

## In Vitro Shoot Culture Growth of Pontianak Orange (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) with the Addition of *Naphthalene Acetic Acid* and *6-Benzyl Amino Purine*

Zoelva Zakiatun Nissa<sup>1</sup>, Zulfa Zakiah<sup>1\*</sup>, Masnur Turnip<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia;

### Article History

Received : November 02<sup>th</sup>, 2023

Revised : November 20<sup>th</sup>, 2023

Accepted : December 19<sup>th</sup>, 2023

\*Corresponding Author:

**Zulfa Zakiah**, Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia;

Email: [zulfa.zakiah@fmipa.untan.ac.id](mailto:zulfa.zakiah@fmipa.untan.ac.id)

**Abstract:** Pontianak siam orange (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) is an important agricultural commodity unique to Sambas Regency, West Kalimantan. The demand for Pontianak siam oranges has been steadily increasing over the years, yet the production of Pontianak oranges has not been able to meet the domestic demand. The limited availability of superior seedlings is one of the reasons for this situation. Therefore, efforts are needed to fulfill the demand for Pontianak siam oranges by producing a large quantity of superior seedlings in a short period. One of the strategies that can be employed is *in vitro* propagation. This research aims to observe the growth of Pontianak Siamese orange shoot explants after administration of NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) and BAP (*6-Benzyl Amino Purine*). This research was conducted from January to June 2023 at the Tissue Culture Laboratory of the Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Tanjungpura University. The study employed a Completely Randomized Design (CRD) with two treatment factors namely NAA concentrations with 4 levels (0; 0.25; 0.5; 0.75 mg/L), and BAP concentrations with 5 levels (0; 0.5; 1; 1.5; 2 mg/L). Parameters observed were the emergence time of shoot, shoot number, height of shoot, and the number of leaves. The results showed that single NAA, single BAP, and combination treatment of NAA and BAP significantly affected all growth parameters. Treatment with the addition of 0.25 mg/L NAA and 1 mg/L BAP (A1B2) was the treatment with the fastest shoot emergence time (2.80 days after planting), the largest number of shoots (2.60 shoots) the tallest shoots (1.50 cm), and the greatest number of leaves (2.60 leaves).

**Keywords:** BAP (*6-Benzyl Amino Purine*), *Citrus nobilis* var. *microcarpa*, IN VITRO, NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), shoot culture.

### Pendahuluan

Jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*), merupakan jenis jeruk siam yang berasal dari Sambas, Kalimantan Barat. Jeruk siam pontianak memiliki karakteristik khas, termasuk kulit yang tipis, berwarna hijau kekuningan dengan permukaan halus dan mengkilat, serta memiliki rasa buah manis (Hidayati, 2012). Buah jeruk siam pontianak memiliki kandungan vitamin C tinggi, vitamin A, vitamin B, protein, karbohidrat, lemak, dan fosfor, sehingga bermanfaat untuk

meningkatkan daya tahan tubuh, mencegah penyakit jantung dan stroke (Srideni, 2019). Berdasarkan data Dinas Pertanian Kalbar tahun 2019, produksi jeruk siam pontianak mengalami ketidakstabilan dan mengalami penurunan. Salah satu penyebab penurunan produksi jeruk siam Pontianak adalah adanya serangan CPVD (Hardiyanto *et al.*, 2021).

Budidaya jeruk siam pontianak di Kalimantan Barat saat ini masih mengandalkan teknik konvensional seperti cangkok, stek, dan okulasi. Namun, perbanyak dengan metode konvensional memiliki keterbatasan dalam skala

produksi besar. Selain itu, jika tanaman induk yang digunakan terinfeksi CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*), maka virus tersebut akan menyebar ke tanaman hasil perbanyakan. Akibatnya, perbanyakan menggunakan teknik konvensional apabila dilakukan secara berlanjut dapat menyebabkan penurunan kemampuan tumbuh dan kualitas tanaman (Basri, 2016). Sebagai solusi mengatasi masalah tersebut, teknik *in vitro* diaplikasikan dalam budidaya jeruk siam di Pontianak. Metode ini berpotensi untuk memproduksi bibit secara massal, tanpa bergantung musim, dan menghasilkan tanaman bebas virus dan penyakit.

