

## **Organogenesis Pada Eksplan Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) *In Vitro* sebagai Respons terhadap Benziladenin (BA) dan Asam Naftalenasetat (NAA)**

**Yusnita\*<sup>1)</sup>, Budi Sulistiyawan<sup>2)</sup>, Agus Karyanto<sup>3)</sup> dan Dwi Hapsoro<sup>4)</sup>**

- 1) \*Penulis untuk korespondensi, Program Studi Magister Agronomi, Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.  
Jln. Sumantri Brojonegoro no 1. Bandar Lampung 35145.  
E-mail: [yusnita.1961@fp.unila.ac.id](mailto:yusnita.1961@fp.unila.ac.id); HP: 08128145990.
- 2) Program Studi Management Kehutanan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung
- 3) Program Studi Agronomi, Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- 4) Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh benziladenin (BA) dan asam naftalenasetat (NAA) terhadap organogenesis melinjo *in vitro*. Potongan daun muda melinjo berukuran 1 cm x 1 cm dengan tulang daun di tengahnya disterilkan dan dikulturkan di media MS dengan berbagai konsentrasi BA (0, 0.5, 1, 1.5 dan 2 mg L<sup>-1</sup>) dan NAA (0 dan 0.05 mg/l). Percobaan dengan perlakuan faktorial 5x2 ini dilaksanakan dengan rancangan acak lengkap tiga ulangan, yang masing-masing terdiri dari empat botol kultur berisi satu eksplan. Subkultur ke media baru dengan perlakuan sama dilakukan setiap 6 minggu. Hasil percobaan menunjukkan bahwa BA esensial untuk terjadinya organogenesis. Tanpa BA, baik dengan maupun tanpa NAA, eksplan tidak menunjukkan respon organogenesis. Pembentukan propagul (mata tunas dan tunas adventif) didapatkan pada media dengan konsentrasi BA mulai 1, 1.5 dan 2 mg L<sup>-1</sup>. Peningkatan konsentrasi BA dari 1 menjadi 2 mg L<sup>-1</sup> meningkatkan jumlah propagul dari 2.0 menjadi 5.2 propagul per eksplan. Penambahan 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA ke dalam media MS yang mengandung 1.5 dan 2 mg L<sup>-1</sup> BA menghasilkan jumlah propagul yang lebih banyak dibandingkan dengan di media BA tanpa NAA. Perlakuan yang menghasilkan jumlah propagul per eksplan terbanyak adalah media MS dengan penambahan 1.5 atau 2 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA.

**Kata Kunci** : *Gnetum gnemon* L., *in vitro*, organogenesis, propagul, BA, NAA.

## ***In Vitro* Organogenesis of *Gnetum gnemon* L. From Leaf Explants as Affected by Benzyladenine (BA) and Naphthaleneacetic acid (NAA)**

**Yusnita<sup>1)</sup>, Budi Sulistiyawan<sup>2)</sup>, Agus Karyanto<sup>3)</sup> and Dwi Hapsoro<sup>4)</sup>**

- 1) \*Corresponding author, Study Program of Magister Agronomy, Dept. of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, The University of Lampung. Jln. Sumantri Brojonegoro no 1. Bandar Lampung 35145. E-mail: [yusnita.1961@fp.unila.ac.id](mailto:yusnita.1961@fp.unila.ac.id); HP: 08128145990
- 2) Study Program of Forestry Management, Faculty of Agriculture, The University of Lampung.
- 3) Study Program of Agronomy, Dept. of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, The University of Lampung.
- 4) Doctoral Study Program In Agriculture, Faculty of Agriculture, The University of Lampung.

### **ABSTRACT**

This research aimed to study effects of benzyladenine (BA) and naphthaleneacetic acid (NAA) on *in vitro* organogenesis of *Gnetum gnemon* L. Sterilized young leaf segments (1 x 1) cm<sup>2</sup> were subjected to MS media with various concentrations of BA (0, 0.5, 1, 1.5, or 2 mg L<sup>-1</sup>) and NAA (0 or 0.05 mg L<sup>-1</sup>). The experiment was conducted in a completely randomized design with three replicates, each consisted of 4 culture bottles containing one explant. Subcultures on fresh media with the same treatments were done every 6 weeks. Results showed that addition of BA in the media was essential for organogenic responses. MS medium without BA, regardless of addition of NAA, did not form callus, buds nor shoots. The formation of propagules (adventitious buds and shoots) occurred on media with BA starting from 1-2 mg L<sup>-1</sup>, with or without NAA. Increasing concentration of BA from 1 to 2 mg L<sup>-1</sup> resulted in the increase number of propagules per explant from 2.0 to 5.2. Addition of 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA into 1.5 or 2 mg L<sup>-1</sup> BA-containing media resulted in more number of propagules than those in media without NAA. The best treatments forming propagules was MS media supplemented with 1.5 or 2 mg L<sup>-1</sup> BA + NAA.

