

Effect of BAP and NAA on Callus Emergence Time of Dumbaya Young Leaf Explants in Vitro

Farhana Rahmatia Walangadi¹, Jusna Ahmad^{1*}, Devi Bunga Pagalla¹, Novri Youla Kandowangko¹, Febriyanti¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia;

Article History

Received : May 05th, 2025

Revised : May 16th, 2025

Accepted : May 18th, 2025

*Corresponding Author: **Jusna Ahmad**, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia;
Email: jusnaahmad@ung.ac.id

Abstract: *Momordica cochinchinensis*, locally known as Dumbaya in Gorontalo Province, is a traditional medicinal plant with underutilized potential due to the extremely hard morphology of its seed coat. This physical barrier limits the penetration of water, air, and nutrients, thereby reducing the success rate of seed germination and plant propagation. The challenge of propagating plants that are difficult to reproduce sexually, such as dumbaya, can be addressed through various approaches, one of which is asexual reproduction using tissue culture techniques. This study aims to address propagation constraints by applying tissue culture techniques supplemented with Plant Growth Regulators (PGRs), specifically BAP (Benzyl Amino Purine) and NAA (Naphthalene Acetic Acid), which are critical factors in successful in vitro plant regeneration. The combination of Benzyl Amino Purine (BAP) and Naphthalene Acetic Acid (NAA) is a commonly used Plant Growth Regulator (PGR) for inducing callus formation and organogenesis, where BAP is effective in stimulating shoot formation, while NAA plays a role in root induction. The research employed an experimental method using a Completely Randomized Design (CRD) with five treatment levels: H0: MS + 0 ppm NAA + 0 ppm BAP; H1: MS + 1.5 ppm NAA + 0.5 ppm BAP; H2: MS + 3.0 ppm NAA + 0.5 ppm BAP; H3: MS + 1.5 ppm NAA + 1.0 ppm BAP; and H4: MS + 3.0 ppm NAA + 1.0 ppm BAP. Each treatment was replicated three times. The results showed that treatment H1 produced the earliest callus formation, with an average callus initiation time of 7 days after planting.

Keywords: BAP, Callus, *Momordica cochinchinensis*, NAA.

Pendahuluan

Indonesia termasuk negara dengan kekayaan hayati yang sangat melimpah, termasuk dalam hal keanekaragaman tanaman obat. Pemanfaatan tanaman sebagai bahan pengobatan tradisional telah menjadi bagian dari budaya masyarakat lokal selama berabad-abad. Salah satu tanaman yang dikenal dan digunakan secara tradisional di Provinsi Gorontalo adalah *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng., yang lebih dikenal dengan nama lokal dumbaya. Tanaman ini mengandung senyawa bioaktif yang diyakini

baik untuk kesehatan, tanaman ini memiliki banyak potensi untuk dijadikan bahan baku obat-obatan herbal. Kandungan senyawa bioaktif seperti β -karoten, likopen, serta lutein yang terdapat pada tanaman dumbaya menjadikannya sering dikonsumsi sebagai bagian dari makanan sehari-hari (Vuong & King, 2003). Meskipun demikian, potensi tanaman dumbaya belum dimanfaatkan secara optimal, terutama karena adanya kendala pada aspek perbanyakannya.

Faktor utama yang menghambat meluasnya budidaya tanaman dumbaya adalah daya berkecambah benih yang rendah. Sejalan

dengan penelitian (Pagalla *et al.*, 2023) bahwa kulit benih dumbaya memiliki struktur morfologi yang sangat keras sehingga secara fisik menghalangi penetrasi air, udara, dan nutrisi, sehingga mengganggu proses penyerapan dan menyulitkan benih untuk berkecambah.

Keterbatasan perbanyakan tanaman menyoroti perlunya alternatif yang lebih efektif dan efisien. Teknik kultur jaringan, yang merupakan metode pertumbuhan tanaman *in vitro* yang menggunakan bagian tanaman tertentu, seperti jaringan daun, batang, atau akar, dalam keadaan steril, adalah salah satu solusi yang memungkinkan. Metode ini menghilangkan kebutuhan akan benih sebagai satu-satunya sumber regenerasi dengan menumbuhkan komponen tanaman ini pada media buatan yang mengandung nutrisi dan zat pengatur tumbuh. Hal ini memungkinkan terciptanya tanaman baru yang cepat, seragam, dan berskala besar. Selain perbanyakan tanaman, kultur jaringan dapat digunakan untuk menciptakan haploid ganda, kriopreservasi, varietas tanaman baru, tanaman langka dan terancam punah, tanaman dengan proses reproduksi yang kompleks, metabolit sekunder, dan tanaman transgenik (Wulandari *et al.*, 2022).

