00, dan 3.75 mg/l), dan (3) pucuk daun (bagian pangkal dan ujung).

Hasil percobaan menunjukkan pengaruh ancytidol sangat nyata terhadap pembedakan buku batang, bagian tanaman yang terbaik adalah bagian pangkal pucuk daun.

Untuk pembentukan kalus interaksi yang terbaik adalah 0.05 mg/l 2,4-D dengan 1.50 mg/l ancytidol dengan menggunakan bahan tanaman bagian pangkal daun.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa interaksi antara ancytidol dengan auksin dapat menginduksi regenerasi kalus menjadi tunas dan akar, dengan tingkat keberhasilan berkisar antara 80 - 100 %.

PENDAHULUAN

Regenerasi tanaman secara *in Vitro* telah banyak dipelajari tetapi sulit untuk diinformasikan secara umum yang berlaku untuk semua tanaman. Ternyata masing-masing tanaman sekalipun cultivar mempunyai spesifikasi kebutuhan zat tumbuh, formula media dan bahan tanaman (explant) untuk terbentuknya tunas, akar atau kalus.

Penelitian kultur jaringan untuk tanaman *D. Caryophyllus* sudah dikembangkan sejak dua windu terakhir. Earle dan Langhans (1975) mengungkapkan hasil penelitiannya, tunas *Dianthus* yang ditanam pada media MS yang mengandung 2 mg/l 2,4-D membentuk kalus. Selanjutnya kalus tersebut tumbuh dengan cepat setelah dipindah ke media baru yang mengandung 2,4-D olbih rendah dari semula. Sedangkan kalus yang ditanam pada media yang sama dengan semula hanya membentuk akar tidak membentuk tunas. Lain halnya dengan yang ditanam pada media dengan kombinasi kinetin 0-2 mg/l dan NAA 0,05 mg/l dibagian atasnya tumbuh tunas di bagian bawahnya tumbuh akar. Penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Shabde dan Murashige (1974) media yang mendapat kombinasi sitokin dan auksin dalam konsentrasi rendah lebih baik dari pada yang hanya diberi sitokin.

Hasil percobaan Nurhayati (1987) mengenai pengaruh bagian tanaman, macam dan konsentrasi auksin serta varietas ternyata pucuk sebagai bagian tanaman yang mengandung sel meristik lebih mudah berdiferensiasi bilamana disertai keseimbangan auksin dan sitokin (0.05 mg/l IAA atau 2,4-D dengan 1 mg kinetin) untuk semua varietas yang diuji cobakan. Selanjutnya diungkapkan bahwa untuk tiga varitas yang diujicobakan ternyata yang mempunyai persentase kalus tinggi adalah yang mendapat perlakuan 2,4-D.

Ancymidol merupakan salah satu zat penghambat tumbuh (plant growth retardant) yang telah banyak berhasil dicobakan pada tanaman hias seperti *Chrysanthemum*, *Azalea*, *Lily*, untuk menstimulir pembungaan dan memperpendek ruas batang. Zat penghambat tumbuh mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan metabolisme tanaman, adalah pada aktifitas meristik sub apical yaitu sebagai penghalang perpanjangan sel. Tanpa atau sedikit sekali pengaruhnya terhadap proses pertumbuhan yang menyangkut klorofil (Cathey, 1975; Dicks, 1979; Thomas, 1979; Menhenett, 1979). Lebih spesifik Ancymidol mempunyai pengaruh pada penghambatan biosintesa GA₃ melalui lintasan mevalonat khususnya pada oksidasi ent-kaurenemen jadi kaurinoic acid. Shabde dan Murashige (1977) melaporkan hasil penelitiannya, GA₃ pada meristik bahan tanaman *Dianthus Caryophyllus* menekan pertumbuhan tunas dan akar. Hal ini seperti yang dilaporkan Murashige (1964) terjadi pada kalus tembakau.