**Key Words** : *Gnetum gnemon* L., *in vitro*, organogenesis, propagules, BA, NAA.

## I. PENDAHULUAN

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu tanaman tahunan dari kelas Gymnospermae yang berpotensi untuk dibudidayakan sebagai penunjang kemandirian pangan dan ekonomi keluarga di Indonesia. Produk kayu melinjo dapat digunakan sebagai bahan papan dan alat rumah tangga. Daun-daun muda, bunga dan kulit buahnya dapat dimanfaatkan sebagai sayuran, sedangkan daging buahnya untuk emping. Di samping itu, karena perakarannya yang kuat, pohon melinjo dapat dimanfaatkan sebagai tanaman agroforestry, tanaman penghijauan dan dapat digunakan untuk pemulihan kembali areal kritis.

Saat ini budidaya melinjo masih menggunakan perkembangbiakan generatif dan vegetatif konvensional. Perkembangbiakan generatif dilakukan dengan perkecambahan biji sedangkan secara vegetatif konvensional dengan cangkok, stek batang, grafting, atau okulasi. Namun, perbanyakan melinjo tersebut masih dirasa sulit oleh petani. Secara generatif, perkecambahan biji melinjo menghadapi dua masalah, yaitu memerlukan waktu yang lama dan bibit yang dihasilkan tidak pasti jenis kelaminnya, apakah jantan atau betina. Biji melinjo memiliki kulit atau cangkang yang keras, dan embrio yang belum berkembang sempurna, sehingga membutuhkan waktu lama untuk proses perkecambahan, yaitu pada umur 6 bulan persentase perkecambahan umumnya masih sangat rendah yaitu 1—2 %, dan perkecambahan biji baru mendekati 100% pada umur 12 bulan (Sunanto, 2001). Perlakuan stratifikasi dengan suhu 38 °C selama 3 minggu pada benih yang sudah disemaikan di media pasir lembab dilaporkan dapat meningkatkan persen perkecambahan menjadi 75% pada umur enam bulan dan 90% pada umur 10 bulan (Balai Penyuluhan Kaliori, 2013; [www://bpkaliori.blogspot.co.id](http://www://bpkaliori.blogspot.co.id)). Masalah jenis kelamin tanaman dapat diatasi dengan teknik perbanyakan vegetatif seperti cangkok, stek batang, grafting, dan okulasi. Namun cara-cara perbanyakan vegetatif tersebut juga berkendala, yaitu kesulitan untuk setek dan cangkok berakar, ukuran bibit tidak seragam dan berpotensi merusak pohon induk, sehingga ketersediaan bibit dalam jumlah besar sulit dipenuhi.

Pembiakan secara *in vitro* diupayakan sebagai salah satu alternatif untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, di samping dapat menjadi sistem model untuk mempelajari proses dan faktor-faktor yang mempengaruhi morfogenesis pada tanaman, khususnya dari kelas Gymnospermae. Salah satu pola regenerasi dalam pembiakan tanaman *in vitro* yang dapat ditempuh adalah organogenesis dari eksplan daun. Dalam organogenesis, penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam media umumnya merupakan salah satu komponen esensial yang

menentukan pembentukan mata tunas atau tunas adventif (Laslo & Vicas 2008; Mendi *et al.* 2009; Kasprzyk-Pawelec *et al.* 2015).

Jenis dan konsentrasi ZPT yang sesuai untuk organogenesis tergantung pada spesies atau kultivar tanaman yang dikulturkan (Hodson de Jaramillo *et al.* 2008) dan jenis eksplan yang digunakan (Beegum *et al.*, 2007; Shameer *et al.*, 2009; Hedayat *et al.* 2009). Konsep klasik Skoog dan Miller (1957) mengenai nisbah auksin dan sitokinin untuk terjadinya organogenesis menunjukkan bahwa regenerasi tunas adventif ditentukan oleh rasio yang tinggi antara sitokinin dengan auksin dalam sistem kultur *in vitro*, sedangkan rasio yang tinggi antara auksin dan sitokinin akan mengarahkan eksplan untuk pembentukan akar dan menghambat pembentukan tunas. Sedangkan jika, auksin dan sitokinin berada dalam jumlah berimbang, maka eksplan akan membentuk kalus. Walaupun demikian, konsep Skoog dan Miller tersebut berlaku sebagai generalisasi ratio ZPT dalam sistem kultur *in vitro*. Pada kenyataannya, efektivitas zat pengatur tumbuh dalam menginduksi organ tunas atau akar pada eksplan sangat tergantung pada genotipe tanaman yang dikulturkan, yaitu tergantung pada genotipe tanaman sumber eksplan (Ali *et al.* 2008; Yusnita *et al.* 2011).

Secara umum, pembentukan tunas adventif memerlukan sitokinin, misalnya *benzyladenine* (BA), kinetin, atau thidiazuron (TDZ) atau sitokinin pada konsentrasi lebih tinggi yang dikombinasi dengan auksin pada konsentrasi lebih rendah (Thiripurasundari & Rao 2012; Nasri *et al.* 2013). Pembentukan kalus pada organogenesis tidak langsung umumnya memerlukan auksin kuat, misalnya *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) (Yusnita *et al.* 2011, Danial *et al.* 2014), kombinasi antara sitokinin dan auksin (Mendi *et al.* 2009, Nasri *et al.* 2013), atau sitokinin thidiazuron (TDZ) (Karami & Piri 2009), sedangkan pembentukan akar umumnya memerlukan auksin, misalnya *indolebutyric acid* (IBA) atau *naphthaleneacetic acid* (NAA) (Beegum *et al.* 2007, Shameer *et al.* 2009, Hedayat *et al.* 2009, Panigrahi *et al.* 2007)