Pembentukan massa sel yang tidak berdeferensiasi dari jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan dikenal sebagai induksi kalus, dan tahap induksi kalus pada teknik kultur jaringan bertujuan untuk menghasilkan dan memperbanyak sel kalus dari eksplan tanaman dalam jumlah besar. Karena setiap sel tanaman memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi individu baru, kalus merupakan sumber bahan tanam yang berharga dan berfungsi sebagai awal proses regenerasi tanaman karena, dengan perawatan yang tepat, jaringan ini dapat berkembang menjadi organ baru seperti akar dan tunas. Keberhasilan pengembangan kalus merupakan ukuran utama kinerja metode kultur jaringan yang digunakan, sehingga sangat penting untuk memahami secara rinci faktor-faktor yang memengaruhi pembentukan kalus, terutama jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh.

Bahan utama dalam media kultur jaringan yang mengendalikan proses fisiologis

dan morfologi tanaman disebut zat pengatur tumbuh tanaman atau PGR. *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) adalah dua jenis PGR yang sering digunakan dalam induksi kalus. Sementara NAA adalah jenis auksin yang membantu pemanjangan sel, pembentukan akar, dan pembentukan kalus, BAP termasuk dalam kelompok sitokinin, yang dikenal untuk merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas. Meskipun setiap spesies tanaman mungkin bereaksi berbeda terhadap kombinasi tersebut, keduanya sering digunakan bersama untuk membangun keseimbangan hormon yang mendorong pertumbuhan kalus yang ideal. Kalus eksplan kelapa sawit dapat diinduksi dengan menambahkan hormon NAA dan BAP pada rasio konsentrasi yang bervariasi (Setyorini & Kristalisasi, 2019).

Waktu munculnya kalus menjadi parameter penting karena menunjukkan kecepatan respons jaringan tanaman terhadap media yang telah diberikan perlakuan ZPT. Kalus terbentuk karena adanya keseimbangan dan interaksi antara ZPT eksogen yang tersedia dalam media dengan hormon endogen dalam eksplan (Wahyuni *et al.*, 2020). Peluang untuk mempercepat seluruh proses regenerasi tanaman semakin besar seiring dengan kecepatan pembentukan kalus. Oleh karena itu, pemilihan konsentrasi BAP dan NAA yang tepat tidak hanya memengaruhi hasil induksi kalus tetapi juga efektivitas dan viabilitas metode kultur jaringan tanaman.

Penelitian ini dilakukan sebagai upaya untuk mengatasi kendala perbanyakan tanaman dumbaya secara konvensional dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan. Fokus utama penelitian ini adalah mengevaluasi pengaruh kombinasi BAP dan NAA terhadap waktu munculnya kalus dari eksplan daun dumbaya secara *in vitro*. Melalui pendekatan ini, diharapkan dapat ditemukan formulasi media yang optimal untuk mempercepat pembentukan kalus, sehingga proses regenerasi tanaman dapat berlangsung lebih efisien dan mendukung pengembangan budidaya tanaman dumbaya dalam skala yang lebih luas.

Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya memberikan kontribusi ilmiah dalam bidang kultur jaringan tanaman, tetapi juga

berpotensi memberikan dampak praktis dalam pengembangan tanaman lokal bernilai tinggi yang selama ini belum mendapatkan perhatian secara maksimal. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam pengembangan perbanyakan tanaman dumbaya secara massal, serta menjadi referensi bagi penelitian lanjutan terkait kultur jaringan tanaman obat lokal lainnya.

Bahan dan Metode

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo. Waktu Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai Oktober 2024.

Alat dan Bahan

Alat penelitian adalah autoklaf, batang pengaduk, botol bunsen, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas ukur, erlenmeyer, gunting tanaman, timbangan analitik, stirrer magnetic, pinset, cawan petri, kompor gas, mikropipet, skalpel, steril blade, kertas pH, alat tulis, dan kamera. Bahan penelitian adalah daun muda tanaman Dumbaya (sebagai eksplan), tisu, akuades steril, alkohol 70%, agar, kertas, *plastic wrap*, *aluminium foil*, kertas saring, sukrosa, Murashige dan Skoog (MS), zat pengatur tumbuh BAP, zat pengatur tumbuh NAA, NaOCl 5.25% (*Bayclin*), deterjen (*Sunlight*), kertas label, plastik, karet gelang, korek api, dan spritus.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 taraf perlakuan, yaitu:

H0 : MS + NAA 0 ppm + BAP 0 ppm

H1 : MS+ NAA 1,5 ppm + BAP 0,5 ppm

H2 : MS + NAA 3,0 ppm + BAP 0,5 ppm

H3 : MS + NAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm

H4 : MS+ NAA 3,0 ppm + BAP 1,0 ppm

Tiap perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 3 cawan petri (5 x 3 x 3 = 45 cawan petri). Data yang diperoleh dianalisis berdasarkan kualitatif dan kuantitatif.

