

Callus Induction of Ciangir Passion Fruit (*Passiflora* sp.) Leaves at Several Concentration Levels of Growth Regulators Substance 2,4-D and BAP

Salma Sasyana Putri^{1*}, Susiyanti¹, Nur Iman Muztahidin¹, & Sulastris Isminingsih¹

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang, Indonesia;

Article History

Received : December 23th, 2023

Revised : January 06th, 2023

Accepted : January 23th, 2024

*Corresponding Author: **Salma Sasyana Putri**, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Banten, Indonesia;

Email:

salmasasyana12@gmail.com

Abstract: Passion fruit plants are important economically due to the high nutrient value of the fruit, and they have an important role in the pharmaceutical world. People often exploit passion fruit plants for medicinal purposes without cultivating them. Passion fruit propagation can be done using seeds, grafting, or cuttings. However, such propagation can increase the value of high genetic variability so that to overcome this can be done by propagating passion fruit seedlings in tissue culture by callus induction. This research was carried out to determine the effect of 2,4-D and BAP on callus induction in passion fruit leaves. The method utilized was a factorial Randomized Group Design (RGD), which consisted of two factors, namely the 2,4-D concentration level (0, 1, 2, 3) ppm and the BAP concentration level (0, 1, 2) ppm, so there were 12 treatment combinations which were repeated three times. The observed parameters were callus area, percentage of browning explants, percentage of living explants, percentage of callus explants, color and texture of callus. The concentration level of 2,4-D 3 ppm and BAP 0 ppm best affected the callus area parameter of 1.96 mm². The results of this research showed that the percentage of the highest living explants achieved 100%, the percentage of contaminated explants was 0%, the percentage of explants that experienced browning was 66%, and the percentage of explants that experienced callus was 100%, yellowish green in color of callus, and callus texture is crumbly, compact, intermediate. The research should focus on callus induction with other growth regulators.

Keywords: Auxin, cytokinin, tissue culture, vegetative.

Pendahuluan

Indonesia disebut negara biodiversitas karena memiliki keragaman jenis flora yang tinggi. Saat ini Indonesia memiliki jenis tumbuhan berbunga yang tumbuh liar, yaitu sebanyak 30.000 jenis. Sekitar 4.000 jenis tumbuhan tersebut baru dimanfaatkan oleh masyarakat, dan hanya sekitar 1.000 tumbuhan saja yang sudah dibudidayakan (Angio *et al.*, 2019). Salah satu tumbuhan tersebut adalah tumbuhan markisa kuning (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) (Muhsin dan Iskandar, 2017). Saat ini terdapat jenis markisa kuning yang berasal dari Ciangir, Banten. Markisa ciangir tersebut memiliki rasa dan aroma yang kuat dibanding

jenis markisa kuning lainnya. Tumbuhan markisa merupakan tumbuhan yang secara ekonomi dianggap penting karena memiliki nilai gizi buah yang tinggi, dan memiliki peran penting di dunia farmasi. Kandungan yang dimiliki oleh tanaman markisa diantaranya vitamin C, vitamin A, tanin, asam lemak, antioksidan, flavonoid, alkaloid, dan karatenoid (Fachri *et al.*, 2018). Kandungan-kandungan tersebut terdapat pada daun markisa sehingga banyak dimanfaatkan untuk obat tradisional yang mampu dalam menyembuhkan penyakit seperti demam, hipertensi, penyakit kulit, diare, sakit tenggorokan bahkan digunakan sebagai obat penenang (Mariamah *et al.*, 2017).

Masyarakat cenderung mengeksploitasi

tanaman markisa untuk digunakan sebagai obat tanpa melakukan pembudidayaan pada tanaman markisa tersebut. Cara alternatif untuk melestarikan tanaman markisa, yaitu melalui perbanyakan tanaman. Perbanyakan markisa dapat menggunakan biji, okulasi, dan stek. Namun, cara perbanyakan tersebut dapat meningkatkan nilai variabilitas genetik yang tinggi pada tanaman markisa, selain itu sangat dipengaruhi oleh umur tanaman dan kondisi fisiologi tanaman (Huh *et al.*, 2017). Sehingga cara mengatasi permasalahan tersebut dapat melalui cara perbanyakan bibit tanaman markisa secara kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* merupakan teknik untuk dapat memperbanyak tanaman melalui isolasi bagian tanaman (jaringan, sel, organ) kemudian menumbuhkannya pada media dan kondisi yang aseptik hingga menjadi tanaman yang utuh (Ziraluo, 2021). Manfaat perbanyakan melalui kultur jaringan dapat melestarikan tanaman induk (Kurningsih *et al.*, 2020) mampu menghasilkan jumlah tanaman yang lebih banyak dan bebas patogen (Azizi *et al.*, 2017), menghasilkan tanaman yang bermutu dan sehat, mudah dan dapat disimpan lama, menghemat penggunaan lahan, menghemat waktu dan tenaga kerja, jika diperlukan bibit atau biakan dapat segera diperbanyak (Satriadi *et al.*, 2017). Selain itu perbanyakan dengan kultur kalus mampu memperbanyak jumlah metabolit sekunder jauh lebih besar sehingga kalus-kalus tersebut dapat digunakan untuk bahan obat (Sulichantini, 2015).

