

PENAMBAHAN MADU TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS EMBRIOGENIK PADA DUA VARIETAS TANAMAN SORGUM

Honey Addition to Embryogenic Callus Formation in Two Sorghum Varieties

**Didik Pudji Restanto*, Ahmad Nazmi Thohirin, Sundahri,
dan Mohammad Nur Khozin**

Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember,
Jl. Kalimantan No. 37 Jember, 68121

Alamat korespondensi: restanto.lemlit@unej.ac.id

ABSTRAK

Upaya pengembangan tanaman sorgum selalu diupayakan untuk perbaikan sifat varietas tanaman sorgum yang masih memiliki produktivitas rendah dan rentan terserang hama dan penyakit. Pengembangan bioteknologi sangat menjanjikan untuk menghasilkan varietas yang baru tanaman sorgum melalui transformasi genetik. Metode kultur jaringan yang tepat pada tanaman ini diperlukan untuk meningkatkan keberhasilan budidaya secara kultur jaringan terutama melalui induksi kalus. Penelitian bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh konsentrasi suplemen madu terhadap pembentukan kalus pada dua varietas tanaman sorgum. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama konsentrasi madu terdiri dari enam taraf yaitu 0 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L, 20 g/L, dan 25 g/L. Faktor kedua varietas tanaman sorgum yaitu Numbu dan Suri 4. Variabel yang diamati meliputi awal kemunculan kalus, warna dan tekstur kalus, serta tingkat pencoklatan media. Hasil penelitian menunjukkan penambahan madu 15 g/L (M3) pada media induksi kalus merupakan media terbaik terhadap awal kemunculan kalus. Perlakuan M3V1 (15 g/L dan Numbu) menghasilkan kalus dengan warna putih kekuning - kuning, tekstur kalus yang remah, membentuk kalus yang embriogenik dan menekan pencoklatan pada media hingga 0% sehingga mendapatkan kalus dengan kualitas yang baik. Varietas Numbu memberikan respon terbaik dibandingkan varietas Suri 4 pada penelitian ini.

Kata kunci: kalus, madu, sorgum, somatik embriogenesis

ABSTRACT

Efforts to develop sorghum plants are always sought to improve the characteristics of sorghum varieties which still have low productivity and susceptible to pests and diseases. The purpose of this research is how different concentrations of honey supplements affect the formation of somatic embryogenesis in two different sorghum varieties. A factorial Completely Randomized Design (CRD) of two factors was used as the research design. The first factor is honey concentration, which was divided into six levels: 0 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L, 20 g/L and 25 g/L. Sorghum varieties Numbu and Suri 4 actually made up the second factor. Callus emergence, callus color and texture, medium browning level, and somatic embryogenesis phase have been among the variables activated. The results showed that the addition of 15 g/L (M3) honey on callus induction media was the best medium for the early appearance of callus. Treatment M3V1 (15 g/L and Numbu) produced callus with yellowish white color, callus crumb texture, embryogenic callus formation and suppressed browning of the media to 0% to obtain good quality callus. The embryogenic callus then proliferates on the proliferation medium to form somatic embryogenesis. The addition of honey to the induction medium showed success in the formation of somatic embryogenesis of sorghum plants which included globular, skutelar, coleoptilar and cotyledon (shoot) phases. The Numbu variety gave the best response compared to the Suri 4 variety in this study.

Keywords: callus, honey, sorghum, somatic embryogenesis

PENDAHULUAN

Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) merupakan tanaman C4 yang sangat potensial karena sangat efisien terhadap penggunaan air dan produksi biomassa dengan daya adaptasi yang baik pada kondisi lingkungan daerah marginal dan kering (Pestarini et al., 2017). Kekuatan adaptasi yang baik dari tanaman ini menjadikan keunggulan dan perlu dikembangkan terutama pada daerah kondisi kekeringan untuk ketahanan pangan (Polumahanthi et al., 2014). Pemanfaatan sorgum tidak hanya untuk keperluan bahan pangan atau pakan saja, namun juga dipergunakan untuk bahan dalam produksi alkohol maupun produksi bahan bakar nabati untuk *biofuel* (Reddy et al., 2003).