BA merupakan sitokinin yang sering digunakan untuk merangsang perbanyakan tunas adventif atau tunas aksilar *in vitro* pada berbagai tanaman. Namun demikian, karena adanya interaksi antara ZPT dengan faktor genetik tanaman yang dikulturkan, maka kebutuhan akan jenis dan konsentrasi sitokinin atau auksin sebagai stimuli dalam regenerasi organ (tunas/akar) pun bersifat *species-specific*. Kekhususan akan kebutuhan jenis dan konsentrasi ZPT yang diperlukan untuk regenerasi kalus, tunas, atau akan *in vitro* ini telah dilaporkan oleh banyak peneliti pada beragam tanaman yang berbeda (Yusnita, 2015). Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh konsentrasi BA, dengan penambahan NAA atau tanpa NAA terhadap organogenesis *in vitro* melinjo dari eksplan potongan daun.

## II. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Eksplan dan sterilisasinya

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun muda melinjo dewasa yang sudah berukuran sempurna (*fully expanded leaves*). Sterilisasi dilakukan pada daun muda utuh, yaitu dengan cara mencucinya dengan larutan detergen cair, membilasnya dengan air keran mengalir, dilanjutkan dengan merendam dalam larutan 1% NAOCl + beberapa tetes Tween 80 selama 15 menit, lalu dibilas dengan air steril 3 x. Selanjutnya secara aseptik daun dipotong-potong menjadi berukuran  $\pm 1 \times 1$  cm dengan tulang daun di bagian tengah, lalu ditanam di media kultur sesuai dengan perlakuan yang dicobakan.

### 2.2 Rancangan percobaan.

Percobaan ini dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap dengan perlakuan yang disusun secara faktorial (5x2). Faktor pertama adalah lima taraf konsentrasi BA (0, 0.5, 1, 1.5, dan 2 mg L<sup>-1</sup>), faktor kedua adalah dua taraf konsentrasi NAA (0 atau 0.05 mg L<sup>-1</sup>). Setiap perlakuan diulang tiga kali dan setiap unit percobaan terdiri dari 4 botol kultur yang masing-masing berisi satu eksplan. Pengamatan terhadap persentase eksplan yang respons (membentuk kalus, mata tunas atau tunas adventif), rata-rata jumlah mata tunas, tunas dan propagul, dan rata-rata panjang tunas dilakukan setelah kultur berumur 20 minggu setelah penanaman (MSP), ditunjang dengan penampakan visual mata tunas dan tunas adventif pada umur 20 dan 28 minggu setelah eksplan ditanam di media perlakuan. Mata tunas adventif adalah struktur bermeristem yang berukuran  $\leq 0.5$  cm, sedangkan tunas adventif adalah struktur perpanjangan dari mata tunas yang sudah berukuran  $> 0.5$  cm.

### 2.3 Media kultur.

Media dasar kultur yang digunakan adalah formulasi MS (Murashige dan Skoog, 1962), yang diperkaya dengan (dalam mg L<sup>-1</sup>) thiamin-HCl 0.1, piridoksin-HCl 0.5, asam nikotinat 0.5, glisin 2, mio-inositol 100, sukrosa 30 000, asam askorbat 150, dan asam sitrat 50. Ke dalam media dasar ini ditambahkan ZPT (BA dan NAA) pada konsentrasi yang dicobakan. Larutan media kultur diatur pH-nya menjadi 5.8 sebelum ditambahkan pemat media, yaitu 7 g L<sup>-1</sup> bubuk agar-agar merek Swallow Globe. Setelah itu, larutan media dididihkan untuk melarutkan agar-agar, lalu dimasukkan ke dalam botol kultur berkapasitas 350 ml, masing-masing sebanyak 30 ml/botol. Botol berisi media ditutup plastik transparan dan disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1.2 kg cm<sup>-2</sup>.

## **2.4 Pemeliharaan kultur dan subkultur.**

Semua kultur diletakkan di rak-rak kultur pada ruang ber-suhu  $26 \pm 2$  °C dengan pencahayaan lampu fluoresens pada intensitas 1500-2000 lux. Subkultur ke media baru dengan perlakuan yang sama dilakukan setiap 6 minggu.

## **III. HASIL**

### **3.1 Perkembangan kultur secara umum**

Perkembangan kultur pada 2 minggu setelah penanaman (MSP) di media perlakuan relatif sama, yaitu diawali dengan membengkaknya ukuran daun. Sebagian eksplan mengalami nekrosis di pinggir daun atau di dekat tulang daun. Respons morfogenesis awal mulai terlihat pada 8 MSP, yang ditunjukkan dengan terbentuknya kalus berwarna putih kekuningan atau struktur seperti rambut berwarna hijau di bagian tepi eksplan. Beberapa eksplan langsung membentuk tonjolan kecil berwarna hijau muda. Pada umur 10 MSP, respons morfogenesis tersebut tampak lebih jelas, dan hanya tampak pada kultur dengan perlakuan  $BA \geq 1$  mg L<sup>-1</sup> dengan atau tanpa penambahan 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA. Pada umur 16 MSP, beberapa mata tunas pada eksplan sudah tumbuh membesar menjadi tunas, sebagian kultur yang membentuk kalus mengalami morfogenesis membentuk mata tunas, dan sebagian lainnya tetap sebagai kalus.

