

Respon Eksplan Tangkai Daun Dan Batang Muda Mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza* L.) pada Media dengan Penambahan IAA dan Kinetin

Tri Vinesa Moha^a, Novri Youla Kandowangko^{*a}, Devi Bunga Pagalla^a, Jusna Ahmad^a, Febriyanti^a, Indriati Husain^b

^aDepartment of Biology, Universitas Negeri Gorontalo, Indonesia. Jl. Prof. Dr. Bj. Ing. Habibie, Bone Bolango, Gorontalo. Tel.: +62-435-821-125/Fax.: +62-435-821-752

^bDepartment of Agrotechnology, Universitas Negeri Gorontalo, Indonesia. Jl. Prof. Dr. Bj. Ing. Habibie, Bone Bolango, Gorontalo. Tel.: +62-435-821-125/Fax.: +62-435-821-752

Corresponding author : nowrikandowangko@ung.ac.id

ABSTRAK

Ekosistem mangrove memiliki peran penting dalam menjaga stabilitas lingkungan pesisir, namun keberadaannya terus mengalami tekanan akibat aktivitas manusia. Salah satu spesies mangrove yang penting untuk dikembangkan dalam upaya rehabilitasi kawasan pesisir adalah *Bruguiera gymnorrhiza* L. Ketersediaan bibit secara konvensional masih menjadi kendala karena membutuhkan waktu relatif lama dan sangat bergantung pada ketersediaan bahan tanam di alam. Oleh karena itu, kultur jaringan *in vitro* menjadi salah satu alternatif potensial untuk mendukung perbanyakan tanaman mangrove secara lebih cepat dan terkontrol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi IAA dan kinetin terhadap induksi kalus pada eksplan tangkai daun dan batang muda mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L. secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan terdiri atas P1, yaitu 0,25 ppm IAA + 0,25 ppm kinetin; P2, yaitu 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm kinetin; P3, yaitu 0,75 ppm IAA + 0,75 ppm kinetin; P4, yaitu 1 ppm IAA + 1 ppm kinetin; dan P5 sebagai kontrol tanpa penambahan IAA dan kinetin. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati meliputi waktu muncul kalus, morfologi kalus, dan warna kalus. Data dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 memberikan respons terbaik terhadap induksi kalus dengan waktu muncul kalus tercepat, yaitu pada 19 hari setelah tanam (HST). Kalus yang terbentuk pada perlakuan tersebut memiliki karakteristik berwarna kuning. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi IAA dan kinetin pada konsentrasi rendah berpotensi mendukung induksi kalus pada eksplan tangkai daun dan batang muda *Bruguiera gymnorrhiza* L. secara *in vitro*.

Kata kunci: batang muda; induksi kalus; multiplikasi; tangkai-daun; ZPT

ABSTRACT

Mangrove ecosystems play an important role in maintaining the stability of coastal environments; however, their existence continues to be threatened by human activities. One mangrove species that is important to propagate for coastal rehabilitation efforts is *Bruguiera gymnorrhiza* L. Conventional seedling production remains a challenge because it requires a relatively long time and depends heavily on the availability of planting materials in nature. Therefore, *in vitro* tissue culture is considered a potential alternative to support faster and more controlled propagation of mangrove plants. This study aimed to determine the effect of IAA and kinetin combinations on callus induction from leaf petiole and young stem explants of *Bruguiera gymnorrhiza* L. under *in vitro* conditions. This research employed an experimental method using a completely randomized design (CRD). The treatments consisted of P1, namely 0.25 ppm IAA + 0.25 ppm kinetin; P2, namely 0.5 ppm IAA + 0.5 ppm kinetin; P3, namely 0.75 ppm IAA + 0.75 ppm kinetin; P4, namely 1 ppm IAA + 1 ppm kinetin; and P5 as the control treatment without the addition of IAA and kinetin. Each treatment was repeated three times. The observed parameters included callus emergence time, callus morphology, and callus color. The data were analyzed using a qualitative descriptive approach. The results showed that treatment P1 produced the best response for callus induction, with the fastest callus emergence occurring at 19 days after planting (DAP). The callus formed in this treatment was characterized by a yellow color. These findings indicate that a low-concentration combination of IAA and kinetin has the potential to support callus induction from leaf petiole and young stem explants of *Bruguiera gymnorrhiza* L. under *in vitro* conditions.