Pengembangan tanaman sorgum memiliki keterbatasan pada varietas tanaman, sehingga tanaman ini memiliki keterbatasan terkait keragaman genetik (Panjaitan et al., 2015). Pendekatan metode bioteknologi dinilai langkah yang tepat dan efisien dalam perbaikan sifat genetik tanaman sorgum melalui transformasi genetik menggunakan teknik kultur jaringan (protokol *in vitro*) sehingga menghasilkan metode yang kuat

dasar pembentukan genetik sorgum yang baik dan efisien. Kegagalan pada regenerasi (*in vitro*) diakibatkan adanya senyawa fenolik yang muncul pada saat kultur *in vitro* tanaman sorgum. Senyawa fenolik pada eksplan dapat mengakibatkan browning atau pencoklatan jaringan sebagai faktor penghambat dalam kultur *in vitro* (Widayanti et al., 2014).

Penambahan suplemen madu dalam kultur *in vitro* dapat berperan dalam pencegahan pencoklatan jaringan karena kandungan flavanoid dan asam fenolik yang menunjukkan aktivitas antioksidan. Pencoklatan jaringan kultur *in vitro* lebih sedikit pada media MS yang ditambahkan madu, bukan sukrosa. Efek tersebut karena senyawa organik di madu memiliki sifat antioksidan (Plazek & Dubert, 2010). Penambahan suplemen madu pada media terbukti meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan anggrek secara kultur jaringan (Mantovani & Pivetta, 2016).

Hasil penelitian Dreger et al. (2019) bahwa induksi kalus dengan penambahan madu menghasilkan kalus dengan rasio tertinggi daripada hanya menggunakan

media yang ditambahkan dengan hormon saja. Penambahan suplemen madu dan sukrosa memberikan 1,2 kali lebih tinggi tingkat kelangsungan hidup kalus dan 4 kali lebih tinggi laju regenerasi kalus dibandingkan kalus yang dihasilkan pada media induksi lainnya. Penelitian Juliana et al. (2019) menunjukkan penambahan 3 mg gL⁻¹ BAP dan madu 9 mL⁻¹ memberikan hasil terbaik 100% dalam pembentukan fase embriogenesis somatik tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui bagaimana pengaruh konsentrasi madu terhadap induksi kalus embriogenik pada dua varietas tanaman sorgum dan mengetahui respon dua varietas Numbu dan Suri 4 terhadap induksi kalus embriogenik tanaman sorgum.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang dimulai pada bulan Maret - September 2021. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan lima kali ulangan.

Faktor pertama adalah pemberian suplemen madu yang meliputi enam taraf konsentrasi yaitu 0 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L, 20 g/L, 25 g/L dan faktor kedua yaitu varietas terdiri varietas Numbu dan Suri 4. Kedua faktor perlakuan dikombinasikan menjadi 12 perlakuan kombinasi. Variabel pengamatan meliputi awal kemunculan kalus, warna dan tekstur kalus, serta tingkat pencoklatan media.

Bahan tanam yang digunakan yaitu *spindle leaf* tanaman sorgum yang dibersihkan menggunakan sabun cuci piring dan dibilas menggunakan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya disterilkan di *laminar air flow* (LAF). Eksplan di semprot alkohol 96% pada permukaan bagian paling luar bakal ekplan dan dilakukan pembakaran menggunakan bunsen secara perlahan dan diikuti oleh pengupasan daun terluar hingga terlihat bagian *spindle leaf* yang steril. Ekplan yang sudah steril dipotong kurang lebih sepanjang 2 cm. Ekplan ditanam pada media percobaan untuk induksi kalus embriogenik.