Semua eksplan yang dikulturkan pada media tanpa BA atau dengan konsentrasi BA rendah (0.5 mg L<sup>-1</sup>) dengan atau tanpa NAA hanya membengkak, tidak menghasilkan respons morfogenesis. Respons organogenesis yang ditunjukkan oleh pembentukan mata tunas dan tunas pada eksplan daun melinjo di media MS teramati pada perlakuan 1, 1.5, dan 2 mg L<sup>-1</sup> BA dengan atau tanpa 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA. Pada percobaan ini, organogenesis terjadi baik secara langsung maupun tidak langsung, yaitu didahului oleh terbentuknya kalus (Gambar 1). Dengan kata lain, keberadaan BA di dalam media adalah esensial untuk terbentuknya kalus, mata tunas dan tunas pada eksplan.

### **3.2 Pengaruh berbagai konsentrasi BA dan NAA terhadap persentase eksplan daun melinjo yang menunjukkan respons organogenesis langsung dan tidak langsung pada kultur berumur 20 MSP.**

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa keberadaan BA pada konsentrasi  $\geq 1$  mg L<sup>-1</sup> esensial untuk terjadinya organogenesis, sedangkan penambahan NAA tidak berpengaruh terhadap persentase eksplan yang responsif. Tanpa BA atau dengan BA 0.5 mg L<sup>-1</sup>, baik dengan maupun tanpa NAA, semua eksplan yang dikulturkan tidak menunjukkan respons organogenesis. Pemberian BA mulai dari 1 mg L<sup>-1</sup>, 1.5 dan 2 mg L<sup>-1</sup> menghasilkan respons

organogenesis dengan persentase yang konsisten meningkat dari 16.7% menjadi 100%, dengan nilai yang hampir sama antara dengan penambahan NAA atau tanpa NAA. Namun, penambahan 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA yang dikombinasikan dengan BA cenderung menyebabkan proporsi eksplan yang membentuk kalus lebih tinggi dibandingkan yang membentuk mata tunas adventif (mengalami organogenesis) secara langsung (Tabel 1). Eksplan yang mengalami organogenesis langsung membentuk mata tunas dan tunas adventif pada permukaan eksplan tanpa didahului oleh pembentukan kalus (Gambar 1a), sedangkan eksplan yang menunjukkan respons organogenesis tidak langsung membentuk kalus berwarna putih kekuningan terlebih dahulu sebelum terbentuknya mata tunas adventif (Gambar 1b).

### **3.3 Pengaruh berbagai konsentrasi BA dan NAA terhadap jumlah mata tunas, jumlah tunas, dan jumlah propagul per eksplan, serta panjang tunas pada kultur potongan daun melinjo berumur 20 MSP**

Mata tunas adventif adalah struktur meristem yang berukuran  $\leq 0.5$  cm yang terbentuk pada eksplan akibat proses organogenesis. Tunas adventif struktur bermeristem yang merupakan bentuk pemanjangan tunas adventif (berukuran  $> 0.5$  cm), sedangkan propagul adalah struktur bermeristem gabungan antara mata tunas dan tunas adventif sebagai hasil perbanyakan tanaman. Tabel 2 menunjukkan hasil analisis ragam dan pengaruh berbagai konsentrasi BA dan NAA terhadap rata-rata jumlah mata tunas, jumlah tunas, dan jumlah propagul per eksplan pada kultur potongan daun melinjo berumur 20 MSP.

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa baik konsentrasi BA, NAA maupun interaksi antara kedua ZPT tersebut berpengaruh nyata terhadap jumlah mata tunas adventif dan jumlah propagul per eksplan yang terbentuk pada eksplan potongan daun melinjo, namun jumlah tunas per eksplan hanya dipengaruhi oleh keberadaan BA. Pemberian BA pada konsentrasi  $\geq 1.0$  mg L<sup>-1</sup> esensial untuk pembentukan mata tunas adventif, sedangkan untuk pemanjangan mata tunas menjadi tunas memerlukan BA pada konsentrasi lebih tinggi, yaitu 1.5 atau 2.0 mg L<sup>-1</sup>. Tanpa NAA, peningkatan konsentrasi BA dari 1 menjadi 2 mg L<sup>-1</sup> meningkatkan jumlah mata tunas per eksplan dari 2 menjadi 4.3. Penambahan 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA yang dikombinasikan dengan BA pada konsentrasi 1.5 atau 2.0 mg L<sup>-1</sup> secara signifikan meningkatkan jumlah mata tunas adventif per eksplan dari menjadi 9.1- 9.9, dan oleh karena itu juga meningkatkan jumlah propagul per eksplan menjadi 9.8-10.1. Jumlah tunas adventif pada media dengan BA 1.5 dan 2.0 mg L<sup>-1</sup> tanpa NAA maupun dengan penambahan NAA berkisar antara 1-2.5 tunas per eksplan. Rata-rata panjang tunas adventif yang terbentuk pada perlakuan BA 1.5 dan 2.0 mg L<sup>-1</sup> tanpa NAA maupun dengan penambahan NAA berkisar

antara 0.6-0.8 cm. Penampakan visual kultur daun melinjo pada media dengan berbagai konsentrasi BA dan NAA disajikan pada Gambar 2, sedangkan penampakan tunas adventif yang sudah tumbuh memanjang pada umur 28 MSP disajikan pada Gambar 3.