Penggunaan Ancymidol pada percobaan *in Vitro* belum banyak dilaporkan. Chin (1982) mencoba menggunakan Ancymidol pada media MS, ternyata berpengaruh pada perakaran asparagus (*Asparagus officinalis*). Bahan tanaman yang ditanam pada media ditambah Ancymidol, tumbuh tunasnya sebanyak 45%, sedangkan kontrolnya hanya 22% pada minggu ke dua. Pada minggu ke empat naik dua kali lipat. Pada minggu ke lima akar mencapai 100%. Tujuan percobaan ini adalah untuk mempelajari pengaruh Ancymidol terhadap regenerasi kalus yang dihasilkan dari perbanyakan pada media ditambah auksin 2,4-D/IAA dengan sitokin dalam bentuk Kinetin.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian IPB September 1986 sampai dengan Januari 1987.

Bahan tanaman yang dipergunakan untuk penelitian berasal dari petani tanaman hias di Cipanas sehingga sulit untuk diperoleh informasi mengenai tetuanya. Dari hasil pengamatan secara visual diduga cultivar Knight Mixture.

Semua percobaan menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) yang dimodifikasi sesuai dengan perlakuan. Sebagai pemedat dipergunakan Difto Bacto agar Bg/l. Sumber karbohidrat adalah sukrosa 3%.

Percobaan ini merupakan percobaan lanjutan dari dua percobaan sebelumnya. Percobaan pertama menguji tiga varietas yang diberi perlakuan macam auksin (AA, NAA dan 2,4-D), konsentrasi masing-masing auksin (0,05 mg/l dan 0,1 mg/l) dan bagian tanamannya. Percobaan kedua mempergunakan hasil percobaan pertama sebagai standar, bagian tanaman pucuk, auksin 2,4-D 0,05 mg/l, varietas Knight Mixture; sedangkan perlakuannya adalah tingkat konsentrasi sitokin dan auksin. Tujuan percobaan dua untuk melihat pengaruh sitokin dan auksin dalam menginduksi tunas dan kalus. Percobaan tiga menguji kombinasi auksin dan sitokin yang terbaik dengan menggunakan inhibitor Ancymidol pada tingkat konsentrasi 0, 0,75, 1,5, 2,25, 3 dan 3,75 mg/l. Dipergunakan rancangan acak lengkap disusun secara faktorial, diulang sepuluh kali. Diperoleh 120 satuan percobaan. Setiap botol terdiri dari dua bahan tanaman. Auksin IAA menggunakan konsentrasi 0,1 mg/l sedangkan 2,4-D 0,05 mg/l. Bahan tanaman pucuk dibagi dua menjadi bagian pangkal dan ujung. Selanjutnya kalus yang terbentuk dari percobaan ini ditanam pada subkultur pertama medianya diberi 0,1 mg/l IAA ditambah 1 mg/l kinetin diujicobakan pada tingkat konsentrasi Ancymidol yang sama seperti di atas.

Pengamatan meliputi tinggi tanaman yang tertinggi dari masing-masing satuan percobaan, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah bahan tanaman yang berkalus dan jumlah tanaman yang berakar, persentase kalus yang bertunas dan yang berakar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil percobaan satu diketahui bahwa auksin IAA menstimulir pertumbuhan tunas yang paling baik dibanding jenis auksin yang lainnya. Bagian tanaman yang paling baik untuk pertumbuhan tunas dan kalus adalah pucuk. Dari ketiga varietas yang diujicobakan Knight Mixture adalah yang paling baik dalam membentuk tunas dan kalus.

Selanjutnya diperoleh keterangan dari percobaan dua ternyata bahan tanaman pucuk yang mendapat perlakuan 1 mg/l kinetin ditambah dengan 0,05 mg/l 2,4-D menunjukkan persentase pembentukan tunas yang tertinggi.

