

Pengaruh BAP, IAA, dan Jenis Eksplan terhadap Efisiensi Regenerasi Tomat Fortuna 23***Effect of BAP, IAA, and Types of Explants on the Regeneration Efficiency of Tomato Fortuna 23***

Sholeh Avivi*, Mohammad Ubaidillah, Setiyono, dan Rifngatul 'Atiqoh

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegal Boto
Kotak Pos 159 Jember 68121 Jawa Timur, Indonesia

Diterima 12 Juli 2022/Disetujui 2 November 2022

ABSTRACT

This study aimed to determine an efficient regeneration protocol for genetic transformation of tomato Fortuna 23. This study was conducted from August 2021 to February 2022 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jember. The study consisted of 2 experimental designs, i.e, a completely randomized factorial design for shoot induction study with three factors and three replications and a completely randomized non-factorial design for root induction study with five replications. The treatments for shoot induction study were BAP (0, 1, 2, and 3 mg L⁻¹), IAA (0, 0.1, 0.2, and 0.3 mg L⁻¹), and types of explants (cotyledons, hypocotyls, and roots). The treatments for root induction study were NAA (0, 0.1, 0.5, and 1 mg L⁻¹). The combination treatment B₂A₃E₁ (BAP 2 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + cotyledons) was the best treatment for shoot induction since it was able to produce the highest number of shoots (8 shoots), with shoots appearing fast (21 HSI) and callus appearing fast too (7 HSI). NAA 0.5 mg L⁻¹ resulted in the fastest root emergence (3 HSI), the highest number of leaves (5 leaves), and the highest number of roots (26).

Keywords: regeneration, root induction, shoot induction

ABSTRAK

Penelitian bertujuan memperoleh protokol regenerasi yang efisien untuk transformasi genetik pada tanaman tomat Fortuna 23. Penelitian dilaksanakan mulai Agustus 2021-Februari 2022, bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian terdiri dari dua rancangan percobaan yaitu menggunakan RAL faktorial 3 faktor (tahap induksi tunas) diulang sebanyak 3 kali dan RAL non faktorial (tahap induksi akar) diulang sebanyak 5 kali. Perlakuan yang diberikan untuk tahap induksi tunas adalah BAP (0, 1, 2, dan 3 mg L⁻¹), IAA (0, 0.1, 0.2, dan 0.3 mg L⁻¹), dan jenis eksplan (kotiledon, hipokotil, dan akar). Perlakuan yang diberikan untuk tahap induksi akar adalah NAA (0, 0.1, 0.5, dan 1 mg L⁻¹). Pada tahap induksi tunas kombinasi perlakuan B₂A₃E₁ (BAP 2 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + kotiledon) merupakan perlakuan yang terbaik karena mampu menghasilkan jumlah tunas terbanyak (8 tunas), dengan awal muncul tunas 21 hari setelah induksi (HSI) dan awal muncul kalus 7 HSI. Pada tahap induksi akar perlakuan NAA 0.5 mg L⁻¹ menghasilkan awal muncul akar tercepat (3 HSI), jumlah daun terbanyak (5 daun), dan jumlah akar terbanyak (26 akar).

Kata kunci: induksi akar, induksi tunas, regenerasi

PENDAHULUAN

Keberhasilan regenerasi tanaman dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh faktor utama yaitu kultivar tanaman, jenis eksplan, dan zat pengatur tumbuh (Rahman *et al.*, 2015). Kultivar tanaman tomat yang dipakai dalam penelitian ini yaitu Fortuna 23 merupakan kultivar tomat unggul, tahan terhadap virus Gemini, mampu menghasilkan produksi yang tinggi, ukuran buah sedang dengan panjang 4.93-5.86 cm dan diameter buah 4.50-5.47 cm, daging buah tomat tebal

dan keras sehingga tidak cepat busuk (Kepmentan No.1939/Kpts/SR.120/5/2012). Regenerasi tanaman dipengaruhi oleh hormon (Sundari *et al.*, 2015). Proporsi sitokinin dan auksin yang seimbang akan menghasilkan tunas dan akar yang lebih baik (Widiastoety, 2014). Pemilihan jenis eksplan juga harus diperhatikan karena penggunaan jenis eksplan yang tepat akan menghasilkan pertumbuhan tanaman yang optimum (Nugroho *et al.*, 2016). Eksplan diambil dari bagian tanaman dengan kandungan sel yang aktif membelah yaitu sel meristem mengandung hormon tanaman sehingga hasilnya dapat seperti yang diharapkan. Umumnya semua bagian atau organ tanaman dapat digunakan sebagai eksplan, akan tetapi jenis eksplan tanaman tomat yang sering digunakan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: savivi.faperta@unej.ac.id