#### IV. PEMBAHASAN

Jaringan eksplan yang dikulturkan *in vitro* dapat membentuk berbagai macam primordia yang dalam proses perkembangannya berujung dengan diferensiasi tunas, akar, bunga, atau embrio. Jika struktur yang terbentuk adalah organ, misalnya mata tunas atau tunas, maka prosesnya disebut organogenesis. Proses organogenesis *de novo* (terbentuk baru) pada tanaman merupakan hasil dari rangkaian proses perkembangan sel-sel eksplan dimulai dari terjadinya dediferensiasi, yaitu sel-sel terangsang untuk membelah diri dengan cepat, berlanjut dengan pembentukan kalus atau tidak terbentuk kalus. Pada stadia ini, sel-sel eksplan dikatakan mencapai stadia kompeten, yaitu mempunyai kemampuan untuk merespons stimulus dalam bentuk signal hormonal, sehingga sel-sel akan terinduksi untuk mengalami determinasi. Determinasi adalah keadaan dimana sel-sel eksplan yang terinduksi sudah ditentukan nasibnya menjadi suatu primordia, misalnya primordia tunas (Schwarz & Beaty 2000.). Hicks (1994) mengemukakan bahwa terdapat dua pola perkembangan yang berbeda pada organogenesis *de novo*, yaitu organogenesis secara langsung, dimana organ terbentuk dari sel-sel eksplan tanpa melalui pembentukan kalus dan organogenesis tidak langsung, yang melalui pembentukan kalus terlebih dahulu.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa eksplan potongan daun muda melinjo yang dikulturkan *in vitro* di media MS dengan penambahan BA atau BA+NAA menghasilkan respons organogenesis, yang terjadi baik secara langsung dari permukaan eksplan maupun secara tidak langsung didahului oleh terbentuknya kalus. Respons organogenesis pada kultur *in vitro* telah dilaporkan terjadi pada berbagai tanaman, misalnya organogenesis langsung dan tidak langsung pada eksplan daun dan internoda *Ophiorrhiza prostata* (Beegum *et al.* 2007), organogenesis secara langsung pada eksplan daun dan pedicel begonia (Mendi *et al.* 2009), organogenesis langsung pada eksplan daun dan petiole pyrethrum (Hedayat *et al.*, 2009), organogenesis tidak langsung pada eksplan daun *Sansevieria* (Yusnita *et al.* 2011) dan organogenesis tidak langsung pada eksplan daun *Elaeagnus angustifolia* L. (Karami & Piri 2009).



Pada kebanyakan proses organogenesis *in vitro*, penggunaan sitokinin, utamanya BA, TDZ, atau kombinasi antara sitokinin dengan auksin merupakan faktor penting yang mengarahkan eksplan untuk mengalami dediferensiasi dan rediferensiasi menjadi bentuk organ, yaitu mata tunas dan tunas adventif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keberadaan sitokinin BA pada konsentrasi minimal  $1 \text{ mg L}^{-1}$  adalah esensial untuk terjadinya organogenesis. Hal ini terlihat pada data yang menunjukkan bahwa tanpa BA atau dengan BA  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ , baik tanpa NAA maupun dengan penambahan NAA, semua eksplan yang dikulturkan tidak menunjukkan respons organogenesis. Sedangkan media dengan BA  $1-2 \text{ mg L}^{-1}$  menghasilkan organogenesis dengan frekuensi beragam.