Pengadaan bibit melalui kultur jaringan dapat dilakukan melalui kultur kalus dengan cara melakukan induksi kalus. Faktor mempengaruhi induksi kalus adalah ZPT. ZPT 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) berfungsi untuk memacu pembentukan kalus. ZPT lainnya adalah Benzyl Amino Purine (BAP) untuk mempercepat pertumbuhan juga perkembangan kalus dengan cara memicu pembelahan serta pemanjangan sel-sel. Penelitian mengenai kultur kalus markisa menggunakan ZPT 2,4-D dan BAP telah dilakukan Huh *et al.*, (2017) pada jenis markisa ungu menunjukkan hasil pemberian 2,4-D 2 mg/L dan BAP 1 mg/L mampu memberi respon paling baik pada pertumbuhan kalus markisa ungu mencapai 86%.

Penelitian lainnya juga pernah dilakukan

Rosyidah *et al.*, (2014) pada tanaman melati yang menunjukkan hasil bahwa ZPT 2,4-D 1 mg/L dan BAP 1 mg/L mampu memberi hasil paling baik pada waktu menginduksi kalus dan biomasa kalus sebesar 1.330 gram. Hasil penelitian Rasud *et al.*, (2017) pemberian media MS dan 2,4-D 0.5 ppm memberikan hasil terbaik dengan persentase pembentukan kalus sebesar 100%. Penelitian mengenai induksi kalus pada tanaman markisa belum banyak dilakukn dan masih terbatas. Berdasarkan permasalahan dari uraian tersebut maka perlu melakukan penelitian terkait induksi kalus daun markisa pada beberapa tingkat konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Kegiatan penelitian bertempat ddi Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Tanaman, Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Serang-Banten. Penelitian berlangsung pada Juni sampai Agustus 2023. Jenis penelitian adalah penelitian eksperimen.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah magnetic stirrer, Laminar air flow (LAF), oven, autoklaf, timbangan analitik, shaker, lemari pendingin, *beaker glass*, botol kultur, cawan petri, bunsen, gelas jar, erlenmeyer (100 ml, 500 ml, 1000 ml), gelas ukur 100 ml, bulb, pipet volumetrik, mikropipet 100 μ , mikropipet 1000 μ , pipet tetes, scaple, spatula, pinset, bunsen, korek api, pH meter, handsprayer, saringan, rak kultur dilengkapi lampu neon, kain hitam, kompor, panci, tabung gas, alat tulis, masker serta kamera.

Bahan yang digunakan antara lain: eksplan daun kedua dari pucuk markisa Ciangir (*Passiflora* sp.) ukuran 1 x 1 cm, media Murashige and Skoog (MS), ZPT 2,4-D, ZPT BAP, agar-agar, aquades, gula pasir, plastik wrap, aluminium foil, tisu, label, HCl, NaOH, alkohol 70%, alkohol 90%, spirtus, deterjen bubuk, deterjen cair 3 tetes, bayclin, tween 20, ascorbic acid, NaOCl 5%, antibiotik, Plant Preservative Mixture (PPM), bakterisida dengan bahan aktif streptomisin sulfat 20% sebanyak 2,5 g, fungisida berbahan aktif mankozab 80%

sebanyak 1 g dan propineb 70 sebanyak 1 g, vitamin B1.

Metode penelitian

Rancangan dasar yang digunakan adalah rancangan 2 Faktor, yaitu Rancangan Acak Kelompok. Faktor pertama berupa pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D dengan simbol (D) sebanyak 4 taraf, yaitu 0 ppm (Kontrol) (D₀), 1 ppm (D₁), 2 ppm (D₂), dan 3 ppm (D₃), Faktor kedua berupa pemberian tingkat konsentrasi BAP dengan simbol (B) sebanyak 3 taraf, yaitu 0 ppm (Kontrol) (B₀), 1 ppm (B₁), dan 2 ppm (B₂). Ada 12 kombinasi perlakuan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga ada 36 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan ditanam 1 eksplan.

Eksplan diambil dari bibit markisa ciangir yang sudah dikarantina. Sterilisasi eksplan dilakukan diluar dan didalam LAF. Sterilisasi diluar LAF dilakukan dengan cara mencuci eksplan pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang terdapat di permukaan eksplan. Selanjutnya eksplan disterilisasi dengan sunlight sebanyak 3 tetes selama 15 menit menggunakan shaker dan dibilas menggunakan aquades 3 kali. Eksplan lalu disterilisasi menggunakan larutan amoxicilin dan tween 20 sebanyak 3 tetes selama 1 jam. Sterilisasi didalam LAF dilakukan pada LAF yang sudah steril. Sterilisasi eksplandidalam LAF dilakukan dengan cara membilas eksplan menggunakan aquades sebanyak 3 kali lalu eksplan disterilisasi menggunakan larutan NaOCl 5% ditambah tween 20 sebanyak 2 tetes dengan waktu 5 menit. Eksplan dibilas kembali dengan aquades sebanyak 3 kali. Lalu disterilisasi dengan larutan vitamin c selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan vitamin c untuk mencegah terjadinya browning.

Eksplan daun yang sudah disterilisasi selanjutnya ditiriskan pada yang diluarnya sudah terdapat milimeter blok steril. Eksplan dipotong dengan ukuran eksplan adalah 1 cm x 1 cm menggunakan scaple selanjutnya ditanam pada botol kultur dengan menggunakan pinset yang sudah disterilisasi menggunakan api bunsen sesuai dengan perlakuan masing-masing. Tiap botol ditanam 1 eksplan. Botol yang sudah berisi eksplan tersebut dilakukan penutupan dengan menggunakan aluminium foil dan plastik wrap. Selanjutnya botol ditempatkan pada rak kultur

dengan suhu 20 °C di dalam ruangan inkubasi dan ditutup dengan kain hitam selama 2 minggu (Huh *et al.*, 2017). Setelah 2 minggu kain hitam dibuka dan disinari lampu neon selama 16 jam dengan kondisi terang dan 8 jam dengan kondisi gelap.

