

Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Tanaman Kawista (*Limonia Acidissima* L.) Melalui Pemberian Kombinasi Naphthalene Acetic Acid (NAA)

Muh. Yogi Fauzi, Hayatul Rahmi, Ani Lestari

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Singaperbangsa Karawang
Email: muhyogifauzi@gmail.com

Abstrak

Kawista (*Limonia acidissima* L.) adalah tanaman tropis yang bermanfaat sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Daerah seperti Rembang dan Karawang, kawista digunakan untuk membuat sirup, dodol, dan minuman. Dengan manfaat yang banyak, kawista termasuk tanaman langka. Hal ini dikarenakan jarang yang budidaya kawista karena pertumbuhannya yang lambat sekitar 15 tahun baru berbuah. Kultur jaringan menjadi metode alternatif untuk perbanyakan yang cepat dan efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi manakah dari kombinasi NAA dan BAP yang memiliki hasil optimal terhadap pertumbuhan kalus eksplan daun tanaman kawista dengan teknik kultur jaringan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tumbuhan Unit Penunjang Akademik (UPA) Kampus 2 Universitas Singaperbangsa Karawang pada bulan Februari sampai Maret 2025. Metode penelitian yang digunakan merupakan eksperimental dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan perlakuan kombinasi konsentrasi NAA dan BAP yang terbagi 6 perlakuan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu A (Kontrol), B (1 ppm NAA + 5 ppm BAP), C (3 ppm NAA + 5 ppm BAP), D (5 ppm NAA + 5 ppm BAP), E (7 ppm NAA + 5 ppm BAP), dan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP). Hasil penelitian menunjukkan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus, diameter kalus, dan bobot kalus. Kombinasi konsentrasi NAA dan BAP yang terbaik pada perlakuan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP) dengan rerata waktu muncul kalus 14,87 hari, diameter kalus 1,66 cm, dan bobot kalus 0,39 gram.

Kata kunci: NAA, BAP, Eksplan Daun, Kalus, Kawista, Kultur Jaringan

Abstract

Kawista (*Limonia acidissima* L.) is a nutrient-rich tropical plant with antioxidant, anticancer, antidiabetic, and anti-inflammatory benefits. Despite its usefulness, it remains rare due to slow growth—taking up to 15 years to bear fruit. In regions like Rembang and Karawang, it is used in traditional foods and drinks. Tissue culture offers a faster, more efficient method for kawista propagation. This research aimed to determine the optimal concentration combination of Naphthalene Acetic Acid (NAA) and Benzyl Amino Purine (BAP) for promoting callus growth from kawista (*Limonia acidissima* L.) leaf explants through tissue culture techniques. The study was conducted at the Plant Biotechnology Laboratory, Academic Support Unit (UPA), University of Singaperbangsa Karawang, from February to March 2025. The experimental method employed a Completely Randomized Design (CRD) with a single factor involving various concentration combinations of NAA and BAP. The treatments consisted of six combinations, each replicated five times: A (control), B (1 ppm NAA + 5 ppm BAP), C (3 ppm NAA + 5 ppm BAP), D (5 ppm NAA + 5 ppm BAP), E (7 ppm NAA + 5 ppm BAP), and F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP). The results demonstrated that the combination treatments significantly affected callus initiation time, callus growth percentage, callus diameter, and callus weight. The most effective treatment was F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP), which showed the shortest average time for callus emergence 14.87 days, the largest average callus diameter 1.66 cm, and the highest average callus weight 0.39 gram.

Keywords : NAA, BAP, Leaf Explant, Callus, Kawista, Tissue Culture

PENDAHULUAN

Kawista (*Limonia acidissima* L.) adalah tanaman buah tropis yang tergolong dalam famili *Rutaceae* (suku jeruk-jerukan). Tanaman ini memiliki bentuk bulat, kulit buah yang tebal dan keras, serta mengeluarkan aroma khas yang unik. Tanaman ini berasal dari daerah tropis di Asia, terutama India, Sri Lanka, dan sekitarnya. Kawista adalah tanaman yang memiliki potensi besar dalam berbagai bidang industri makanan dan kesehatan (Saptiani *et al.*, 2020). Buah kawista banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Kabupaten Rembang dan Karawang sebagai bahan dasar untuk membuat limun, sirup, madu mongso, dan dodol (Nurdiana *et al.*, 2016). Menurut Kusuma *et al.*, (2022) berdasarkan penelitian, buah kawista menunjukkan aktivitas antitumor yang berasal dari senyawa asam polisakarida. Selain itu, kulit batang dan buah kawista memiliki potensi sebagai antidiabetes berkat kandungan flavonoid.

