

Induksi Kalus Batang Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dengan Penambahan Pikloram dan BAP

Zidna Sahla Mazida, Noor Aini Habibah*

Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

*Email korespondensi: nooraini@mail.unnes.ac.id

(Article History: Received-June 26, 2025; Revised-July 31, 2025; Accepted-Aug 22, 2025)

ABSTRAK

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) mempunyai beragam kandungan metabolit sekunder. Metabolit sekunder dapat diproduksi melalui teknik kultur kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh kombinasi pikloram dan BAP terhadap induksi kalus pada eksplan batang tanaman kumis kucing. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yaitu berupa jenis dan konsentrasi ZPT. Data kuantitatif meliputi waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus, dan pertumbuhan kalus (berat basah dan berat kering) dianalisis menggunakan uji Kruskal-wallis dan dilanjutkan uji Dunn. Data kualitatif meliputi morfologi kalus (tekstur dan warna) dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh terhadap waktu muncul kalus, persentase berkalus, dan pertumbuhan kalus. Rerata waktu muncul kalus tercepat yaitu 6,25 HST pada P1B0 (1 ppm pikloram + 0 ppm BAP). Perlakuan dengan kombinasi pikloram + 2 ppm BAP merupakan yang paling optimal dalam menginduksi kalus batang kumis kucing dengan persentase 100 %. Rerata berat basah kalus tertinggi yaitu 0,195 g pada P3B2 (3 ppm pikloram + 2 ppm BAP), sedangkan rerata berat kering kalus tertinggi yaitu 0,051 g pada P3B3 (3 ppm pikloram + 3 ppm BAP). Sebagian besar kalus yang dihasilkan berwarna hijau kekuningan dengan tekstur remah.

Kata kunci: kalus; kumis kucing; pikloram; BAP

ABSTRACT

The cat whisker plant (*Orthosiphon stamineus*) contains a variety of secondary metabolites. These metabolites can be produced through callus culture techniques with the addition of growth regulators (ZPT). This study analyzed the effect of combining picloram and BAP on callus induction in cat whisker plant stem explants. This study used a one-factor completely randomized design (CRD) with the type and concentration of ZPT as the factor. Quantitative data, including callus emergence time, percentage of callus explants, and callus growth (fresh and dry weight), were analyzed using a Kruskal–Wallis test followed by a Dunn test. Qualitative data, including callus morphology (texture and color), were analyzed descriptively. The results showed that the picloram and BAP combination affected callus appearance time, percentage, and callus growth. The fastest average time to callus emergence was 6.25 HST at P1B0 (1 ppm picloram and 0 ppm BAP). Treatment with a combination of picloram and 2 ppm BAP was most effective in inducing callus cat whisker stem, with a 100% success rate. The highest average fresh weight of callus was 0.195 g, observed in treatment P3B2 (3 ppm picloram + 2 ppm BAP), while the highest average dry weight of callus was 0.051 g, found in treatment P3B3 (3 ppm picloram + 3 ppm BAP). Most of the calli produced were yellowish-green in color with a friable texture.

Keywords: callus; cat whisker; picloram; BAP

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman sebagai bahan pengobatan alami sudah sejak lama dilakukan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman obat lebih disukai oleh masyarakat karena harganya yang murah, mudah dijangkau, serta minim efek samping (Laia, 2022). Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Indonesia. Tanaman kumis kucing memiliki beberapa komponen metabolit sekunder seperti asam fenil propenoat, asam benzoat, flavonoid, diterpenoid, dan triterpenoid (Li *et al.*, 2021).

Senyawa fenolik, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin yang terkandung dalam tanaman kumis kucing memiliki efek antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi saluran kemih (ISK) (Nisak & Rini, 2021).

Produksi senyawa metabolit sekunder pada tanaman kumis kucing dapat diinisiasi melalui teknik kultur kalus. Kultur kalus dinilai sangat efektif karena dapat diinduksi dari bagian tanaman apapun (Rasud & Bustaman, 2020). Menurut Stafford & Warren, (1991) dengan menggunakan teknik kultur kalus, penampakan morfologinya lebih mudah diamati, hemat tenaga dan waktu, serta metabolit sekunder yang ada pada suatu tanaman dapat dinaikkan melalui manipulasi media yang digunakan. Selain itu, metabolit sekunder yang mampu dihasilkan kalus lebih tinggi karena kalus cenderung tidak berdiferensiasi menjadi organ lain sehingga hanya fokus pembentukan metabolit sekunder (Razavi *et al.*, 2017).

Keberhasilan dalam teknik kultur kalus dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Zat pengatur tumbuh yang paling sering ditambahkan dalam media kultur adalah auksin dan sitokinin. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan pikloram dari kelompok auksin dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) dari kelompok sitokinin. Pikloram dilaporkan efektif dalam menginduksi kalus pada *Pogostemon cablin* (Mazlan & Karim, 2018), *Gerbera jamesonii* (Gantait & Mahanta, 2021), dan *Verbena bipinnatifida* (Genady, 2017). BAP sebelumnya telah digunakan dalam induksi kalus kumis kucing dengan persentase kalus yang terbentuk sebesar 70% (Dorothy *et al.*, 2016). Pemberian BAP yang dikombinasikan dengan pikloram terbukti efektif dalam menginduksi kalus pada daun dan tangkai daun *Papaver rhoeas* (Aghaali *et al.*, 2019), dan pada daun *Pogostemon cablin* (Latif *et al.*, 2019).