Keberhasilan dalam mendapatkan tanaman yang tidak terinfeksi virus melalui teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh tipe eksplan yang digunakan. Penggunaan eksplan dari jaringan meristem apikal seperti pucuk *in vitro* memiliki potensi yang sangat baik untuk menghilangkan virus karena bagian meristem merupakan bagian tanaman yang cenderung bebas dari virus. Sel-sel meristem berkembang lebih cepat daripada penyebaran virus, sehingga terdapat sel-sel baru yang belum terinfeksi virus (Basri, 2016). Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan salah satu penyusun media yang sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh berperan krusial terhadap pembelahan sel dan diferensiasi jaringan yang dikultur. *6-Benzyl Amino Purin* (BAP) adalah sitokinin sering dikombinasikan dengan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), sejenis zat pengatur tumbuh auksin. Sitokinin mengatur pembelahan sel dan memengaruhi pembentukan tunas dari kalus, sementara auksin berkontribusi pada pemanjangan dan pelebaran sel, serta pembentukan kalus. Kolaborasi sitokinin dan auksin dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel memiliki dampak signifikan pada pertumbuhan tinggi tanaman (Dwiyani, 2015).

Penelitian tentang perbanyakan jeruk siam Pontianak telah dilakukan oleh Intarti, (2021), menggunakan eksplan kalus epikotil jeruk siam dengan penambahan NAA dan BAP. Jumlah tunas dan akar terbanyak dihasilkan pada perlakuan kombinasi 0,05 mg/L NAA dan 0,31 mg/L BAP. Penelitian Nurwahyuni (2013) mengenai perbanyakan *Citrus nobilis Brastepu* menggunakan eksplan pucuk diperoleh bahwa konsentrasi 0,5 mg/L BAP efektif dalam

memulai pertumbuhan pucuk. Penelitian lain oleh Tilaar & Tulung (2013) tentang kultur pucuk juga telah dilakukan pada tanaman brokoli. Kombinasi optimal untuk tinggi tunas dalam penelitian ini adalah 1 ppm NAA dengan 3 ppm BAP, sementara kombinasi terbaik untuk jumlah tunas adalah 0,1 ppm NAA dengan 5 ppm BAP. Penelitian mengenai perbanyakan jeruk siam pontianak menggunakan eksplan pucuk *in vitro* dengan penambahan NAA dan BAP belum ada dilakukan. Oleh karena itu, penting melakukan penelitian untuk mengamati pengaruh penambahan NAA dan BAP terhadap pertumbuhan pucuk *in vitro* jeruk siam pontianak pada media MS.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Januari 2023 sampai dengan bulan Juni 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

### Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi agar, akuades, etanol 70%, *6-Benzil Amino Purin*, buah jeruk dari perkebunan jeruk di Kec. Tebas, Kab. Sambas, kapas, sukrosa, *Naphthalene Acetic Acid*, dan stok hara Murashige Skoog (MS).

### Rancangan penelitian

Pelaksanaan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi NAA (0; 0,25; 0,5; 0,75 mg/L), dan konsentrasi BAP (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/L). Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 pengulangan hingga diperoleh 100 unit percobaan.

### Pembuatan media

Media MS disiapkan dengan melarutkan 30 gram sukrosa dalam air destilasi dalam gelas piala. Campuran ini kemudian dicampurkan dengan larutan stok dan 7 gram agar yang telah dipanaskan. Setelah itu, campuran tersebut dihomogenkan dan ditambahkan hormon pertumbuhan (ZPT) sesuai konsentrasi yang diinginkan. Untuk mengatur pH, penambahan larutan HCl atau NaOH 0,1N dilakukan

sehingga pH berada dalam rentang 5,8-6,2. Selanjutnya, media dimasukkan dalam botol kultur dilanjutkan tahap sterilisasi dalam autoklaf.

### Persiapan pembentukan kecambah

Biji jeruk dikecambahkan pada media kapas steril. Jeruk yang memiliki keadaan baik dan matang dibersihkan dengan cairan pembersih dan dilanjutkan sterilisasi dengan air mengalir. Sterilisasi buah selanjutnya dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Buah jeruk dicelupkan ke dalam etanol 70% (1 menit) dan ditaruh dua kali di atas lampu bunsen. Selanjutnya buah dibelah melingkar, bijinya dibuang dan kulit bijinya dibuang, kemudian bijinya dimasukkan ke dalam botol budidaya yang telah disediakan media kapas. Benih diinkubasi hingga kecambah berumur 4 minggu.