Keywords: Induction-callus; leaf petiole; multiplication; plant growth regulators; young stem

Citation format:

Moha et al., 2025. Response eksplan tangkai daun dan batang muda mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza* L.) pada media dengan penambahan IAA dan Kinetin., Jambura Edu Biosfer Journal., vol. 7, no.1. pp 7—15, doi:<https://doi.org/10.34312/jebj.v7i1.27840>

1. Pendahuluan

Mangrove merupakan salah satu sumber daya alam penting di wilayah pesisir yang memiliki peran sosial, ekonomi, dan ekologis. Secara ekonomi, ekosistem mangrove menyediakan berbagai sumber daya, seperti kayu, ikan, kepiting, dan hasil pesisir lainnya. Secara ekologis, mangrove berfungsi sebagai pelindung alami wilayah pesisir karena mampu menahan gelombang laut serta mengurangi intrusi air laut ke arah daratan (Suzana dkk, 2011). Meskipun memiliki peranan yang sangat penting, ekosistem mangrove saat ini menghadapi tekanan berupa kerusakan habitat yang cukup serius. Di Kabupaten Gorontalo Utara, sebagian kawasan hutan mangrove telah mengalami penyusutan akibat penebangan liar dan berbagai aktivitas manusia di sekitar kawasan hutan mangrove. Masyarakat lokal memanfaatkan kayu mangrove untuk kayu bakar dan bahan konstruksi bangunan. Kayu mangrove dikenal secara lokal dengan istilah *Loraro* atau *Wuwa'ata*, yaitu kayu yang dianggap kuat, tahan lama, baik digunakan sebagai bahan konstruksi, serta dapat dimanfaatkan sebagai kayu bakar (Rahim & Baderan, 2017). Kondisi tersebut menunjukkan pentingnya upaya konservasi dan rehabilitasi mangrove melalui penyediaan bibit yang efektif, berkelanjutan, dan tidak bergantung sepenuhnya pada sumber bibit dari alam.

Perbanyakan bibit mangrove secara konvensional masih menghadapi berbagai kendala, terutama karena membutuhkan waktu relatif lama, ketersediaan bahan tanam yang terbatas, serta ketergantungan pada kondisi alam. Oleh karena itu, diperlukan alternatif teknologi perbanyakan tanaman yang lebih efisien, salah satunya melalui teknik kultur jaringan secara *in vitro*. Kultur *in vitro* merupakan teknik perbanyakan tanaman modern dengan cara mengisolasi bagian tanaman, seperti organ, jaringan, sel, atau protoplasma, kemudian menumbuhkannya dalam kondisi aseptik hingga berkembang menjadi tanaman utuh. Teknik ini memungkinkan produksi tanaman dalam jumlah besar dari bagian tanaman yang relatif kecil dalam waktu yang lebih singkat (Rasud & Bustaman, 2020).

Keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain genotipe tanaman, kondisi fisiologis eksplan, lingkungan kultur, zat pengatur tumbuh (ZPT), serta jenis dan kondisi medium kultur (Zeng *et al.*, 2013). Medium kultur merupakan salah satu faktor utama dalam kultur jaringan karena sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan maupun planlet yang dihasilkan (Tuhuteru *et al.*, 2012). Selain medium, penggunaan ZPT juga menjadi faktor penting karena ZPT berperan dalam mengatur arah pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. ZPT dapat mendorong pertumbuhan apabila diberikan pada konsentrasi yang tepat, tetapi pada konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan aktivitas metabolisme tanaman (Rokhmah, 2020).

Jenis ZPT yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* adalah auksin dan sitokinin. *Indole-3-acetic acid* (IAA) merupakan salah satu hormon tumbuh tanaman yang termasuk dalam golongan auksin. IAA berperan penting dalam merangsang pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman, termasuk dalam proses induksi kalus. Penggunaan IAA dalam kultur jaringan telah banyak dilaporkan, antara lain pada eksplan daun sirih hitam (Izdihar, 2016) dan daun porang (Girsang *et al.*, 2023). Sementara itu, kinetin merupakan salah satu ZPT dari golongan sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel, pertumbuhan tunas, dan perkembangan jaringan tanaman. Penggunaan kinetin dalam kultur jaringan juga telah dilaporkan, salah satunya pada tanaman vanili (Sarita *et al.*, 2022).