Ancymidol yang merupakan perlakuan pada percobaan tiga menunjukkan perbedaan yang nyata/sangat nyata untuk semua peubah yang diamati (jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas, kalus dan akar), untuk setiap minggu pengamatan kecuali akar pada minggu ke tiga dan tinggi tunas pada minggu ke enam (tabel lampiran 1). Tunas awal merupakan bahan tanaman yang dipergunakan pada percobaan ini sehingga tampak tidak mendapat pengaruh yang nyata dari perlakuan. Pengaruh perlakuan menunjukkan keadaan yang nyata pada tinggi tunas yang baru dari hasil analisa varian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Cathey (1975) Coolbough *et al.* (1978) bahwa Ancymidol dalam merubah/menghambat tiga seri oksidasi ent kaurene menjadi asam kaurinoic dalam sintesa asam giberelat (GA).

Tunas baru tumbuh pada 4 minggu setelah tanam (mst). Sejak awal pengamatan auksin IAA menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibanding dengan yang mendapat perlakuan 2,4-D untuk semua konsentrasi Ancymidol. Hasil analisa regresi menunjukkan tendensi linier dengan nilai R 69 persen untuk 2,4-D dan 43 persen untuk IAA. Hal ini menunjukkan bahwa bertambahnya konsentrasi Ancymidol akan mengakibatkan penurunan nilai tinggi tunas (*Gambar lampiran 1*).

Jumlah tunas yang terbentuk dari tunas awal tidak dibedakan apakah tunas aksiali atau tunas adventif. Hal ini disebabkan tunas hampir bersamaan dengan terbentuknya kalus. Peubah ini menunjukkan perbedaan yang sangat nyata secara analisa varian mulai 4 mst sampai dengan 7 mst. Baik untuk yang mendapat perlakuan IAA maupun 2,4-D yang terbaik adalah yang diberi Ancymidol 0,75 mg/l, sedangkan diantara IAA dan 2,4-D yang tertinggi nilainya adalah yang mendapat IAA. Keadaan ini sama halnya untuk peubah jumlah daun. Menurut Trehearne *et.al.* (1971) dan Wellborn *et.al.* (1971) dalam Thomas (1979) senyawa kimia zat penghambat tumbuh dapat menstimulir aktivitas enzim yang mengkatalisir proses fotosintesa. Pengaruhnya terhadap respirasi diungkapkan oleh Halevery *et.al.* (1966), Harada (1966), Kessler (1967) dan Kelley (1967) dalam Thomas (1979). Diduga Ancymidol mempunyai peranan dalam proses metabolisme sehingga dapat mengakibatkan kenaikan jumlah tunas dan daun.

Bahan tanaman yang mendapat perlakuan 2,4-D membentuk kalus 3 mst sedangkan yang mendapat IAA 6 mst. Pada akhir pengamatan yang mendapat perlakuan 2,4-D mencapai nilai 100 Persen untuk semua taraf Ancymidol, sedangkan yang diberi IAA hanya 70 persen pada taraf konsentrasi 3.75 mg/l Ancymidol. Akar terbentuk bersamaan dengan terbentuknya kalus yaitu pada 3 mst. Bahan tanaman yang mendapat perlakuan 2,4-D nilainya selalu lebih tinggi daripada IAA untuk semua taraf konsentrasi Ancymidol. Pada akhir pengamatan persentase yang tertinggi adalah 100 persen pada taraf konsentrasi 0.05 mg/l auksin 2,4-D dengan 1.5 mg/l Ancymidol sedangkan yang terendah adalah 0 persen yaitu yang mendapat auksin IAA 0.1 mg/l pada taraf konsentrasi Ancymidol sama.

Pada umumnya akar keluar dari kalus (90 persen), hanya sebagian kecil saja akar yang keluar dari tunas. Dengan demikian dapat dimengerti mengapa pertumbuhan tunas terhambat karena sudah didahului oleh akar. Sebagaimana diungkapkan oleh Bull dan Garton (1965) bahan tanaman yang hanya membentuk kalus dan akar pada akhirnya mati, tidak sempat membentuk tunas.