Potensi yang dimiliki tanaman kawista justru berbanding terbalik dengan ketersediaan tanaman kawista. Menurut data yang tercatat Badan Pusat Statistik, (2016) luas panen tanaman kawista di Kabupaten Rembang tercatat sebanyak 876 pohon, dengan total produksi buah mencapai 450,2 ton dan tingkat produktivitas sebesar 513,93 kilogram per pohon. Jumlah pohon dan hasil panen yang relatif rendah ini menunjukkan bahwa tanaman kawista masih tergolong sebagai tanaman yang langka.

Setiap tahun terjadi penurunan populasi tanaman kawista. Populasi kawista yang semakin berkurang disebabkan oleh pertumbuhan tanaman yang lambat, menurut Gunarti, (2017) produksi kawista saat ini masih relatif rendah dan jarang dibudidayakan, hal ini disebabkan oleh proses perbanyakan melalui proses pembibitan biji memerlukan waktu sampai 15 tahun untuk berbuah sehingga masyarakat kurang tertarik untuk menanamnya.

Seiring dengan pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang teknologi, berbagai kendala tersebut dapat diatasi, salah satunya melalui kultur jaringan (Purnadyanti, 2020). Kultur jaringan adalah metode budidaya tanaman non

konvensional yang digunakan untuk menumbuhkan dan memperbanyak sel, jaringan, serta organ tanaman di dalam media pertumbuhan secara aseptik (*in vitro*). Sejalan dengan Rahmi *et al.*, (2023) teknik ini dilaksanakan dalam kondisi steril di dalam botol kultur, dengan pemeliharaan medium dan lingkungan yang terkontrol. metode ini berbeda dari metode perbanyakan tanaman secara konvensional.

Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh pemilihan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang sesuai. Auksin dan sitokinin merupakan jenis ZPT yang umum digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Pemberian NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) dapat merangsang aktivitas pembelahan sel serta mempercepat sintesis protein, yang secara keseluruhan memberikan kontribusi positif terhadap perkembangan kalus (Muliati *et al.*, 2017).

Interaksi antara auksin dan sitokinin memainkan peran penting dalam mengatur pertumbuhan serta proses morfogenesis pada kultur sel, jaringan, dan organ tumbuhan. Proporsi atau konsentrasi kedua hormon ini sering menentukan jenis dan tingkat pertumbuhan yang terjadi dalam kultur, baik dalam pembentukan kalus maupun dalam proses organogenesis (Firdaus, 2020).

Berdasarkan penelitian Ferantiningsih, (2020) telah dilakukan terhadap eksplan daun tanaman kawista, dimana respon terbaik Pada konsentrasi 9 ppm BAP (sitokinin), diperoleh rerata diameter kalus tertinggi sebesar 1,8 cm, dengan persentase pertumbuhan kalus mencapai 100%, laju pertumbuhan kalus terbaik pada 14 hari setelah inokulasi, serta bobot kalus terberat. 0,87 gram. Berdasarkan penelitian Efendi, (2019) pada perlakuan ekstrak bawang merah 10% (auksin) berpengaruh nyata pada persentase pertumbuhan kalus 100%, waktu muncul kalus tercepat 21 hsi, dan bobot kalus 0,070 gram.

Penelitian ini dilaksanakan untuk menguji pengaruh kombinasi ZPT NAA dan BAP, untuk mempercepat dan memperbanyak populasi kawista, dalam upaya memenuhi kebutuhan masyarakat terhadap kawista

sebagai bahan baku makanan dan obat tradisional.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tumbuhan Unit Penunjang Akademik (UPA) Kampus 2 Universitas Singaperbangsa Karawang, Jalan Lingkar Tanjungpura, Desa Margasari, Kecamatan Majalaya, Kabupaten Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Maret 2025.

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan seperti eksplan daun tanaman kawista berumur 2 bulan, media dasar *Murashige and Skoog* (MS), sukrosa, agar-agar, aquades, *Naphthalene Acetic Acid* (NAA), *Benzil Amino Purine* (BAP), sabun pencuci piring, spirtus, HCl 0,1%, NaOH 0,1 % dan alkohol 70%.