Studi yang secara khusus membahas mengenai induksi kalus pada batang kumis kucing masih sangat terbatas. Selain itu, hingga saat ini belum ditemukan studi mengenai penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) pikloram dan BAP dalam induksi kalus tanaman kumis kucing. Kombinasi tersebut berpotensi memberikan hasil yang lebih optimal. Penelitian ini menawarkan kebaruan dengan mengeksplorasi pengaruh interaksi kedua ZPT tersebut secara spesifik terhadap eksplan batang tanaman kumis kucing, yang berpotensi menghasilkan respons morfogenesis yang berbeda dibandingkan penggunaan ZPT tunggal. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan pikloram dan BAP terhadap induksi kalus eksplan batang kumis kucing.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang. Sumber eksplan yang digunakan yaitu batang kumis kucing yang terletak pada pucuk tanaman yaitu di antara daun ketiga hingga kelima. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yaitu berupa jenis dan konsentrasi ZPT. Perlakuan yang digunakan adalah kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT), yaitu pikloram (0; 1; 2; dan 3 ppm) dan BAP (0; 1; 2; dan 3 ppm) (**Tabel 1**), sehingga diperoleh 16 kombinasi taraf perlakuan dengan 4 kali ulangan pada setiap perlakuan. Parameter pengamatan dalam penelitian ini meliputi waktu munculnya kalus (HST), persentase eksplan berkalus, pertumbuhan kalus (berat basah dan berat kering), dan morfologi kalus (warna dan tekstur).

Tabel 1. Kombinasi perlakuan pikloram dan BAP

Konsentrasi pikloram (P)	Konsentrasi BAP (B)			
	0 ppm (B0)	1 ppm (B1)	2 ppm (B2)	3 ppm (B3)
0 ppm (P0)	P0B0	P0B1	P0B2	P0B3
1 ppm (P1)	P1B0	P1B1	P1B2	P1B3
2 ppm (P2)	P2B0	P2B1	P2B2	P3B3
3 ppm (P3)	P3B0	P3B1	P3B2	P3B3

Pembuatan dan Sterilisasi Media

Komposisi media kultur yang digunakan terdiri dari media Murashige and Skoog (MS), gula, myo-inositol, dan zat pematat (agar). Media lalu dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 25 ml lalu ZPT pikloram dan BAP ditambahkan sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

Sterilisasi Eksplan

Eksplan batang kumis kucing dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Eksplan lalu dicuci kembali dengan detergen selama 10 menit dan dibilas akuades steril 3 kali. Eksplan lalu direndam dengan bakterisida 0,3 g/L dan fungisida 0,3 g/L selama 30 menit dan dibilas akuades steril 3 kali. Proses sterilisasi dilanjutkan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) meliputi perendaman dalam larutan sodium hipoklorit 20% selama 15 menit dan dibilas akuades steril 3 kali dilanjut dengan alkohol 70% selama 1 menit.

Inisiasi dan Induksi Kalus

Eksplan yang telah steril dipotong menjadi bagian-bagian kecil berukuran 1 cm. Bagian tersebut ditanam pada media MS sesuai dengan perlakuan. Masing-masing botol kultur diisi dengan dua eksplan. Botol kultur disimpan dalam ruang inkubasi dengan suhu $\pm 20-25^{\circ}\text{C}$, kelembapan 52-58%, dan diatur pula penyinaran lampu LED dengan intensitas cahaya 2000 lux. Eksplan tersebut diinkubasi selama 40 hari.

Analisis Data

Data kuantitatif seperti waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus, dan pertumbuhan kalus (berat basah dan berat kering) diuji normalitas melalui uji *Kolmogorov-Smirnov*. Jika data berdistribusi normal, maka dapat diuji homogenitas menggunakan uji *Levene's Test*. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA*. Jika hasil uji *One-way ANOVA* pada setiap perlakuan didapatkan pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's New Multiple Range Test* (DMRT). Namun jika data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka data dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji lanjut *Dunn* jika terdapat perbedaan. Sedangkan data kualitatif seperti morfologi kalus (tekstur dan warna) dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Kalus

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dianalisis dengan uji *Kruskall-wallis*. Hasil uji *Kruskall-wallis* menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh secara signifikan ($0,036 < 0,05$) terhadap parameter waktu muncul kalus. Hasil uji lanjut *Dunn* menunjukkan bahwa rata-rata waktu muncul kalus tercepat terjadi pada perlakuan P1B0 (1 ppm pikloram + 0 ppm BAP), yaitu 6,25 hari setelah tanam (HST) (**Tabel 2**). Pada perlakuan kontrol P0B0 (0 ppm pikloram + 0 ppm BAP) memiliki rerata waktu muncul kalus terlama, yaitu 12,50 HST. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ZPT pikloram dan BAP memiliki pengaruh yang signifikan terhadap waktu muncul kalus kumis kucing.

