

Respon Pertumbuhan *In Vitro* Epikotil Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* L. var *microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Tomat dan *Benzylaminopurin* (BAP)

Siti Komairoh¹, Mukarlina², Dwi Gusmalawati^{3✉}

^{1,2,3} Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Indonesia

Informasi Artikel

Riwayat Artikel

Diserahkan : 16-05-2023

Direvisi : 25-05-2023

Diterima : 26-05-2023

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak tomat dan BAP terhadap respon pertumbuhan *in vitro* epikotil jeruk siam Pontianak. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama, konsentrasi ekstrak tomat (T) dengan taraf perlakuan, T0: kontrol, T1: 5%, T2: 10%, T3: 15%. Faktor kedua, konsentrasi BAP (B) dengan taraf perlakuan, B0: 0 mg/l, B1: 0,5 mg/l, B2: 1 mg/l, B3: 1,5 mg/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tomat dan BAP pada semua perlakuan mampu merangsang elongasi dengan persentase 100%. Perlakuan 15% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP di hari ke-40 menghasilkan tunas. Perlakuan 5% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP dan 10% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP di hari ke-50 membentuk kalus. Berdasarkan hasil penelitian perlakuan ekstrak tomat dan BAP mampu menginduksi elongasi, tunas, dan kalus pada epikotil jeruk siam.

Kata Kunci:

BAP, Ekstrak tomat,
Epikotil jeruk siam,
Pertumbuhan *in vitro*

Keywords:

BAP, *In vitro* growth, Siam
orange epicotyl, Tomato
extract

ABSTRACT

This study aims to analyze the effect of tomato extract and BAP on the in vitro growth response of Siam orange epicotyl. This research was experimental research using a completely randomized design factorial with two factors. The first factor was the concentration of tomato extract (T) with treatment level, T0: control, T1: 5%, T2: 10%, and T3: 15%. The second factor was BAP concentration (B) with treatment level, B0: 0 mg/l B1: 0,5 mg/l, B2: 1 mg/l, B3: 1,5 mg/l. The results of the study showed that the combination of tomato extract and BAP was able to stimulate elongation with a percentage of 100%. Stimulates of shoots in the combination of 15% tomato extract + 0.5 mg/l BAP on the 40th day and stimulates of callus in the combination of 5% tomato extract + 0.5 mg/l BAP and 10% tomato extract + 0.5 mg/l BAP in 50th day. Based on the results of the study showed that the combination of tomato extract and BAP was able to stimulate elongation, shoots, and callus of Siam orange epicotyl.

Corresponding Author:

Dwi Gusmalawati

Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Indonesia
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak 78124

Email: dwi.gusmalawati@fmipa.untan.ac.id

PENDAHULUAN

Jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* L. var *microcarpa*) merupakan komoditas buah-buahan dengan tingkat produksi terbanyak dibandingkan dengan jenis buah lainnya di provinsi

Kalimantan Barat. Jeruk siam banyak diminati masyarakat baik dalam bentuk segar maupun dalam bentuk olahan, disebabkan jeruk siam mengandung vitamin C dan mineral yang baik untuk kesehatan. Oleh karena itu, kebutuhan akan jeruk siam terus meningkat (Hidayati *et al.*, 2014).

Perbanyakan jeruk siam secara umum yang dilakukan oleh petani masih menggunakan teknik perbanyakan vegetatif secara konvensional, seperti cangkok, stek, okulasi, dan lain sebagainya. Perbanyakan vegetatif secara konvensional memiliki kelemahan, yaitu tanaman yang dihasilkan ada kemungkinan umurnya tidak seragam, perlu waktu yang lama untuk mendapatkan bibit tanaman dengan jumlah besar, hanya dapat dilakukan pada tanaman tertentu dan memerlukan lahan yang luas (Margareta *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perbanyakan secara kultur jaringan (*in vitro*) dapat menjadi salah satu solusi yang dapat membantu dalam penyediaan bibit jeruk siam. Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan memiliki kelebihan dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional yaitu, menghasilkan tanaman yang seragam umur dan sifat genetiknya, bebas dari penyakit, tidak terpengaruh dengan musim, tidak memerlukan tempat yang luas, dan bibit yang dihasilkan jumlahnya lebih banyak (Sandra, 2013).