dalam kultur jaringan yaitu hipokotil, kotiledon, tunas pucuk, dan akar. Mir *et al.* (2011), menyatakan bahwa media yang mengandung *benzyl amino purine* (BAP) dan *indole acetic acid* (IAA) pada eksplan kotiledon dan hipokotil menghasilkan kalus 100%, sedangkan pada eksplan akar menghasilkan kalus yang lebih rendah dibanding kotiledon dan hipokotil. Hal tersebut sebanding dengan hasil penelitian Pawar *et al.* (2013), menggunakan kombinasi BAP dan IAA pada eksplan kotiledon, hipokotil, serta akar memberikan respon yang baik pada sebagian besar variabel pengamatan. Hasil pengamatan kombinasi perlakuan BAP 2 mg L⁻¹ dan IAA 0.1 mg L⁻¹ menunjukkan inisiasi kalus yang cepat pada kotiledon (8.03 hari) dengan presentase muncul kalus 100%, diikuti hipokotil (9 hari) dengan presentase muncul kalus 100%, dan eksplan akar (10.83 hari) dengan presentase muncul kalus 47.50-86.67%. Sedangkan pada induksi tunas, yang menunjukkan hasil terbaik yaitu kotiledon (87.50%), diikuti oleh eksplan hipokotil (83.33%), dan eksplan akar (69.17%). Kemampuan jaringan untuk membentuk suatu akar juga bergantung pada ZPT auksin yang ditambahkan ke dalam media. Jenis auksin yang sering digunakan untuk menginduksi perakaran *in vitro* adalah NAA (*naphthalene acetic acid*). Berdasarkan hasil penelitian Fathurrahman *et al.* (2012), pemberian ZPT NAA secara tunggal memberikan pengaruh nyata terhadap persentase tumbuh akar eksplan pucuk tomat. Sehingga pada tahap induksi akar menggunakan jenis ZPT NAA (*naphthalene acetic acid*). Penelitian ini terdiri atas dua tahap regenerasi eksplan tanaman tomat, yaitu tahap induksi tunas dan tahap induksi akar. Pada tahap induksi tunas, jenis ZPT yang digunakan ialah BAP (*Benzil Amino Purin*) dan IAA (*Indole Acetic Acid*), sedangkan pada tahap induksi akar menggunakan jenis ZPT NAA (*naphthalene acetic acid*). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh protokol regenerasi tanaman tomat Fortuna 23 yang optimal serta efisien.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember dari bulan Agustus 2021 sampai dengan bulan Februari 2022. Peralatan yang digunakan yaitu peralatan standar kultur jaringan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: benih tomat Fortuna 23, media MS (*Murashige and Skoog*), NaOH, HCl, IAA (Sigma), BAP (Sigma), NAA (Sigma), alkohol 96%, NaClO 5%, sukrosa, dan agar.

Hasil penelitian tahap induksi tunas dianalisis dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial tiga faktor, yaitu faktor B (BAP) terdiri dari empat taraf (B₀: BAP 0 mg L⁻¹, B₁: BAP 1 mg L⁻¹, B₂: BAP 2 mg L⁻¹, dan B₃: BAP 3 mg L⁻¹), faktor A (IAA) yang terdiri dari empat taraf (A₀: IAA 0 mg L⁻¹, A₁: IAA 0.1 mg L⁻¹, A₂: IAA 0.2 mg L⁻¹, dan A₃: IAA 0.3 mg L⁻¹), dan faktor E (jenis eksplan) terdiri dari tiga taraf (E₁: kotiledon, E₂: hipokotil, E₃: akar), dan didapat 48 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan (1 ulangan = 1 botol = 3 eksplan kotiledon + 3 eksplan hipokotil + 3 eksplan akar). Hasil penelitian tahap induksi akar dianalisis dengan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial, faktor

utamanya yaitu N (NAA) dengan empat taraf (N₀: NAA 0 mg L⁻¹, N₁: NAA 0.1 mg L⁻¹, N₂: NAA 0.5 mg L⁻¹, dan N₃: NAA 1 mg L⁻¹), setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali (1 ulangan = 1 botol = 1 eksplan). Data hasil analisis ragam, apabila terjadi interaksi nyata, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan taraf 5%, menggunakan Microsoft Excel.

Prosedur penelitian dilakukan dengan mengecambahkan benih tomat Fortuna 23 pada media MS0. Kotiledon, hipokotil, dan akar tomat dipotong dari bibit *in vitro* umur 10-14 hari. Kotiledon dipotong melintang di dua bagian yaitu ujung dan pangkalnya sehingga membentuk persegi panjang dengan ukuran 5 mm, kemudian untuk eksplan hipokotil, potong ruas batang di bawah daun lembaga/kotiledon dengan ukuran 1 cm. Selanjutnya untuk eksplan akar, potong akar bagian pangkal akar dengan ukuran 1 cm, kemudian diinduksi pada media induksi tunas dengan penambahan BAP dan IAA.