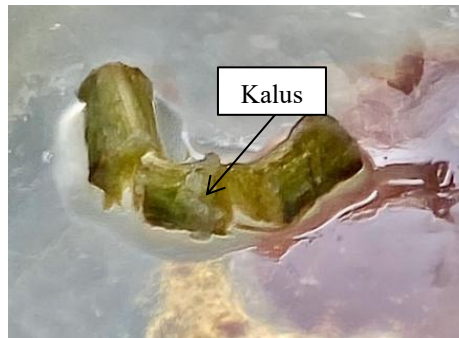
Pada perlakuan kontrol (P0B0) menunjukkan waktu muncul kalus terlama. Hal ini dikarenakan tanpa adanya ZPT eksogen, hormon endogen saja kurang optimum untuk menginduksi kalus karena jumlahnya yang terbatas dan tidak seimbang sehingga induksi kalus tidak maksimal. Menurut Fauzy & Husni (2016), pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh keseimbangan serta interaksi antara ZPT endogen dan ZPT eksogen yang diserap eksplan dari media kultur.

Tabel 2. Rata-rata waktu muncul kalus (HST), persentase berkalus (%), tekstur kalus, dan warna kalus kalus

ZPT (ppm)	Waktu muncul kalus (HST)	Persentase eksplan berkalus (%)
P0B0	12,50 ± 2,12 ^c	25,00 ± 28,87 ^a
P0B1	11,67 ± 1,15 ^{bc}	75,00 ± 50,00 ^{bc}
P0B2	12,00 ± 12,45 ^{bc}	100,00 ± 0,00 ^c
P0B3	10,00 ± 0,82 ^{abc}	100,00 ± 0,00 ^c
P1B0	6,25 ± 0,96 ^a	75,00 ± 28,87 ^{bc}
P1B1	9,50 ± 2,65 ^{abc}	100,00 ± 0,00 ^c
P1B2	9,25 ± 1,26 ^{abc}	100,00 ± 0,00 ^c
P1B3	7,00 ± 0,82 ^a	100,00 ± 0,00 ^c
P2B0	8,75 ± 2,50 ^{abc}	62,50 ± 25,00 ^b
P2B1	9,75 ± 2,63 ^{abc}	100,00 ± 0,00 ^c
P2B2	8,25 ± 2,06 ^{ab}	100,00 ± 0,00 ^c
P2B3	9,75 ± 2,75 ^{abc}	87,50 ± 25,00 ^{bc}
P3B0	7,25 ± 1,26 ^a	62,50 ± 25,00 ^b
P3B1	8,50 ± 3,70 ^{ab}	100,00 ± 0,00 ^c
P3B2	8,50 ± 0,58 ^{ab}	100,00 ± 0,00 ^c
P3B3	10,00 ± 3,27 ^{abc}	100,00 ± 0,00 ^c

*Notasi huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan perbedaan antar perlakuan tidak signifikan

Laju pertumbuhan kalus pada eksplan batang kumis kucing berbeda-beda pada masing-masing perlakuan. Zat pengatur tumbuh sebagai hormon eksogen diperlukan dalam komponen media bagi pertumbuhan dan diferensiasi kalus. Auksin (pikloram) berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel dengan cara peningkatan plastisitas dan pengembangan dinding sel. Hal tersebut dapat mendorong pengeluaran H⁺ yang dapat menyebabkan pH dinding sel menurun dan air dapat masuk ke dalam sel melalui proses osmosis sehingga terjadi pertumbuhan (Mahadi *et al.*, 2016). Sedangkan penambahan BAP sebagai hormon sitokinin akan merangsang terjadinya sintesis protein sehingga dapat memacu pembesaran dan pembelahan sel (Yulia *et al.*, 2020).



Gambar 1. Kalus yang mulai terbentuk setelah 7 HST

Kalus dapat muncul pada bagian eksplan yang terluka karena pemotongan ruas atau karena sayatan. Kalus yang muncul tersebut ditandai dengan adanya gumpalan sel-sel berwarna putih berukuran 1 mm pada permukaan eksplan bekas irisan atau sayatan dan menyebar hingga permukaan luar eksplan (**Gambar 1**). Kalus yang terbentuk selanjutnya akan mendorong terbentuknya jaringan baru (organogenesis). Salah satu gen yang berperan dalam proses ini adalah WIND (*Wound-Induced Dedifferentiation*), yang bertindak sebagai pengatur transkripsi untuk mendukung dediferensiasi dan perkembangan kalus pada jaringan yang mengalami cedera (Iwase *et al.*, 2021).