Peralatan yang akan dipakai dalam pelaksanaan penelitian ini meliputi autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *scapel*, timbangan analitik, pinset, botol kultur jaringan, *beaker glass*, kulkas 4°C, *digital hot plate* dan *magnetic stirrer*, *freezer box* -20, *thermohygrometer*, pH meter, plastik wrap putih, aluminium foil, kertas label, karet gelang, *hand sprayer*, tisu, bunsen, pipet tetes, korek api, sarung tangan, *blade*, masker, jas laboratorium, spatula, pH meter, cawan petri, kamera *handphone*, dan alat tulis.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktor tunggal. Terdiri dari 6 perlakuan dengan 5 kali pengulangan sehingga terdapat 30 unit percobaan. Kombinasi perlakuan yang digunakan yaitu A (Kontrol), B (1 ppm NAA + 5 ppm BAP), C (3 ppm NAA + 5 ppm BAP), D (5 ppm NAA + 5 ppm BAP), E (7 ppm NAA + 5 ppm BAP), dan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP).

Data variabel yang diamati yaitu persentase tumbuh kalus (%), waktu muncul kalus (hsi), diameter kalus (cm), bobot kalus (gram), warna kalus, dan tekstur kalus yang dianalisis dengan uji ANOVA dengan taraf 5%, dilanjutkan analisis uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Analisis menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Pertumbuhan Kalus

Persentase eksplan yang berhasil tumbuh menunjukkan bahwa penambahan auksin dan sitokinin dalam media kultur efektif dalam menginduksi pembentukan kalus pada eksplan batang kawista (*Limonia acidissima* L.). Berdasarkan hasil analisis ragam taraf 5% (Tabel 1.) rerata persentase pertumbuhan kalus eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

Tabel 1. Rata-rata persentase tumbuh kalus akibat pemberian NAA dan BAP

Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Persentase Kalus (%)
A	Kontrol	33,33 b
B	1 ppm NAA + 5ppm BAP	46,67 a
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	33,33 b
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	33,33 b
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	33,33 b
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	33,33 b
KK (%)		20,97

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Mengacu pada Tabel 1, rerata persentase pertumbuhan kalus menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZPT yang diberikan menghasilkan perbedaan yang signifikan. Perlakuan B menghasilkan rerata persentase pertumbuhan kalus tertinggi, yakni sebesar 46,67%, dan secara statistik berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sementara itu, rerata persentase pertumbuhan kalus terendah tercatat pada perlakuan A, C, D, E, dan F, yaitu sebesar 33,33%.

Perlakuan B (1 ppm NAA + 5 ppm BAP) menghasilkan rerata terbesar persentase pertumbuhan kalus yaitu 46,67 %, berbeda nyata dengan semua perlakuan. Hal ini diduga karena pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda, sejalan dengan Kadek *et*

al., (2014) pemberian konsentrasi yang bervariasi menghasilkan respon yang berbeda-beda. Selain itu, keseimbangan zat pengatur tumbuh yang digunakan turut memengaruhi, sehingga dapat menghasilkan respon yang lebih optimal. Didukung Anggraeni *et al.*, (2022) keberhasilan pembentukan kalus pada eksplan dipengaruhi oleh interaksi antara auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media, serta kesesuaian konsentrasi keduanya dalam mendukung pertumbuhan kalus.

Sedangkan untuk perlakuan lainnya, menghasilkan persentase pertumbuhan kalus terkecil yaitu 33,33 %, hal ini diduga karena hormon pada media tanam tidak seimbang dan mencukupi. Didukung oleh Ramadhan dan Habibah, (2023) Media tanpa ZPT atau dengan konsentrasi yang tidak seimbang tidak dapat berinteraksi dengan hormon endogen, sehingga pertumbuhan tidak terjadi. Sebaliknya, tingginya persentase pembentukan kalus menunjukkan respon positif eksplan terhadap hormon eksogen yang merangsang pembentukan kalus.

Dalam penelitian ini, kalus tidak tumbuh sama sekali (100% tidak tumbuh). Selain kontaminasi, beberapa eksplan mengalami kematian akibat pembusukan atau browning, yang diduga disebabkan oleh suhu ruang kultur yang melebihi batas optimal. Diperkuat Muna dan Rahayu, (2015) Suhu di atas 25°C dapat menghambat pertumbuhan eksplan dengan meningkatkan transpirasi dan respirasi. Kondensasi uap air dan panas yang terperangkap dalam botol tertutup dapat menyebabkan kebusukan dan kematian jaringan tanaman.