Tahap induksi akar dilakukan jika tinggi tunas mencapai 2 cm, dengan memotong tunas dari kalus, kemudian menanam potongan tunas pada media induksi akar dengan penambahan NAA. Kultur diletakkan pada ruang inkubasi pada suhu 20-25 °C. Subkultur dilakukan setiap 2-3 minggu sekali pada media yang sama, dengan tujuan agar suplai makanan untuk pertumbuhan eksplan tetap terpenuhi. Parameter pengamatan tahap induksi tunas yaitu awal muncul kalus, awal muncul tunas, dan jumlah tunas, sedangkan tahap induksi akar yaitu awal muncul akar, jumlah daun, dan jumlah akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Tunas

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pengaruh utama, pengaruh interaksi dua faktor, dan pengaruh interaksi tiga faktor (konsentrasi BAP, konsentrasi IAA, dan jenis eksplan) memberikan pengaruh sangat nyata terhadap semua variabel pengamatan awal muncul kalus, awal muncul tunas, dan jumlah tunas (Tabel 1). Pembengkakan eksplan yang diikuti dengan munculnya kalus yang nampak putih pada ujung dan tepi eksplan bekas pelukaan merupakan proses awal munculnya kalus. Pembentukan kalus pada ujung eksplan, diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua, dan ketika tanaman dilukai maka kalus akan terbentuk akibat selnya mengalami kerusakan dan terjadi autolisis (pemecahan), dan dari sel yang rusak tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel dilapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdiferensiasi (Buana, 2020). Eksplan kotiledon, hipokotil, dan akar tanaman tomat yang diinduksi pada media yang mengandung BAP dan IAA, mengalami organogenesis tidak langsung atau melewati fase kalus. Kalus mulai muncul pada hari ke 6-28 hari setelah induksi (HSI) (Tabel 2).

Pembentukan kalus terjadi karena adanya pengaruh kombinasi ZPT auksin dan sitokinin (Prashariska *et al.*,

Tabel 1. Nilai F-hitung pada semua variabel pengamatan induksi tunas

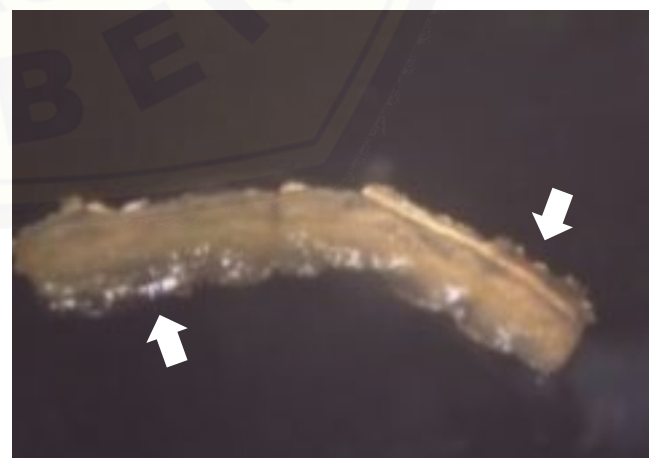
Faktor perlakuan	Variabel pengamatan		
	Awal muncul kalus	Awal muncul tunas	Jumlah tunas
B	386.01**	509.24**	383.75**
A	263.88**	509.24**	51.42**
E	39.27**	1,545.69**	518.14**
BxA	95.28**	82.72**	14.35**
BxE	26.41**	49.32**	35.29**
AxE	56.59**	25.83**	5.23**
BxAxE	44.59**	33.36**	13.93**

Keterangan: B = faktor perlakuan BAP; A = faktor perlakuan Auksin; E = faktor perlakuan eksplan. ** = berpengaruh sangat nyata berdasarkan uji F pada taraf 1%

2021). Auksin berperan dalam menginduksi kalus, sedangkan sitokinin berperan dalam poliferasi kalus, oleh sebab itu kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus (Rahman *et al.*, 2021). Kombinasi IAA yang rendah dengan BAP konsentrasi sedang yang diaplikasikan pada *Tacca Chantrieri*, hasil yang terbentuk adalah kalus (Sari dan Isda, 2021). Konsentrasi sitokinin intermediat (sedang) dikombinasikan dengan konsentrasi auksin rendah yang diaplikasikan pada *Melia azedarach L.*, maka pertumbuhan akan mengarah pada pembentukan kalus (Ahmadpoor *et al.*, 2022). Hasil penelitian (Tabel 2) menunjukkan bahwa saat muncul tunas yang paling cepat pada perlakuan B₁A₁E₃ (BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.1 mg L⁻¹ + akar) yaitu 6 HSI. Munculnya kalus (Gambar 1) diduga karena adanya interaksi antara hormon endogen dalam eksplan akar dan ZPT yaitu BAP dan IAA. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mastuti (2017), bahwa terjadinya kalus juga disebabkan adanya interaksi antar hormon endogen dan ZPT. Penambahan ZPT sitokinin dan auksin akan mengubah konsentrasi hormon endogen sel, sehingga efektivitas ZPT sitokinin maupun auksin bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Wahyuni *et al.*, 2019). Kecepatan jenis eksplan akar dalam menginduksi kalus, karena diduga akar mengandung sitokinin endogen yang cukup untuk pertumbuhan menghasilkan kalus, dan dengan adanya penambahan ZPT sitokinin dan auksin membuat akar lebih cepat lagi menghasilkan kalus. Cepat atau lambat munculnya kalus, nantinya akan mempengaruhi awal munculnya tunas.