Persentase Eksplan Berkalus

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dianalisis dengan uji *Kruskall-wallis*. Hasil uji *Kruskall-wallis* menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh secara signifikan ($0,000 < 0,05$) terhadap parameter persentase eksplan berkalus. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi antara pikloram dan BAP mampu menginduksi kalus pada eksplan batang kumis kucing dengan persentase terendah yaitu 25 % pada perlakuan P0B0 (0 ppm pikloram + 0 ppm BAP) (**Tabel 2**). Pembentukan kalus sangat dipengaruhi oleh konsentrasi hormon yang terdapat dalam media perlakuan. Pada media yang tidak mengandung ZPT atau kadar yang diberikan tidak seimbang, maka hormon tersebut tidak dapat berinteraksi dengan hormon endogen tanaman, sehingga pertumbuhan kalus tidak terjadi (Ramadhan & Habibah, 2023).



Gambar 2. Eksplan yang membentuk akar pada kombinasi 1 ppm pikloram + 0 ppm BAP

Pada perlakuan pikloram tanpa penambahan BAP tidak menunjukkan respon yang baik dalam tumbuh kalus, namun terlihat menghasilkan pertumbuhan akar yang baik (**Gambar 2**). Menurut Ikeuchi *et al.* (2013), auksin dengan rasio yang lebih tinggi dari sitokinin akan merangsang terbentuknya akar, rasio sitokinin yang lebih tinggi dari auksin akan membentuk tunas, sedangkan rasio yang seimbang antara auksin dan sitokinin lebih cenderung menginduksi kalus.

Penggunaan eksplan yang masih berada dalam fase pertumbuhan aktif dapat meningkatkan potensi keberhasilan pembentukan kalus. Penggunaan eksplan pada penelitian ini adalah batang kumis kucing yang masih muda. Salah satu hal yang memengaruhi organ tanaman dalam membentuk kalus adalah umur fisiologi juvenil yang bersifat meristematik, sehingga diharapkan dapat menumbuhkan kalus lebih mudah dibandingkan dengan umur fisiologi yang mendekati dewasa (*mature*) (Santoso & Nursandi (2003) dalam Sari & Isda (2021)).

Pertumbuhan Kalus

Pada penelitian ini data pertumbuhan kalus diukur berdasarkan berat basah dan berat kering kalus. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dianalisis dengan uji *Kruskall-wallis*. Hasil uji *Kruskall-wallis* menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh secara signifikan ($0,027 < 0,05$) terhadap parameter berat basah kalus. Hasil uji lanjut *Dunn* menunjukkan bahwa rata-rata berat basah kalus tertinggi terjadi pada P3B2 (3 ppm pikloram + 2 ppm BAP), yaitu 0,195 g (**Tabel 3**). Sedangkan rata-rata berat basah kalus terendah terjadi pada P0B0 (0 ppm pikloram + 0 ppm BAP), yaitu 0,067 g.

Tabel 3. Rata-rata berat basah dan berat kering kalus (g)

ZPT (ppm)	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)
P0B0	0,067 ± 0,104 ^a	0,023 ± 0,001 ^a
P0B1	0,076 ± 0,003 ^{ab}	0,024 ± 0,004 ^{ab}
P0B2	0,098 ± 0,002 ^{abc}	0,027 ± 0,004 ^{ab}
P0B3	0,176 ± 0,031 ^{abc}	0,044 ± 0,003 ^{bc}
P1B0	0,125 ± 0,042 ^{abc}	0,041 ± 0,010 ^{abc}
P1B1	0,160 ± 0,083 ^{abc}	0,040 ± 0,015 ^{abc}
P1B2	0,104 ± 0,030 ^{abc}	0,038 ± 0,007 ^{abc}
P1B3	0,173 ± 0,043 ^{abc}	0,044 ± 0,007 ^{bc}
P2B0	0,186 ± 0,096 ^{bc}	0,048 ± 0,017 ^c
P2B1	0,159 ± 0,126 ^{abc}	0,0420 ± 0,017 ^{abc}
P2B2	0,152 ± 0,049 ^{abc}	0,042 ± 0,006 ^{abc}
P2B3	0,145 ± 0,026 ^{abc}	0,042 ± 0,011 ^{abc}
P3B0	0,141 ± 0,025 ^{abc}	0,044 ± 0,012 ^{bc}
P3B1	0,186 ± 0,050 ^{bc}	0,042 ± 0,007 ^{abc}
P3B2	0,195 ± 0,106 ^c	0,049 ± 0,013 ^c
P3B3	0,187 ± 0,084 ^{bc}	0,051 ± 0,023 ^c

*Notasi huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan perbedaan antar perlakuan tidak signifikan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat basah kalus dipengaruhi oleh kesesuaian konsentrasi antara pikloram dan BAP. Auksin mengatur aktivitas enzim yang mengatur proses sintesis protein dan penyusunan ulang komponen dinding sel, sehingga mendorong proses elongasi dan pembesaran sel yang berdampak pada peningkatan berat basah sel (Junairiah *et al.*, 2018). BAP yang dikombinasikan dengan auksin akan memacu pembelahan sel serta sintesis protein sehingga sel

berpoliferasi, akibatnya volume sel dan berat kalus bertambah (Latunra *et al.*, 2016). Perbedaan berat basah kalus yang dihasilkan disebabkan oleh kemampuan setiap sel dalam mengabsorpsi air yang berbeda. Kalus dengan berat basah yang lebih tinggi memiliki sel yang mengandung lebih banyak air.