Selanjutnya kalus yang diperoleh tersebut (yang belum mengeluarkan akar) dipindahkan pada media yang mengandung 0.1 mg/l IAA dan 0,05 mg/l 2,4-D yang masing-masing mendapat 1 mg/l kinetin dan 0,75, 1.5, 2.25, 3 dan 5,75 mg/l Ancymidol. Penempatannya sesuai dengan perlakuan asalnya. Kalus yang berasal dari perlakuan 0,75 mg/l ditempatkan pada media yang mendapat perlakuan 0,75 mg/l demikian seterusnya hingga diperoleh lima perlakuan yang masing-masing mempunyai 5 botol bahan tanaman. Hasil percobaan ini menunjukkan tunas dan akar tumbuh 100 persen hampir untuk semua perlakuan kecuali yang mendapat perlakuan Ancymidol 3.75 persen hanya 80 persen (tabel lampiran 2). Tunas tersebut tumbuh dari yang mendapat perlakuan 0.1 mg/l IAA, sedang akar terdapat pada bahan tanaman yang berada pada media yang mengandung 0.05 mg/l 2,4-D. Hal ini diduga dengan adanya zat penghambat tumbuh Ancymidol merupakan penyetimbang dari auksin dan sitokin, sehingga tunas dan akar menjadi terinduksi. Sesuai dengan pernyataan Wattimena (1988) adanya zat penghambat tumbuh diperlukan oleh tanaman sebagai inhibitor merupakan penyeimbang promotor dari kelompok zat perangsang tumbuh.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa zat penghambat tumbuh Ancymidol pada konsentrasi 0.75 mg/l dengan 1 mg/l kinetin menunjukkan pengaruh yang baik terhadap tunas dan jumlah daun. Pengaruh Ancymidol pada pamendekan ruas batang terlihat pada tunas baru, sedangkan tunas lamanya (explant) ruasnya tidak mendapat pengaruh yang nyata.

Selanjutnya diperoleh hasil regenerasi dari kalus menjadi tunas diperlukan 0.1 mg/l IAA dan 1 mg kinetin 0.75 mg/l Ancymidol, sedangkan untuk pembentukan akar diperlukan 0.05 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l kinetin untuk semua taraf konsentrasi Ancymidol.

DAFTAR PUSTAKA

- Bull, C and S. Garton. 1985. Callus production from stem and leaf sections of carnation. Hort. Sci. 20(3) : 63. (Abstract).
- Cathey, H. M. 1975. Comparative plant growth retarding activities of Ancymidol with ACPC, Phosphorus, Chloromequat and SADH on ornamental plant species. Hort. Sci. 10(3) : 204 - 216.
- Chin, Chu-Kok. 1982. Promotion of shoot and root formation in asparagus *in Vitro* by Ancymidol. Hort. Sci. 17(4) : 590 - 591.
- Coolbough, R. C. and S. S. Hinano and C. A. West. 1978. Studies of the specificity and site of action by cycloprophyl - -(pmethoxyphenyl) - 5 - pyrimidil methyl alcohol (Ancymidol). Plant Physiol. 57 : 245 - 248.
- Dicks, J. W. 1979. Modes of action of growth retardant. In Cliford, O.R. and R.J. Lenton (ed). Recent development in the use of plant growth retardants. Proc. of a sym. Soc. of Chem. Industry (S. C. I.) Wessex Press. London.
- Earle, E. D. and R. W. Langhans. 1975. Carnation propagation from shoot tips culture in liquid medium. Hort. Sci. 10(6) : 108-110.
- Evans, D. A., W. R. Sharp and C. E. Flick. 1980. Plant regeneration from cell culture, In Janick, J. (ed) 1981. Horticultural reviews. Avi Pub. Co. inc. Westport 3 . 214-314.
- Murasige, T. 1974. Plant propagation through tissue nn. cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 / 167 - 193.
- Menhenett, R. 1979. Use retardant on glasshouse crops. 27-39. In Cliford, O. R. and J. R. Lenton (ed). Recent development in the use of plant growth retardant. Proc. of Sym. Soc. of Chem. Industry (S.C.I.) Wessex Press. London.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:167-193.
- Nurhajati Ansori. 1987. Keseimbangan konsentrasi Auxin dan Sitokinin dengan inhibitor Ancymidol perkembangan bahan tanaman *Dianthus Caryophyllus* Linn. secara *in Vitro* Tesis. Fakultas Pasca Sarjana, IPB. 121. (Tidak dipublikasi).
- Shabde, M. and T. Murashige. 1977. Hormonal requirements of excised *Dianthus Caryophyllus* L. Shoot apical meristem *in Vitro* Amr. J. Bot. 64:442-448.
- Thomas, H. T. 1979. Use of growth retardant on vegetable and arable crops. 15-25 In Cliford, D. R. and R. J. Lenton (ed). Recent development in the use of plant growth retardant. Proc. Of A Sym. Soc. of Chem. Industry (S. C. I.). Wessex Press, London.
- Wattimena, G. A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. PAU -IPB dengan LSI-IPB 145 hal.