Hasil percobaan ini juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi BA dari  $1$  menjadi  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , secara signifikan meningkatkan persentase eksplan yang mengalami organogenesis, dari  $16.7\%$  hingga tertinggi  $100\%$  pada perlakuan  $2 \text{ mg L}^{-1}$  BA, dengan atau tanpa NAA. Namun, dilihat dari banyaknya mata tunas dan propagul yang terbentuk per eksplan, kombinasi NAA +  $2 \text{ mg L}^{-1}$ BA menghasilkan jumlah propagul terbanyak (yaitu  $10.1$ ) dibandingkan dengan perlakuan  $2 \text{ mg L}^{-1}$ BA saja yang menghasilkan  $5.2$  propagul per eksplan. Di samping itu, penambahan NAA pada BA  $1.5$  dan  $2 \text{ mg L}^{-1}$  cenderung menyebabkan proporsi eksplan yang membentuk kalus lebih tinggi (berturut-turut  $33.3\%$  dan  $66.7\%$ ), dibandingkan dengan yang mengalami organogenesis secara langsung (berturut-turut  $16.7\%$  dan  $41.3\%$ ). Hal ini tampaknya disebabkan oleh peranan NAA, yang ketika dikombinasikan dengan BA mampu mengarahkan eksplan untuk membentuk kalus dan menyebabkan lebih banyak sel eksplan yang kompeten sehingga pembentukan propagul lebih banyak. Dari data ini terlihat bahwa kombinasi antara BA + NAA lebih sesuai untuk terjadinya organogenesis pada eksplan daun melinjo, dibandingkan dengan BA saja tanpa NAA. Hasil ini konsisten dengan yang dilaporkan oleh Mendi *et al.*(2000), pada eksplan pedicel begonia, di mana keberadaan  $1-2 \text{ mg L}^{-1}$  BA + NAA ( $0.5$  atau  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) menghasilkan organogenesis pada frekuensi  $20\%$  hingga  $70\%$ , dengan frekuensi tertinggi pada perlakuan  $2 \text{ mg L}^{-1}$ BA+  $1 \text{ mg L}^{-1}$ NAA, sedangkan perlakuan BA saja atau NAA saja ( $0.5 - 2 \text{ mg l}$ ) tidak menghasilkan respons organogenesis sama sekali. Pentingnya peranan BA untuk menginduksi pembentukan mata tunas dan adventif telah terdokumentasi secara luas pada berbagai spesies tanaman, di antaranya pada eksplan daun tanaman begonia (Mendi *et al.*2009), krisan (*Dendranthema grandiflora*) (Hodson de Jaramillo *et al.* 2008), *Citrus limon* L., (Kasprzyk-Pawelec *et al.* 2015), *Citrus jambhiri* Lush. (Saini *et al.* 2010, Rattanpal *et al.* 2011). Hanya saja konsentrasi optimum untuk menginduksi organogenesis pada masing-masing spesies berbeda-beda.

## V. KESIMPULAN

Organogenesis pada eksplan daun melinjo terjadi baik secara langsung muncul dari permukaan eksplan maupun secara tidak langsung didahului terbentuknya kalus. Penambahan BA ke dalam media MS pada konsentrasi 1– 2 mg L<sup>-1</sup> esensial untuk terjadinya organogenesis pada eksplan daun melinjo, dengan frekuensi organogenesis tertinggi (100%) pada BA 2 mg L<sup>-1</sup> atau BA mg L<sup>-1</sup> + NAA, namun kombinasi 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA dengan 2 mg L<sup>-1</sup> BA merupakan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan jumlah propagul terbanyak (10.1 propagul per eksplan), yang secara signifikan lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan 2 mg L<sup>-1</sup> BA saja (5.2 propagul per eksplan). Tanpa penambahan NAA, peningkatan BA dari 1 menjadi 2 mg L<sup>-1</sup> menyebabkan peningkatan persentase eksplan yang membentuk propagul secara langsung, sedangkan jika media ditambah dengan 0.05 mg L<sup>-1</sup> NAA, peningkatan konsentrasi BA menyebabkan peningkatan persentase eksplan yang mengalami organogenesis tidak langsung.

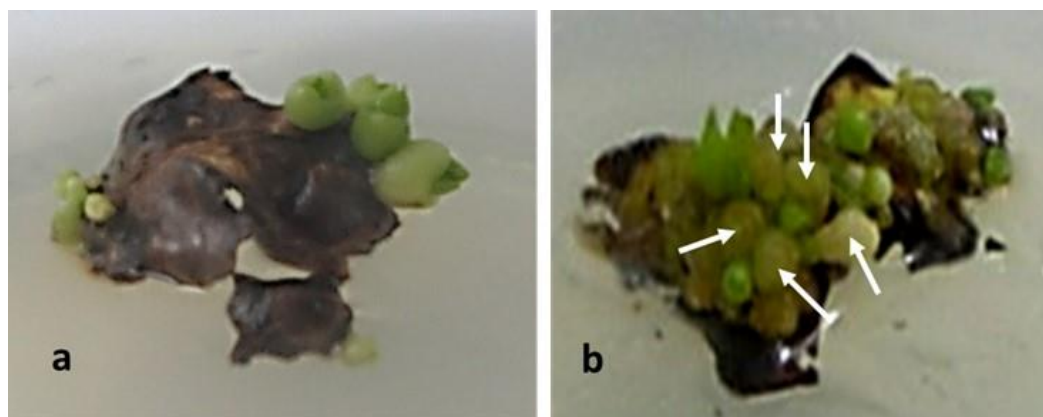
## VI. DAFTAR PUSTAKA

- Balai Penyuluhan Kaliori, 2013. Teknik memacu Perkecambahan Biji Melijo untuk perbanyak Tanaman. [www://bpkaliori.blogspot.co.id](http://bpkaliori.blogspot.co.id).
- Beegum AS, Martin KP, Zhang CL, Nishita IK, Ligimol, Slater A, Madhusoodanan PV. 2007. Organogenesis from leaf and internode explants of *Ophiorrhiza prostata*, an anticancer drug (camptothecin) producing plant. *Electronic J. Biotech.* 10 (1):115-123.
- Hedayat M, Abdi G, Khosh-Khui M. 2009. Regeneration via direct organogenesis from leaf and petiole segments of pyrethrum [*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Schultz-Bib]. *Amer.-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 6(1):81-87.
- Hicks G. 1994. Shoot induction and organogenesis *in vitro*: a developmental perspective. *In Vitro Cell Dev. Biol-Plant.* 301:10-15.
- Hodson de Jaramillo E, Forero A, Cancino G, Moreno AM, Monsalve LE, Acero W. 2008. *In vitro* regeneration of three chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) varieties via organogenesis and somatic embryogenesis. *Univ. Sci.* 13(2):118-127.
- Karami O, Piri K. 2009. Shoot organogenesis in oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.). *Afric. J. Biotech.* 8(3):438-440.
- Kasprzyk-Pawelec A, Pietrusiewicz J, Szczuka E. 2015. *In vitro* regeneration induced in leaf explants of *Citrus Limon* L. Burm cv. Primofiore. *Acta. Sci. Pol. Hortorum Cultus* 14(4): 143-153.
- Laslo V, Vicas S. 2008. The influence of certain phytohormones on organogenesis process for *in vitro* culture of apricot (*Armeniaca vulgaris*). *Anal. Univ. Oradea Fascicula. Protectia Mediului.* 8:200-205.