Analisis data

Data dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan aplikasi DSAASTAT untuk menganalisis data. Jika menunjukkan hasil dengan pengaruh yang nyata hingga perngaruh yang sangat nyata, maka dilanjut uji lanjut DMRT pada taraf uji 5% ($\alpha = 0,05$) agar dapat mengetahui pengaruh antar perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Luas kalus

Luas kalus merupakan parameter yang bertujuan dalam mengetahui pertumbuhan dan perkembangan dari eksplan berkalus. Parameter luas kalus eksplan daun markisa ciangir diamati pada akhir pengamatan. Data hasil penelitian rekapitulasi sidik ragam menunjukkan perlakuan konsentrasi 2,4-D (D), perlakuan konsentrasi BAP (B) maupun pada interaksi antara perlakuan pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D dan perlakuan pemberian tingkat konsentrasi BAP (D*B) berpengaruh sangat nyata. Hasil data menunjukkan bahwa F-Hitung > F-Tabel 0,5, sehingga dari hasil tersebut dapat diuji lanjut dengan uji DMRT 5%. Adapun hasil perhitungan melalui uji DMRT 5% tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap parameter luas kalus (mm²)

Tingkat Konsentrasi 2,4-D	Tingkat Konsentrasi BAP		
	0 ppm (B ₀)	1 ppm (B ₁)	2 ppm (B ₂)
0 ppm (D ₀)	1.33d	1.33d	1.33d
1 ppm (D ₁)	1.33d	1.47cd	1.61bc
2 ppm (D ₂)	1.42cd	1.88a	1.33d
3 ppm (D ₃)	1.96a	1.77ab	1.33d

Keterangan: Angka-angka diikuti huruf kecil yang sama pada kolom dan baris menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata pada uji lanjut DMRT 5% dengan data hasil transformasi $\sqrt{x + 0,5}$ sebanyak 4 kali

Tabel 1. memperlihatkan bahwa tiap perlakuan menghasilkan luas kalus berbeda-beda. Perbedaan tersebut dipengaruhi pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D, dan BAP. Parameter luas kalus menunjukkan adanya interaksi antara pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D (D) dan pemberian tingkat konsentrasi BAP (B). Interaksi tersebut berpengaruh sangat nyata terhadap parameter luas kalus. Perlakuan 2,4-D 3 ppm dan BAP 0 ppm (D3B0) menunjukkan kombinasi rata-rata tertinggi untuk parameter luas kalus, yaitu sebesar 1.96 mm². Sedangkan untuk rata-rata luas kalus terkecil terdapat pada kombinasi perlakuan 2,4-D 0 ppm dan BAP 0 ppm (D0B0), 2,4-D 1 ppm dan BAP 0 ppm (D1B0), 2,4-D 0 ppm dan BAP 1 ppm (D0B1), 2,4-D 0 ppm dan BAP 2 ppm (D0B2), 2,4-D 2 ppm dan BAP 2 ppm (D2B2), dan 2,4-D 3 ppm dan BAP 2 ppm (D3B2) sebesar 1.33 mm².

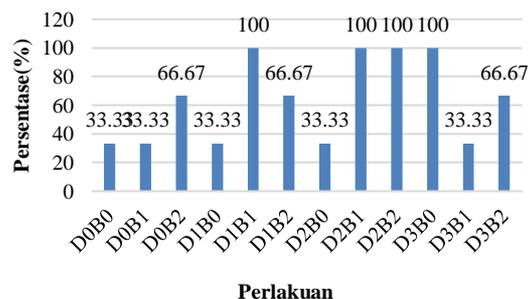
Luas kalus dipengaruhi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang diberikan pada media. ZPT eksogen yang diberikan akan menyebabkan terjadinya peningkatan ZPT endogen, sehingga ukuran kalus mampu bertambah besar dan luas. Perbedaan setiap perlakuan terhadap parameter luas kalus dipengaruhi daya serap masing-masing kalus pada pemberian media ZPT yang. Perbandingan antara pemberian ZPT auksin juga sitokinin yang tepat akan dapat mempengaruhi pertumbuhan dan pembelahan suatu sel sehingga dari pembelahan sel-sel tersebut akan berpengaruh juga pada bertambah luas dan besarnya suatu kalus (Anggraeni *et al.*, 2022). Semakin tinggi ZPT 2,4-D pada eksplan maka pertumbuhan kalus akan lebih luas. Astello-García *et al.*, (2013) menyatakan bahwa ZPT 2,4-D dengan konsentrasi yang tinggi mampu meningkatkan pertumbuhan kalus.

Semakin cepat suatu sel memanfaatkan hormon di media maka semakin cepat dalam meningkatkan jumlah sel sehingga luas kalus akan bertambah (Wijaya *et al.*, 2023). Pemberian BAP konsentrasi 0 ppm (B0) memiliki rata-rata luas kalus tertinggi dibandingkan dengan BAP konsentrasi 1 ppm (B1) dan 2 ppm (B2). Hal tersebut terjadi karena kandungan sitokinin alami dimiliki eksplan sudah cukup untuk merangsang pembelahan sel-sel, dan konsentrasi BAP yang dibutuhkan jenis tanaman markisa ini tinggi sehingga luas yang dihasilkan lebih besar.