Berdasarkan uraian tersebut, perbanyakan mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L. secara *in vitro* menggunakan kombinasi IAA dan kinetin perlu dilakukan sebagai salah satu upaya untuk mendukung penyediaan bibit mangrove secara lebih efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi IAA dan kinetin terhadap induksi kalus pada eksplan tangkai daun dan batang muda mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L. secara *in vitro*

2. Metode

2.1 Alat dan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tangkai daun dan batang muda mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L. Eksplan dipilih dari bagian tanaman yang masih muda, sehat, dan tidak menunjukkan gejala kerusakan atau serangan penyakit. Bahan kimia yang digunakan meliputi media kultur dasar, zat pengatur tumbuh IAA dan kinetin, alkohol 70%, NaOCl (5.25%), akuades steril, Betadine, deterjen, serta bahan pendukung lainnya dalam proses kultur jaringan. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tangkai daun dan batang muda mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L.

2.2 Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan berupa kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IAA dan kinetin yang terdiri atas lima taraf perlakuan, yaitu P1: 0,25 ppm IAA + 0,25 ppm kinetin; P2: 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm kinetin; P3: 0,75 ppm IAA + 0,75 ppm kinetin; P4: 1 ppm IAA + 1 ppm kinetin; dan P5: kontrol tanpa penambahan IAA dan kinetin. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali, dan setiap ulangan terdiri atas tiga botol kultur sehingga terdapat sembilan botol kultur pada setiap perlakuan. Apabila setiap jenis eksplan diberi perlakuan yang sama, maka total unit percobaan adalah 5 perlakuan \times 2 jenis eksplan \times 3 ulangan \times 3 botol kultur.

2.3 Prosedur Penelitian

Prosedur kerja dalam penelitian ini mengacu pada metode Indah dan Ermavitalini (2013) yang telah dimodifikasi:

Pembuatan media kultur

Media kultur dibuat dengan melarutkan media *MS basal with vitamin* (4,43 gr/L), gula (30 gr/L), agar (8 gr/L) dan zat pengatur tumbuh sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan. IAA dan kinetin ditambahkan ke dalam media sesuai dengan konsentrasi perlakuan, yaitu P1, P2, P3, dan P4, sedangkan P5 digunakan sebagai kontrol tanpa penambahan IAA dan kinetin. pH media diatur hingga mencapai 5,8 sebelum proses pemanasan. Media kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil diaduk hingga larutan menjadi homogen dan jernih. Setelah itu, media dituangkan ke dalam botol kultur dengan volume (\pm 25 ml) per botol. Media yang telah dituangkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 25–30 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media didinginkan dan disimpan dalam kondisi steril hingga siap digunakan.

Sterilisasi alat-alat kultur

Alat-alat kultur seperti botol kultur, pinset, scalpel, cawan petri, dan alat gelas lainnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Ruang kerja dan laminar air flow cabinet dibersihkan terlebih dahulu, kemudian disemprot menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya, *laminar air flow cabinet* disinari dengan sinar ultraviolet selama kurang lebih satu jam sebelum digunakan. Setelah proses penyinaran selesai, lampu UV dimatikan, kemudian blower dan lampu penerangan dinyalakan sebelum kegiatan inokulasi dilakukan.

Sterilisasi eksplan

Eksplan tangkai daun dan batang muda dicuci terlebih dahulu menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan jaringan. Selanjutnya, eksplan dicuci menggunakan deterjen sambil digosok secara perlahan, kemudian dibilas kembali dengan air mengalir hingga bersih. Sterilisasi lanjutan dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*. Eksplan direndam dalam alkohol 70% selama 30 detik, kemudian dibilas tiga kali menggunakan akuades steril. Selanjutnya, eksplan direndam dalam larutan Klorox selama 7–10 menit, lalu dibilas kembali menggunakan akuades steril

sebanyak tiga kali. Setelah itu, eksplan direndam dalam larutan Betadine selama beberapa detik hingga beberapa menit, kemudian dibilas kembali menggunakan akuades steril. Eksplan yang telah steril diletakkan pada cawan petri steril yang telah diberi tisu steril sebelum ditanam pada media kultur.

Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dilakukan secara aseptik di dalam *laminar air flow cabinet*. Sebelum penanaman, seluruh alat tanam, botol kultur, dan permukaan kerja disemprot menggunakan alkohol 70%. Eksplan tangkai daun dan batang muda yang telah disterilisasi dipotong sesuai ukuran yang ditentukan, kemudian ditanam pada media kultur sesuai dengan perlakuan masing-masing. Setiap botol kultur ditutup menggunakan penutup steril dan dilapisi dengan plastik wrap untuk mencegah kontaminasi. Botol kultur kemudian diberi label sesuai dengan jenis eksplan, kode perlakuan, dan ulangan.

2.4 Parameter Pengamatan dan Teknik Pengumpulan Data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi:

1. Waktu muncul kalus, yaitu waktu awal terbentuknya kalus pada eksplan yang dihitung dalam satuan hari setelah tanam (HST).
2. Morfologi kalus, yaitu bentuk atau tekstur kalus yang terbentuk pada eksplan.
3. Warna kalus, yaitu warna kalus yang diamati secara visual pada setiap perlakuan.
4. Respons eksplan, yaitu perbedaan respons antara eksplan tangkai daun dan batang muda terhadap perlakuan kombinasi IAA dan kinetin.

Data dikumpulkan melalui pengamatan langsung terhadap eksplan yang ditanam pada media kultur. Pengamatan dilakukan secara berkala untuk mencatat waktu muncul kalus, morfologi kalus, dan warna kalus pada setiap perlakuan. Pengamatan warna dan morfologi kalus dilakukan secara visual, sedangkan waktu munculnya kalus dicatat berdasarkan hari pertama kalus mulai terlihat pada permukaan eksplan.

2.5 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif kualitatif. Data yang dianalisis meliputi waktu muncul kalus, morfologi kalus, warna kalus, dan respons eksplan terhadap kombinasi IAA dan kinetin. Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan uraian deskriptif untuk membandingkan respons masing-masing perlakuan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

3.1.1 Deskripsi Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan UPTD Balai Perbenihan, Pengawasan, dan Sertifikasi Benih Pertanian Provinsi Gorontalo. Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu sekitar 24°C dan kondisi pencahayaan 16 jam terang serta 8 jam gelap. Sampel tanaman mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* L. diambil dari Desa Leboto, Kecamatan Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara, dengan titik koordinat 0°50'53" LU dan 122°54'26" BT (Gambar 1).



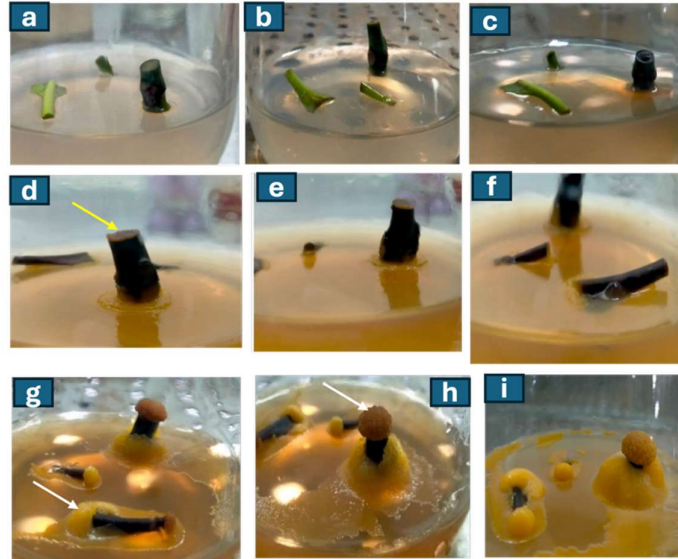
Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel di Desa Leboto, Kecamatan Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara.