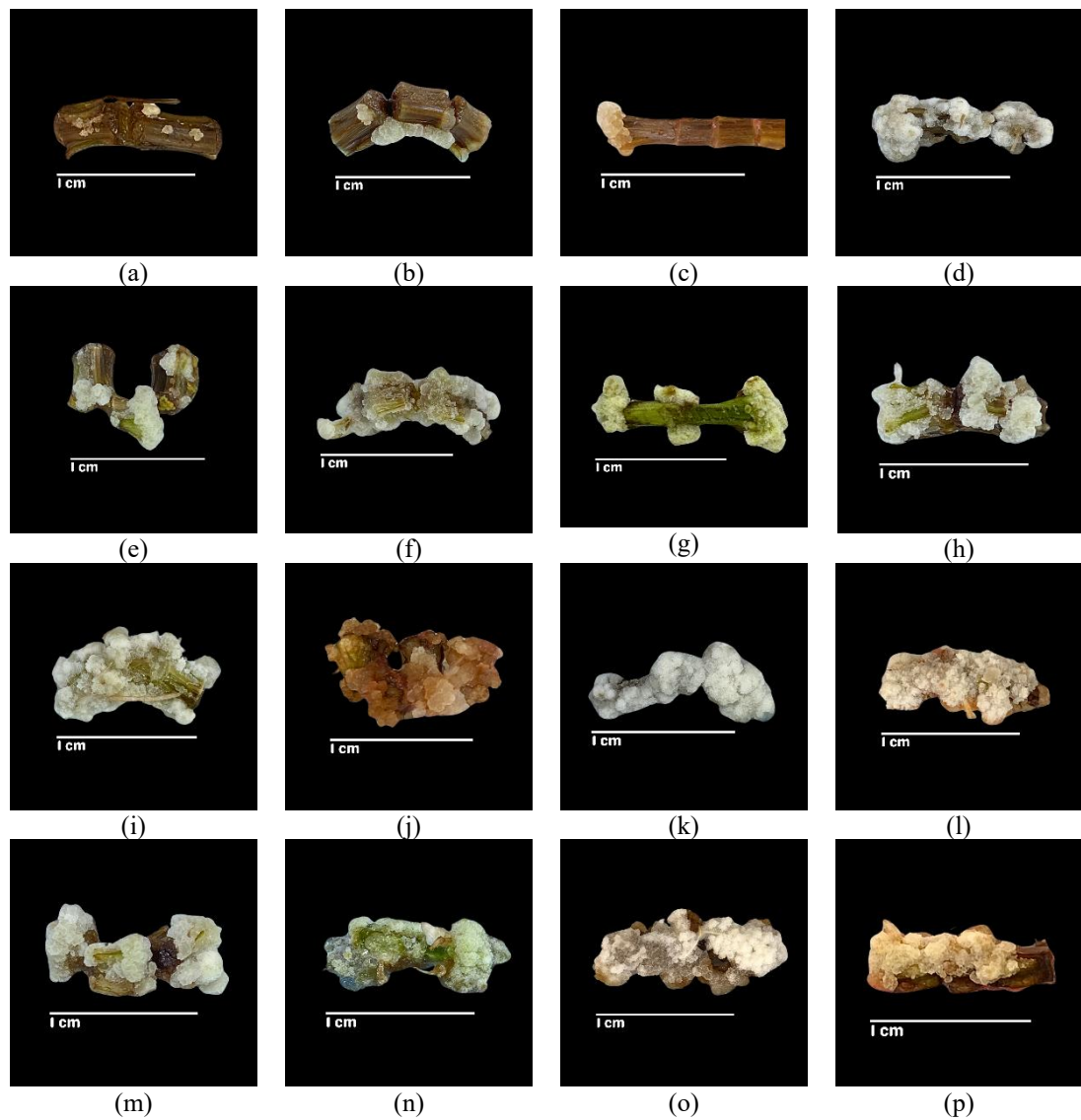
Selain berat basah, berat kering kalus juga memengaruhi pertumbuhan kalus. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dianalisis dengan uji *Kruskall-Wallis*. Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh secara signifikan ($0,034 < 0,05$) terhadap parameter berat kering kalus. Hasil uji lanjut *Dunn* menunjukkan bahwa rata-rata berat kering kalus tertinggi terjadi pada P3B3 (3 ppm pikloram + 3 ppm BAP), yaitu 0,051 g (**Tabel 3**). Sedangkan rata-rata berat basah terendah terjadi pada P0B0 (0 ppm pikloram + 0 ppm BAP), yaitu 0,023 g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan BAP berpengaruh signifikan terhadap berat kering kalus kumis kucing. Berat kering kalus jauh lebih kecil dibandingkan dengan berat basah kalus karena proses pengeringan yang dilakukan menyebabkan kandungan air yang terkandung di dalam kalus menguap dan hanya menyisakan massa kering saja.