Keberhasilan perbanyakan secara kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis eksplan dan komposisi zat pengatur tumbuh (zpt) yang ditambahkan pada media kultur. Perbanyakan secara kultur jaringan dapat menggunakan bagian biji yang tumbuh sebagai eksplan, misalnya kotiledon, hipokotil, embrio, dan epikotil. Eksplan tersebut dapat dirangsang menghasilkan kalus untuk organogenesis tak langsung atau organogenesis langsung dengan cara ditambahkan zpt. Epikotil kecambah *in vitro* menjadi sumber eksplan untuk perbanyakan jeruk siam. Epikotil merupakan bagian sumbu embrio yang berada di atas kotiledon (Slamet, 2011).

Zat pengatur tumbuh yang berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan eksplan dapat berasal dari bahan organik, contohnya ekstrak buah tomat. Heriansyah & Elfi (2020) menyatakan bahwa buah tomat matang mengandung sitokinin dan auksin yang dapat memicu pembelahan sel, pembesaran dan pemanjangan sel, morfogenesis, dan pertumbuhan tunas. Menurut Baroroh (2005), buah tomat matang lebih baik dalam komposisi kimiawinya dibandingkan buah tomat yang belum matang sehingga lebih banyak digunakan sebagai sumber zpt alami. Menurut Dwiyaning *et al.* (2009), pada buah tomat yang belum matang mengandung sitokinin sebesar 10,35 µg/1000 g, lebih tinggi dibandingkan pada buah tomat matang yaitu sebesar 1,05 µg/1000 g. Oleh karena itu, perlu ditambahkan dengan pemberian sitokinin sintetik seperti *Benzylaminopurin* (BAP).

Penambahan sitokinin dan auksin eksogen dalam media *Murshige Skoog* (MS) diharapkan dapat memberikan respon pertumbuhan pada eksplan epikotil, seperti elongasi (pemanjangan dan pembesaran sel), kalus, dan tunas. Menurut Cahyati *et al.* (2016), penambahan konsentrasi sitokinin dan auksin dalam media dapat mempercepat respon elongasi mencapai 100% pada eksplan epikotil maupun kotiledon *Citrus nobilis* L. asal Kampar. Menurut George & Sherrington (1984), pembelahan sel dan pembentukan kalus disebabkan adanya interaksi antara zpt endogen eksplan dengan auksin yang diberikan secara eksogen.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian zpt baik alami maupun sintetik secara tunggal belum dapat memberikan respon pertumbuhan yang optimal. Hasil penelitian Sari *et al.* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak tomat tunggal 10% dalam pertumbuhan epikotil kentang dombu (*Solanum tuberosum* L.) menghasilkan waktu muncul kalus pada 20 hari setelah tanam. Penelitian Maisarah & Isda (2021) menunjukkan bahwa penggunaan BAP tunggal 1,5 mg/l dalam pertumbuhan tunas jeruk kasturi (*C. microcarpa* Bunge.) muncul tunas yang lama yaitu pada 33,6 hari setelah tanam. Menurut Flick *et al.* (1993) dalam kultur *in vitro* kombinasi antara auksin dengan sitokinin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas. Hasil penelitian Mokoginta *et al.* (2021) pada pembentukan tunas Anggrek *Dendrobium* dengan kombinasi 7,5% ekstrak tomat dan 10⁻⁷ M BAP menghasilkan jumlah tunas tertinggi, yaitu mencapai 2,33 pada 33 HST.

Informasi tentang respon pertumbuhan *in vitro* epikotil biji jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak buah tomat dan BAP belum ada. Informasi ini sangat diperlukan pada budidaya jeruk siam terutama dalam pengadaan bibit yang unggul sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis respon pertumbuhan *in vitro* epikotil jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak tomat dan BAP.

METODE PENELITIAN

Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni–September 2022. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor. Faktor yang pertama, yaitu konsentrasi ekstrak tomat (T) dan faktor kedua yaitu konsentrasi BAP (B). Taraf perlakuan konsentrasi ekstrak tomat (T) yang digunakan, terdiri dari T0: kontrol, T1: 5%, T2: 10%, T3: 15% (Oktaviana *et al.*, 2015; Maulidia, 2021) dan taraf perlakuan konsentrasi BAP (B) yang digunakan, terdiri dari B0: 0 mg/l, B1: 0,5 mg/l, B2: 1 mg/l, B3: 1,5 mg/l (Intias, 2012; Corina *et al.*, 2014). Masing-masing taraf perlakuan dikombinasikan dengan pengulangan sebanyak lima kali, sehingga diperoleh 80 unit percobaan.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, seperti botol kultur, cawan petri, pinset, dan pisau skalpel dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Alat-alat tersebut kemudian dibungkus dengan kertas (kecuali botol kultur yang dibungkus dengan plastik mika) dan disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm, selama 30 menit. Laminar *Air Flow Cabinet* (LAFC) selanjutnya dibersihkan dengan alkohol 70%. Alat-alat yang sudah disterilkan dimasukkan ke dalam LAFC. Lampu *Ultra Violet* (UV) pada LAFC dinyalakan selama satu jam, kemudian lampu UV dimatikan dan ditunggu selama 15 menit selanjutnya dapat digunakan untuk menanam eksplan.