Awal muncul tunas (Gambar 2) ditandai dengan adanya penebalan berupa tonjolan (calon tunas) pada permukaan eksplan di bagian atas ataupun bagian bawah potongan. Tunas mulai muncul pada hari ke 16-70 HSI. Keberhasilan munculnya tunas ditentukan oleh respon jenis media dan jenis eksplan (Karjadi, 2020). Hasil penelitian (Tabel 2) memperlihatkan bahwa saat muncul tunas yang paling cepat pada perlakuan B₁A₃E₁ (BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + kotiledon) dan B₁A₃E₂ (BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + hipokotil) dengan rerata waktu 16 HSI. Tunas yang pertama kali muncul merupakan hasil interaksi antara konsentrasi BAP, IAA, dan jenis eksplan. Kotiledon dan hipokotil digunakan sebagai eksplan karena di dalam

jaringan tersebut terdapat hormon pertumbuhan yang masih aktif sehingga dapat membantu perkembangan jaringan sehingga mampu menghasilkan daya regenerasi yang tinggi. Menurut Henuhili (2013), menyatakan bahwa eksplan kotiledon dan hipokotil merupakan bagian tanaman yang masih aktif membelah (jaringan meristem). Penambahan konsentrasi BAP dan IAA dapat menunjang kinerja eksplan dalam memacu pertumbuhan eksplan dengan cepat, akan tetapi semakin tinggi konsentrasi konsentrasi BAP dan IAA juga tidak menjamin tunas muncul lebih cepat. Hal ini diduga karena masing-masing eksplan memiliki kandungan hormon endogen yang berbeda, sehingga setiap jenis eksplan memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon penambahan ZPT pada konsentrasi tertentu. Oleh sebab itu, kecepatan pertumbuhan eksplan dalam menghasilkan tunas, ditentukan oleh kombinasi hormon endogen dengan ZPT. IAA yang diberikan secara tunggal, tidak akan mempengaruhi variabel pertumbuhan yang diamati, akan tetapi jika diimbangi dengan BAP akan membantu mempercepat proses awal muncul tunas (Samanhudi *et al.*, 2021). Cepat atau lambat munculnya tunas mempengaruhi jumlah tunas yang muncul.



Gambar 1. Kalus yang muncul di tepi eksplan akar pada 6 HST (tanda panah) pada perlakuan B₁A₁E₃ = BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.1 mg L⁻¹ + jenis eksplan akar

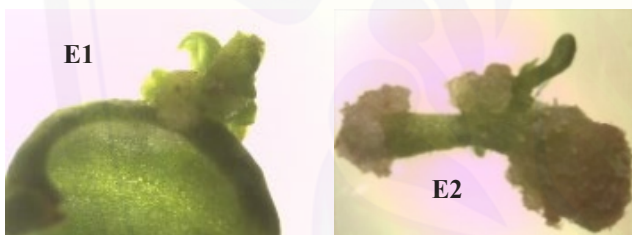
Tabel 2. Pengaruh perlakuan BAP, IAA, dan jenis eksplan terhadap awal muncul kalus, awal muncul tunas, dan jumlah tunas

Perlakuan			Variabel Pengamatan			
B	A	E	Awal muncul kalus (hari)	Awal muncul tunas (hari)	Jumlah tunas	
B0	A0	E1	14b	63bc	1i	
		E2	14b	49g	1i	
		E3	28a	70a	1i	
	A1	E1	7fg	28kl	4ef	
		E2	8ef	35j	3fg	
		E3	10cd	59cd	1i	
	A2	E1	9de	26lmn	2hi	
		E2	8ef	25mno	2hi	
		E3	10cd	59cd	1i	
	A3	E1	14b	49g	1i	
		E2	12c	19pq	3fg	
		E3	7fg	64b	1i	
	B1	A0	E1	10cd	28kl	3fg
			E2	7fg	42i	3fg
			E3	10cd	57ef	1i
A1		E1	7fg	21op	7bc	
		E2	7fg	21op	5e	
		E3	6h	47h	1i	
A2		E1	7fg	21op	7bc	
		E2	7fg	19pq	7bc	
		E3	8ef	46hi	3fg	
A3		E1	8ef	16q	6cd	
		E2	7fg	16q	6cd	
		E3	6h	21op	2hi	
B2		A0	E1	9de	21op	7bc
			E2	8ef	35j	3fg
			E3	7fg	55f	1i
	A1	E1	7fg	19pq	7bc	
		E2	7fg	26lmn	6cd	
		E3	10cd	35j	2hi	
	A2	E1	7fg	23no	7b	
		E2	6h	30k	6cd	
		E3	7fg	42i	2hi	
	A3	E1	9de	21op	8a	
		E2	7fg	19pq	5e	
		E3	7fg	42i	4ef	