Data yang didapatkan selanjutnya dilakukan analisis menggunakan sidik ragam (ANOVA). Perbedaan yang nyata

pada perlakuan di uji lanjutan menggunakan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perlakuan terbaik. Data kualitatif secara data visual dianalisis dengan metode deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Media induksi kalus terdiri atas medium MS dan ZPT 2,0 ppm 2,4-D. Unsur hara yang terkandung pada MS dan ZPT 2,4-D memiliki peranan penting dalam proses induksi kalus. Menurut Restanto et al. (2021) menyatakan bahwa penggunaan ZPT 2,4-D 2,0 ppm dapat menghasilkan kalus pada induksi kalus tanaman sorgum.

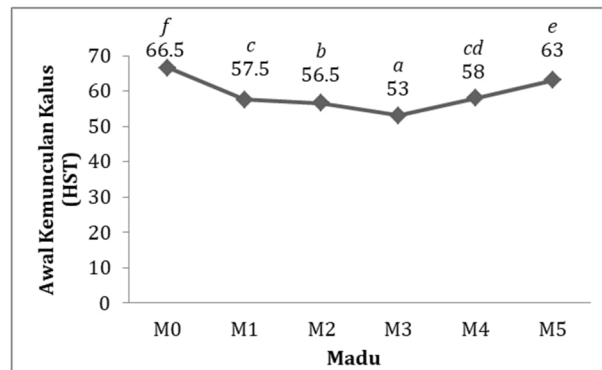
Tabel 1 menunjukkan hasil analisis data pengaruh kombinasi antara perlakuan konsentrasi suplemen madu dengan varietas tanaman sorgum pada seluruh variabel pengamatan. Penambahan madu sebagai perlakuan

yang berfungsi untuk suplemen media dalam media induksi kalus pada perlakuan varietas tidak saling berinteraksi dalam variabel awal kemunculan kalus eksplan sorgum. Berdasarkan uji lanjut Duncan pada (Gambar 1) terjadi pengaruh pada perlakuan konsentrasi suplemen Madu (M) terhadap kecepatan munculnya kalus menunjukkan bahwa awal kemunculan kalus paling cepat terdapat pada perlakuan M3 (15 g/L) dengan nilai rata-rata munculnya kalus 53 HST. Setiap konsentrasi madu yang ditambahkan memiliki respon yang berbeda namun yang tercepat pada M3 (15 g/L) dan yang terlama pada perlakuan tanpa penambahan madu M0 (0 g/L). Hal tersebut menunjukkan konsentrasi madu yang diberikan dapat memberikan pengaruh yang berbeda dalam kecepatan proses pembentukan kalus pada eksplan.

Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam pada variabel pengamatan awal kemunculan kalus

No.	Variabel Pengamatan	F Hitung		
		Faktor M	Faktor V	Faktor M x V
1.	Kedinian munculnya kalus	7,34 **	1,28 ^{ns}	0,65 ^{ns}

Keterangan:**= Berbeda nyata 1%, ^{ns} = Tidak berbeda nyata



Gambar 1. Hasil uji duncan taraf kepercayaan 95% pengaruh konsentrasi madu (M) terhadap variabel awal kemunculan kalus.

Menurut Kurniati et al. (2016) mengatakan bahwa pemacu proses pembentukan kalus tergantung dengan eksplan yang digunakan dan komposisi media, serta adanya keseimbangan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Madu memiliki kandungan sukrosa yang berfungsi sebagai sumber karbohidrat yang dapat membantu proses pembentukan kalus. Berdasarkan penelitian Juliana et al. (2019), pembentukan kalus meningkat akibat adanya penambahan kadar gula yang tinggi.