Pembuatan Larutan Stok Hara

Tahap pertama dalam pembuatan larutan stok hara makronutrient, mikronutrient dan vitamin, yaitu bahan-bahan kimia ditimbang sesuai komposisi media, selanjutnya diencerkan dengan menggunakan akuades. Larutan tersebut diaduk dengan batang pengaduk hingga merata. Selanjutnya, larutan dimasukkan ke dalam botol yang telah diberi label dan disimpan pada lemari pendingin.

Pembuatan Stok Ekstrak Tomat

Buah tomat yang telah masak dipilih, selanjutnya ditimbang sebanyak 500 g. Langkah berikutnya diblender untuk mendapatkan ekstrak tomat kasar. Ekstrak tomat tersebut, selanjutnya disaring sehingga didapat ekstrak tomat 100% (Serliana *et al.*, 2017). Pengenceran stok ekstrak tomat menggunakan rumus:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan:

V1 : Volume larutan yang diambil dari stok (ml)

M1 : Konsentrasi stok (% , M atau mg/L)

V2 : Volume larutan yang akan dibuat (ml)

M2 : Konsentrasi larutan yang akan dibuat (% , M atau mg/L)

Pembuatan Stok BAP

Konsentrasi stok BAP yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 200 mg/L. BAP ditimbang sebanyak 0,02 g, kemudian dilarutkan menggunakan akuades steril sebanyak 100 ml. Larutan Stok BAP kemudian dipindahkan ke dalam botol stok yang telah diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin (Melati, 2021). Rumus pengenceran stok BAP, yaitu:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan:

V1 : Volume larutan yang diambil dari stok (ml)

- M1 : Konsentrasi stok (% , M atau mg/L)
V2 : Volume larutan yang akan dibuat (ml)
M2 : Konsentrasi larutan yang akan dibuat (% , M atau mg/L)

Pembuatan Media MS

Gula pasir sebanyak 30 g dilarutkan dengan akuades sebanyak 300 ml, lalu diaduk menggunakan spatula hingga larut. Agar-agar sebanyak 7 g dimasukkan ke dalam gelas piala dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 300 ml. Stok hara makronutrient, mikronutrient, vitamin, dan larutan agar-agar dicampurkan ke dalam larutan gula dan ditepatkan menggunakan akuades hingga 800 ml. Ekstrak tomat dan BAP ditambahkan sesuai taraf perlakuan. pH optimal media agar adalah 5,6-5,8, apabila media terlalu basa, maka ditambahkan dengan HCl 1 N dan apabila media terlalu asam, maka ditambahkan dengan NaOH 1 N. Media yang telah siap, selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kultur dengan volume masing-masing media sebanyak 20 ml. Media selanjutnya disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C bertekanan 2 atm, selama 20 menit.

Sterilisasi dan Perkecambahan Biji

Biji jeruk siam dikecambahkan pada media kapas basah steril dan dimasukkan ke dalam botol kultur. Biji diambil dari buah segar dan telah matang. Buah jeruk dicuci bersih dengan air mengalir, selanjutnya disterilisasi dalam alkohol 70% selama satu menit, kemudian dibakar diatas api bunsen (Sandra, 2013). Buah jeruk dibelah, diambil biji yang mulus, tidak berbercak dan kulit biji tidak terkelupas, kemudian biji diletakkan di dalam media perkecambahan menggunakan pinset. Perkecambahan biji dilakukan selama tiga minggu. Epikotil hasil perkecambahan diambil sebagai eksplan (Fauzan *et al.*, 2015; Maisarah & Isda, 2021).