Persentase eksplan hidup

Eksplan yang hidup memiliki kondisi segar, berwarna hijau, tidak mengalami pencoklatan yang parah, tidak mati, dan tidak terkontaminasi jamur dan bakteri. Persentase eksplan hidup bertujuan untuk mencair-tahu kemampuan pertumbuhan dan perkembangan dari setiap eksplan pada media tanam. Data hasil penelitian disajikan pada Gambar 1. Total persentase eksplan hidup pada penelitian ini sebesar 64% dengan nilai persentase tertinggi perlakuan 2,4-D 1 ppm + BAP 1 ppm (D1B1), 2,4-D 2 ppm + BAP 1 ppm (D2B1), 2,4-D 2 ppm + BAP 2 ppm (D2B2), 2,4-D 3 ppm + BAP 0 ppm (D3B0) sebesar 100%.

Keberhasilan eksplan untuk hidup dipengaruhi sterilisasi dan penggunaan media tanam. Sterilisasi yang baik mampu mengurangi dan mencegah terjadinya kontaminasi pada eksplan. Penelitian Wulandari *et al.*, (2017) menyatakan bahwa konsentrasi dan lamanya eksplan yang tepat mampu menjaga peluang untuk eksplan hidup. Media tanam yang digunakan juga mempengaruhi eksplan untuk tetap hidup karena kandungan nutrisi cukup yang diberikan untuk eksplan mampu menunjang pertumbuhan eksplan. Kemampuan eksplan untuk tetap hidup dipengaruhi eksplan itu sendiri, nutrisi yang diberikan pada eksplan berpengaruh pada daya tahan hidup (Sundari *et al.*, 2015).



Gambar 1. Grafik persentase eksplan hidup

Persentase eksplan terkontaminasi

Parameter persentase eksplan terkontaminasi merupakan parameter penting untuk melihat keberhasilan melakukan kultur *in vitro*. Media tumbuh dan eksplan merupakan komponen rentan terjadi kontaminasi akibat penyerangan yang terjadi oleh mikroorganisme. Mikroorganisme akan menyerang media tumbuh yang dibuat, dengan melakukan pertumbuhan

secara cepat sehingga menutup permukaan media. Sedangkan pada eksplan terjadinya kontaminasi mikroorganisme akibat penyerangan mikroorganisme pada luka-luka yang timbul akibat pemotongan eksplan dan cara sterilisasi eksplan kontaminasi menyebabkan penurunan pertumbuhan dan kematian (Oratmagun *et al.*, 2017). Eksplan terkontaminasi bakteri biasanya dicirikan kemunculaana cairan lender berwarna putih dan pink pada media atau sekitar eksplan. Sedangkan untuk eksplan mengalami kontaminasi jamur biasanya dicirikan munculnya serabut putih (hifa) di eksplan atau media (Anggraeni *et al.*, 2022).

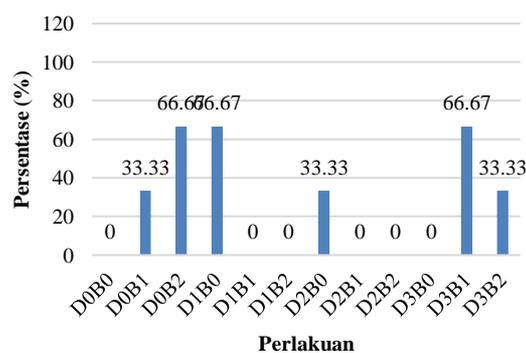
Data parameter eksplan terkontaminasi menunjukkan tidak adanya kontaminasi baik dari kontaminasi jamur maupun bakteri, yaitu sebesar 0% pada semua perlakuan (Tabel 2). Keberhasilan eksplan yang tidak terkontaminasi dipengaruhi cara sterilisasi yang digunakan. Keberhasilan pemilihan cara sterilisasi, berdasarkan pada bahan sterilan dan lamanya waktu sterilisasi (Cahyono *et al.*, 2023). Penggunaan disinfektan seperti bakterisida, natrium hipoklorit, alkohol mampu untuk mengurangi dan membunuh mikroorganisme. Selain itu, penelitian Jabbar dan Dasiani (2020) antibiotik mampu menghambat perkembangan bakteri. Namun penggunaan antibiotik yang melebihi batas dosis menyebabkan toksik pada jaringan eksplan yang ditanam.