Analisis Data

Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan taraf 5%. Uji ini dilakukan dengan program aplikasi SPSS 26.

Hasil dan Pembahasan

Rata-Rata Hasil Waktu Muncul Kalus Eksplan Daun Muda Tanaman Dumbaya

Berdasarkan hasil pengamatan selama 8 MST, empat dari lima perlakuan yang diberikan pada eksplan daun muda *M. cochinchinensis* mampu mengindikasikan pembentukan kalus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ZPT berupa *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) memberikan pengaruh signifikan terhadap waktu muncul kalus pada eksplan daun muda tanaman *M. cochinchinensis*. Hasil pengamatan pada perlakuan H1 (MS + NAA 1 PPM + BAP + 0,5 PPM) menunjukkan waktu muncul kalus tercepat dengan rata-rata waktu tumbuh kalus yaitu 7 Hari Setelah Tanam (HST) sebagaimana tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Waktu Muncul Kalus

No.	Perlakuan	Rata-rata Waktu Muncul Kalus (Hari)
1.	H0 (NAA 0 PPM + BAP 0 PPM)	*a
2.	H1 (NAA 1,5 PPM + BAP 0,5 PPM)	7b
3.	H2 (NAA 3,0 PPM + BAP 0,5 PPM)	14c
4.	H3 (NAA 1,5 PPM + BAP 1,0 PPM)	16.1d
5.	H4 (NAA 3,0 PPM + BAP 1,0 PPM)	16.3d

Keterangan: * = tidak muncul kalus; Angka yang diikuti huruf yang sama tidak ada perbedaan signifikan pada uji Duncan taraf 5%

Analisis statistik melalui *Analysis of Variance* (ANOVA) (Tabel 2) menguatkan penelitian yang telah didapatkan dengan menunjukkan perlakuan memberikan pengaruh signifikan terhadap waktu muncul kalus. Hal ini dibuktikan oleh nilai signifikansi (Sig.) < 0,05 dan nilai F hitung > F tabel, yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan

nyata antara perlakuan yang diberikan terhadap eksplan. Selanjutnya, dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan yang paling efektif. Hasil uji ini menunjukkan bahwa kombinasi BAP dan NAA pada perlakuan H1 (MS + NAA 1 PPM + BAP + 0,5 PPM) merupakan perlakuan paling optimal dalam mempercepat pembentukan kalus pada eksplan daun dumbaya.

Tabel 2. Hasil analisis uji ANOVA untuk waktu muncul kalus

<i>Model</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F Hitung</i>	<i>Sig.</i>
<i>Regre s sion</i>	596.667	4	149.167	2237.500	0,000
		67	00	0	

Pembahasan

Waktu Muncul Kalus pada Eksplan Daun Muda Tanaman Dumbaya

Sekelompok sel amorf atau tidak berdiferensiasi yang dikenal sebagai kalus sangat penting bagi prosedur kultur jaringan karena, jika diberikan kondisi yang tepat, sel-sel tersebut dapat berkembang menjadi tanaman utuh. Manfaat utama kalus adalah kemampuannya untuk berkembang dari berbagai bagian tanaman, seperti daun, batang, dan akar. Akan tetapi, karena jaringan meristematik memiliki aktivitas pembelahan sel yang lebih aktif daripada jaringan dewasa, bagian tanaman dengan karakteristik meristematik biasanya menunjukkan potensi yang lebih tinggi untuk produksi kalus (Wahyuni *et al.*, 2020).

Salah satu penanda utama proses pertumbuhan pada metode perbanyakan tanaman menggunakan kultur jaringan *in vitro* adalah terbentuknya kalus pada eksplan. Utomo dkk. (2024) menyatakan bahwa kalus terbentuk akibat reaksi meristematik jaringan eksplan terhadap media tumbuh yang diberikan. Berdasarkan pengamatan, kalus mulai terbentuk pada bagian eksplan yang rusak dan bersentuhan langsung dengan media kultur. Hal ini ditandai dengan adanya pembengkakan dan munculnya bulir-bulir putih pada luka eksplan antara umur 7 sampai 14 hari setelah tanam (HST). Bulir-bulir ini kemudian berkembang menjadi struktur bulat bening dan membentuk agregat kalus.