Penanaman dan Pemeliharaan Kultur

Eksplan epikotil jeruk siam yang digunakan yaitu dari kecambah yang berumur tiga minggu dengan ukuran eksplan dua cm (Markal, 2015). Eksplan diambil menggunakan pinset, kemudian ditanam pada media MS, pengerjaan dilakukan di dalam LAFC. Setiap satuan percobaan terdiri atas satu eksplan epikotil jeruk siam dengan posisi eksplan dibaringkan di media. Botol kultur ditutup rapat dan diberi label sesuai dengan perlakuan. Pemeliharaan kultur dilakukan selama 90 hari. Ruang inkubasi dijaga agar kondisinya selalu bersih dan steril, yaitu dengan menyemprotkan alkohol 70% setiap dua hari sekali selama pengamatan. Subkultur. Subkultur pada media baru dengan kombinasi perlakuan yang sama dilakukan sebanyak dua kali. Subkultur pertama dilakukan empat minggu setelah tanam dan subkultur kedua dilakukan empat minggu setelah subkultur pertama.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini, yaitu waktu mulai elongasi, persentase eksplan yang mengalami elongasi, waktu muncul tunas, dan waktu muncul kalus.

Analisis Data

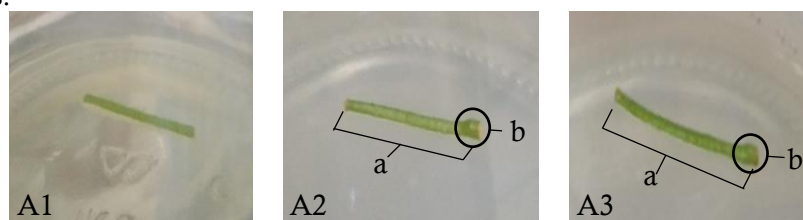
Data hasil pengamatan waktu muncul tunas, waktu muncul kalus, waktu mulai elongasi, dan persentase eksplan yang mengalami elongasi dihitung nilai rata-ratanya dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplan epikotil pada penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya respon awal berupa elongasi pada bagian eksplan yang dilukai dengan persentase 100% (Gambar 4.1, Tabel 4.1). Epikotil yang mengalami elongasi diduga karena adanya aktivitas pembelahan sel dan pembesaran sel yang dipicu oleh adanya interaksi antara zpt sitokinin dan auksin yang berasal dari dalam eksplan (endogen) maupun dari zpt yang ditambahkan (eksogen) yang diperoleh dari BAP dan ekstrak tomat. Menurut Solomon *et al.* (2010) penambahan kombinasi zpt sitokinin dan auksin pada media pertumbuhan dapat menghasilkan interaksi antar zpt untuk memacu pembelahan dan pembesaran sel berlangsung cepat pada bagian tanaman yang dilukai. Oktaviana *et al.* (2015) menyatakan bahwa dalam kultur *in vitro*, zpt sitokinin dan auksin akan bekerjasama dalam

memicu pembelahan sel tumbuhan. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Cahyati *et al.* (2016) yang memberikan sitokinin dan auksin eksogen dalam media dapat menyebabkan elongasi 100% pada eksplan epikotil maupun kotiledon *Citrus nobilis* L. asal Kampar.

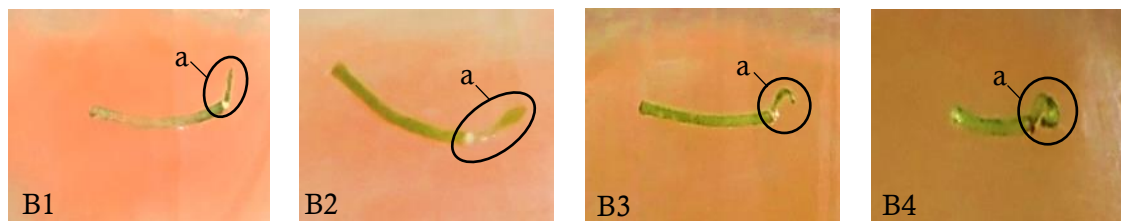
Eksplan pertama kali mengalami elongasi pada 15 HST pada semua perlakuan kombinasi ekstrak tomat dan BAP, sedangkan pada media tanpa penambahan ekstrak tomat (0%) eksplan mengalami elongasi pada 19 HST (Tabel 4.1). Eksplan yang diberi perlakuan ekstrak tomat dengan kombinasi BAP mengalami elongasi lebih cepat diduga karena adanya sitokinin dan auksin dalam ekstrak tomat (zpt eksogen) yang bersinergi dengan BAP maupun zpt endogen sehingga mempercepat respon pembelahan sel dan pembesaran sel eksplan epikotil biji jeruk siam. Menurut Cahyati *et al.* (2016), penambahan konsentrasi sitokinin dan auksin, seperti BAP, kinetin, dan NAA dalam media dapat mempercepat respon elongasi mencapai 100% pada eksplan epikotil maupun kotiledon *Citrus nobilis* L. asal Kampar. George & Sherrington (1984) menyatakan bahwa pembesaran sel dipengaruhi oleh adanya interaksi antara zpt endogen eksplan dengan auksin yang diberikan secara eksogen. Hasil penelitian Cahyati *et al.* (2016) menunjukkan bahwa eksplan epikotil dan kotiledon *Citrus nobilis* L. asal Kampar mengalami elongasi sebelum pembentukan kalus dan tunas.