3.1.2 Waktu Muncul Kalus

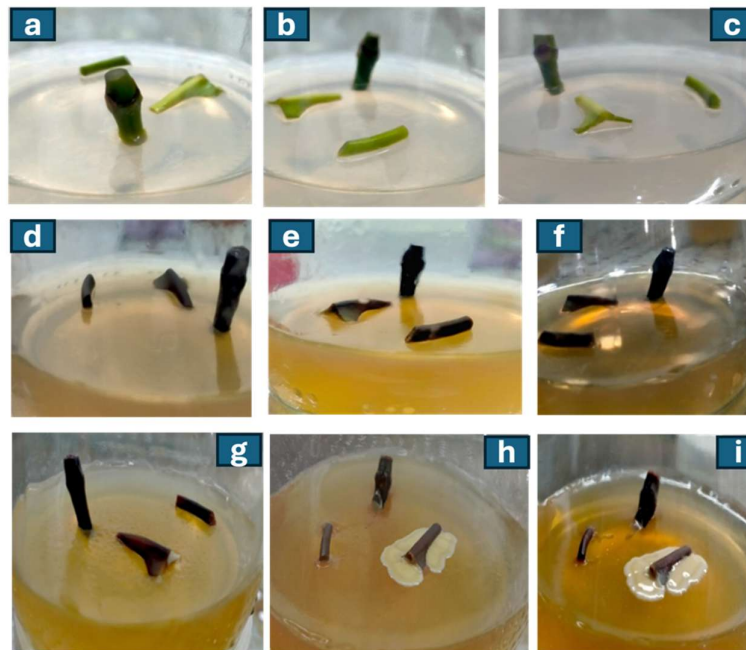
Hasil pengamatan Gambar 2 menunjukkan bahwa respons pembentukan kalus tercepat terjadi pada perlakuan P1, yaitu media dengan penambahan 0,25 ppm IAA dan 0,25 ppm kinetin. Kalus mulai tampak pada eksplan batang muda *B. gymnorrhiza* L. pada hari ke-19 setelah tanam atau sekitar minggu ke-3 setelah tanam. Respons awal pembentukan kalus ditandai dengan adanya pembengkakan pada bagian eksplan yang mengalami pelukaan dan bersentuhan langsung dengan media kultur. Pada perlakuan P1, kalus yang muncul pada fase awal pengamatan berwarna kuning. Seiring bertambahnya umur kultur, warna kalus cenderung berubah menjadi kuning kecokelatan. Namun, pada pengamatan minggu ke-6 hingga minggu ke-8 setelah tanam, eksplan pada perlakuan tersebut mengalami kontaminasi sehingga perkembangan kalus tidak dapat diamati secara optimal hingga akhir masa kultur. Sementara itu, berdasarkan hasil pengamatan yang terdokumentasi, perlakuan P2, P3, P4, dan P5 belum menunjukkan pembentukan kalus yang jelas seperti pada perlakuan P1. Dengan demikian, kombinasi IAA dan kinetin pada konsentrasi rendah, yaitu 0,25 ppm IAA dan 0,25 ppm kinetin, memberikan respons awal paling baik terhadap induksi kalus pada eksplan batang muda *B. gymnorrhiza* L.

Gambar 3 menunjukkan bahwa, eksplan pada awal penanaman atau 0 HST masih tampak segar, berwarna hijau, dan belum menunjukkan perubahan morfologis yang berarti. Pada 1 MST, beberapa bagian eksplan masih mempertahankan warna hijau, meskipun mulai terlihat perubahan warna pada bagian ujung potongan. Memasuki 2 MST hingga 3 MST, gejala pencoklatan mulai tampak lebih jelas, terutama pada bagian ujung eksplan dan permukaan jaringan yang terluka. Perubahan ini mengindikasikan adanya respons stres akibat proses pemotongan, sterilisasi, dan adaptasi eksplan terhadap media kultur. Pada pengamatan 4 MST sampai 6 MST, intensitas pencoklatan semakin meningkat dan sebagian eksplan berubah menjadi coklat kehitaman. Kondisi tersebut menunjukkan terjadinya oksidasi senyawa fenolik yang umum ditemukan pada kultur jaringan tanaman berkayu atau tanaman mangrove. Media kultur juga mulai mengalami perubahan warna menjadi kekuningan hingga kecokelatan, yang diduga berkaitan dengan keluarnya senyawa fenolik dari jaringan eksplan ke media. Pada tahap ini, sebagian eksplan tampak mengalami nekrosis, terutama pada bagian batang muda yang berwarna hitam. Pada 7 MST dan 8 MST, terlihat adanya massa jaringan berwarna putih hingga krem di sekitar bagian eksplan tertentu. Massa tersebut dapat diinterpretasikan sebagai indikasi awal pembentukan kalus, terutama jika jaringan tampak padat dan menempel pada bagian luka eksplan. Namun, kemunculan jaringan putih tersebut tetap perlu diamati lebih lanjut untuk memastikan apakah benar merupakan kalus atau kemungkinan kontaminasi. Secara umum, perlakuan P2 menunjukkan adanya respons fisiologis eksplan berupa perubahan warna, pencoklatan, nekrosis pada sebagian jaringan, serta kemungkinan awal pembentukan kalus pada akhir periode pengamatan.