Lanjutan. Tabel 2. Pengaruh perlakuan BAP, IAA, dan jenis eksplan terhadap awal muncul kalus, awal muncul tunas, dan jumlah tunas

Perlakuan			Variabel pengamatan		
B	A	E	Awal muncul kalus (hari)	Awal muncul tunas (hari)	Jumlah tunas
B3	A0	E1	10cd	21op	7bc
		E2	8ef	21op	7bc
		E3	8ef	42i	3fg
	A1	E1	8ef	23no	6cd
		E2	8ef	19pq	7bc
		E3	7fg	35j	5e
	A2	E1	8ef	28kl	7bc
		E2	7fg	26lmn	5e
		E3	7fg	35j	4efg
A3	E1	9de	28kl	6cd	
	E2	7fg	21op	8a	
	E3	7fg	49g	2hi	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%. (B0:BAP 0 ppm, B1:BAP 1 ppm, B2:BAP 2 ppm, B3:BAP 3 ppm), (A0: IAA 0 ppm, A1: IAA 0.1 ppm, A2: IAA 0.2 ppm, A3: IAA 0.3 ppm), (E1: eksplan kotiledon, E2: eksplan hipokotil, E3: eksplan akar)



Gambar 2. Tunas yang muncul pada 16 HST pada perlakuan B1A3E1 (BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + jenis eksplan kotiledon) dan B1A3E2 (BAP 1 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + jenis eksplan hipokotil)

Tunas merupakan sebuah tonjolan berwarna hijau dengan panjang ± 1 mm yang akan memanjang atau bahkan mengeluarkan daun. Terbentuknya tunas (Gambar 3) menunjukkan keberhasilan eksplan dalam melakukan proses regenerasi. Hasil penelitian (Tabel 2) menunjukkan bahwa perlakuan terbaik yang menghasilkan jumlah tunas tertinggi yaitu pada kombinasi perlakuan B₂A₃E₁ (BAP 2 ppm + IAA 0.3 ppm + kotiledon) Hal tersebut mengindikasikan bahwa kombinasi perlakuan tersebut secara efektif meningkatkan proses pembelahan sel yang mengakibatkan munculnya tunas-tunas baru. Nisbah sitokinin dan auksin berperan penting untuk mengendalikan dominansi apikal (Yuniati *et al.*, 2018). Perlakuan dengan kombinasi BAP dan IAA yang seimbang, dapat menghasilkan tunas dengan optimal. Pemberian tingkat konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi daripada auksin diduga mampu meningkatkan jumlah tunas. Konsentrasi auksin yang rendah dan sitokinin yang lebih tinggi cenderung mendorong pembentukan tunas (Raspor *et al.*, 2021). Konsentrasi sitokinin dan auksin endogen yang seimbang akan menentukan banyaknya jumlah tunas (Rivas

et al., 2022). Namun ada kalanya pembentukan tunas pada tanaman dikotil memerlukan sitokinin dan auksin dengan perbandingan 1:10. Secara keseluruhan, hasil penelitian kombinasi perlakuan mampu menghasilkan tunas, termasuk perlakuan tanpa ZPT BAP maupun IAA. Hal tersebut diduga karena tanpa pemberian ZPT ke dalam media, hormon endogen di dalam eksplan cukup untuk melakukan proses pembelahan dan pembesaran sel, sehingga terbentuklah tunas. Selain itu frekuensi subkultur juga perlu diperhatikan karena dengan subkultur secara rutin, menyediakan nutrisi yang dibutuhkan eksplan untuk berkembang.