Gambar 4.1 Respon Pertumbuhan Eksplan Epikotil Mengalami Elongasi; A1. 1 HST; A2. 15 HST; A3. 30 HST; a. pemanjangan sel; b. pembengkakan

Perlakuan T3B1 dengan 15% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP pada 40 HST dapat menginduksi tunas dari bagian eksplan yang dilukai tanpa terbentuknya kalus terlebih dahulu. Menurut Rao *et al.* (2005) organogenesis langsung ditandai dengan eksplan mengalami regenerasi secara langsung membentuk tunas tanpa terbentuknya kalus terlebih dahulu. Hasil penelitian Cahyati *et al.* (2016) terjadi organogenesis secara langsung pada pembentukan tunas epikotil dan kotiledon Jeruk siam asal Kampar. Media perlakuan ini dapat menginduksi tunas dan perkembangan tunas epikotil dari mulai terbentuk primordial daun hingga terbentuk helaian daun di hari ke-50 hingga hari ke-90 (Tabel 4.1, Gambar 4.2). Tunas yang terbentuk pada perlakuan T3B1 diduga karena adanya perimbangan zpt endogen dengan sitokinin dan auksin dari BAP dan ekstrak tomat yang ditambahkan dalam media kultur, sehingga saat ditambahkan sitokinin secara eksogen dalam konsentrasi rendah, yaitu 0,5 mg/l BAP dikombinasikan dengan 15% ekstrak tomat dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan tunas. Kartiman *et al.* (2018) menyatakan bahwa pemberian sitokinin dan auksin dengan konsentrasi optimum dan berimbang dengan kandungan zpt endogen dari eksplan mampu merangsang pembelahan sel dan pembentukan organ.

Eksplan epikotil yang ditumbuhkan pada media dengan perlakuan kontrol, perlakuan tunggal BAP, perlakuan tunggal ekstrak tomat, dan perlakuan BAP 0,5 mg/l dengan ekstrak tomat di bawah 15% tidak mampu membentuk tunas (Tabel 4.1). Hasil ini diduga pada perlakuan-perlakuan tersebut interaksi antara zpt endogen dengan sitokinin dan auksin eksogen dari BAP dan ekstrak tomat belum menghasilkan perimbangan yang sesuai untuk memacu induksi tunas. Hardiansyah (2022) menyatakan apabila konsentrasi zpt eksogen dan endogen tidak menghasilkan perimbangan yang tepat maka dapat menyebabkan tidak terjadinya induksi tunas atau tidak terjadi morfogenesis. Asra *et al.* (2020) menambahkan bahwa konsentrasi yang tepat dari zpt endogen dengan eksogen yang ditambahkan dalam media kultur dapat menghasilkan perimbangan zpt endogen dan eksogen untuk memicu induksi tunas pada eksplan.



Gambar 4.2 Respon Pertumbuhan Eksplan Epikotil Membentuk tunas pada Media T3B1; B1. 40 HST; B2. 50 HST; B3. 55 HST; B4. 90 HST; a. tunas.