### Penanaman eksplan

Bagian tanaman yang digunakan yaitu pucuk *in vitro* dari kecambah jeruk siam berumur 4 minggu. Kecambah diletakkan pada cawan petri, kemudian diambil pucuk dengan panjang ± 0,5 cm. Eksplan yang telah dipotong dikultur dalam botol media. Setiap botol ditanam satu pucuk. Botol kultur selanjutnya diletakkan pada rak di ruang inkubasi. Inkubasi dilakukan selama 28 hari.

### Subkultur

Sub kultur dilakukan sebanyak 3 kali dengan selang waktu 28 hari. Sub kultur

dilakukan dengan cara memindahkan eksplan pucuk yang telah merespon atau eksplan pucuk yang masih segar dan belum mati ke dalam media baru yang mempunyai komposisi yang sama dengan media sebelumnya.

### Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari dimulai sehari setelah penanaman sampai umur kultur 112 hari setelah tanam (hst). Parameter pertumbuhan yang diamati mencakup waktu saat muncul tunas (hst), jumlah dan tinggi tunas (cm) serta jumlah daun per tunas (helai).

### Analisis data

Analisis data hasil pengamatan menggunakan analisis sidik ragam dua jalur. Hasil yang memperlihatkan pengaruh nyata akan diuji lanjut dengan DNMR pada taraf kepercayaan 95%.

### Hasil dan Pembahasan

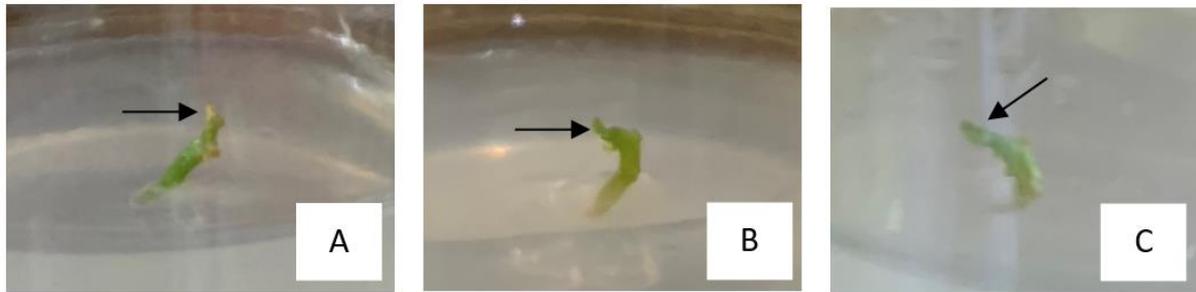
#### Waktu muncul tunas

Hasil analisis ANOVA memperlihatkan perlakuan tunggal NAA ( $F = 1,953$   $p = 0,128$ ) dan perlakuan tunggal BAP ( $F = 2,019$   $p = 0,100$ ) tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap waktu kemunculan tunas baru dari eksplan pucuk *in vitro* jeruk siam Pontianak. Perlakuan kombinasi NAA dan BAP ( $F = 1,860$   $p = 0,052$ ) menunjukkan interaksi dan memberikan pengaruh yang signifikan pada waktu muncul tunas baru (Tabel 1).

**Tabel 1.** Rerata waktu muncul tunas baru (hst) jeruk siam pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada kultur pucuk dengan penambahan NAA dan BAP

Konsentrasi NAA (mg/L)	Rerata waktu terbentuknya tunas (hst)				
	Konsentrasi BAP (mg/L)				
	0,00 (B0)	0,50 (B1)	1,00 (B2)	1,50 (B3)	2,00 (B4)
0,00 (A0)	6,6±0,54 ij	11,2± 0,83h	13,2± 1,09gh	10,8±11,30 hi	31,2±0,44 d
0,25 (A1)	33,4±0,54 abcd	22,2±8,52 e	<b>2,80±0,83 j</b>	17,7±7,72 fg	21,2±9,88 ef
0,50 (A2)	36,4±0,54 ab	11,6±11,97 h	31,6±0,84 cd	30,0±1,58 d	30,4±2,88 d
0,75 (A3)	<b>36,6±1,14a</b>	19,8±11,54 ef	32,8±1,30 bcd	35,2±1,64 abc	29,1±1,20 ef

Keterangan: Huruf kecil yang sama dan mengikuti angka-angka pada baris dan kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata menurut faktor interaksi berdasarkan uji lanjut Duncan taraf kepercayaan 95%.