Induksi Akar

Naphthaleneacetic Acid (NAA) berpengaruh sangat nyata terhadap variabel pengamatan induksi akar, yaitu dapat mempercepat munculnya akar pada eksplan tomat dan dapat menghasilkan jumlah daun serta jumlah akar yang banyak (Tabel 3). Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Tahir *et al.* (2022) bahwa pemberian auksin NAA pada media perakaran akan memacu diferensiasi sel ke arah pembentukan akar. Awal muncul akar terjadi, ketika pada permukaan eksplan bagian bawah muncul tonjolan berwarna putih. Akar mulai muncul pada umur 3-6 HSI. Perlakuan yang memunculkan akar tercepat yaitu N₂ dengan rerata waktu 3 HSI, sementara pada kontrol 6 HSI (Tabel 4). Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh dari ZPT NAA. Auksin berfungsi mendorong pembelahan sel, perpanjangan sel, diferensiasi jaringan xilem dan floem, penghambatan mata tunas samping, absisi (pengguguran daun), aktivitas kambium, dan pembentukan akar (Astutik *et al.*, 2021). Morfogenesis jaringan akan mengarah ke pembentukan akar, jika konsentrasi auksin lebih tinggi daripada konsentrasi



Gambar 3. Tunas pada perlakuan B2A3E1 (BAP 2 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + kotiledon) umur 60 HSI

sitokinin (Mayrendra *et al.*, 2022). Pembentukan akar tersebut terjadi karena adanya pergerakan auksin dari pusat sintesa auksin (tunas) menuju bagian bawah tanaman. *Rooting cofactor* dan karbohidrat yang terdapat pada tanaman akan berkumpul dengan auksin (NAA) di daerah pelukaan eksplan, kemudian mendorong sel-sel membentuk akar melalui proses diferensiasi sel.

Pengamatan jumlah daun bertujuan untuk mengetahui pertambahan jumlah daun pada masing-masing perlakuan. Hasil penelitian (Tabel 4) perlakuan menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu N₂ dengan rerata jumlah daun sebanyak 5 daun per eksplan. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa pertumbuhan eksplan semakin baik, karena jika jumlah daun banyak maka dapat menghasilkan fotosintat yang banyak, akan tetapi jika konsentrasi NAA yang diberikan terlalu tinggi, maka, dapat menurunkan jumlah daun per tunas, yaitu pada perlakuan N₃ yang menghasilkan rerata jumlah daun sebanyak 4 daun pertunas (Gambar 4). Kemungkinan, hal tersebut disebabkan karena konsentrasi auksin endogen relatif tinggi, sehingga ketika auksin ditambahkan dengan

Tabel 3. Nilai F-hitung semua variabel pengamatan induksi akar

Faktor	Variabel pengamatan		
	Awal muncul akar (hari)	Jumlah akar	Jumlah daun
N	18.22**	7.32**	6.94**

Keterangan: N = faktor perlakuan NAA. ** = berpengaruh sangat nyata berdasarkan uji F pada taraf 1%

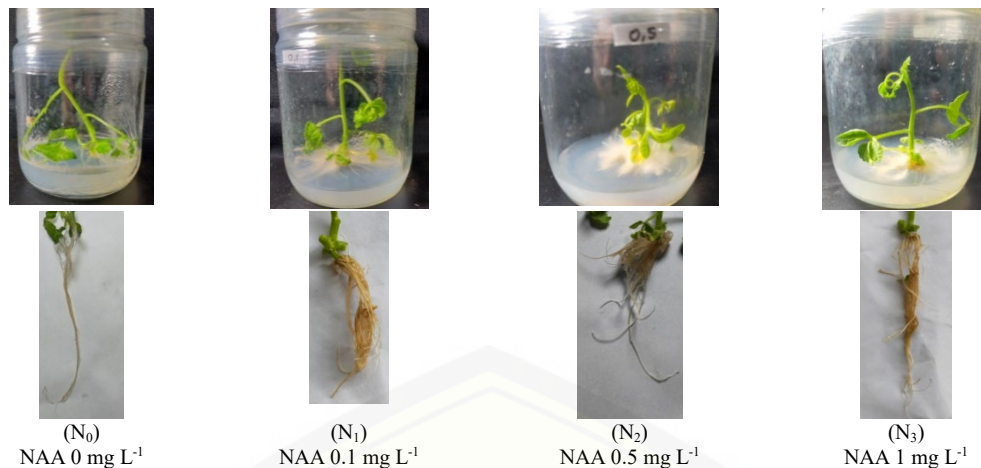
konsentrasi yang rendah, maka maka akumulasi auksin sudah menunjukkan respon positif terhadap pembentukan daun. Konsentrasi auksin yang tinggi merangsang sel tumbuhan untuk menghasilkan etilen (Tetuko *et al.*, 2015). Hal tersebut juga didukung oleh hasil penelitian Nugroho *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa kandungan auksin endogen yang sangat tinggi dapat meningkatkan aktivitas etilen. Etilen tersebut dapat menghambat pertumbuhan daun.