Tabel 2. Persentase eskplan terkontaminasi dari tiap perlakuan pada 8 MSK (%)

Perlakuan	Jumlah Eksplan yang Diamati	Jumlah Eksplan Terkontaminas Bakteri	Jumlah Eksplan Terkontaminas Jamur
D0B0	3	0	0
D0B1	3	0	0
D0B2	3	0	0
D1B0	3	0	0
D1B1	3	0	0
D1B2	3	0	0
D2B0	3	0	0
D2B1	3	0	0
D2B2	3	0	0
D3B0	3	0	0
D3B1	3	0	0
D3B2	3	0	0
Total	36	0	0
Persentase (%)		0%	0%
Persentase total (%)		0%	

Persentase eksplan browning

Data hasil penelitian ini pada parameter persentase total keseluruhan eksplan browning menunjukkan angka sebesar 22%. Persentase eksplan yang mengalami browning tertinggi terjadi pada perlakuan 2,4-D 1 ppm + BAP 0 ppm (D1B0) dan 2,4-D 3 ppm + BAP 1 ppm (D3B1) sebesar 66%. Selain itu browning juga terjadi pada perlakuan 2,4-D 0 ppm + BAP ppm (D0B1), 2,4-D 0 ppm + BAP 2 ppm (D0B2), 2,4-D 2 ppm + BAP 0 ppm (D2B0), dan 2,4-D 3 ppm + BAP 2 ppm (D3B2) sebesar 33%. Persentase eksplan browning dapat dilihat pada Gambar 2. Kondisi browning atau pencoklatan adalah kondisi dimana eksplan mengalami pencoklatan atau berubah warna menjadi coklat atau hitam yang disebabkan oleh adanya senyawa fenol yang tinggi. Akibat dari pencoklatan ini menandai adanya kemunduran fisiologis eksplan serta dapat menyebabkan eksplan tersebut menjadi mati sehingga eksplan tidak dapat tumbuh dan berkembang kembali. Browning tidak dapat menyebabkan perkembangan dan kemajuan eksplan dan bahkan mengakibatkan kematian eksplan (Sulichantini *et al.*, 2023).



Gambar 2. Grafik persentase eksplan browning

Adanya senyawa fenol yang tinggi pada eksplan disebabkan pelukaan pada eksplan akibat pemotongan eksplan. Senyawa ini akan menghambat pertumbuhan dari eksplan dan menyebabkan kematian. Hal ini salah satu bentuk pertahanan diri karena senyawa fenolik tersebut merupakan enzim polifenol oksidase dan tirosinase yang secara alami diproduksi tanaman saat terluka. Upaya yang dilakukan dalam mengatasi dan meminimalisir terjadinya browning dapat melakukan penambahan

senyawa antioksidan. Salah satu senyawa antioksidan yang ditambahkan adalah asam askorbat. Asam askorbat dapat mengatasi radikal bebas yang dihasilkan eksplan akibat pelukaan. Asam askorbat juga akan menghambat proses oksidasi sehingga dapat mencegah browning.

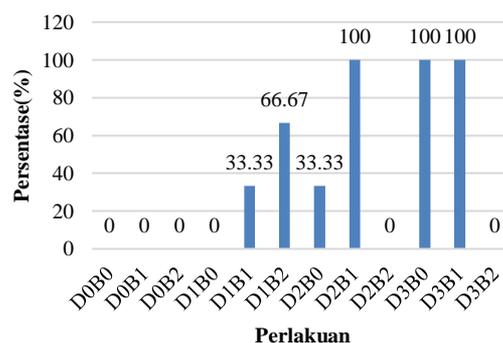
Persentase eksplan berkalus

Data hasil penelitian terhadap parameter persentase eksplan membentuk kalus menunjukkan bahwa terdapat total 36.1% eksplan yang berkalus. Data tersebut dapat dilihat pada Gambar 3. Perlakuan 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm (D2B1), 2,4-D 3 ppm dan BAP 0 ppm (D3B0), serta 2,4-D 3 ppm dan BAP 1 ppm (D3B1) memberikan persentase eksplan berkalus tertinggi, yaitu sebesar 100%. Pembentukan kalus ditandai dengan membengkaknya eksplan lalu akan membentuk bulir-bulir kecil bening pada bekas luka di permukaan daun.

Persentase terendah terjadi pada perlakuan 2,4-D 0 ppm dan BAP 0 ppm (D0B0), 2,4-D 0 ppm dan BAP 1 ppm (D0B1), 2,4-D 0 ppm dan BAP 2 ppm (D0B2), 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm (D2B1), 2,4-D 2 ppm dan BAP 0 ppm (D2B0), dan 2,4-D 3 ppm dan BAP 2 ppm (D3B2), yaitu sebesar 0%. Persentase eksplan berkalus terendah disebabkan oleh eksplan daun yang mengalami nekrosis. Nekrosis, yaitu proses perubahan warna pada eksplan dan kematian pada eksplan. Menurut Natasha dan Restiani (2019) terjadinya nekrosis dikarenakan eksplan daun rusak secara fisiologis dengan adanya perubahan warna pada daun, yaitu eksplan berubah warna menjadi kuning dan bening seperti kaca. Faktor lain yang menyebabkan terjadinya nekrosis adalah efek fitotoksis, Efek tersebut terjadi karena jenis sterilan, konsentrasi serta lamanya waktu dalam melakukan perendaman untuk menyeterilkan eksplan daun sehingga terjadi kematian pada jaringan eksplan.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan dari persentase eksplan berkalus adalah media yang digunakan. Pemberian media dengan hormon yang sesuai dan lengkap akan memberikan persentase eksplan berkalus tersebut menjadi lebih baik. Mahadi *et al.* (2016) yang menyatakan penggunaan media MS dan hormon yang lengkap dan mengandung hara seperti hara makro, mikro, vitamin, besi, serta sukrosa yang mampu dalam mempercepat

pertumbuhan dari eksplan. Selain itu, penelitian Anggraeni *et al.*, (2022) menyatakan keberhasilan dari suatu eksplan untuk dapat menumbuhkan kalus dipengaruhi oleh adanya interaksi auksin dan sitokinin pada media tanam dengan konsentrasi sesuai. Jumlah ZPT yang ada pada eksplan ditentukan dari jumlah ZPT eksogen yang diberikan. Sehingga ZPT eksogen yang diberikan tersebut akan dapat mendukung atau bahkan dapat menghambat kinerja dari ZPT endogen yang sudah ada.