Temuan ini mendukung pernyataan Waryastuti *et al.*, (2017) bahwa pembengkakan

dan produksi jaringan putih pada permukaan eksplan merupakan tanda pembentukan kalus. Langkah pertama pembentukan kalus adalah pembengkakan eksplan, diikuti oleh pembentukan kalus putih di ujung dan tepi eksplan tempat luka terbentuk. Kalus terbentuk sebagai akibat kerusakan sel dan autolisis (pemecahan) pada tanaman yang terluka. Sel yang rusak melepaskan zat kimia yang mendorong pembelahan sel pada lapisan berikutnya, sehingga terbentuk kelompok sel yang berdiferensiasi. Sel-sel epidermis atas tumbuh terlebih dahulu, kemudian terbelah menjadi dua, yang memulai proses pembentukan kalus di ujung eksplan (Buana, 2020).

Secara umum, jenis eksplan, posisi pemotongan, dan keadaan fisiologis jaringan tanaman yang digunakan semuanya memengaruhi respons awal yang terjadi pada tahap induksi kalus. Pembengkakan pada eksplan yang telah diiris dan ditempatkan di media kultur merupakan salah satu reaksi yang paling umum terlihat, terutama di daerah yang bersentuhan langsung dengan permukaan media. Pangkal jaringan, seperti pangkal sisik umbi atau daun, yang merupakan tempat utama eksplan bersentuhan dengan media, adalah tempat kalus biasanya terbentuk selama proses ini.

Dediferensiasi sel, suatu keadaan di mana sel dewasa kehilangan spesialisasinya dan kembali ke keadaan meristematik yang mampu membelah secara aktif, ditunjukkan sejak awal oleh proses pembengkakan. Produksi kalus dimulai dengan jaringan eksplan yang bersentuhan langsung dengan media dan ditandai dengan pembengkakan, yang merupakan tanda aktivitas proliferasi sel (Sitinjak *et al.*, 2015). Eksplan bereaksi terhadap rangsangan eksternal dengan bersiap memulai proses pembelahan dan perkembangan jaringan baru, seperti yang terlihat dari pembengkakan ini, yang disebabkan oleh peningkatan volume sel sebagai respons terhadap sinyal hormon dan penyerapan nutrisi dari media.

Efektivitas zat pengatur tumbuh dan fitohormon tertentu yang terdapat dalam eksplan menentukan laju pembentukan kalus (Restanto *et al.*, 2022). Bergantung pada jenis terapi, kalus dapat muncul pada waktu yang berbeda. Untuk eksplan yang diberi perlakuan H1 (MS + NAA 1 PPM + BAP + 0,5 PPM), waktu pembentukan tercepat adalah 7 hari setelah tanam. Sebaliknya, kalus tidak terbentuk pada perlakuan H0 yang berfungsi sebagai kontrol, karena ZPT, komponen

pendukung pertumbuhan eksplan, tidak ada dalam media kultur. Hal ini sesuai dengan temuan Sulichantini *et al.* (2020), yang menemukan bahwa keberhasilan proses diferensiasi sel dalam jaringan kultur dipengaruhi secara signifikan oleh penambahan zat pengatur tumbuh.

Proses pembentukan kalus pada eksplan dapat terhambat oleh pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam jumlah yang tidak tepat karena ketidakseimbangan hormon dapat memengaruhi respons fisiologis jaringan tanaman terhadap media kultur (Hardjo, 2019). Komposisi media kultur, faktor lingkungan seperti suhu dan pencahayaan, serta jenis dan kondisi bahan tanam atau eksplan yang digunakan merupakan beberapa faktor lain yang memengaruhi keberhasilan induksi kalus selain konsentrasi ZPT (Xiong *et al.*, 2021). Agar kalus terbentuk secara efektif dan efisien dalam waktu yang relatif singkat, diperlukan campuran variabel yang tepat untuk menghasilkan lingkungan mikro yang ideal bagi proses dediferensiasi dan pembelahan sel.

Respons pertumbuhan dan perkembangan eksplan sangat dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) ke dalam media tanam; jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan, serta bagaimana zat tersebut disesuaikan dengan tujuan dan tahap budidaya, menentukan seberapa efektif perlakuan ini (Setyorini & Kristalisasi, 2019). Lebih jauh, pemanfaatan media Murashige dan Skoog (MS), yang kaya akan nutrisi makro, mikro, dan zat besi, membantu mengoptimalkan pertumbuhan eksplan karena komposisi nutrisi dapat memenuhi kebutuhan fisiologis jaringan tanaman selama proses kultur (Fauziah *et al.*, 2019).