Warna dan tekstur kalus merupakan paramater yang menentukan kualitas kalus yang terbentuk dari kenampakan warna dan tektur secara visual pada setiap perlakuan. Kalus yang diamati yaitu pada eksplan yang berumur 30 HST pada saat induksi kalus. Pengamatan warna kalus dilakukan dengan cara pencocokan warna

dengan panduan buku *Munsell Color Chart For Plants Tissues*. Warna kalus sebagian besar semua perlakuan menghasilkan kalus yang berbeda pada setiap perlakuan yaitu kekuningan hingga coklat gelap. Kalus yang berwarna putih kekuningan terbentuk pada perlakuan M3V1 (15 g/L; Numbu) dengan memiliki tipe warna 5Y 8/4, sedangkan pada perlakuan M3V2 (15 g/L; Suri 4), M4V1 (20 g/L; Numbu) dan M5V2 (25 g/L; Suri 4) memiliki tipe warna 5Y 8/6. Selanjutnya perlakuan M2V1 (10 g/L; Numbu) dan M5V1 (25 g/L; Numbu) memiliki tipe warna kalus 5Y 8/8. Perlakuan M1V1 (5 g/L; Numbu), M1V2 (5 g/L; Suri 4), M2V2 (10 g/L; Suri 4) dan M4V2 (20 g/L; Suri 4) memiliki tipe warna kalus 5Y 7/8. Warna kalus yang berwarna kuning kecoklatan hingga gelap terdiri dari M0V2 (0 g/L; Suri 4) dengan tipe warna

5Y 7/4 dan perlakuan M0V1 (0 g/L; Numbu) dengan tipe warna 5Y 5/4. Menurut Rasud et al. (2019) menyatakan adanya perubahan pada warna kalus dapat diakibatkan adanya kandungan zat fenolik pada sel (kalus).

Perlakuan M1V1 (5 g/L; Numbu), M2V1 (10 g/L; Numbu), M3V1 (15 g/L; Numbu), M4V1 (20 g/L; Numbu), M5V1 (25 g/L; Numbu), M1V2 (5 g/L; Suri 4), M2V2(10 g/L; Suri 4), M3V2 (15 g/L; Suri 4), M4V2 (20 g/L; Suri 4) dan M5V2 (25 g/L; Suri 4) menghasilkan kalus yang remah (*friable*). Namun pada perlakuan M0V1 (0 g/L; Numbu) dan M0V2 (0 g/L; Suri 4) yaitu tanpa penambahan madu pada media menghasilkan tekstur kalus yang kompak. Media yang mengandung madu semua menghasilkan kalus yang remah, sedangkan media tanpa mengandung madu (kontrol) pada kedua varietas menghasilkan kalus yang kompak. Kalus dengan tekstur remah dikategorikan dengan kalus yang baik dikarenakan selnya mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal dan aerasi oksigen antar sel meningkat (Rasud & Bustaman, 2020).

Media MS yang berisikan ZPT 2,4-D serta ditambahkan dengan madu

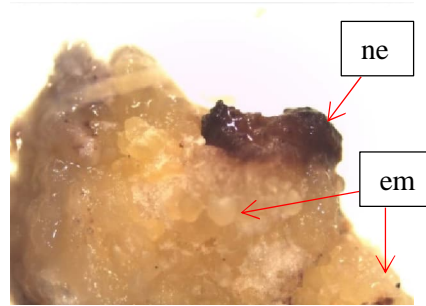
terbukti memberikan hasil yang baik pada karakteristik kalus yang meliputi warna dan tekstur apabila dibandingkan dengan media yang hanya mengandung 2,4-D saja. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Wattimena et al. (1992) yang mengatakan ZPT menentukan keberhasilan kultur jaringan, tetapi dalam membentuk kalus juga ditentukan melalui penambahan senyawa organik contohnya penambahan madu yang memiliki kandungan penting seperti mineral dan vitamin.

Variabel pencoklatan media menentukan berapa banyak yang mengalami pencoklatan media pada setiap perlakuan dengan mempersentasekan jumlah media browning. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan terbaik terdapat pada M3V1 (15 g/L; Numbu) dimana pada setiap ulangannya tidak terdapat pencoklatan pada media dengan persentase 0%, yang berarti pada perlakuan tersebut tidak terdapat kandungan fenolik pada setiap ulangannya. Pencoklatan pada perlakuan M1V1 (5 g/L; Numbu), M2V1 (10 g/L; Numbu), M4V1 (20 g/L; Numbu), M5V1 (25 g/L; Numbu), M3V2 (15 g/L; Suri 4) terjadi sebesar 20% pada masing-masing