Waktu Muncul Kalus

Berdasarkan hasil analisis ragam taraf 5% (Tabel 2.) rerata waktu muncul kalus eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

Tabel 2. Rata-rata waktu muncul kalus akibat pemberian NAA dan BAP

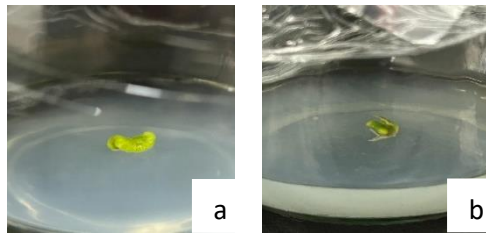
Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Waktu Muncul Kalus (hsi)
A	Kontrol	19.27 a
B	1 ppm NAA + 5 ppm BAP	18.93 a
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	15.03 b
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	15.47 b
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	15.30 b
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	14.87 b
KK (%)		4,11

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Berdasarkan Tabel 2, rerata waktu muncul kalus menunjukkan bahwa, pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Pada perlakuan F memberikan hasil rerata waktu muncul kalus tercepat yaitu 14,87 hari berbeda nyata dengan perlakuan A dan B tapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, D, dan E. sedangkan rerata waktu muncul kalus terlama terdapat pada perlakuan A yaitu 19,27 hari.

Perlakuan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP) menunjukkan hasil waktu muncul kalus tercepat (Gambar 1. a), hal ini di duga pemberian auksin yang relatif tinggi dapat mendorong waktu munculnya kalus lebih cepat. Sejalan dengan Rasud dan Bustaman, (2020) semakin besar konsentrasi NAA yang diaplikasikan, maka semakin cepat proses pembentukan kalus berlangsung. Sebaliknya, jika konsentrasi NAA yang digunakan rendah, maka pembentukan kalus akan terjadi lebih lambat. Marlin *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa pembentukan kalus memerlukan konsentrasi auksin yang relatif tinggi. Kadar auksin yang tinggi berfungsi untuk merangsang pembentukan kalus sekaligus menghambat proses morfogenesis. Hal ini juga diperkuat oleh Girsang *et al.*, (2023) rasio auksin yang relatif tinggi dibandingkan dengan sitokinin berperan dalam mempercepat induksi kalus,

namun dapat bersifat inhibitor terhadap morfogenesis, seperti pembentukan akar atau tunas.



Gambar 1. Waktu muncul kalus a). Perlakuan F, b). Perlakuan A

Perlakuan A (kontrol) memberikan hasil waktu muncul kalus terlama yaitu 19,27 hari setelah inisiasi (Gambar 1. b). Hal ini diduga karena kemampuan setiap eksplan untuk beregenerasi berbeda-beda, sejalan dengan Ferantiningsih, (2020) bahwa kemampuan setiap eksplan dalam menyerap unsur hara berbeda-beda. Selain itu, hal yang membuat lamanya muncul kalus pada perlakuan A (kontrol) adalah tidak adanya ZPT yang membantu percepatan pertumbuhan kalus. Sejalan dengan penelitian Junairiah *et al.*, (2018) induksi kalus berlangsung paling lama pada perlakuan NAA 0,0 mg/L dan BAP 0,0 mg/L, dengan rata-rata waktu induksi mencapai 33,5 hari. Hal serupa juga disampaikan oleh Mahadi *et al.*, (2016) untuk meningkatkan pertumbuhan kalus, memerlukan penambahan zat pengatur tumbuh.

Perbedaan waktu muncul kalus, selain dari pengaruh ZPT juga dapat disebabkan oleh faktor suhu dan kelembapan, hal ini karena suhu dan kelembapan dapat mempengaruhi kecepatan sel untuk membelah. Seperti yang disampaikan Fauziyyah *et al.*, (2015) laju pembelahan sel dipengaruhi oleh konsentrasi ZPT dan spesies tanaman, serta dipengaruhi pula oleh faktor lain seperti jenis media, kecukupan hara makro dan mikro, sumber energi seperti sukrosa, bahan tambahan seperti air kelapa, dan kondisi fisik seperti pencahayaan, suhu, pH, serta proses sterilisasi.