Perkembangan kalus *in vitro* pada eksplan merupakan konsekuensi dari interaksi kompleks antara kondisi fisiologis jaringan, terapi eksogen seperti penerapan zat pengatur tumbuh tanaman (PGR), dan pengaruh lingkungan kultur, termasuk suhu dan cahaya. Salah satu penentu utama keberhasilan induksi kalus adalah penambahan PGR eksogen, khususnya dari kelompok auksin dan sitokinin. Sementara sitokinin mendorong pembelahan sel dan stabilitas morfogenetik jaringan, auksin biasanya membantu dalam dediferensiasi dan perkembangan awal kalus. Lebih jauh, karena mendorong pelepasan sinyal stres yang memulai jalur metabolisme untuk menyembuhkan kerusakan jaringan, pelukaan eksplan selama pemotongan merupakan pemicu

perkembangan kalus yang signifikan.

Kombinasi sinyal stres, stimulasi hormonal, dan ketersediaan nutrisi yang memadai di media memungkinkan eksplan untuk memulai aktivitas biosintesis dan merespons secara optimal terhadap lingkungan mikro yang diciptakan oleh media kultur. Oleh karena itu, memahami dinamika respons awal ini sangat penting dalam mengoptimalkan proses kultur jaringan, terutama pada spesies tanaman yang memiliki tingkat respons regeneratif yang rendah atau bervariasi terhadap perlakuan *in vitro* (Chen *et al.*, 2019). Pembentukan kalus dapat terjadi sebagai bentuk mekanisme pertahanan tanaman untuk menutup luka, di mana jaringan yang terluka akan mengaktifkan program regeneratif melalui jalur pembelahan sel yang aktif.

Aktivitas fisiologis jaringan tanaman dalam merespon lingkungan mikro yang diciptakan oleh media kultur ditunjukkan oleh respon eksplan terhadap media yang mengandung ZPT. Dalam penelitian ini, kombinasi BAP dan NAA berperan signifikan dalam mengatur pembelahan dan diferensiasi sel; perlakuan H1 yang menunjukkan waktu kemunculan kalus tercepat menunjukkan bahwa keseimbangan antara sitokinin dan auksin pada konsentrasi tersebut mendukung proses dediferensiasi sel lebih cepat. BAP yang merupakan salah satu anggota kelompok sitokinin diketahui dapat merangsang pembelahan sel dan inisiasi pembentukan tunas. Sitokinin sintesis yang paling ekonomis adalah *benzyl amino purine* (BAP), yang memiliki efek stimulasi fisiologis yang berkepanjangan karena kesulitannya dipecah oleh jaringan tanaman (Handayani *et al.*, 2018).

Keterlibatan BAP dalam mendorong pembelahan sel, perbanyakan jaringan kalus, proliferasi meristem terminal, dan produksi klorofil dalam kalus, konsentrasi sitokinin BAP berkisar antara 0,5 hingga 1,5 ppm dapat mendorong pembentukan kalus (Erawati *et al.*, 2023). Biasanya, cedera jaringan dari perawatan eksplan memulai proses pembentukan kalus. Sel-sel di sekitar area yang terluka mencoba menyembuhkan diri sendiri dengan memproduksi jaringan meristematik baru, yang akhirnya berubah menjadi kalus. Namun, karena karakteristiknya yang lebih stabil daripada auksin sintesis lainnya, NAA merupakan bentuk auksin yang sering digunakan sebagai komponen pendukung dalam keberhasilan pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* (Rahman *et al.*, 2021). Kedua hormon ini dapat

bekerja sama untuk meningkatkan efektivitas induksi kalus jika dikonsumsi dalam jumlah yang proporsional. Hal ini sejalan dengan penelitian Anggraeni *et al.*, (2022) yang menunjukkan bahwa kombinasi auksin dan sitokinin dapat meningkatkan proliferasi sel dan mempercepat produksi kalus dalam kultur jaringan.

Zat pengatur tumbuh tanaman (ZPT) sangat penting dalam kultur jaringan karena kegunaannya dalam memengaruhi berbagai aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT umumnya adalah zat organik yang dapat mengubah proses fisiologis tanaman tetapi bukan nutrisi. Jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan memiliki dampak signifikan terhadap pengaruhnya terhadap tanaman. Ketika ZPT diberikan pada dosis yang tepat, zat tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan, diferensiasi, dan regenerasi tanaman secara *in vitro*, yang menjadi dasar metode perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan.

Pemberian ZPT dalam media kultur dengan konsentrasi rendah, misalnya, dapat mendorong eksplan untuk menghasilkan kalus, yang selanjutnya dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut untuk menjadi tanaman baru. Di sisi lain, pemberian ZPT dalam jumlah yang terlalu tinggi atau tidak tepat dapat menghambat proses tersebut dan berpotensi menyebabkan ketidakseimbangan dalam pembentukan akar dan tunas. Oleh karena itu, salah satu fase penting dalam kultur jaringan untuk memperoleh hasil yang diinginkan, seperti pembentukan kalus yang cepat dan efektif pada tanaman yang digunakan sebagai subjek penelitian, adalah menentukan konsentrasi ZPT yang ideal.