**Gambar 1.** Pertumbuhan tunas dari eksplan pucuk jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada perlakuan 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP. A) hari ke-2, B) hari ke-14, C) hari ke- 28 (tanda panah=calon tunas)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, pada umur 2-3 hst eksplan mulai memberikan respon. Terlihat pada Gambar 1 mulai tumbuh tonjolan berwarna hijau yang merupakan bakal tunas pada bagian ujung atas eksplan. Respon awal munculnya tunas pada eksplan dapat dikenali melalui adanya tonjolan hijau keputihan pada bagian ujung eksplan (Gambar 1A). Kombinasi perlakuan 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP menunjukkan perkembangan tonjolan yang paling cepat, terlihat pada hari kedua setelah tanam. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi perlakuan tersebut dapat merangsang aktivitas pembelahan sel pada jaringan meristematik dalam eksplan pucuk secara *in vitro*, yang nantinya akan berkembang menjadi tonjolan berwarna putih hingga hijau.

Tonjolan tersebut memiliki potensi untuk berkembang menjadi tunas apabila memperoleh nutrisi yang sesuai. Feryati *et al.* (2018), menyatakan bahwa tahap awal pembentukan tunas pada eksplan meristem pucuk dari mahkota nanas ditandai dengan munculnya nodul berwarna putih. Waktu munculnya nodul tercepat pada penelitian tersebut ditunjukkan pada perlakuan tunggal  $10^{-7}$  M BAP. Perbedaan ini diduga terjadi karena perbedaan jenis tanaman yang diambil sebagai sumber eksplan (Oktaviana *et al.*, 2015). Berdasarkan

pengamatan selama 30 hari terhadap parameter waktu kemunculan tunas menunjukkan bahwa perlakuan A3B0 menghasilkan waktu muncul tunas yang paling lambat (36,6 hst) (Tabel 1).

Kondisi ini disebabkan karena penambahan ZPT eksogen ke dalam media memiliki potensi untuk mengubah keseimbangan ZPT di dalam sel tanaman, yang kemudian mampu mengakibatkan tidak adanya respons terhadap pembentukan tunas. Kari *et al.* (2010) menjelaskan bahwa auksin eksogen yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan rasio ZPT endogen menjadi tidak berimbang sehingga dapat menghambat proses pembentukan tunas. Zulkarnain (2009) juga menjelaskan bahwa jika ZPT endogen jaringan sudah terpenuhi, maka penambahan ZPT eksogen tidak memberikan dampak signifikan pada pertumbuhan tunas. Namun, walaupun dapat merangsang pembentukan tunas, proses ini akan memerlukan waktu yang kian lama.

#### Jumlah tunas

Hasil analisis ANOVA pada Tabel 2 terlihat bahwa perlakuan tunggal NAA ( $F = 3,444$   $p = 0,021$ ) dan perlakuan tunggal BAP ( $F = 10,771$   $p = 0,000$ ) serta perlakuan kombinasi NAA dan BAP ( $F = 4,104$   $p = 0,000$ ) secara signifikan memengaruhi jumlah tunas pada kultur pucuk jeruk siam Pontianak.

**Tabel 2.** Rerata jumlah tunas jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada kultur pucuk penambahan NAA dan BAP pada umur kultur 112 hst

Konsentrasi NAA (mg/L)	Rerata jumlah tunas				
	Konsentrasi BAP (mg/L)				
	0,00 (B0)	0,50 (B1)	1,00 (B2)	1,50 (B3)	2,00 (B4)
0,00 (A0)	1,00± 0,00 d	1,00 ± 0,00 de	1,60± 0,89 b	0,60± 0,55 e	1,00± 0,00 de
0,25 (A1)	<b>0,40± 0,55 e</b>	1,00 ± 0,00 d	<b>2,60± 0,90 a</b>	1,00± 0,00 d	1,20± 0,45 cd
0,50 (A2)	<b>0,40± 0,55 e</b>	1,40 ± 0,55 bc	1,20± 0,45 cd	1,20± 0,45 cd	1,20± 0,45 cd

0,75 (A3)      **0,40 ± 0,55 e**      1,00 ± 0,00 d      0,60 ± 0,55 e      0,60 ± 0,55 e      1,40 ± 0,55 bc

Keterangan: huruf kecil yang sama dan mengikuti angka-angka pada baris dan kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata menurut faktor interaksi berdasarkan uji lanjut Duncan taraf kepercayaan 95%.