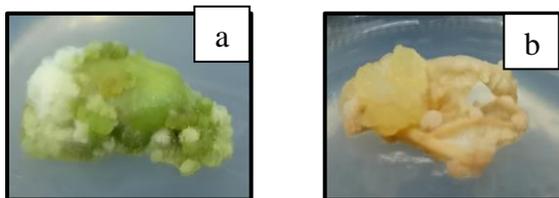


Gambar 3. Grafik persentase eksplan berkalus

Warna dan tekstur kalus

Parameter warna dan tekstur kalus diamati pada 8 MSK secara visual. Warna kalus merupakan parameter yang dapat menampilkan secara visual kondisi terjadi pada sel-sel kalus, sehingga dari tampilan visual tersebut diketahui tingkatan keaktifan dari tiap sel yang membelah. Hasil penetapan warna kalus penelitian ini dengan menggunakan buku *Munsell Color Chart for Plant Tissue*. Warna kalus yang dihasilkan pada penelitian ini beragam. Perbedaan ini menunjukkan tingkat perkembangan dari kalus yang berbeda-beda. Minggu kedua sampai minggu keenam rata-rata kalus berwarna putih. Kemudian warna eksplan minggu kedelapan secara perlahan menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kekuningan hingga putih kekuningan atau kuning pucat. Warna putih yang terbentuk pada kalus mencirikan sel-sel tersebut masih muda dan aktif membelah, sedangkan kondisi sel-sel yang sudah dewasa atau menuju pada fase akhir pembelahan menunjukkan warna kalus kuning atau putih kekuningan (Rasud, 2020). Selain itu, warna kuning pada eksplan juga menunjukkan bahwa kalus tersebut berkembang dengan baik.

Pemberian tingkat konsentrasi 2,4-D akan mempengaruhi warna kalus, kondisi ini terjadi karena terdapat kaitan dengan kandungan klorofil yang ada pada kalus. Faktor lainnya yang berpengaruh terhadap warna kalus adalah cahaya. Cahaya akan mempengaruhi warna kalus, dikarenakan cahaya tersebut mampu dalam menghambat kerja dari hormon auksin, sehingga akan meningkatkan kerja enzim dalam membentuk klorofil dan akan memberi warna hijau pada kalus (Yuniardi, 2019). Kalus embriogenik terbentuk dari kalus biasanya akan memiliki warna putih dan putih kekuningan. Warna kalus dapat dilihat pada Gambar 4a dan 4b. Perlakuan yang memiliki kalus berwarna kuning, hingga kuning pucat pada akhir pengamatan, yaitu perlakuan D1B1 (2,4-D 1 ppm + BAP 1 ppm) pada ulangan 2, perlakuan D1B2 (2,4-D 1 ppm + BAP 2 ppm) pada ulangan 1, perlakuan D2B0 (2,4-D 2 ppm + BAP 0 ppm) pada ulangan 3, perlakuan D3B0 (2,4-D 3 ppm + BAP 0 ppm) pada ulangan 1,2,3 dan perlakuan D3B1 (2,4-D 3 ppm + BAP 1 ppm) pada ulangan 1,2,3 sedangkan kalus-kalus yang berwarna hijau kekuningan, yaitu perlakuan D1B2 (2,4-D 1 ppm + BAP 2 ppm) pada ulangan 2, dan perlakuan D2B1 (2,4-D 2 ppm + BAP 1 ppm) pada ulangan 1,2,3. Warna hijau kekuningan menunjukkan bahwa kalus masih memiliki sedikit kandung klorofil dan menunjukkan adanya proses adaptasi eksplan terhadap perubahan fisik yang disebabkan senyawa fenol.

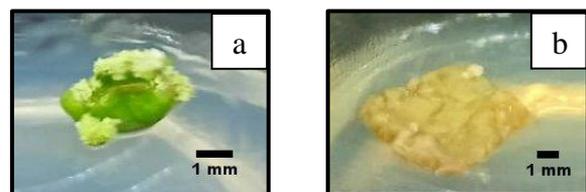


Gambar 4. Warna kalus putih kehijauan 8 minggu setelah kultur (a) Warna kalus kekuningan saat 8 minggu setelah kultur (b)

Tekstur kalus merupakan parameter yang penting juga untuk melihat pertumbuhan dari suatu kalus. Tekstur kalus yang terbentuk dapat menentukan kualitas dari suatu kalus. Selain itu tekstur kalus dapat digunakan untuk mengetahui bahwa sel-sel tersebut merupakan sel yang masih aktif membelah dan sel-sel yang

mengalami stagnasi dalam proses pembelahan sel. Pembagian jenis tekstur pada kalus ada tiga, yaitu kompak, intermediet dan remah. Hasil penelitian pada parameter tekstur kalus ini menunjukkan bahwa hampir keseluruhan perlakuan yang membentuk kalus memiliki tekstur yang remah. Tekstur dari kalus remah, memiliki karakteristik sel-sel yang mudah rapuh dan renggang, dapat dilihat pada gambar 5a. Hal ini karena kalus dengan tekstur yang remah secara cepat dapat mengalami pembelahan untuk membentuk sel yang baru. Kalus dengan tekstur yang remah memiliki karakter yang baik karena mudah untuk dipisah menjadi sel-sel yang tunggal, yaitu dengan cara menyuspensi dan mampu meninggikan jumlah aerasi dari oksigen antar sel sehingga dapat mempermudah dalam melakukan perbanyakan melalui kultur suspensi (Rasud, 2020).