Kelompok auksin dan sitokinin adalah dua jenis PGR yang sering digunakan dalam kultur jaringan untuk perbanyakan tanaman; masing-masing memainkan peran berbeda dalam mendorong proses pertumbuhan tanaman. Secara umum, auksin seperti NAA (*naphthalene acetic acid*) digunakan untuk mendorong diferensiasi akar, pembelahan sel, dan produksi kalus. Di sisi lain, sitokinin, seperti BAP (*benzyl amino purine*), sangat penting untuk mendorong perkembangan tunas dan pembelahan sel. Agar berhasil memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan, interaksi antara kedua PGR ini sangat penting. Stimulasi perkembangan kalus dan tunas yang efektif dapat dicapai dengan mempertahankan rasio auksin terhadap sitokinin yang tepat dalam media kultur. Auksin dan sitokinin bersama-sama telah ditunjukkan dalam berbagai penelitian,

seperti Anggraeni *et al.*, (2022), untuk mempercepat pembentukan kalus pada eksplan daun dari berbagai tanaman, termasuk Dumbaya. Jenis tanaman dan tujuan perbanyakan misalnya, apakah tujuan utamanya adalah pengembangan akar, kalus, atau tunas memiliki dampak signifikan terhadap pemilihan jenis dan konsentrasi PGR yang tepat. Akibatnya, PGR sangat penting bagi proses kultur jaringan, dan pilihan serta modifikasi PGR untuk media kultur memiliki dampak signifikan terhadap hasil proses.

Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh tanaman (ZPT) yang paling umum digunakan dalam teknik kultur jaringan karena fungsinya yang saling melengkapi dalam mengatur proses fisiologis pada tanaman. Interaksi antara auksin dan sitokinin memiliki dampak yang signifikan terhadap jalannya dan hasil proses regenerasi *in vitro*, terutama dalam pembentukan kalus dan organogenesis. Auksin diketahui berperan penting dalam merangsang pembentukan kalus, inisiasi akar, dan embriogenesis, yang merupakan langkah pertama dalam pembentukan embrio somatik dari jaringan somatik tanaman, sementara sitokinin merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas, dua proses yang penting selama tahap perbanyakan tanaman.

Konsentrasi auksin dan sitokinin dalam media kultur harus seimbang agar proses regenerasi dapat berjalan dengan baik karena ketidakseimbangan antara keduanya dapat menghambat perkembangan kalus atau mengakibatkan diferensiasi organ yang tidak diinginkan. Zat pengatur tumbuh yang berinteraksi satu sama lain, seperti auksin dan sitokinin, sering digunakan dalam kultur jaringan. Sementara sitokinin terlibat dalam pembelahan sel dan produksi tunas, auksin terlibat dalam pembentukan kalus, inisiasi akar, dan embriogenesis (Sualang *et al.*, 2023).

Berdasarkan peran fisiologis tersebut, kombinasi auksin dan sitokinin dalam komposisi yang seimbang dan sesuai kebutuhan spesifik eksplan dinilai paling efektif dalam merangsang pembentukan kalus yang optimal, baik dari segi waktu muncul maupun kualitas dan kuantitas kalus yang dihasilkan. Rahman *et al.* (2021) menegaskan bahwa kombinasi kedua hormon tersebut sangat mendukung pertumbuhan kalus karena masing-masing hormon memainkan fungsi kunci pada tahapan yang berbeda, sehingga dapat menciptakan sinergi hormonal yang harmonis.

Banyak penelitian kultur jaringan, seperti pada eksplan daun muda, formulasi media yang mengandung konsentrasi tertentu dari NAA dan BAP secara bersamaan menunjukkan waktu muncul kalus yang lebih cepat dibandingkan penggunaan tunggal salah satu hormon.

Fenomena ini disebabkan oleh mekanisme kerja hormonal yang saling mendukung, di mana auksin membuka jalan bagi pembentukan kalus melalui dediferensiasi sel, sedangkan sitokinin mempercepat pertumbuhan dan pembelahan sel yang telah terdiferensiasi kembali tersebut. Oleh karena itu, pemilihan jenis dan konsentrasi kombinasi ZPT harus mempertimbangkan kebutuhan spesifik jenis tanaman, sifat eksplan, serta tujuan akhir dari proses kultur jaringan, agar diperoleh respon pertumbuhan kalus yang maksimal, stabil, dan efisien. Kombinasi ZPT yang tidak sesuai dapat menyebabkan keterlambatan waktu muncul kalus, pembentukan kalus yang tidak stabil, atau bahkan kegagalan total dalam inisiasi kalus, sehingga penelitian dan pengujian pendahuluan sangat diperlukan untuk mengidentifikasi formulasi yang paling efektif.