Morfologi Kalus

Morfologi kalus merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai kualitas kalus secara visual. Parameter morfologi ini meliputi tekstur dan warna kalus. Perubahan morfologi ini sering kali menjadi petunjuk awal terhadap kondisi fisiologis kalus dan responsnya terhadap lingkungan *in vitro*. Hasil pengamatan terhadap tekstur kalus menunjukkan bahwa semua perlakuan menghasilkan kalus dengan tekstur remah (*friable*). Kalus bertekstur remah tersusun dari kumpulan sel yang mudah terlepas. Kalus yang remah dihasilkan dari pertumbuhan sel-sel berukuran kecil dengan ikatan antarsel yang longgar. Kalus remah ini disebabkan oleh auksin yang dapat merangsang pemanjangan sel melalui peningkatan plastisitas dinding sel, sehingga dinding sel menjadi lebih longgar. Akibatnya, air lebih mudah masuk ke dalam sel melalui proses osmosis. Oleh karena itu, kalus bertekstur remah cenderung memiliki kandungan air yang tinggi karena dinding selnya belum mengalami proses lignifikasi, sehingga sel-sel di dalamnya mudah terlepas satu sama lain.

Proses pembelahan sel yang terjadi pada kalus bertekstur remah lebih cepat jika dibandingkan dengan kalus bertekstur kompak (Mahadi *et al.*, 2022). Menurut Merthaningsih *et al.* (2018), tekstur kalus remah dianggap lebih baik karena bersifat embriogenik, sehingga mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk organ. Namun, dari segi kandungan metabolit sekundernya, kalus bertekstur kompak diyakini mampu mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Arieswari *et al.*, 2018).

Hasil pengamatan terhadap warna kalus menunjukkan hasil yang bervariasi yaitu putih, hijau kekuningan, putih kekuningan, hingga coklat kemerahan (**Gambar 3** dan **Tabel 4**). Warna kalus mencerminkan kondisi visual kalus yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah sel-sel di dalamnya masih aktif membelah atau sudah mengalami kematian (Toharah *et al.*, 2015). Kalus berwarna putih menunjukkan sel-sel yang masih muda dan aktif membelah. Warna putih menandakan plastida belum terdiferensiasi dan mencirikan kondisi meristematik (Prashariska & Pitoyo, 2021).



Gambar 3. Morfologi kalus kumis kucing dengan penambahan pikloram dan BAP setelah 40 HST (a) 0 ppm pikloram + 0 ppm BAP; (b) 0 ppm pikloram + 1 ppm BAP; (c) 0 ppm pikloram + 2 ppm BAP; (d) 0 ppm pikloram + 3 ppm BAP; (e) 1 ppm pikloram + 0 ppm BAP; (f) 1 ppm pikloram + 1 ppm BAP; (g) 1 ppm pikloram + 2 ppm BAP; (h) 1 ppm pikloram + 3 ppm BAP; (i) 2 ppm pikloram + 0 ppm BAP; (j) 2 ppm pikloram + 1 ppm BAP; (k) 2 ppm pikloram + 2 ppm BAP; (l) 2 ppm pikloram + 3 ppm BAP; (m) 3 ppm pikloram + 0 ppm BAP; (n) 3 ppm pikloram + 1 ppm BAP; (o) 3 ppm pikloram + 2 ppm BAP; (p) 3 ppm pikloram + 3 ppm BAP

Tabel 4. Morfologi kalus (tekstur dan warna kalus)

ZPT (ppm)	Tekstur Kalus	Warna Kalus (<i>Munsell Color Chart</i>)
P0B0	Remah	Hijau kekuningan 2.5GY 6/1
P0B1	Remah	Hijau kekuningan 2.5GY 5/1
P0B2	Remah	Putih kekuningan 2.5 Y 7/4
P0B3	Remah	Putih N7
P1B0	Remah	Hijau kekuningan 2.5 GY 8/2
P1B1	Remah	Hijau kekuningan 5GY 7/1
P1B2	Remah	Hijau kekuningan 7.5GY 6/2
P1B3	Remah	Putih N7
P2B0	Remah	Hijau kekuningan 5GY 8/1
P2B1	Remah	Coklat Kemerahan 10 YR 6/4
P2B2	Remah	Putih N7
P2B3	Remah	Putih kekuningan 2.5Y 9/2
P3B0	Remah	Hijau kekuningan 5GY 7/1
P3B1	Remah	Hijau kekuningan 5GY 8/4
P3B2	Remah	Putih kekuningan 5Y 9/4
P3B3	Remah	Putih kekuningan 2.5Y 8/4