Kalus dengan tekstur kompak hanya terjadi pada kombinasi D2B1 (2,4-D 2 ppm + BAP 1 ppm) pada ulangan ke 3. Tekstur kalus kompak mempunyai karakteristik struktur sel-sel rapat dan terlihat padat dapat dilihat pada gambar 5b. Hormon sitokinin memiliki pengaruh terhadap tekstur kalus kompak yang terbentuk. ZPT sitokinin memiliki peran sebagai pentransport air dan hara. Selain itu sukrosa juga membantu dalam proses terjadinya tekanan turgor. Tekanan turgor tersebut menyebabkan air dan hara masuk kedalam sel karena adanya perbedaan tekanan sehingga akan menyebabkan kekakuan pada dinding sel kalus akan terbentuk dengan tekstur yang kompak (Rasud, 2020).



Gambar 5. Tekstur kalus remah (a) Tekstur kalus kompak (b)

Kesimpulan

Kesimpulan hasil penelitian bahwa pemberian 2,4-D 3 ppm dan BAP 0 ppm memberi pengaruh terbaik untuk induksi kalus daun markisa pada parameter luas kalus, yaitu 1.96 mm^2 . Persentase eksplan hidup tertinggi mencapai 100%, persentase eksplan

terkontaminasi tertinggi sebesar 0%, persentase eksplan browning tertinggi mencapai 66%, persentase eksplan berkalus tertinggi mencapai 100%. Kalus yang terbentuk hingga 8 MST umumnya bertekstur remah, kompak dan intermediet dengan warna hijau kekuningan hingga putih kekuningan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Ibu Dr. Susiyanti, SP., MP., Bapak Nur Iman Muztahidin SP., M.Sc. dan Ibu Sulastri Isminingsih SP., M.Si. selaku dosen pembimbing dan penelaah yang selalu memberi bimbingan dan masukan hingga artikel ini diterbitkan. Selain itu penulis ucapkan Terimakasih kepada Lapas IIB Ciangir yang sudah memberi informasi mengenai markisa ciangir.

Referensi

- Angraeni, D., Ismaini, L., Surya, M. I., Rahmi, H., dan Saputro, N. W. (2022). Inisiasi Kalus Daun *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-*Dichlorophenoxyasetic Acid* dan *Benzyl Adenine*. *Jurnal Agrikultura*, 33(3), 276-288.
DOI: <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i3.40540>
- Angio, M. H., dan Irawanto, R. (2019). Pendataan Jenis Buah Lokal Indonesia Koleksi Kebun Raya Purwodadi. *Jambura Edu Biosfer Journal*, 1(2), 41-46. DOI: <https://doi.org/10.34312/jebj.v1i2.2476>
- Astello-garcia, M. G., Robles-martines, M., Rosa, A. P. B. I., dan Santos-diaz, M. d. S. (2012). Establishment of callus from *Opuntia robusta* Wendl., a wild and medicinal cactus, for phenolic compounds production. *African Journal of Biotechnology*, 12(21), 3204-3207. DOI: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/download/131811/121413>
- Azizi, A. A. A., Roostika, I., dan Efendi, D. (2017). Multiplikasi Tunas *In Vitro* Berdasarkan Jenis Eksplan Pada Enam Genotipe Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Littri*, 23(2), 90-97. DOI: <http://dx.doi.org/10.21082/littri>
- Cahyono, E. H., Ningsih, R. (2023). Pengembangan Metode Teknik Sterilisasi Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bentoni). *Jurnal Pengembangan Potensi Laboratorium*, 2(2), 60-67. DOI: [10.25047/plp.v2i2.3685](https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685)
- Fachri, H.O., Adriatmoko, W., dan Astuti, P. (2018). Khasiat Ekstrak Buah Markisa Kuning (*P. edulis Slims*) Sebagai Antiinflamasi Dilihat dari Jumlah Monosit Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Stomatognati*, 15(2), 34-36.
DOI: <https://doi.org/10.19184/stoma.v15i2.17930>
- Farhanah, A., Ashar, J. R., dan Hamzah, P. (2021). Optimalisasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA Menggunakan *Buffer CTAB* (*Cetyltrimethyl Ammonium Bromide*) Pada Tanaman Markisa (*Passiflora* sp.) Dataran Rendah Kabupaten Jenepono. *Jurnal Agrisistem*, 17(1), 31-39. DOI: [10.52625/j-agr.v17i1.191](https://doi.org/10.52625/j-agr.v17i1.191)
- Huh, Yoon Sun., Joung, Kwan Lee., dan Young, Sang Nam. (2017). Effect of Plant Growth Regulators and antioxidants on in vitro Plant regeneration and callus induction from leaf explants of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Journal Plant Biotechnol*, 44(1), 335-342. DOI: <https://doi.org/10.5010/JPB.2017.44.3.335>
- Jabbar, F. B. A., Ardiansyah., dan Darsiani. (2020). Pengaruh Pemberian Antibiotik Terhadap Sintasan dan Pertumbuhan Eksplan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Secara *In Vitro*. *Jurnal of Fisheries and Marine Science*, 2(1), 92-97. DOI: <https://doi.org/10.31605/siganus.v2i1.818>
- Kurningsih, R., Ghazali, M., Rosidah, S., Muspiah, A., Astuti, S.P., dan Nikmatullah, A. (2020). Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. *Jurnal Masyarakat Mandiri*, 4(5), 888-896. DOI: <https://doi.org/10.31764/jmm.v4i5.3049>
- Mahadi, I., Syafi'I, W., dan Sari, Y. (2016). Pengaruh Pemberian Hormon 2,4-D dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Jeruk