Perbedaan waktu munculnya kalus pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa keseimbangan konsentrasi antara sitokinin dan auksin merupakan faktor krusial dalam keberhasilan induksi kalus secara *in vitro*. Dalam sistem kultur jaringan, interaksi antara kedua jenis zat pengatur tumbuh ini bersifat sinergis, namun juga sangat sensitif terhadap perubahan rasio dan konsentrasi. Ketika salah satu hormon mendominasi secara berlebihan, maka respons fisiologis eksplan cenderung bergeser dari jalur pembentukan kalus ke arah pembentukan organ tertentu, seperti akar atau tunas, tergantung pada hormon yang dominan. Misalnya, kelebihan auksin dalam media kultur dapat memicu diferensiasi eksplan menuju pembentukan akar secara langsung tanpa melalui fase kalus, sehingga menghambat proses dediferensiasi dan proliferasi sel yang diharapkan dalam induksi kalus.

Sebaliknya, kelebihan sitokinin dapat merangsang pembentukan tunas secara langsung tanpa pembentukan kalus sebagai tahap awalnya. Hal ini menunjukkan bahwa keberhasilan induksi kalus tidak hanya bergantung pada keberadaan ZPT, melainkan juga pada komposisi dan proporsi yang tepat sesuai kebutuhan fisiologis jaringan yang digunakan

Penyesuaian konsentrasi zat pengatur

tumbuh dalam media kultur harus dilakukan dengan mempertimbangkan beberapa faktor penting, di antaranya karakteristik spesifik eksplan, jenis jaringan yang digunakan, tingkat kematangan fisiologis, serta tujuan akhir dari kultur jaringan itu sendiri. Rasio auksin dan sitokinin harus seimbang secara proporsional untuk mendapatkan efek terbaik, mencegah dominasi hormon yang akan mengalihkan reaksi fisiologis dari tujuan awal, yaitu produksi kalus. Penelitian Balilashaki *et al.*, (2015) menyoroti bahwa jika konsentrasi auksin dan sitokinin diatur dengan benar untuk memicu pertumbuhan tunas secara efektif, pertumbuhan kalus dapat diarahkan menuju proses pembentukan tunas. Namun, untuk mendorong aktivitas dediferensiasi sel dan perkembangan massa kalus yang ideal pada fase awal kultur jaringan, khususnya pada fase induksi kalus, diperlukan konsentrasi auksin yang sedikit lebih tinggi atau seimbang bersama dengan sitokinin.

Ketidaktepatan dalam menyeimbangkan konsentrasi ini dapat menyebabkan keterlambatan waktu munculnya kalus, menurunnya frekuensi kalus yang terbentuk, atau bahkan kegagalan total dalam inisiasi kalus. Oleh karena itu, keberhasilan kultur jaringan secara *in vitro* memerlukan pendekatan yang cermat dalam merancang komposisi media kultur, termasuk evaluasi mendalam terhadap konsentrasi dan rasio ZPT yang digunakan, agar dapat mengakomodasi kebutuhan spesifik dari eksplan dan memastikan efektivitas dalam setiap tahap pertumbuhan tanaman secara keseluruhan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan H1 terbukti paling efektif dalam mempercepat waktu muncul kalus dengan rata-rata 7 Hari Setelah Tanam (HST), serta menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan analisis ANOVA. Disarankan untuk menggunakan kombinasi ZPT seperti pada perlakuan H1 dalam upaya perbanyakan tanaman Dumbaya secara *in vitro* guna memperoleh hasil yang optimal.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan berkontribusi, baik secara langsung maupun

tidak langsung, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar hingga tahap publikasi. Penelitian ini merupakan bagian penelitian yang didanai oleh DRTPM BIMA Tahun 2024, dengan Perjanjian/ Kontrak Nomor 063/E5/PG.02.00. PL/2024.