Dengan demikian, respons pertumbuhan eksplan tangkai daun dan batang muda *B. gymnorrhiza* L. pada perlakuan P2 cenderung diawali oleh fase adaptasi, diikuti pencoklatan akibat oksidasi fenolik, dan pada minggu akhir mulai menunjukkan potensi pembentukan jaringan baru.



Gambar 2. Respons pertumbuhan eksplan tangkai daun dan batang muda *B. gymnorrhiza* L. pada perlakuan terbaik (P1): a) 0 HST; b) 1 MST; c) 2 MST; d) 3 MST; e) 4 MST; f) 5 MST; g) 6 MST; h) 7 MST; i) 8 MST.



Gambar 3. Respons pertumbuhan eksplan tangkai daun dan batang muda *B. gymnorrhiza* L. pada perlakuan P2 selama 8 minggu pengamatan. a) 0 HST; b) 1 MST; c) 2 MST; d) 3 MST; e) 4 MST; f) 5 MST; g) 6 MST; h) 7 MST; dan i) 8 MST.

3.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan kombinasi 0,25 ppm IAA dan 0,25 ppm kinetin menghasilkan respons pembentukan kalus tercepat pada eksplan batang muda *B. gymnorrhiza* L. Kalus mulai muncul pada hari ke-19 setelah tanam, yang ditandai dengan pembengkakan pada bagian eksplan yang mengalami pelukaan. Pembengkakan tersebut merupakan salah satu respons awal jaringan terhadap kondisi kultur dan pemberian zat pengatur tumbuh eksogen. Menurut Tuskan *et al.* (2018), terbentuknya kalus pada bagian eksplan yang dilukai menunjukkan bahwa jaringan merespons hormon eksogen yang diberikan melalui media. Hormon endogen dalam eksplan juga dapat berinteraksi dengan hormon eksogen sehingga merangsang pembelahan sel secara lebih cepat. Hal serupa dinyatakan oleh Saptiani dkk. (2020), bahwa kalus umumnya tumbuh pada bagian tepi eksplan yang mengalami pelukaan dan bersentuhan langsung dengan media, sehingga bagian tersebut mengalami pembengkakan.

Perlakuan dengan konsentrasi IAA dan kinetin yang lebih tinggi, yaitu P2, P3, dan P4, belum menunjukkan pembentukan kalus yang jelas berdasarkan hasil pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi zat pengatur tumbuh tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan respons pertumbuhan eksplan. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tidak sesuai dapat menghambat respons jaringan, terutama pada tanaman berkayu seperti mangrove. Oleh karena itu, respons terbaik pada P1 mengindikasikan bahwa eksplan batang muda *B. gymnorrhiza* L. lebih responsif terhadap kombinasi IAA dan kinetin pada konsentrasi rendah.

Warna kalus yang terbentuk pada perlakuan P1 awalnya berwarna kuning. Warna kuning pada kalus menunjukkan bahwa jaringan masih aktif mengalami pertumbuhan dan pembelahan sel. Namun, seiring bertambahnya umur kultur, kalus mengalami perubahan warna menjadi kuning kecokelatan. Perubahan warna ini menunjukkan adanya gejala browning. Abd Elaleem *et al.* (2009) menyatakan bahwa tekstur, warna, dan struktur kalus dipengaruhi oleh formulasi media serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan. Dengan demikian, perubahan warna kalus pada penelitian ini dapat berkaitan dengan respons fisiologis eksplan terhadap komposisi media dan kombinasi IAA–kinetin yang diberikan.

Perubahan warna kalus menjadi kecokelatan perlu diperhatikan karena dapat menjadi indikator penurunan kualitas pertumbuhan jaringan. Yusnita (2004) menyatakan bahwa warna kalus yang semakin gelap hingga coklat mengindikasikan penurunan pertumbuhan kalus. Warna kecokelatan pada kalus dapat disebabkan oleh metabolisme senyawa fenolik yang bersifat toksik, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian jaringan. Senyawa fenolik tersebut umumnya teroksidasi setelah eksplan mengalami pelukaan selama proses sterilisasi dan penanaman (Sasamoto *et al.*, 2020).