Menurut Marthani *et al.* (2016) keberadaan sitokinin (BAP) dalam media kultur dapat memicu terbentuknya kalus berwarna hijau. Hal ini disebabkan oleh kemampuan sitokinin dalam mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein yang berperan dalam menghambat degradasi klorofil. Kalus berwarna kekuningan menunjukkan bahwa sel-sel telah dewasa menuju fase pembelahan aktif (Anggraeni *et al.*, 2022). Warna kuning merupakan hasil dari akumulasi pigmen flavonoid pada sel parenkim penyusun kalus (Ekawati *et al.*, 2022). Kalus berwarna coklat mengindikasikan bahwa kalus telah mengalami gejala browning. Browning menandakan pertumbuhan kalus telah memasuki fase penuaan (stasioner) yang dapat menyebabkan terhentinya pertumbuhan serta perkembangan sehingga produksi metabolit sekunder menurun. Penyebab browning pada kalus yaitu adanya senyawa fenolik yang terakumulasi akibat stress mekanik atau pelukaan pada eksplan, yang biasanya disebabkan oleh aktivasi dari enzim *polyphenol oxidase* dan *tyrosinase* (Admojo & Indrianto, 2016).

KESIMPULAN

Kombinasi antara pikloram dengan BAP menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap waktu muncul kalus, persentase berkalus, serta pertumbuhan kalus. Rata-rata waktu muncul kalus tercepat yaitu 6,25 HST yaitu pada P1B0 (1 ppm pikloram + 0 ppm BAP). Perlakuan dengan kombinasi pikloram + 2 ppm BAP merupakan yang paling optimal dalam menginduksi kalus batang kumis kucing dengan persentase kalus 100 %. Rata-rata berat basah kalus tertinggi dihasilkan oleh kombinasi P3B2 (3 ppm pikloram + 2 ppm BAP) yaitu sebesar 0,195 g, sedangkan rata-rata berat kering kalus tertinggi dihasilkan oleh kombinasi P3B3 (3 ppm pikloram + 3 ppm BAP) yaitu sebesar 0,051 g. Sebagian besar kalus yang dihasilkan berwarna hijau kekuningan dengan tekstur remah.

DAFTAR PUSTAKA

- Admojo, L., & Indrianto, A. (2016). Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg) PB 330. *Jurnal Penelitian Karet*, 34(1), 25–34.

- Aghaali, Z., Hoshino, Y., Monfared, S. R., & Moeini, A. (2019). Regulation of Dedifferentiation and Differentiation in Different Explants of *Papaver rhoeas* L. by One-Step Culture. *Scientia Horticulturae*, 246, 366–370. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.009>
- Anggraeni, D., Ismaini, L., Surya, M. I., Rahmi, H., & Saputro, N. W. (2022). Inisiasi Kalus Daun *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid dan Benzyl Adenine. *Agrikultura*, 33(3), 276. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i3.40540>
- Arieswari, N. N., Astarini, I. A., Astiti, N. P. A., & Pramana, J. (2018). In Vitro Callus Induction of “Shiraz” Grape (*Vitis vinifera* L.) using Different Medium and Growth Regulator Combination. *International Journal of Biosciences and Biotechnology*, 6(1), 34. <https://doi.org/10.24843/ijbb.2018.v06.i01.p03>
- Dorothy, P., Sudarshana, M., Nissar, A., & Girish, H. (2016). In vitro Cytological Studies of Leaf Callus Cultures of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *British Biotechnology Journal*, 13(4), 1–6. <https://doi.org/10.9734/bbj/2016/25638>
- Ekawati, Y., Anggraeni, A., Dyah Prawestri, A., & Nurtjahya, E. (2022). Induksi Kalus Sisik Umbi *Lilium longiflorum* Thunb. oleh Auksin dan Sitokinin, serta Respons Pertumbuhannya secara In Vitro. *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, 6(2), 28–37. <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v6i2.316>
- Fauzy, E., & Husni, A. (2016). Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Vitamin terhadap Tekstur, Warna, dan Berat Kalus Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma pada Dosis LD50 (In Vitro).
- Gantait, S., & Mahanta, M. (2021). Picloram-Induced Enhanced Callus-Mediated Regeneration, Acclimatization, and Genetic Clonality Assessment of *Gerbera*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00269-1>
- Genady, E. A. M. (2017). Influence of 2,4-D and Picloram on In Vitro Callus Induction from *Verbena bipinnatifida* Nutt. and Evaluation of In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Callus Extract. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(2), 146–150. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *Plant Cell*, 25(9), 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Iwase, A., Kondo, Y., Laohavisit, A., Takebayashi, A., Ikeuchi, M., Matsuoka, K., Asahina, M., Mitsuda, N., Shirasu, K., Fukuda, H., & Sugimoto, K. (2021). WIND Transcription Factors Orchestrate Wound-Induced Callus Formation, Vascular Reconnection and Defense Response in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 232(2), 734–752. <https://doi.org/10.1111/nph.17594>
- Junairiah, Sofiana, D. A., Manuhara, Y. S. W., & Surahmaida. (2018). Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(2), 41–46.
- Laia, I. S. (2022). Pemanfaatan Ciplukan (*Physalis angulata*) sebagai Tanaman Obat Hipertensi di Desa Mohili Kecamatan Amandraya Kabupaten Nias