- Mendi YY, Curuk P, Kocaman E, Unek C, Eldogan S, Gencel, Cetiner S. 2009. Regeneration of begonia plantlets by direct organogenesis. *Afric. J. Biotech.* 8(9):1860-1863.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Nasri F, Mortazavi SN, Ghaderi N, Javadi T. 2013. Propagation in vitro of *Alstroemeria ligu* hybrid through direct organogenesis from leaf base. *J. Hort. Res.* 21(2):23-30.
- Panigrahi J, Behera M, Maharana S, Mishra RR. 2007. Biomolecular changes during in vitro organogenesis of *Asteracantha longifolia* (L.) Nees – a medicinal herb. *Indian J. Exp. Biol.* 45: 911-919.
- Rattanpal HS, Kaur G, Gupta M. 2011. *In vitro* plant regeneration in rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) by direct organogenesis. *Afric. J. Biotech.* 10(63): 13724-13728.
- Schwarz, O.J. and R.M. Beaty. 2000. Organogenesis. In: *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exersice* 2nd Ed. (R.N. Trigiano & D.J. Gray, Eds). CRC Press LLC. Boca Raton, Florida. p125-137.
- Saini HK, Gill MS, Gill MIS. 2010. Direct shoot organogenesis and plant regeneration in rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.). *Indian J. Biotech.* 9: 419-423.
- Shameer MC, Saeeda VP, Madhusoodanan PV, Benjamin S. 2009. Direct organogenesis and somatic embryogenesis in *Beloperone plumbaginifolia* (Jacq.) Nees. *Indian J. Biotech.* 8:132-135.
- Skoog F, Miller CO. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Sym. Soc. Exp. Biol.* 11: 118-131.
- Sunanto H. 2001. *Budidaya Melinjo dan Usaha Produksi Emping*. Edisi ke-3. Kanisius. Yogyakarta.
- Thiripurasundari U, Rao MV. 2012. Indirect organogenesis from nodal explants of *Coccinia grandis* (L.) Voigt. *Indian J. Biotech.* 11:352-354.
- Yusnita, Pungkastiani W, Hapsoro D. 2011. *In vitro* organogenesis of two *Sansevieria* cultivars on different concentrations of benzyladenine (BA). *Agrivita* 33(2):147-153.
- Yusnita Y. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman : Sebagai Teknik Penting Bioteknologi Untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 69 p.

Tabel 1. Persentase eksplan daun melinjo yang menunjukkan respons organogenesis langsung dan tidak langsung pada berbagai konsentrasi BA, dengan atau tanpa NAA pada umur 20 minggu setelah penanaman eksplan.

Perlakuan ZPT (mg L <sup>-1</sup> )		Jumlah Kultur yang hidup (botol)	Jumlah Eksplan Responsif (mengalami organogenesis)	Persentase Eksplan Responsif (%)	Persen Eksplan yang respons dengan Organogenesis Langsung	Persen Eksplan yang respons dengan Organogenesis Tidak Langsung
BA	NAA					
0	-	12	0	0	0	0
0.5	-	12	0	0	0	0
1.0	-	12	1	16.7	16.7	0
1.5	-	12	9	75	58.3	16.7
2.0	-	12	12	100	58.3	41.7
0	0.05	12	0	0	0	0
0.5	0.05	12	0	0	0	0
1.0	0.05	12	2	16.7	8.3	8.3
1.5	0.05	12	8	66.7	33.3	33.3
2.0	0.05	12	12	100	33.3	66.7