Diameter Kalus

Berdasarkan hasil analisis ragam taraf 5% (Tabel 3.) rerata diameter kalus eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai

kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

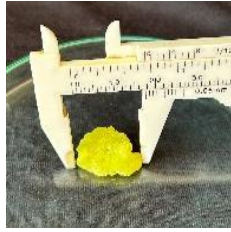
Tabel 3. Rerata diameter kalus akibat pemberian NAA dan BAP

Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Diameter Kalus (cm)
A	Kontrol	0,70c
B	1 ppm NAA + 5ppm BAP	0,96 bc
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,58 c
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,97 bc
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	1,15 b
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	1,66 a
KK (%)		29,96

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Berdasarkan Tabel 3, rerata diameter kalus menunjukkan bahwa, pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Pada perlakuan F memberikan hasil rerata diameter kalus terbesar yaitu 1,66 cm berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. sedangkan rerata diameter kalus terkecil terdapat pada perlakuan C yaitu 0,58 cm.

Rerata diameter kalus terbesar terdapat pada perlakuan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP) yaitu 1,66 cm. Hal ini dikarenakan adanya keseimbangan antara hormon endogen dan eksogen sehingga membuat pertumbuhan kalus relatif optimal. Hal ini sejalan dengan Ferantiningsih, (2020) keseimbangan pemberian antara hormon eksogen dan endogen dapat memberikan hasil yang optimal terhadap pertumbuhan kalus. Hal ini juga diduga karena pengaruh dari konsentrasi auksin yang lebih tinggi daripada sitokinin, sejalan dengan Junairiah *et al.*, (2018) auksin berperan dalam merangsang pemanjangan sel, yang kemudian diikuti oleh pembesaran ukuran sel serta peningkatan berat basah dan diameter kalus.



Gambar 2. Pengukuran diameter kalus

Rerata diameter kalus terkecil pada perlakuan C (3 ppm NAA + 5 ppm BAP) yaitu 0,58 cm, hal ini diduga karena tidak seimbang konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Didukung oleh Nulfitriani dan Basri, (2017) respon eksplan dalam kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan ke dalam media. Konsentrasi yang tepat antara keduanya, baik dari segi jumlah maupun keseimbangannya, akan menghasilkan respon pertumbuhan yang optimal, termasuk dalam proses induksi kalus. Sementara itu, penambahan zat pengatur tumbuh jenis auksin ke dalam media kultur memberikan pengaruh signifikan terhadap pembentukan kalus pada eksplan.

Hasil yang berbeda pada setiap perlakuan diduga karena adanya perbedaan pemberian konsentrasi zpt. Didukung oleh Mahadi *et al.*, (2016) hasil analisis terhadap parameter lebar kalus menunjukkan perbedaan yang signifikan, yang disebabkan oleh variasi konsentrasi auksin dan sitokinin yang digunakan. Faktor lain yang mempengaruhinya adalah respon setiap eksplan berbeda, sejalan dengan Anggraeni *et al.*, (2022) variasi luas permukaan kalus dipengaruhi oleh sensitivitas dan kemampuan kalus dalam menyerap media serta zat pengatur tumbuh yang tersedia.

Bobot Kalus

Berdasarkan hasil analisis ragam taraf 5% (Tabel 4.) rerata bobot kalus eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata.

Tabel 4. Rerata bobot kalus akibat pemberian NAA dan BAP

Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Bobot Kalus (gram)
A	Kontrol	0,06 b
B	1 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,16 b
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,05 b
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,12 b
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	0,12 b
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	0,39 a
KK (%)		85,55

Keterangan: Angka yang ditandai huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Berdasarkan Tabel 4, rerata bobot kalus menunjukkan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Pada perlakuan F memberikan hasil rerata bobot kalus terbesar yaitu 0,39 gram berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. sedangkan rerata bobot kalus terkecil terdapat pada perlakuan C yaitu 0,05 gram.

Perlakuan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP) memberikan hasil rerata bobot kalus terbesar yaitu 0,39 gram. Hal ini diduga konsentrasi auksin (NAA) yang diberikan tepat dan berpengaruh terhadap bobot kalus. Menurut Junairiah *et al.*, (2018) auksin memengaruhi berat sel dengan mengubah aktivitas enzim yang terlibat dalam sintesis dan penyusunan kembali komponen dinding sel dalam matriks yang utuh.