Hasil uji lanjut menunjukkan perbedaan yang nyata antara perlakuan kombinasi 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP (A1B2) dengan semua perlakuan kombinasi lainnya. Jumlah tunas terbanyak diperoleh pada perlakuan kombinasi A1B2 yaitu 2,60 tunas. Jumlah tunas Pling sedikit ditunjukkan perlakuan kombinasi A1B0, A2B0, dan A3B0 yaitu 0,40 (Tabel 2). Perlakuan kombinasi A3B2, A3B3, dan A0B3 mampu merangsang pembentukan tunas, namun tidak merangsang pertumbuhan daun (0,00 helai daun) (Tabel 4). Pertumbuhan daun terhadap tanaman dipengaruhi oleh interaksi auksin dan sitokinin, yang memiliki peran penting dalam proses pembelahan sel dan mendorong peningkatan jumlah daun. Hasil ini didukung oleh Indrianto (2002), yang menyatakan bahwa sitokinin memegang peran penting dalam merangsang perkembangan daun, namun auksin endogen jaringan tanaman juga berpengaruh terhadap perkembangan daun.

Astuti & Andayani (2005) menyatakan bahwa pembentukan daun pada kultur jaringan bergantung pada interaksi auksin dan sitokinin dalam konsentrasi yang tepat. Zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan dapat aktif dengan

konsentrasi yang rendah, sebaliknya dalam konsentrasi yang tinggi zat pengatur tumbuh dapat menghambat pertumbuhan tunas dan daun. Hasil riset oleh Suparaini *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa NAA dan BAP yang diberikan dalam jumlah berlebihan akan berdampak negatif pada eksplan, bahkan mungkin mengakibatkan ketidakmampuan eksplan untuk tumbuh. Ketika konsentrasi auksin menjadi terlalu tinggi, produksi etilen yang berlebihan mungkin terjadi, yang pada gilirannya dapat menghambat perpanjangan sel. Sementara itu, pemberian sitokinin dalam jumlah berlebihan dapat mengganggu pembelahan sel, yang dapat menghambat pembentukan tunas dan daun.

### Tinggi tunas

Hasil analisis ANOVA memperlihatkan bahwa pada perlakuan tunggal NAA ( $F = 44,784$   $p = 0,000$ ) dan perlakuan tunggal BAP ( $F = 10,119$   $p = 0,000$ ) serta perlakuan kombinasi NAA dan BAP ( $F = 7,834$   $p = 0,000$ ) memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tunas kultur pucuk jeruk Pontianak (Tabel 3).

**Tabel 3.** Rerata tinggi tunas jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada kultur pucuk dengan penambahan NAA dan BAP umur 112 hst

Konsentrasi NAA (mg/L)	Rerata tinggi tunas (cm)				
	Konsentrasi BAP (mg/L)				
	0,00 (B0)	0,50 (B1)	1,00 (B2)	1,50 (B3)	2,00 (B4)
0,00 (A0)	0,92 ± 0,13 cde	0,76 ± 0,05 def	0,96 ± 0,54 cd	0,42 ± 0,39 gh	0,76 ± 0,05 def
0,25 (A1)	0,54 ± 0,05 gh	1,22 ± 0,45 a	<b>1,5 ± 0,20 a</b>	1,14 ± 0,11 bc	1,14 ± 0,13 bc
0,50 (A2)	0,52 ± 0,04 gh	0,98 ± 0,08 bcd	0,84 ± 0,29 def	0,76 ± 0,27 def	0,6 ± 0,05 fg
0,75 (A3)	0,54 ± 0,05 gh	0,68 ± 0,31 efg	0,32 ± 0,46 h	<b>0,3 ± 0,40 h</b>	0,66 ± 0,23 efg

Keterangan: Huruf kecil yang sama dan mengikuti angka-angka pada baris dan kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata menurut faktor interaksi berdasarkan uji lanjut Duncan taraf kepercayaan 95%.

Uji lanjut Duncan memperlihatkan bahwa rerata tinggi tunas pada perlakuan 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP (A1B2) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan A1B1, namun berbeda signifikan dengan semua perlakuan kombinasi. Perlakuan A1B2 memberikan hasil tinggi tunas tertinggi yaitu 1,50 cm. Tinggi tunas terendah

ditunjukkan oleh perlakuan kombinasi A3B3 yaitu 0,30 cm (Tabel 3).