- Kasturi (*Citrus microcarpa*). *Jurnal Biogenesis*, 12 (2), 99-104. DOI: <http://dx.doi.org/10.31258/biogenesis.s.12.2.97-101>
- Mariamah, Mukarlina, dan Londa, R. (2019). Pertumbuhan Kalus Tanaman Markisa (*Passiflora* sp.) dengan Penambahan *Naphthalane Acetic Acid* (NAA) dan *6-Benzyl Amino Purine* (BAP). *Jurnal Protobiont*, 6 (3), 37-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v6i2.20801>
- Muhsin, M. A., dan Iskandar. 2017. Pengembangan dalam Pengolahan Buah Markisa di Kelurahan Pasir Putih Kabupaten Sinjai. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 15-21. DOI: <http://journal.unismuh.ac.id/index.php/jp/index>
- Natasha, K., dan Restiani, R. 2019. Optimasi Sterilisasi Eksplan Pada Kultur *In Vitro* Gingseng Jawa (*Talium paniculatum*). Prosiding Symbion-Prodi Pendidikan Biologi Universitas Ahmad Dahlan, Agustus. 87-95, *Prodi Pendidikan Biologi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta*, pp: 2528-5726. DOI: <https://doi.org/10.26555/symbion.3512>
- Oratmagun, K. M., Pandiangan, D., Kandou, F. E. (2017). Deskripsi Jenis-jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharantus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA Unsrat*, 6(1), 47-52. DOI: <https://doi.org/10.35799/jm.6.1.2017.16154>
- Rasud., Yulianti., dan Bustaman. (2020). Induksi Kalus Secara *In Vitro* dari Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67-72. DOI: [10.18343/jipi.25.1.67](https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67)
- Rosyidah, M., Ratnasari, E., dan Rahayu, Y. S. (2014). Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine* (BAP) pada Media MS Secara *In Vitro*. *LenteraBio*, 3(1), 147-153. DOI: <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lentera-bio>
- Satriadi, Ogie., Efendi, Darda., dan Sulassih. (2017). Konservasi *In Vitro* Pisang Kepok Unti Sayang (*Musa balbisiana*) Melalui Pertumbuhan Minimal Pada Berbagai Media. *Jurnal Bul. Agrohorti*, 5(1), 27-36. DOI: <https://doi.org/10.29244/agrob.v5i1.15888>
- Sulichantini, E. D. (2015). Produksi Metabolit Sekunder Melalui Kultur Jaringan. Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1, Juni. 5-6, *Universitas Mulawarman, Samarinda*, pp: 205-212. DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.27>
- Sulichantini, E. D., Nazari, A. P. D., dan Nuansyah, A. (2023). Aplikasi Kombinasi Jenis dan Konsentrasi Antioksidan yang Berbeda Sebagai Penghambat *Browning* Pada Perbanyakan Pisang Cavendish Secara Kultur Jaringan. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*, 5(2), 78-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.35941/jat1.5.2.2023.9959.78-83>
- Sundari, L., Siregar, L. A. M., dan Hanafiah, D. S. (2015). Kajian Awal: Respon Eksplan Nodus dalam Inisiasi Tunas Mikro Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) dalam Medium WPM. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 3(1), 179-187. DOI: [10.32734/jaet.v3i1.9387](https://doi.org/10.32734/jaet.v3i1.9387)
- Wijaya, B. E., Dwiyani, R., dan Mayadewi, N. N. A. (2023). Induksi dan Multiplikasi Kalus *Eucalyptus* sp. pada Berbagai Media *Callus Induction Medium* (CIM) Secara *In Vitro*. *Agrotrop: Journal on Agriculture Science*, 13(1), 76-84. DOI: [10.24843/AJoAS.2023.v13.i01.p07](https://doi.org/10.24843/AJoAS.2023.v13.i01.p07)
- Wulandari, A. S., Sulistyani, E., dan Agustiani, E. L. (2017). Respon Pertumbuhan Tunas Saninten (*Castanopsis argentea* (Blume) A.DC.) Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BAP dan IAA Secara *In Vitro*. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 8(3), 208-214. DOI: <https://doi.org/10.29244/j-siltrop.8.3.208-214>
- Yuniardi, Fifit. (2019). Aplikasi Dimmer Switch Pada Rak Kultur Sebagai Pegatur Kebutuhan Intensitas Cahaya Optimum Bagi Tanaman *In Vitro*. *Indonesian*

Journal of Laboratory, 2(1), 8-13. DOI:
<https://doi.org/10.22146/ijl.v1i4.52991>
Ziraluo, Y. P. B. 2021. Metode Perbanyak
Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas*

poiret) dengan Teknik Kultur Jaringan
atau Stek Planlet. *Jurnal Inovasi
Penelitian*, 2(3), 1037-1046. DOI:
<https://doi.org/10.47492/jip.v2i3.819>