Gambar 3. Penimbangan bobot Kalus

Perlakuan C (3 ppm NAA + 5 ppm BAP) memberikan hasil bobot kalus paling ringan yaitu 0,05 gram. Hal ini disinyalir karena konsentrasi ZPT yang dicampurkan tidak cukup

untuk menstimulus tumbuh sel kalus. Didukung oleh pernyataan Anggraeni *et al.*, (2022) konsentrasi auksin dan sitokinin yang masih rendah, sehingga belum cukup untuk merangsang pembelahan sel dan mempercepat pertumbuhan secara optimal.

Perbedaan bobot pada tiap perlakuan diduga akibat variasi konsentrasi ZPT yang digunakan atau respon fisiologis eksplan yang berbeda. Sejalan dengan Anggraeni *et al.*, (2022) perbedaan berat kalus yang dihasilkan menunjukkan bahwa sel tanaman memiliki kemampuan penyerapan air yang bervariasi.

Warna Kalus

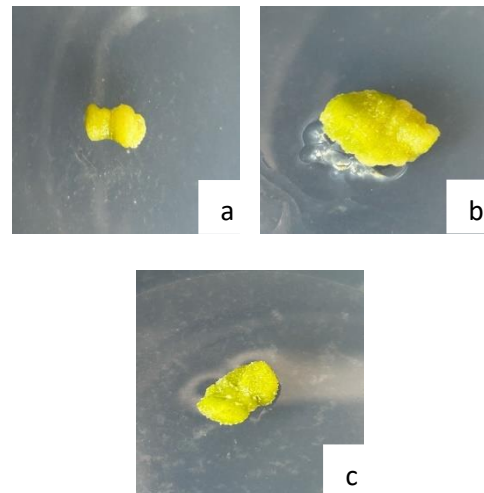
Berdasarkan hasil rerata warna kalus (Tabel 5.) eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan hasil sebagai berikut.

Tabel 5. Rerata warna kalus akibat pemberian NAA dan BAP

Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Warna Kalus
A	Kontrol	6 (hijau keputihan)
B	1 ppm NAA + 5ppm BAP	6 (hijau keputihan)
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	5 (hijau kekuningan)
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	7 (hijau)
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	5 (hijau kekuningan)
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	6 (hijau keputihan)

Berdasarkan Tabel 5, rerata warna kalus menunjukkan bahwa kombinasi ZPT pada perlakuan A, B, dan F memperoleh skor 6, sementara perlakuan D mencapai skor 7. Ini mengindikasikan kalus masih muda, mengandung klorofil, dan berada pada fase aktif pembelahan sel. Didukung Shofiyani, (2022) kalus berwarna hijau menandakan bahwa sel-sel di dalamnya masih aktif melakukan pembelahan dan mengandung klorofil. Begitu juga menurut Anggraeni *et al.*, (2022) warna putih menunjukkan sel-sel yang masih muda dan aktif membelah. Warna hijau dipengaruhi oleh hormon sitokinin (BAP) yang

terdapat pada konsentrasi ini. Menurut Ramadhan dan Habibah, (2023) sitokinin memberikan warna lebih hijau karena perannya dalam membentuk klorofil.



Gambar 1. Warna kalus a). Perlakuan A, B, dan F hijau keputihan, b). Perlakuan C dan E hijau kekuningan, c). Perlakuan D hijau

Perlakuan C dan E menghasilkan skoring 5. Warna kalus yang cenderung kekuningan merupakan indikasi bahwa kalus tumbuh dengan baik. Sejalan dengan Wahyuni *et al.*, (2020) warna kalus dapat menggambarkan kualitas pertumbuhannya, di mana kalus dengan pigmen putih dan kuning menandakan pertumbuhan yang baik. Warna kalus yang cenderung kuning juga menandakan bahwa kalus sudah berada fase terakhir pembelahan, didukung oleh Girsang *et al.*, (2023) kalus berwarna putih kekuningan terdiri dari sel-sel yang sedang memasuki fase akhir dari pembelahan aktif. Warna kuning pada kalus berkaitan dengan pemberian hormon auksin pada media. Sejalan dengan Wahyuni *et al.*, (2020) bahwa dengan meningkatnya konsentrasi auksin yang diberikan dalam media warna kalus semakin menguning.