ulangan perlakuan. Pada perlakuan M2V2 (10 g/L; Suri 4) terdapat pencoklatan media dengan persentase 40%. Pada perlakuan M1V2 (5 g/L; Suri 4), M4V2 (20 g/L; Suri 4) dan M5V2 (25 g/L; Suri 4) terdapat pencoklatan media dengan nilai persentase 60%. Media tanpa mengandung madu pada perlakuan M0V1 (0 g/L dan Numbu) dan M0V2 (0 g/L; Suri 4) menghasilkan persentase pencoklatan yang tinggi sebesar 80% yang artinya terdapat kandungan fenol yang tinggi pada perlakuan tersebut. Kedua varietas yang diujikan yaitu varietas Numbu dan Suri 4 pada penelitian ini memiliki respon yang berbeda pada masing – masing perlakuan konsentrasi madu. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan M3V1 yaitu pada varietas Numbu dengan pemberian madu sebesar 15 g/L mampu menghambat terjadinya pencoklatan (0%) pada media. Hal ini diduga madu yang memiliki kandungan antioksidan fenolat dan asam askorbat bekerja dalam proses pencegahan terjadinya *browning*. Peran antioksidan yaitu mencegah radikal oksigen bebas sehingga mampu mencegah terjadinya dekompartemenisasi dengan aktifnya enzim PPO (Veltman & Peppelenbos,

2003). Setiap konsentrasi madu yang sama pada masing–masing varietas memiliki hasil yang berbeda. Hal ini diduga perbedaan genotip pada kedua varietas tanaman sorgum yang diujikan memiliki tingkat kandungan fenol yang berbeda. Kemungkinan kandungan fenol yang ada pada varietas Suri 4 lebih tinggi dibandingkan dengan varietas Numbu sehingga persentase *browning* pada varietas Suri 4 lebih tinggi.

Induksi kalus selama 30 HST pada beberapa perlakuan kombinasi menghasilkan kalus yang embriogenik. Kalus embriogenik yang terbentuk memiliki beberapa ciri yaitu berwarna putih kekuningan serta bertekstur remah sehingga berpotensi untuk diregenerasikan. Menurut Kumari et al. (2006) kalus yang berwarna putih kekuningan mengindikasikan terjadinya pembentukan kalus yang embriogenik. Gambar 2 menunjukkan keberadaan kalus embriogenik dan non embriogenik. Kalus non embriogenik dengan warna kehitaman dan padat mengindikasikan massa selnya mengalami penuaan atau penurunan aktivitas sehingga tidak dapat dikembangkan lebih lanjut.



Keterangan: em=embriogenik; ne= non embriogenik

Gambar 2. Kalus terbentuk dari eksplan *spindle leaf* dengan penambahan madu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan yang ada, dapat disimpulkan bahwa: 1. Perlakuan terbaik induksi kalus embriogenik yaitu pada konsentrasi madu 15 g/L dengan menumbuhkan kalus secara lebih cepat dengan karakteristik warna putih kekuningan dan bertekstur remah serta dapat menekan terjadinya pencoklatan media hingga 0% dan 2. Varietas terbaik ditunjukkan oleh varietas Numbu dibandingkan varietas Suri 4 di setiap variabel induksi kalus dengan kombinasi suplemen konsentrasi madu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memberikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada tim yang telah mendukung penelitian penulis di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