### Jumlah daun

Analisis ANOVA memperlihatkan bahwa perlakuan tunggal NAA ( $F = 1,558$   $p = 0,206$ ) dan perlakuan tunggal BAP ( $F = 2,065$   $p = 0,093$ ) tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan pada parameter jumlah daun. Hasil

yang berbeda diperoleh pada perlakuan kombinasi NAA dan BAP ( $F = 2,095$   $p = 0,026$ ) yang berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah daun (Tabel 4).

**Tabel 4.** Rerata jumlah daun jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) pada kultur pucuk dengan penambahan NAA dan BAP umur 112 hst

Konsentrasi NAA (mg/L)	Rerata jumlah daun (helai)				
	Konsentrasi BAP (mg/L)				
	0,00 (B0)	0,50 (B1)	1,00 (B2)	1,50 (B3)	2,00 (B4)
0,00 (A0)	1,20 ± 1,09 b	0,40 ± 0,54 cde	1,00 ± 1,00 bc	<b>0,00 ± 0,00 e</b>	0,60 ± 0,54 bcde
0,25 (A1)	0,40 ± 0,54 cde	0,8 ± 0,83 bcd	<b>2,60 ± 3,28 a</b>	0,40 ± 0,54 cde	0,40 ± 0,54 cde
0,50 (A2)	0,20 ± 0,44 de	2,00 ± 1,87 a	0,80 ± 0,83 bcd	0,60 ± 0,54 bcde	0,40 ± 0,54 cde
0,75 (A3)	0,20 ± 0,44 de	0,40 ± 0,54 cde	<b>0,00 ± 0,00 e</b>	<b>0,00 ± 0,00 e</b>	1,00 ± 1,00 bc

Keterangan: Huruf kecil yang sama dan mengikuti angka-angka pada baris dan kolom menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata menurut faktor interaksi berdasarkan uji lanjut Duncan taraf nyata 5%.

Uji lanjut Duncan memperlihatkan bahwa pada perlakuan 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP (A1B2) secara signifikan tidak menunjukkan perbedaan jumlah daun dengan perlakuan kombinasi A2B1, namun berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan

kombinasi A1B2 memberikan jumlah daun terbanyak (2,60 helai). Jumlah daun terendah ditunjukkan oleh perlakuan kombinasi A3B2, A3B3, dan A0B3 yaitu 0,00 helai (Tabel 4, Gambar 2).



**Gambar 2.** Jumlah daun kultur pucuk jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) A) eksplan yang belum muncul daun dan B) eksplan yang tumbuh daun



**Gambar 3.** Akar yang terbentuk pada kultur jeruk siam Pontianak dengan penambahan 0,5 mg/L dan 0,75 mg/L NAA tanpa BAP

Perlakuan kombinasi A1B0, A2B0, dan A3B0 memberikan respon munculnya akar. Ketiga kombinasi perlakuan tersebut merupakan perlakuan tunggal NAA. Konsentrasi NAA pada masing-masing perlakuan kombinasi yaitu 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,75 mg/L (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan teori fungsi hormon auksin yaitu mempercepat pembentukan akar adventif meskipun tanpa bantuan hormon lain. Hasil ini menunjukkan hasil yang serupa dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Mahadi *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa NAA tunggal dengan konsentrasi 0,5 ppm merupakan konsentrasi terbaik untuk waktu muncul akar dan jumlah akar. Selanjutnya dijelaskan bahwa untuk pembentukan akar, medium tanpa sitokinin lebih baik dari pada medium yang mengandung sitokinin. Namun hasil yang berbeda ditemukan pada penelitian Hartati *et al.*, (2016) bahwa kultur anggrek hibrida *Dendrobium biggibum* x *Dendrobium liniale* menghasilkan jumlah akar terbanyak pada perlakuan pemberian 2 ppm NAA. Dijelaskan juga bahwa pada penambahan 3 ppm NAA jumlah akar mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa respon munculnya akar berhubungan dengan konsentrasi auksi yang diberikan.

### Kesimpulan

Penambahan NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap waktu terbentuk tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun. Perlakuan kombinasi 0,25 mg/L NAA dan 1 mg/L BAP (A1B2) merupakan kombinasi terbaik untuk pertumbuhan kultur pucuk *in vitro* jeruk siam Pontianak pada seluruh parameter pengamatan, yaitu rerata waktu muncul tunas tercepat (2,80 hst), jumlah tunas terbanyak (2,60 tunas), tinggi tunas tertinggi (1,5 cm), dan jumlah daun terbanyak (2,60 helai daun).