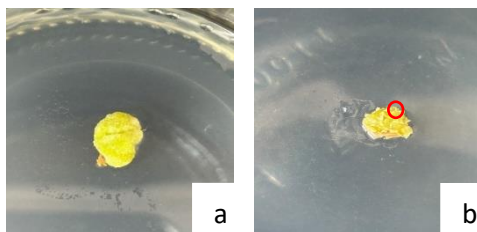
Tekstur Kalus

Berdasarkan hasil rerata tekstur kalus (Tabel 6.) eksplan daun kawista dengan pemberian berbagai kombinasi konsentrasi ZPT memberikan hasil sebagai berikut.

Tabel 6. Rerata tekstur kalus akibat pemberian NAA dan BAP

Kode Perlakuan	Perlakuan (ppm)	Tekstur Kalus
A	Kontrol	2 (kompak)
B	1 ppm NAA + 5 ppm BAP	2 (kompak)
C	3 ppm NAA + 5 ppm BAP	4 (remah)
D	5 ppm NAA + 5 ppm BAP	3 (kompak bernodul)
E	7 ppm NAA + 5 ppm BAP	3 (kompak bernodul)
F	10 ppm NAA + 1 ppm BAP	2 (kompak)

Berdasarkan data pada Tabel 6, menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda menghasilkan nilai skoring 2 untuk perlakuan A, B, dan F. Sementara perlakuan C, D, dan E masing-masing mendapatkan nilai skoring 3.



Gambar 4. Tekstur kalus a). Perlakuan A, B, dan F tekstur kompak, b). Perlakuan C, D dan E tekstur kompak bernodul

Pada perlakuan C, D, dan E menghasilkan nilai skoring 3. Menurut Andri, (2017) kalus yang bertekstur kompak dan memiliki struktur menyerupai nodul dianggap sebagai massa proembrionik yang potensial dan dapat dimanfaatkan sebagai inokulum untuk induksi pembentukan embrio somatik.

Perlakuan A, B, dan F menghasilkan nilai skoring 2. Hal ini diduga dipengaruhi oleh pemberian auksin dan sitokinin pada media. Sejalan dengan Wahyuni *et al.*, (2020) tekstur kalus yang kompak dipengaruhi oleh auksin dan sitokinin yang mengatur potensial air sel, meningkatkan penyerapan air dari media sehingga sel menjadi lebih kaku. Kalus kompak lebih unggul untuk regenerasi menjadi tanaman utuh. Hal ini didukung oleh Girsang *et al.*, (2023) kalus dengan struktur yang kompak memiliki potensi yang lebih tinggi untuk

dikembangkan dan tumbuh lebih lanjut menjadi tanaman utuh secara langsung.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, pemberian berbagai kombinasi NAA dan BAP menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap respon induksi kalus eksplan daun kawista, mencakup parameter waktu muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus, diameter kalus, dan bobot kalus. Perlakuan F (9 ppm NAA + 5 ppm BAP) menghasilkan respon paling optimal, dengan waktu muncul kalus tercepat 14,87 hari, diameter kalus terbesar 1,66 cm, dan bobot kalus tertinggi 0,39 gram.

Disarankan penggunaan konsentrasi 9 ppm NAA + 5 ppm BAP karena memberikan hasil terbaik dengan waktu muncul kalus dalam 14,87 hari, diameter kalus 1,66 cm, dan bobot kalus 0,39 gram.

PENUTUP

Terima kasih disampaikan kepada Ibu Hayatul Rahmi dan Ibu Ani Lestari atas bimbingannya, kepada almarhum bapak dan ibu atas dukungan moral dan materi, serta rekan-rekan yang turut membantu selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Andri, R. F. 2017. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Menara Ilmu, XI*(75), 177–181.
- Anggraeni, 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-*Dichlorophenoxyatic Acid* dan *Benzyl Adenine*. *Agrikultura*, 33(3), 276. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i3.40540>
- Badan Pusat Statistik. 2016. *Luas Panen dan Produksi Kawis Menurut Kecamatan di Kabupaten Rembang*, 2016.
- Efendi, A. R. 2019. Respon Pemberian Beberapa Konsentrasi Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap

- Pertumbuhan Eksplan Tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Singaperbangsa Karawang.
- Fauziyyah, D., Hardiyati, T., dan Kamsinah. 2015. Upaya Memacu Pembentukan Kalus Eksplan Embrio Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) Dengan Pemberian Kombinasi 2,4 D Dan Sukrosa Secara Kultur *In vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 12(1), 30–37.
- Ferantiningsih, E. 2020. Induksi Kalus Eksplan Daun Tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.) *In Vitro* dengan Pemberian beberapa Konsentrasi Benzil Amino Purine (BAP). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Singaperbangsa Karawang.
- Firdaus, I. 2020. Induksi dari Eksplan Batang Kawista (*Limonia acidissima* L.) dalam Media MS dengan Penambahan beberapa Konsentrasi *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzil Amino Purine* (BAP). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Singaperbangsa Karawang
- Girsang, I. E., Restiani, R., dan Prasetyaningsih, A. 2023. Induksi Kalus Eksplan Daun Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Menggunakan Kombinasi Air Kelapa dan IAA (*Indole Acetic Acid*). *Sciscitatio*, 4(2), 65–76. <https://doi.org/10.21460/sciscitatio.2023.42.119>
- Gunarti, N. S. 2017. Uji Pendahuluan dan Karakterisasi Buah Kawista (*Limonia Accidisima* L.) Khas Karawang. *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 136–144. <https://doi.org/10.36805/farmasi.v2i2.502>
- Junairiah, Sofiana, D. A., Manuhara, Y. S. W., dan Surahmaida. 2018. Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(2), 41–46. <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v3i>
- 2.116
- Kadek, N., Armila, P., Ulfa Bustami, M., dan Basri, Z. 2014. Sterilisasi dan Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu Secara *In Vitro*. *Agrotekbis*, 2(April), 129–137.
- Kusuma, I. M., Jastian, S. Y., dan Amir, M. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Sainstech Farma*, 15(1), 31–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.37277/sfj.v15i1.1099>
- Mahadi, I., Syafi'i, W., dan Sari, Y. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84–89. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Marlin, Yulian, dan Hermansyah. 2015. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang Curup dengan Penambahan Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivor*, 11(2), 275–283.
- Muliati, Tengku, N., dan Nurbaiti. 2017. Pengaruh NAA, BAP dan Kombinasinya pada Media Ms terhadap Perkembangan Eksplan *Sansevieria Macrophylla* secara *In Vitro*. *Jom Faperta*, 4(1), 1–13.
- Muna, K., dan Rahayu, E. suwarsi. 2015. Optimasi Medium Pembibitan Kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA) dan kompos. *Unnes Journal of Life Science*, 4(1), 22–28. <http://lib.unnes.ac.id/id/eprint/22974>
- Nulfitriani, Z., dan Basri, dan I. N. S. 2017. Induksi Kalus dan Inisiasi Tunas Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L .) Lokal Palu. *Mitra Sains*, 5(2), 11–18.
- Nurdiana, Z., Ariyanti, N. S., dan Hartana, A. 2016. Variasi Morfologi dan Pengelompokan Kawista (*Limonia Acidissima* L.) di Jawa dan Kepulauan

Sunda Kecil. *Floribunda*, 5(4), 144–156.

- Purnadyanti, F. 2020. Respon Pertumbuhan Eksplan Kawista (*Limonia Acidissima* L.) Terhadap Beberapa Konsentrasi *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) Dan *Benzil Amino Purine* (BAP). *Jurnal Pertanian Indonesia*, 1(1), 1–7.
<http://www.unil.ch/ssp/page34569.htm>
- Rahmi, H., Abadi, S., dan Utami, M. R. 2023. Pelatihan Teknik Kultur Jaringan Tanaman Kawista di Kelurahan Adiarsa Barat, Kecamatan Karawang Barat. *Jurnal Budiman: Pembangunan Dan Pengabdian Masyarakat Nusantara*, 1(2), 28–33.
<https://doi.org/10.35706/budiman.v1i2.10225>
- Ramadhan, T. R., dan Habibah, N. A. 2023. Induksi Kalus dari Eksplan Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L var. Bima Brebes) Dengan Penambahan BAP dan Pikloram. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 46(2), 53–60.
- Rasud, Y., dan Bustaman, B. 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.
<https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Saptiani, E., Rahmi, H., dan Muharam. 2020. Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Tanaman Kawista (*Limonia acidissima* L.) Secara *In Vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(5), 51–56.
- Shofiyani, A. S. 2022. Pengaruh Kosentrasi NAA Dan TDZ (*Thidiazuron*) Terhadap Organogenesis Kalus Kencur (*Kaempferia galanga* L.). *Agritech : Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 24(2), 153.
<https://doi.org/10.30595/agritech.v24i2.14755>
- Wahyuni, A., Satria, B., dan Zainal, A. 2020. Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara *In Vitro*. *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39–44.
<https://doi.org/https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>