Eksplan pada perlakuan T1B1 dengan 5% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP dan T2B1 dengan 10% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP dapat membentuk kalus pada 50 HST (Tabel 4.1). Auksin dan sitokinin dalam ekstrak tomat 5% dan 10% yang dikombinasikan dengan sitokinin BAP 0,5 mg/l diduga berinteraksi dengan zpt endogen menghasilkan rasio auksin dan sitokinin yang seimbang sehingga membentuk kalus. Menurut Desriatin (2010) interaksi antara zpt dalam jaringan eksplan dengan zpt yang ditambahkan dalam media kultur akan membentuk kalus apabila interaksi tersebut menghasilkan perimbangan yang tepat untuk dediferensiasi eksplan. Sitorus *et al.* (2011) menambahkan bahwa pertumbuhan kalus diawali dengan dinding sel mengendur dan terjadi penyerapan air menyebabkan dinding sel membengkak sehingga terjadi pembelahan sel dan terbentuk kalus. George & Sherrington (1984) menyebutkan bahwa konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang dapat menghasilkan respon adanya kalus pada eksplan.

Tabel 4.1 Rerata Waktu Mulai Elongasi, Persentase Eksplan Mengalami Elongasi, Waktu Muncul Tunas dan Waktu Muncul Kalus dari Epikotil Jeruk Siam Pontianak dengan Perlakuan Ekstrak Tomat dan BAP.

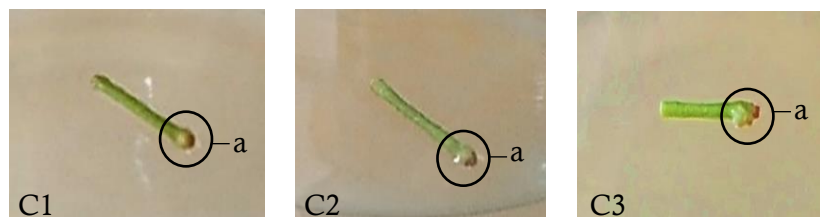
Parameter Pengamatan					
No.	Perlakuan	Waktu Mulai Elongasi (hari)	Persentase Eksplan Mengalami Elongasi (%)	Waktu Muncul Tunas (hari)	Waktu Muncul Kalus (hari)
1.	T0B0 (0% T + 0 mg/l B)	19	100	0	0
2.	T0B1 (0% T + 0,5 mg/l B)	19	100	0	0
3.	T0B2 (0% T + 1 mg/l B)	19	100	0	0
4.	T0B3 (0% T + 1,5 mg/l B)	19	100	0	0
5.	T1B0 (5% T + 0 mg/l B)	15	100	0	0
6.	T1B1 (5% T + 0,5 mg/l B)	15	100	0	0
7.	T1B2 (5% T + 1 mg/l B)	15	100	0	0
8.	T1B3 (5% T + 1,5 mg/l B)	15	100	0	0
9.	T2B0 (10% T + 0 mg/l B)	15	100	0	0
10.	T2B1 (10% T + 0,5 mg/l B)	15	100	0	50
11.	T2B2 (10% T + 1 mg/l B)	15	100	0	0
12.	T2B3 (10% T + 1,5 mg/l B)	15	100	0	0
13.	T3B0 (15% T + 0 mg/l B)	15	100	0	0
14.	T3B1 (15% T + 0,5 mg/l B)	15	100	40	0
15.	T3B2 (15% T + 1 mg/l B)	15	100	0	0
16.	T3B3 (15% T + 1,5 mg/l B)	15	100	0	0

Berdasarkan hasil penelitian, kalus yang terbentuk merupakan kalus bertekstur kompak (Tabel 4.2). Hal ini diduga karena perimbangan konsentrasi zpt auksin dan sitokinin baik endogen maupun eksogen dalam media mampu memicu pembelahan sel. Gandonou *et al.* (2005) menyatakan bahwa kalus kompak memiliki karakteristik, yaitu bertekstur padat dan keras, bersifat embrionik, dapat berwarna krem kecokelatan, putih dan kekuningan. Menurut Mahadi *et al.* (2016), tekstur kalus kompak dikarenakan adanya proses lignifikasi di dinding sel yang menyebabkan kalusnya bertekstur lebih keras.

Tabel 4.2 Warna Kalus dan Tekstur Kalus dari Epikotil Jeruk Siam Pontianak dengan Perlakuan Ekstrak Tomat dan BAP.