Jangkauan tanaman dalam menyerap nutrisi, ditentukan oleh banyaknya jumlah akar. Jumlah akar yang semakin banyak mengindikasikan bahwa semakin luas jangkauan tanaman dalam menyerap nutrisi dan semakin tinggi nutrisi yang terserap. Hasil penelitian (Tabel 4) perlakuan yang menghasilkan jumlah akar terbanyak yaitu N₂ dengan rerata sebesar 26 akar per eksplan. Konsentrasi NAA pada rentang 0 ppm-0.5 ppm menghasilkan jumlah akar yang banyak (Gambar 4). Jumlah akar yang terbentuk akan semakin banyak, apabila konsentrasi NAA yang ditambahkan ke media juga semakin tinggi, hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh auksin (NAA) yang menyebabkan perkembangan akar liar (Hartati *et al.*, 2016). Penelitian ini menunjukkan bahwa, pada titik tertentu yaitu N₃ (NAA 1 ppm) justru mengakibatkan penurunan terhadap jumlah akar. Hal tersebut diduga karena adanya interaksi antara auksin endogen dan ZPT NAA, sehingga menyebabkan penumpukan kadar auksin yang berlebihan di daerah pelukaan. NAA dikenal sebagai auksin sintesis yang memiliki tingkat keefektifan yang cukup baik, karena keberadaan NAA sintetis dalam tumbuhan tidak dirusak oleh enzim IAA oksidase yang secara alami berada dalam tubuh tumbuhan. Kondisi semacam ini membuat NAA dapat aktif dalam waktu yang lama sehingga mampu berpengaruh pada tanaman lebih lama, sehingga jika penggunaan konsentrasi auksin yang terlalu tinggi akan berdampak buruk terhadap pembentukan akar dan bahkan menyebabkan tanaman mati, akan tetapi jika auksin digunakan dengan konsentrasi yang terlalu rendah, tidak akan efektif dalam memacu pembentukan akar.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi NAA terhadap awal muncul akar, jumlah daun, dan jumlah akar

Perlakuan	Variabel pengamatan		
	Awal muncul akar (hari)	Jumlah daun	Jumlah akar
N ₀	6a	4b	19c
N ₁	5b	5a	24ab
N ₂	3c	5a	26a
N ₃	6a	4b	22bc

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%. (N0:NAA 0 ppm, N1: NAA 0.1ppm, N2:NAA 0.5 ppm, N3:NAA 1 ppm)



Gambar 4. Akar pada masing-masing perlakuan NAA pada 30 HST. (30 HSI)

KESIMPULAN

Penggunaan kombinasi BAP, IAA dan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap regenerasi eksplan tanaman tomat Fortuna 23 pada tahap induksi tunas. Tahap induksi tunas yang perlakuan terbaik yaitu kombinasi perlakuan $B_2A_3E_1$ (BAP 2 mg L⁻¹ + IAA 0.3 mg L⁻¹ + kotiledon), karena dapat memperbanyak jumlah tunas (8 tunas), dapat memunculkan tunas dengan cepat 21 hari setelah induksi (HSI) dan memunculkan kalus dengan cepat 7 HSI. Proses regenerasi tanaman tomat juga ditentukan oleh keberhasilan dalam tahap induksi akar. Tahap induksi akar menunjukkan perlakuan terbaik yaitu perlakuan N_2 (NAA 0.5 mg L⁻¹), karena dapat mempercepat munculnya akar (3 HSI), memperbanyak jumlah daun (5 daun) dan memperbanyak jumlah akar (26 akar).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Dana Proyek Riset Penelitian Dasar Kompetitif Nasional cq. Sholeh Avivi dengan Nomor. Kontak: 110/E5/PG.02.00PT/2022 Tanggal 10 Mei 2022 dan Nomor Kontak Turunan: 2620/UN25.3.2/LT/2022 Tanggal 11 Mei 2022. Terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadpoor, F., N. Zare, R. Asghari, P. Sheikhzadeh. 2022. Sterilization protocols and the effect of plant growth regulators on callus induction and secondary metabolites production in in vitro cultures melia azedarach l. *AMB Express* 12:1-12.
- Astutik, A. Sumiati, Sutoyo. 2021. Stimulasi pertumbuhan *dendrobium sp* menggunakan hormon auksin naphthalena acetic acid (NAA) dan indole butyric acid (IBA). *J. Buana Sains* 21:19-28.
- Buana, A.S. 2020. Induksi kalus *stevia rebaudiana bertonii m.* dengan pemberian kombinasi ZPT NAA (naphthalene acetic acid), 2,4-D (2,4 diclorophenoxy acetic acid) dan BAP (benzil amino purin). *J. Teknol. Terap.* 1: 78-83.
- Fathurrahman, T., A.S. Rosmawati, S. Gunawan. 2012. Multiplikasi tunas pucuk tomat (*Lycopersicum Esculentum* Mill) dengan menggunakan benzyl amino purine (BAP) dan naphthalene acetic acid (NAA) secara in vitro. *J. Agroteknologi* 1(1):1-12.
- Hartati, S., A. Budiyono, O. Cahyono. 2016. Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur anggrek hasil persilangan *dendrobium biggibum x dendrobium liniale*. *J. Sustain. Agric.* 31:33-37.
- Henuhili, V. 2013. Kultur Jaringan Tanaman. Yogyakarta: UNY Press.
- Karjadi, A.K. 2020. The effect of phytohormone picloram and BAP on shallot meristematic proliferation. *Proceeding Int. Conf. Green Agro-Industry* 4:288-297.
- Mastuti, R. 2017. Dasar-Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. Malang. UB Press.
- Mayrendra, C.T., Solichatun, A. Pitoyo. 2022. Pengaruh pemberian variasi konsentrasi benzil amino purin (BAP) dan naphthaleneacetic acid (NAA) terhadap pertumbuhan protocorm like bodies (PLB) anggrek *dendrobium verninha x lasianthera*. *Pros Sem Nas Masy. Biodiv. Indon.* 8:80-86.
- Mir, K.A., A.S. Dhatt, J.S. Sandhu, A.S. Sidhu. 2011. Effect of genotype, explant and culture medium on organogenesis in brinjal. *Indian J. Horticulture* 68(3): 332-335.