- Selatan. *FAGURU: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan*, 1(2), 199–127. <https://jurnal.uniraya.ac.id/index.php/FAGURU>
- Latif, D. M., Warnita, W., & Mayerni, R. (2019). The Effect of Combination of Picloram and BAP on the Calculation of Clean Plants (Postogemon cablin Benth). *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 4(1), 105–110. <https://doi.org/10.22161/ijeab/4.1.17>
- Latunra, I. A., Masniawati, A., Aspianti, W. T., & Tuwo, M. (2016). *Induksi Kalus Pisang Barangan Merah Musa acuminata Colla dengan Kombinasi Hormon 2,4-D dan BAP secara In Vitro*. <http://journal.unhas.ac.id>
- Li, Z., Qu, B., Zhou, L., Chen, H., Wang, J., Zhang, W., & Chen, C. (2021). A New Strategy to Investigate the Efficacy Markers Underlying the Medicinal Potentials of Orthosiphon stamineus Benth. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.748684>
- Mahadi, I., Syafi'i, W., Sari, Y., Studi, P., Biologi, P., Keguruan, F., & Pendidikan, I. (2016). Pengaruh Pemberian Hormon 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Jeruk Kasturi (Citrus microcarpa). *Jurnal Biogenesis*, 12(2), 99–104.
- Mahadi, I., Wulandari, S., Safii, W., & Sayuti, I. (2022). Kultur Suspensi Sel Tanaman Gajah Beranak (Goniothalamus tapis Miq) terhadap Kandungan Zat Goniotalamine. *Jurnal Agro*, 8(2), 247–261. <https://doi.org/10.15575/14710>
- Marthani, Q. K., Anggraito, Y. U., & Rahayu, E. S. (2016). Kalogenesis Eksplan Setengah Biji Koro Benguk (Mucuna pruriens L.) secara In Vitro Menggunakan BAP dan NAA. *Life Science*, 5(1), 72–78. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/UnnesJLifeSci>
- Mazlan, F. I., & Karim, K. A. (2018). Response of Plant Growth Regulators on the Growth of Different. *Journal of Engineering Science and Technology*, 13(9), 2820–2828.
- Merthaningsih, N. P., Yuswanti, H., & Astiningsih, A. M. (2018). Induksi Kalus pada Kultur Pollen Phalaenopsis dengan Menggunakan Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat. *Agrotop*, 8(1), 47–55.
- Nisak, K., & Rini, C. S. (2021). Effectiveness of The Antibacterial Activity on Orthosiphon aristatus Leaves Extract Against Proteus mirabilis and Staphylococcus saprophyticus. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 4(2), 72–77. <https://doi.org/10.21070/medicra.v4i2.1582>
- Prashariska, K., & Pitoyo, A. (2021). Pengaruh Indole-3-Acetic Acid (IAA) dan Benzyl Amino Purine (BAP) terhadap Induksi dan Deteksi Alkaloid Kalus Kamillen (Matricaria chamomilla L.). *Jurnal Inovasi Pertanian*, 23(2), 104–114.
- Ramadhan, T. R., & Habibah, N. A. (2023). Induksi Kalus dari Eksplan Umbi Bawang Merah (Allium ascalonicum L var. Bima Brebes) Dengan Penambahan BAP dan Pikloram. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 46, 53–60.
- Rasud, Y., & Bustaman, B. (2020). In Vitro Callus Induction from Clove (Syzygium aromaticum L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Razavi, S. M., Arshneshin, H., & GHaseimian, A. (2017). In Vitro Callus Induction and Isolation of Volatile Compounds in Callus Culture of Lallermantia iberica

- (M. Bieb.) Fisch. & C. A. Mey. *Journal of Plant Process and Function*, 5(18), 65–68.
- Sari, M., & Isda, M. N. (2021). The Response of Callus Formation from *Tacca Chantrieri* Leaves with Various Concentrations of 2,4-D and BAP by In Vitro. *Jurnal Biologi UNAND*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.25077/jbioua.9.1.8-17.2021>
- Toharah, N. I., Soelistya, D., Jekti, D., & Zulkifli, L. (2015). Pertumbuhan Kalus Daun Melon (*Cucumis melo*) Varietas MAI 119 dengan Pemberian BAP (Benzyl Amino Purine) dan 2,4-D (2,4 Dichlorophenoxyacetic cid). *Journal Penelitian Pendidikan IPA*, 1(2), 2460–2582. <http://jurnal.unram.ac.id/index.php/jpp-ipa>
- Yulia, E., Baiti, N., Handayani, R. S., & Nilahayati. (2020). Respon Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan IAA terhadap Pertumbuhan Sub-Kultur Anggrek *Cymbidium* (*Cymbidium finlaysonianum* Lindl.) secara In-Vitro. *Jurnal Agrium*, 17, 156–165.