Tabel Lampiran 1. Hasil Uji F dari Sidik Ragam Semua Peubah untuk Pengamatan pada 2 MST sampai dengan 7 MST.

(Appendix 1. The F-test from Anovar for all Variables in 2nd to 7th weeks After Planting)

| Peubah <i>Variables</i> | Sumber <i>Treatment</i> | Minggu pengamatan ke <i>(Weeks After Planting)</i> | | | | | |
|--|----------------------------|---|----|----|----|----|----|
| | | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Jumlah Tunas <i>(Number of shoots)</i> | Auksin | TN | TN | ** | ** | ** | ** |
| | Ancymidol | * | ** | ** | ** | ** | ** |
| | Interaksi | TN | ** | * | * | * | * |
| Tinggi Tunas awal <i>(Hight of main shoots)</i> | Auksin | TN | TN | TN | TN | * | TN |
| | Ancymidol | * | ** | ** | TN | TN | TN |
| | Interaksi | TN | * | TN | TN | TN | TN |
| Tinggi Tunas baru <i>(Hight of new shoots)</i> | Auksin | - | - | ** | TN | TN | * |
| | Ancymidol | - | - | ** | ** | ** | ** |
| | Interaksi | - | - | * | TN | TN | TN |
| Jumlah Daun <i>(Number of leaves)</i> | Auksin | TN | TN | ** | ** | ** | ** |
| | Ancymidol | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| | Interaksi | * | TN | TN | TN | * | * |
| Kalus <i>(Callus)</i> | Auksin | - | ** | ** | ** | ** | ** |
| | Ancymidol | * | TN | TN | TN | * | * |
| | Interaksi | - | ** | ** | ** | ** | ** |
| Panjang akar <i>(Length of roots)</i> | Auksin | - | TN | ** | ** | ** | ** |
| | Ancymidol | - | TN | ** | ** | ** | ** |
| | Interaksi | - | TN | ** | ** | ** | ** |

Keterangan : TN = Tidak Nyata (Statistically non significant)

** = Berbeda nyata pada taraf 1%. (Significant at 1% level)

* = Berbeda nyata pada taraf 5% (Significant at 5% level)

- = Belum ada data (no data)