No.	Perlakuan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
1.	T1B1 (5% T + 0,5 mg/l B)	Putih kehijauan	Kompak
2.	T2B1 (10% T + 0,5 mg/l B)	Cokelat	Kompak

Kalus yang tumbuh pada penelitian ini berwarna putih kehijauan (Gambar 4.3) dan cokelat (Gambar 4.4). Warna kalus putih kehijauan diduga karena adanya hormon sitokinin dari BAP dan ekstrak tomat yang ditambahkan dapat mengakumulasi klorofil. Mahadi *et al.* (2016) menyatakan bahwa warna kehijauan disebabkan kalus mengandung klorofil karena adanya hormon sitokinin yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus. Wardani (2004) menambahkan bahwa kalus yang berwarna kehijauan dipengaruhi oleh konsentrasi sitokinin (BAP) pada media. Sitokinin dapat meningkatkan aktivitas metabolisme dan sintesis protein sehingga dapat menghambat perombakan klorofil. Kalus yang berwarna cokelat pada penelitian ini diduga menunjukkan adanya produksi metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kalus. Yusnita (2003) menyatakan bahwa warna kecokelatan pada kalus dikarenakan adanya metabolisme senyawa fenol.



Gambar 4.3 Respon Pertumbuhan Eksplan Epikotil Tumbuh Kalus pada Media T1B1; C1. 50 HST; C2. 55 HST; C3. 90 HST; a. Kalus



Gambar 4.4 Respon Pertumbuhan Eksplan Epikotil Tumbuh Kalus pada Media T2B1; D1. 50 HST; D2. 55 HST; D3. 90 HST; a. kalus

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak tomat dan BAP dapat merangsang elongasi dengan persentase 100%, merangsang pembentukan tunas pada perlakuan 15% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP dan pembentukan kalus pada perlakuan 5% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP dan 10% ekstrak tomat + 0,5 mg/l BAP.

Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya dalam pertumbuhan kalus dan tunas *in vitro*, yaitu dilakukan subkultur ke media baru dengan kombinasi konsentrasi ekstrak tomat dan BAP yang seimbang dan penambahan zpt eksogen yang lain, seperti kinetin, IAA, 2,4-D dan air kelapa untuk merespon elongasi lebih cepat dan jumlah eksplan yang tumbuh kalus maupun tunas lebih banyak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Zulfa Zakiah dan Siti Ifadatin yang telah memberikan saran dan masukan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Asra, R., Samarlina, R. A., Silalahi, M. (2020). *Hormon Tumbuhan*. Jakarta: UKI Press.
- Barroroh, U., & Aiman, U. (2005). Pengaruh Macam Konsentrasi Tomat Terhadap Pertumbuhan Anggrek *Cattleya* Secara *In Vitro*. *Planta Tropika*, 1(2), 79-83.
- Cahyati, S., Isda, N., & Lestari, W. (2016). Induksi Tunas dari Eksplan Kotiledon dan Epikotil *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Asal Kampar pada Media MS. *Jurnal Riau Biologia*, 1(5), 31-38.
- Corina, IP., Mukarlina, & Linda, R. (2014). Respon Pertumbuhan Kultur Biji Siam Seed (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan *Benzyl Amino Purine* (BAP). *Jurnal Protobiont*, 3(2), 120-124.
- Desriatin, N. L. (2010). Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan Kinetin Terhadap Morfogenesis pada Kultur *In Vitro* Tanaman Tembakau (*Nicotina tabacum* L. var Prancak-95). *Kultur Jaringan Tembakau*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Dwiyani, R., Aziz, P., Ari, I., & Endang S. (2009). Peningkatan Kecepatan Pertumbuhan Embrio Anggrek *Vanda tricolor* Lindl. pada Medium Diperkaya dengan Ekstrak Tomat. [Prosiding Seminar Biologi Nasional XX]. UIN-Malang: 590-597.
- Fauzan, Y., Sandra, E., & Mulyono, D. (2015). Kajian Elongasi pada Tanaman *In Vitro* Gaharu (*Aquilaria beccarina* van Tiegh). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 2(2), 65-72.
- Flick, C., Evan, D., & Sharp, W. (1993). *Organogenesis*. In Evans, D. A., Sharp, W. R., Amirato, P. V., Yamada, T. (eds) *Handbook of Plant Cell Culture and Development*. London: CRC Press.
- Gandonou, C., Errabii, T., Abrinii, J., Idaomari, M., Cibi, F., & Senhaji, N. (2005). Effect of Genotype on Callus Induction and Plant Regeneration from Leaf Explants of Sugarcane (*Saccharum* sp.). *African J. Biotechnology*, 4(11), 1250-1255.
- George, E., & Sherrington, P. (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. England: Exegetics Limited.
- Hardiansyah, B. (2022). *Hormon dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)*. Taiwan: National Taiwan University (NTU).
- Heriansyah, P., & Elfi, I. (2020). Uji Tingkat Kontaminasi Eksplan Anggrek *Bromheadia finlysoniana* L. dalam Kultur *In Vitro* Dengan Penambahan Ekstrak Tomat. *Jurnal Agroqua*, 18(1), 223-232.
- Hidayati, N., Lestari, W., & Isda, N. (2014). Induksi Tunas *In Vitro* Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L.) Asal Kampar dari Eksplan Tunas Apeks dan Nodus *In Vitro*. *JOM FMIPA*, 1(2), 275-282.