DAFTAR PUSTAKA

- Dreger, M., R. Mol, A. Deja, E. Raj, G. Mankowska, & K. Wielgus. (2019). Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor*. *In Vitro Cellular & Development Biology Plant*, 55, 190-198. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09963-9>
- Juliana, T., Isda, M. N., & Iriani, D. (2019). Embriogenesis somatik dari kalus manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal bengkalis dengan pemberian BAP dan madu secara in vitro. *AlKauniah: Jurnal Biologi*, 12(1), 8-17. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniah.v12i1.5667>
- Kumari, B.D.R., Settu, A. & Sujatha, G. (2006). Somatic embryogenesis and plant regeneration. *IJBT*, 5, 243-345. [https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/7755/1/IJBT%205\(2\)%20243-245.pdf](https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/7755/1/IJBT%205(2)%20243-245.pdf)
- Kurniati, R., A. Purwito, G. A. Wattimena, B. Marwoto, & Supenti. (2016). Induksi kalus dan bulblet serta regenerasi tanaman lili varietas sorbon dari tangkai sari bunga. *Jurnal Hortikultura*, 22(4),

- 303-308. DOI: 10.21082/jhort.v22n4.2012.p303-308
- Mantovani, C. & K.F.L. Pivetta. (2016). *In vitro* development of *Encyalea cordigera* in different concentrations of honey. *Ciência Rural Santa Maria*, 46(4), 590-592. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150046
- Panjaitan, R., E. Zuhry, & Deviona. (2015). Karakterisasi dan hubungan kekerabatan 13 genotipe sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Mouch koleksi BATAN. *JOM Faperta*, 2(1), 1-13. https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERTA/article/view/7699/7371
- Pestarini, S., Wahyuningsih, S.U. & Pratiwi S.H. (2017). Pertumbuhan dan produksi tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L.) dengan berbagai jenis pupuk kandang. *Jurnal Agroteknologi*, 1(1), 24 – 28. https://jamp-jurnal.unmerpas.ac.id/index.php/jampertanian/article/view/4/4
- Plazek, A. & F. Dubert. (2010). Improvement of medium for *Miscanthus* × *Giganteus* callus induction and plant regeneration. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52(1), 105–110. DOI:10.2478/v10182-010-0013-9
- Polumahanthi, S., Dora, S.V.V.N. & Sarada, M.N. (2014). Efficient callus induction protocol for *Sorghum bicolor*. *Plant Science and Research*, 4(3), 14-21.
- Rasud, Y. & Bustaman. (2020). Induksi kalus secara in vitro dari daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 25(1), 67–72. DOI: https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67
- Rasud, Y., Z. Basri, & N. Sahiri. (2019). Induksi kalus cengkeh dari ekspansi daun menggunakan 2,4-d secara in vitro. *Ilmu Pertanian*, 2(2), 52-59. DOI: https://doi.org/10.35334/jpen.v2i3.1533
- Reddy, R. C., V. A.Tonapi, A. S. B. V. Alur, C. L. L.Reddy, Gowda, P. P. Rao, & K. N. Rai. (2003). Resurgence of sorghum foods in urban areas and alternate uses of sorghum grain. *Comprehensive Agri-commodity Intelligence*, 7(1), 1-12. http://oar.icrisat.org/id/eprint/4833
- Restanto, D.P., A. Wiranegara, P. Dewanti, B. Kristanto, & S. Avivi. (2021). Pengaruh hormon 2,4-dichlorophenoxyacetic acid terhadap induksi kalus tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* (L.)). *Journal of Agricultural*, 19(1), 12-18. http://jurnal.unmuhjember.ac.id/index.php/AGRITROP/article/view/5463/3394
- Veltman, R.H. & Peppelenbos, H.W. (2003). A proposed mechanism behind the development of internal browning in pears (*Pyrus communiscv* converece). *Acta Horti*, 600, 247-255. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.600.32
- Wattimena, G. A., Gunawan, W. L., A. N. Mattjik, Syamsudin, E. Wiendi, & A. Erawatib, A. M. N. (1992). *Bioteknologi Tanaman*.

Laboratorium Kultur Jaringan
Tanaman, Institut Pertanian Bogor.
Widayanti, A.I., R. Dwiyani, & H.
Yuswanti. (2014). Pengaruh
kombinasi naphthalene acetic acid

(NAA)–benzyl amino purine (BAP)
dan jenis eksplan pada
mikropropagasi anggrek *Vanda*
tricolor Lindl. var. *suavis*.
AGROTROP, 4(1), 13-18.