Browning merupakan perubahan warna jaringan menjadi coklat akibat akumulasi senyawa fenolik dan aktivitas enzim polifenol oksidase pada jaringan tanaman yang terluka. Kondisi ini sering terjadi pada kultur jaringan tanaman berkayu dan tanaman tahunan. Saptiani dkk. (2020) melaporkan bahwa *browning* pada kultur jaringan tanaman *Limonia acidissima* L. berkaitan dengan sifat tanaman yang berkayu dan tahunan. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari mangrove *B. gymnorrhiza* L., yang juga termasuk tanaman berkayu dan tahunan. Oleh karena itu, karakter tanaman tersebut diduga menjadi salah satu penyebab munculnya *browning* pada kultur jaringan *B. gymnorrhiza* L.

Jenis eksplan juga menjadi faktor penting dalam keberhasilan induksi kalus. Pada penelitian ini, kalus tampak terbentuk pada eksplan batang muda, sedangkan eksplan tangkai daun belum menunjukkan pembentukan kalus yang jelas. Hal ini menunjukkan bahwa jaringan batang muda memiliki kemampuan respons yang lebih baik terhadap media kultur dibandingkan dengan tangkai daun. Nurchayati dkk (2019) melaporkan bahwa eksplan batang mampu menghasilkan bobot kalus terbaik, sedangkan pada eksplan daun tidak terbentuk kalus. Respons tersebut diduga berkaitan dengan aktivitas pembelahan sel pada jaringan batang yang lebih tinggi dibandingkan dengan

jaringan daun. Eksplan yang tidak mampu membentuk kalus dapat menunjukkan adanya perbedaan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dari media inisiasi.

Selain jenis eksplan, umur jaringan tanaman juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan. Jaringan muda atau juvenil umumnya memiliki sel-sel yang lebih aktif membelah dibandingkan dengan jaringan yang lebih tua. Oleh karena itu, penggunaan batang muda dalam penelitian ini menjadi salah satu faktor yang mendukung terbentuknya kalus. Naughmouchi dkk. (2008) melaporkan bahwa respons eksplan dapat menurun seiring dengan bertambahnya umur eksplan. Dengan demikian, pemilihan eksplan muda menjadi hal penting dalam kultur jaringan mangrove, terutama pada tahap induksi kalus.

Kontaminasi yang terjadi pada perlakuan P1 pada minggu ke-6 hingga minggu ke-8 menunjukkan bahwa sterilisasi eksplan dan kondisi kultur masih menjadi faktor pembatas dalam penelitian ini. Sterilisasi merupakan tahap penting dalam kultur jaringan karena eksplan yang berasal dari lapangan memiliki kemungkinan membawa mikroorganisme pada permukaan maupun jaringan internal. Apabila sterilisasi belum optimal, pertumbuhan eksplan dapat terganggu dan kultur menjadi terkontaminasi. Dalam penelitian ini, prosedur sterilisasi dimodifikasi dari Indah dan Ermavitalini (2013), antara lain melalui penyesuaian waktu sterilisasi dan penggunaan klorox sebagai bahan sterilan. Namun, munculnya kontaminasi menunjukkan bahwa prosedur sterilisasi masih perlu dioptimalkan, khususnya untuk eksplan mangrove yang berasal dari lingkungan alami pesisir.

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi 0,25 ppm IAA dan 0,25 ppm kinetin merupakan perlakuan yang paling responsif dalam menginduksi pembentukan kalus awal pada eksplan batang muda *B. gymnorhiza* L. Namun, karena kalus mengalami browning dan kontaminasi pada fase pertumbuhan berikutnya, hasil penelitian ini sebaiknya dipahami sebagai respons awal induksi kalus, bukan sebagai keberhasilan penuh regenerasi kultur. Oleh sebab itu, penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan optimasi sterilisasi, penambahan agen anti-browning, serta pengujian konsentrasi IAA dan kinetin yang lebih bervariasi untuk memperoleh pertumbuhan kalus yang lebih stabil.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan P1 dengan kombinasi 0,25 ppm IAA dan 0,25 ppm kinetin memberikan respons terbaik terhadap induksi kalus pada eksplan batang muda mangrove *Bruguiera gymnorhiza* L. secara *in vitro*. Kalus mulai terbentuk pada hari ke-19 setelah tanam (HST), yang ditandai dengan adanya pembengkakan pada bagian eksplan. Kalus yang terbentuk pada perlakuan tersebut berwarna kuning pada awal pertumbuhan dan berubah menjadi kuning kecokelatan seiring bertambahnya umur kultur. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi IAA dan kinetin pada konsentrasi rendah berpotensi digunakan untuk menginduksi kalus pada eksplan batang muda *B. gymnorhiza* L.