- Intias, S. (2012). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) Secara *In Vitro* [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelah Maret.
- Kartiman, R., Sukma, D., Aisyah, S., & Purwito, A. (2018). Multiplikasi *In Vitro* Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* L.) pada Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 5(1), 75-87.
- Mahadi, I., Syafi'I, W., & Sari, Y. (2016). Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* (JIPI), 21(2), 84-89.
- Maisarah, P., & Isda, M. (2021). Induksi Tunas dari Eksplan Epikotil Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa* Bunge.) dengan Penambahan BAP dan Kinetin secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 6(3), 138-146.
- Margareta, F, Budianto, & Sutoyo. (2019). Studi Tentang Metode Perbanyak Tanaman Jeruk Siam Pontianak (*Citrus Nobilis* var *microcarpa*) Secara Vegetatif di Kebun Percobaan Puntan Desa Sidomulyo Kota Batu. *Berkala Ilmia Pertanian*, 2(1), 26-29.
- Markal, A. (2015). Perbanyak Anggrek *Grammatophyllum Scriptorum* (Lindl.) Bl. Melalui Induksi Tunas secara *In Vitro* dengan Penambahan BAP dan NAA. [Skripsi]. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Maulidia, D. (2021). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Tomat Terhadap Pertumbuhan Sub Kultur Anggrek *Dendrobium singkawangense* pada Media $1/2$ MS Secara *In Vitro*. [Artikel Ilmiah]. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Melati, D. E. D. (2021). Aplikasi Hormon BAP untuk Meningkatkan Pertumbuhan *Phalaenopsis* hibrida Pasca Aklimatisasi. [Skripsi]. Universitas Tribhuwana Tunggadewi. Malang.
- Mokoginta, B., Beatrix, D., Doortje, M. F., & Sumampow. (2021). Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin dan Ekstrak Bahan Organik Terhadap Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* Secara *In Vitro*. *Jurnal Cocos*, 3(1), 1-12.
- Oktaviana, M. A., Linda, R., & Mukarlina. (2015). Pertumbuhan Tunas Mahkota Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Secara *In Vitro* dengan Penambahan Ekstrak Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dan Benzil Amino Purin (BAP). *Jurnal Protobiont*, 4(3), 109-112.
- Rao, S., Patil, P., & Kaviraj, C. P. (2005). Callus Induction and Organogenesis from Various Explants *Vigna radiata* L. Wilczek. *Indian Journal Biotechnology*, 4(1), 556-560.
- Sandra, E. (2013). *Cara Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. Bogor: IPB Press.
- Sari, R., Asri, P., Pitopang, R., & Suwastika, I. N. (2019). Induksi Kalus Tanaman Kentang Dombu (*Solanum tuberosum* L.) Secara *In Vitro* dengan Penambahan Ekstrak Tomat dan Air Kelapa. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 8(1), 20-27.
- Serliana, Mukarlina, & Riza, L. (2017). Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) secara *In Vitro* dengan Penambahan Ekstrak Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dan Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Protobiont*, 6(3), 310-315.
- Sitorus, E. N., Hastuti, E. D., & Setiardi, N. (2011). Induksi Kalus Binohang (*Basella rubra* L.) Secara *In Vitro* pada Media MS dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *Bioma*, 13(1), 1410-8801.
- Slamet, S. J., Pardal, Herman, M., & Wartono. (2011). Regenerasi Kedelai Melalui Kultur Epikotil dan Teknik Aklimatisasi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 30(1), 38-42.
- Solomon, A., Golubowicz, S., Yablowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H., Altman, A., Kerem, Z., & Flaishman, M. (2010). Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Different Fruit Part Juices of There Figs (*Ficus carica* L.)
- Wardani, D. P., Solichatun, & Ahmad, D. S. (2004). Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-D dan Kinetin. *Jurnal Biofarmasi*, 2(1), 35-43.
- Yusnita. (2003). *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.