- Nugroho, C.C., N. Khumaida, S.W. Ardie. 2016. Pertumbuhan tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe jame-jame secara in vitro. J. Agron. Indonesia 44:40-46.
- Pawar, B.D., A.S. Jadhav, A.A. Kale, V.P. Chimote, S.V. Pawar. 2013. In vitro plant regeneration in brinjal (*Solanum melongena* L.) using cotyledon, hypocotyl and root explants. Accelerating the world's research. 26(2):312-317.
- Prashariska, K., A. Pitoyo, Solichatun. 2021. Pengaruh indole-3-acetic acid (IAA) dan benzyl amino purine (BAP) terhadap induksi dan deteksi alkaloid kalus kamillen (*Matricaria chamomilla* L.). J. Inov. Pertan. 23:104-114.
- Rahman, Z.A., A. Ramli, H. Hosni, R. Kamaruzaman, Z.A. Seman, A.N. Othman, Z. Zainal, J. Uddain, S. Subramaniam. 2015. Efficient plant regeneration of malaysian aromatic rice (*Oryza sativa* L.) through somatic embryogenesis. Emirates J. Food Agric. 27: 857-863.
- Rahman, N. Hamidah., H. Fitriani, N. Rahman, N.S. Hartatik. 2021. Pengaruh beragam zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus organogenik dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe gajah dan kuning. J. Ilmu Dasar 22:119-126.
- Raspor, M., V. Motyka, A.R. Kaleri, S. Ninković, L. Tubić, A. Cingel, T. Ćosić. 2021. Integrating the roles for cytokinin and auxin in de novo shoot organogenesis: from hormone uptake to signaling outputs. Int. J. Mol. Sci. 22:1-35.
- Rivas, M.A., I. Friero, M.V. Alarcón, J. Salguero. 2022. Auxin-cytokinin balance shapes maize root architecture by controlling primary root elongation and lateral root development. Front. Plant Sci. 13: 1-11.
- Samanhudi., A.T. Sakya, E. Purwanto, T.I. Retnosari. 2021. Multiplikasi *Aquilaria malaccensis* dengan NAA dan ragi pada kultur in vitro. J. Pemuliaan Tanam. Hutan 15:51-59.
- Sari, M., M.N. Isda. 2021. Respon pembentukan kalus daun *tacca chantrieri* dengan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP secara in vitro. J. Biol. Univ. Andalas 9: 8-17.
- Sundari, L., L.A.M. Siregar, D.S. Hanafiah. 2015. Kajian awal: respon eksplan nodus dalam inisiasi tunas mikro tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.) dalam medium WPM. J. Online Agroekoteknologi 3: 179-187.
- Tahir, M.M., J. Mao, S. Li, K. Li, Y. Liu, Y. Shao, D. Zhang, X. Zhang. 2022. Insights into factors controlling adventitious root formation in apples. Horticulturae 8:1-19.
- Tetuko, K.A., S. Parman, M. Izzati. 2015. Pengaruh kombinasi hormon tumbuh giberelin dan auksin terhadap perkecambahan biji dan pertumbuhan tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.). J. Biol. 4:1-11.
- Wahyuni, H., R.S. Wulandari, Muflihati. 2019. Konsentrasi IAA (indole acetic acid) dan BAP (benzyl amino purine) pada kultur jaringan ulin (*Eusideroxylon zwageri*). J. Hutan Lestari 7:1660-1667.
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan planlet anggrek *mokara*. J. Hortik. 24:230-238.
- Yuniati, F., S. Haryanti, E. Prihastanti. 2018. Pengaruh hormon dan ukuran eksplan terhadap pertumbuhan mata tunas tanaman pisang (*Musa paradisiaca* var. *raja bulu*) secara in vitro. Bul. Anat. dan Fisiol. 3(1): 20-28.