Referensi

- 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>
- Balilashaki, K., Vahedi, M., & Karimi, R. (2015). In vitro direct regeneration from node and leaf explants of *Phalaenopsis* cv. 'Surabaya.' *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 25(2), 193–205. <https://doi.org/10.3329/ptcb.v25i2.26254>
- Buana, A. S. (2020). Induksi Kalus Stevia Rebaudiana Bertoni M. Dengan Pemberian Kombinasi Zpt Naa (Naphtalene Asetic Acid), 2,4-D (2,4 Diclorophenoxy Asetic Acid) Dan Bap (Benzil Amino Purin). *Jurnal Teknologi Terapan: G-Tech*, 1(2), 78–83. <https://doi.org/10.33379/gtech.v1i2.272>
- Chen, Y. M., Huang, J. Z., Hou, T. W., & Pan, I. C. (2019). Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent *Haworthia*. *Botanical Studies*, 60(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-019-0257-y>
- Eka Waryastuti, D., & Setyobudi dan Tatik Wardiyati Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas, L. (2017). Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D Dan BAP Pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Effects Of 2,4-D And Bap Concentration Levels On Ms Media For Embryogenic Callus Induction Of Java Turmeric (*Curcuma xanthor*). *Jurnal Produksi Tanaman*, 5(1), 140–149.
- Erawati, D. N., Taufika, R., & Adiwinata, D. A. (2023). Pengaruh Pemberian Sitokinin Terhadap Kalus Tembakau Varietas Na-Oogst (*Nicotiana tabacum* L.) Melalui Kultur In Vitro. *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture*, 288–295. <https://doi.org/10.25047/agropross.2023.470>
- Fauziah, R. H., Kusmiyati, F., & Anwar, S. (2019). Liliium longiflorum Plant Growth with a combination of Naphthylacetic Acid (NAA) and 6-Benzylaminopurine (BAP) In Vitro. *Journal of Tropical Crop Science and Technology*, 1(2), 78–92. <https://doi.org/10.22219/jtcst.v1i2.10387>
- Handayani, R. S., Maisura, M., & Rizki, A. (2018). Pengaruh Letak Posisi Eksplan dan Sitokinin Pada Perkecambah Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Lokal Aceh Secara in-Vitro. *Jurnal Agrium*, 14(2), 1. <https://doi.org/10.29103/agrium.v14i2.874>
- Pagalla, D. B., Ahmad, J., Adudu, M. F., Nidaulhasanah, A., Adju, F. H. Y., & Damayanti, E. M. (2023). In Vitro Germination of Dumbaya Seeds (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng: A Unique Medicinal Plant of Gorontalo. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 203–208. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.5798>
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2021). The Influence of Various Growth Regulators on Induction Organogenic Callus from Gajah and Kuning Cassava Genotype (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Ilmu Dasar*, 22(2), 119. <https://doi.org/10.19184/jid.v22i2.9305>
- Restanto, D. P., Farlisa, V. Y., Dewanti, P., Hariyono, K., & Handoyo, T. (2022). Induksi Somatic Embriogenesis dan Kultur Suspensi Sel Pada Tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 6(2), 111–123. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v6i2.448>
- Setyorini, T., & Kristalisasi, E. N. (2019). Induksi Kalus Embriogenik Kelapa Sawit pada Media MS dengan Menambahkan

- 2,4-D dan Air Kelapa Muda. *Agroista Jurnal Agroteknologi*, 3(1), 93–98.
- Sitinjak, M. A., Isda, M. N., & Fatonah, S. (2015). Induksi kalus dari eksplan daun in vitro keladi tikus (*Typhonium* sp.) dengan perlakuan 2, 4-D dan kinetin. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 8(1), 32-39.
- Sualang, H., Lengkong, E. F., & Tumewu, P. (2023). Induction Of Direct Somatic Embriogenesis Of Chrysanthemum In MS And NAA Media Combined With Some Cytokinin Concentrations. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 4(1), 182–190.
<https://doi.org/10.35791/jat.v4i1.44247>
- Utomo, A. T. G., Zainal, A., & Yusniwati, Y. (2024). Induksi Kalus Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D Secara In Vitro. *Agroteknika*, 7(2), 264–274.
<https://doi.org/10.55043/agroteknika.v7i2.263>
- Vuong, L. T., & King, J. C. (2003). A method of preserving and testing the acceptability of gac fruit oil, a good source of β -carotene and essential fatty acids. *Food and Nutrition Bulletin*, 24(2), 224–230.
<https://doi.org/10.1177/156482650302400216>
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39.
<https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., & Wardiyati, T. (2017). Pengaruh tingkat konsentrasi 2, 4-D dan BAP pada media MS terhadap induksi kalus embriogenik temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) (Doctoral dissertation, Brawijaya University).
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16. <https://doi.org/10.22146/a.77010>
- Xiong, Y., Wei, Z., Yu, X., Pang, J., Zhang, T., Wu, K., Ren, H., Jian, S., Teixeira da Silva, J. A., & Ma, G. (2021). Shoot proliferation, embryogenic callus induction, and plant regeneration in *Lepturus repens* (G. Forst.) R. Br. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 57(6), 1031–1039.
<https://doi.org/10.1007/s11627-021-10183-3>