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan penelitian payung dari dana penelitian DIPA Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura tahun 2023 dengan no kontrak 2655/UN22.8/PT.01.05/2023. Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. Zulfa Zakiah dan

Masnur Turnip, M.Sc.

### Referensi

- Astuti, Y. T. M., & Andayani, N. (2005). Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum morifolium*, Ram.) dalam Kultur Jaringan The Effect of BAP and NAA on Tissue Culture of Chrysanthemum Pendahuluan Metode Penelitian. *Biota*, X(3), 31–35. DOI: <https://doi.org/10.24002/biota.v10i1.2796>
- Basri, A. H. H. (2016). Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia.*, 10(1), 64–73.
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman* (1<sup>st</sup> ed.). Pelawa Sari.
- Feryati, Mukarlina, & Linda, R. (2018). Respon Pertumbuhan Tunas Mahkota Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan Penambahan Benzyl Amino Purine (BAP) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA). *Protobiont*, 7(1), 69–74. DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v7i1.23631>
- Hardiyanto, H., Fanshuri, B. Al, & Aji, T. G. (2021). *Teknologi Produksi Jeruk* (K. Budiarto & A. N. Sugiharto (eds.); 1st ed., Issue September). IPB Press.
- Hartati, S., Budiyo, A., & Cahyono, O. (2016). Pengaruh NAA Dan BAP Terhadap Pertumbuhan Subkultur Anggrek Hasil Persilangan *Dendrobium biggibum* X *Dendrobium liniale*. *Caraka Tani*, 31(1), 33–37. DOI: <https://doi.org/10.20961/carakatani.v31i1.11938>
- Hidayati. (2012). Distilasi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Pontianak Dan Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Sabun Aromaterapi. *Biopropal Industri*, 3(2), 39–49. URL: <https://media.neliti.com/media/publication/s/53315-ID-none.pdf>
- Intarti. (2021). Optimasi Variasi Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) pada Pembentukan Plantet Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*)

- Secara In Vitro. *Borneo Journal Of Science And Mathematics Education*, 1(1), 17–28.  
<https://journal.uinsi.ac.id/index.php/bjsme/article/view/3139>
- Kari, R., Lukman, A. L., & Zainuddin, R. (2010). Short Communication Basal Media for In Vitro Germination of Red-Purple Dragon Fruit *Hylocereus polyrhizus*. *J. Agrobiotech*, 1, 87–93. URL:  
<https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology/index.php/agrobiotechnology/article/view/9/8>
- Mahadi, I., Syafi, W., & Suci, I. (2015). Kultur Jaringan Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Dengan Menggunakan Hormon Kinetin Dan Naftalen Acetyl Acid (NAA). *Jurnal Dinamika Pertanian*, XXX, 37–44. URL:  
<https://journal.uir.ac.id/index.php/dinamikapertanian/article/view/821>
- Nurwahyuni, I. (2013). Teknik In Vitro Jeruk Keprok Brastagi (*Citrus nobilis brastepu*) Sebagai Strategi Biokonservasi Mengatasi Kepunahan Jeruk Lokal Sumatera Utara. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 419–427.
- 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 Benzyl Amino Purin (BAP). *Protobiont*, 4(3), 109–112.
- Srideni, D. (2019). *Panduan lengkap dan praktis budidaya jeruk yang paling menguntungkan*. GARUDA PUSTA.
- Suparaini, Maizar, & Fathurrahman. (2013). Penggunaan Bap Dan Naa Terhadap Pertumbuhan Eksplan Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) secara in vitro. *Jurnal Dinamika Pertanian*, XXVIII (2), 83–90. URL:  
<https://journal.uir.ac.id/index.php/dinamikapertanian/article/view/885>
- Tilaar, W., & Tulung, S. (2013). Induksi Kalus Dan Tunas Dari Eksplan Pucuk Brokoli (*Brassica oleracea* L. sub var. italica Planch) Pada Medium MS Yang Diberikan NAA DAN BAP. *Eugenia*, 19(1), 57–63. DOI:  
<https://doi.org/10.35791/eug.19.1.2013.8377>
- Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara. Jakarta.