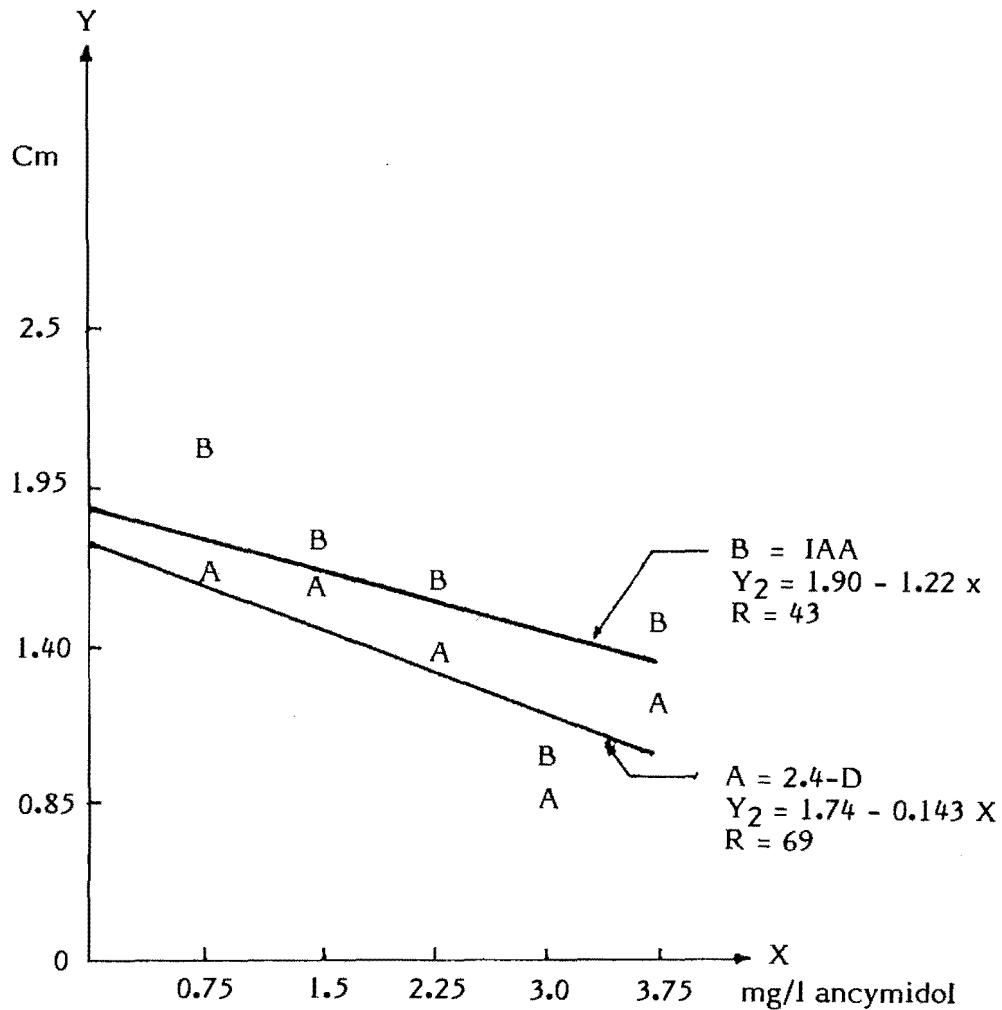
Tabel Lampiran 2. Persentase kalus yang membentuk tunas dan akar 8 setelah tanam*)

Appendix 2. Percentage of shoots and roots formation from callus after 8 weeks planting (variables)

| Asal perlakuan Ancymidol <i>(Treatment of Ancymidol)</i> | Konsentrasi Ancymidol Mg/l <i>(Ancymidol Concentration)</i> | Peubah Persentase <i>Persentage</i>) | Akar (root) |
|--|---|---|----------------|
| | | Tunas (Shrots) | |
| 0.75 | 0.75 | 100 (5/5) | 100 (5/5) |
| 1.5 | 1.5 | 100 (5/5) | 100 (5/5) |
| 2.25 | 2.25 | 100 (5/5) | 100 (5/5) |
| 3.0 | 3.0 | 100 (5/5) | 100 (5/5) |
| 3.75 | 3.75 | 80 (4/5) | 80 (4/5) |

*) Media ditambah IAA 0.1 mg/l dan kinetin 1 mg/l.

(IAA 0.1 mg/l and Kinetin 1 mg/l were added to the medium solution)



Gambar Lampiran 1. Garis Regresi antara Taraf Konsentrasi Ancymidol (A) dengan Tinggi Tunas Baru (Y) untuk 2.4 D dan IAA 7 MST

Figure 1. Regression between Ancymidol (X) and Height of New Shoots (Y) for 2.4 D and IAA Auxin after 7 Weeks of Planting)