5. Daftar Pustaka

- Abd Elaleem, K. G., Modawi, R. S., & Khalafalla, M. M. (2009). Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in tuber segment culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Diamant. *African Journal of Biotechnology*, 8(11), 2529–2534. <https://doi.org/10.5897/AJB09.014>
- Girsang, I. E., Restiani, R., & Prasetyaningsih, A. (2023). Induksi kalus eksplan daun porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) menggunakan kombinasi air kelapa dan IAA (Indole Acetic Acid). *Sciscitatio*, 4(2), 65–76. <https://doi.org/10.21460/sciscitatio.2023.42.119>
- Indah, P. N., & Ermavitalini, D. (2013). Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), E1–E6. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v2i1.2571>

- Izdihar, F. N. (2016). *Pengaruh pemberian Indole Acetic Acid (IAA) dan kinetin terhadap induksi kalus dari eksplan daun sirih hitam (Piper betle L.) melalui teknik in vitro* [Skripsi, Universitas Airlangga].
- Naghmouchi, S., Khouja, M. L., Rejeb, M. N., & Boussaid, M. (2008). Effect of growth regulators and explant origin on in vitro propagation of *Ceratonia siliqua* L. via cuttings. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(3), 251–258.
- Nurchayati, Y., Prihastanti, E., & Budihastuti, R. (2019). Identification of exudates from callus of mangrove plant (*Rhizophora apiculata* BI) in vitro. *Journal of Physics: Conference Series*, 1217, Article 012142. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012142>
- Rahim, S., & Baderan, D. W. K. (2017). *Hutan mangrove dan pemanfaatannya*. Deepublish.
- Rasud, Y., & Bustaman, B. (2020). Induksi kalus secara in vitro dari daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Rokhmah, F. (2020). Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh air kelapa muda terhadap pertumbuhan beberapa varietas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). *Biofarm: Jurnal Ilmiah Pertanian*, 15(2), 65–70. <https://doi.org/10.31941/biofarm.v15i2.1142>
- Saptiani, E., Rahmi, H., & Muharam. (2020). Induksi kalus dari eksplan daun tanaman kawista (*Limonia acidissima* L.) secara in vitro pada media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi air kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(5), 51–56.
- Sarita, R., Erawati, D. N., Taufika, R., Triwidianto, C., & Cahyaningrum, D. G. (2022). Perbanyak vanili (*Vanilla planifolia* Andrews.) dengan penambahan kinetin melalui teknik kultur jaringan efek. *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture*, 270–279. <https://doi.org/10.25047/agropross.2022.297>
- Sasamoto, H., Hayatsu, M., & Suzuki, S. (2020). High allelopathic activity of carotenoid-accumulating callus of a halophilic mangrove plant, *Avicennia alba*: Protoplast co-culture method with digital image analysis. *Journal of Plant Studies*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.5539/jps.v9n1p1>
- Suzana, B.O.L., Timban, J., Kaunang, R., & Ahmad, F. (2011). Valuasi ekonomi sumberdaya hutan mangrove di Desa Palaes Kecamatan Likupang Barat Kabupaten Minahasa Utara. *Agri-SosioEkonomi (ASE)*, 7(2), 29–38.
- Tuhuteru, S., Hehanussa, M. L., & Raharjo, S. H. T. (2012). Pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Dendrobium anosmum* pada media kultur in vitro dengan beberapa konsentrasi air kelapa. *Agrologia*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.30598/a.v1i1.293>
- Tuskan, G. A., Mewalal, R., Gunter, L. E., Palla, K. J., Carter, K., Jacobson, D. A., Jones, P. C., Garcia, B. J., Weighill, D. A., Hyatt, P. D., Yang, Y., Zhang, J., Reis, N., Chen, J.-G., & Muchero, W. (2018). Defining the genetic components of callus formation: A GWAS approach. *PLOS ONE*, 13(8), Article e0202519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202519>
- Yusnita. (2004). *Kultur jaringan: Cara memperbanyak tanaman secara in vitro*. Agromedia Pustaka.
- Zeng, S., Wang, J., Wu, K., Teixeira da Silva, J. A., Zhang, J., & Duan, J. (2013). In vitro propagation of *Paphiopedilum hangianum* Perner & Gruss. *Scientia Horticulturae*, 151, 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.032>