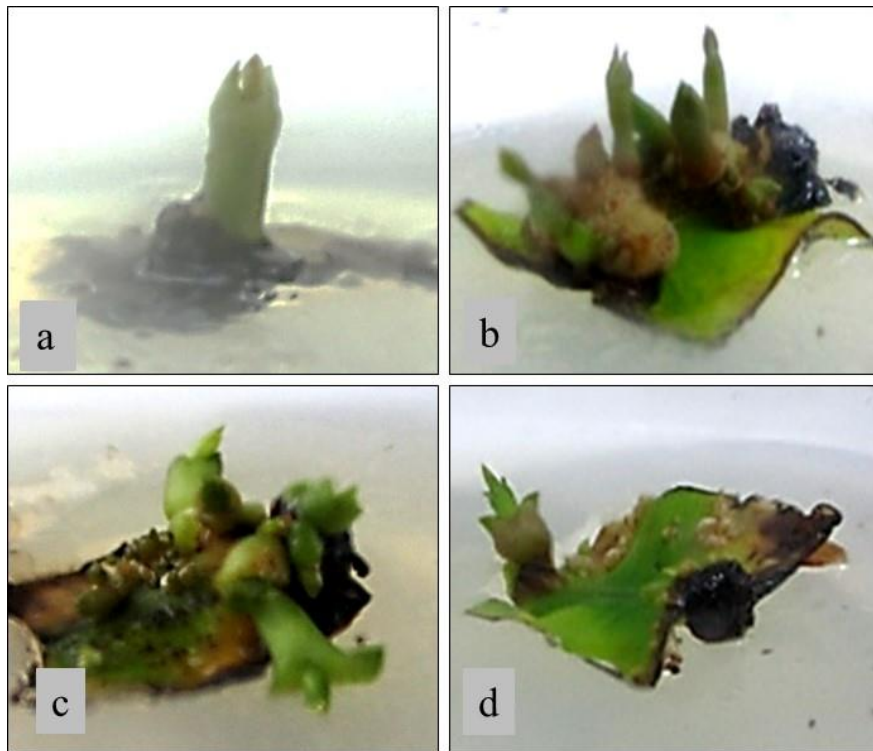


Gambar 1. Representasi eksplan potongan daun melinjo yang menunjukkan respons a. organogenesis langsung, yaitu terbentuk mata tunas tanpa didahului oleh pembentukan kalus, dan ; b. organogenesis tidak langsung yang didahului oleh pembentukan kalus (anak panah).

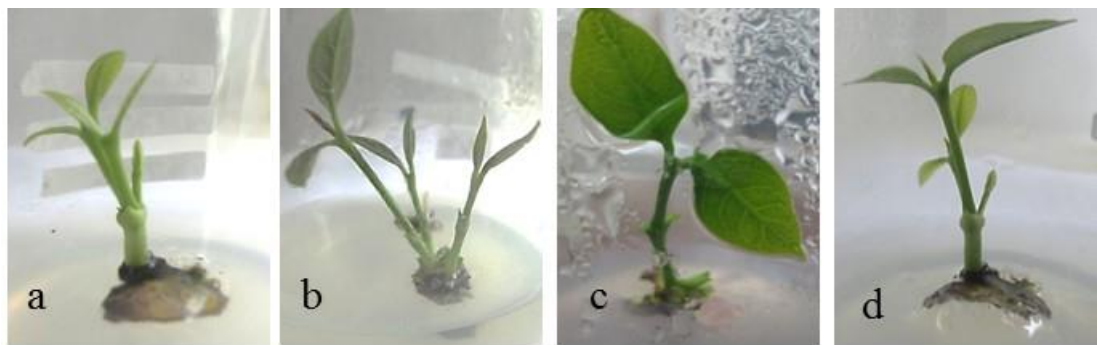
Tabel 2. Pengaruh berbagai konsentrasi BA dan NAA terhadap jumlah mata tunas adventif, jumlah tunas adventif dan jumlah propagul per eksplan, serta rata-rata panjang tunas melinjo pada 20 minggu setelah penanaman eksplan.

Konsentrasi BA (mg L <sup>-1</sup> )	Konsentrasi NAA (mg L <sup>-1</sup> )	Rata-Rata Jumlah Mata Tunas per Eksplan ± SE	Rata-Rata Jumlah Tunas per Eksplan ± SE	Rata-Rata Jumlah Propagul per Eksplan ± SE	Rata-Rata Panjang Tunas ± SE (cm)
0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0
1.0	0	2.0 ± 0.0 c	0	2.0 ± 0.0 c	0
1.5	0	2.7 ± 0.6 c	1.0 ± 0.0	3.1 ± 0.5 c	0.7 ± 0.1
2.0	0	4.3 ± 0.8 b	1.7 ± 0.0	5.2 ± 0.9 b	0.8 ± 0.1
-----					
0	0.05	0	0	0	0
0.5	0.05	0	0	0	0
1.0	0.05	2.5 ± 0.5 c	0	2.5 ± 0.5 c	0
1.5	0.05	9.1 ± 2.3 a	2.5 ± 0.5	9.8 ± 2.9 a	0.6 ± 0.1
2.0	0.05	9.9 ± 1.8 a	1.0 ± 0.0	10.1 ± 1.8 a	0.6 ± 0.0
-----					
Hasil analisis ragam					
Keterangan	Sumber Keragaman	Signifikansi			
tn= tidak nyata	BA	**	*	**	*
*P ≤ 0.05	NAA	*	tn	*	tn
** P ≤ 0.01	BA x NAA	*	tn	*	tn

\*) Nilai tengah yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada P ≤ 0.05.



Gambar 2. Penampakan visual kultur daun melinjo yang membentuk tunas pada minggu ke 20 MSP pada perlakuan: a.  $1.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ ; b.  $1.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + \text{NAA}$ ; c.  $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ ; d.  $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + \text{NAA}$ .



Gambar 3. Penampakan visual kultur yang membentuk tunas pada minggu ke 28 MSP pada perlakuan a.  $1.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ ; b.  $1.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + \text{NAA}$  c.  $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ ; d.  $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + \text{NAA}$ .