

Perbanyak Pepaya (*Carica papaya* L.) 'Sukma' In Vitro dari Eksplan Tunas Pucuk sebagai Respon terhadap BA dan NAA

*In Vitro Propagation of Papaya (*Carica papaya* L.) 'Sukma' from Shoot Tip Explants as Influenced by BA and NAA*

Fitri Fatma Wardani^{1,3}, Darda Efendi^{2*}, Diny Dinarti², dan Joko Ridho Witono³

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor, 16680, Indonesia

³Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Jl. Ir. H. Juanda 13 Bogor, 16003, Indonesia

Diterima 7 Februari 2019/Disetujui 31 Juli 2019

ABSTRACT

Papaya is one of tropical fruits native to Southern Mexico and which have been cultivated in Indonesia for a long time. Papaya is usually propagated by seeds. Therefore, the offsprings are not true-to-type. This study was conducted to develop a protocol of in vitro propagation of papaya 'Sukma' from shoot tips of in vitro germinated seeds as explants. Seeds were extracted from fruit that physiologically ripe and it germinated on MS basal medium. The experiment was set up in a randomized block design with culturing day as blocks (four blocks) and various concentrations of BA (0.0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg L⁻¹) in MS medium enriched with NAA 0.5 mg L⁻¹ as treatment. Shoot tips in the MS medium without plant growth regulator as control so there was six treatments and 24 observation units. Each observation units contained five culture vessels and each culture vessels contained four explants. The results showed that the highest number of shoots, number of leaves, number of nodes, and percentage of explant forming callus were obtained by BA 1.0-1.5, 1.0-2.0, 0.5-2.0, and 1.0-1.5 mg L⁻¹, respectively. The highest percentage of explant forming roots were obtained in medium without BA. Analysis of regression showed that the optimum concentration to get the highest number of shoots and leaves were BA 1.31 and 1.35 mg L⁻¹, while explants will be rooted in medium without BA. Thus, in vitro propagation for papaya 'Sukma' should be conducted in two steps, i.e. for shooting and rooting growth.

Keywords: callus, clonal propagation, seed, true to type

ABSTRAK

Pepaya merupakan salah satu buah tropis yang berasal dari Meksiko bagian selatan dan telah banyak dikembangkan di Indonesia. Perbanyak pepaya biasanya menggunakan benih, sehingga turunannya tidak sama dengan tetua. Studi ini dilaksanakan dengan tujuan mengembangkan protokol perbanyak in vitro dengan eksplan tunas pucuk dari benih yang dikembangbiakan secara in vitro. Benih diekstraksi langsung dari buah yang telah masak fisiologis di lapangan dan dikembangbiakan pada media dasar MS. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan hari penanaman eksplan sebagai kelompok (empat kelompok) dan perlakuan berbagai konsentrasi BA (0.0, 0.5, 1.0, 1.5, dan 2.0 mg L⁻¹) dalam media MS yang sudah diberi 0.5 mg L⁻¹ NAA sebagai faktor tunggal dalam percobaan. Tunas pucuk pepaya yang ditanam di media MS tanpa ZPT digunakan sebagai kontrol, sehingga terdapat enam perlakuan dan 24 unit amatan. Setiap unit amatan terdiri dari lima botol kultur yang masing-masing berisi empat eksplan tunas pucuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah tunas, jumlah daun, jumlah buku, dan persentase eksplan berkalus tertinggi diperoleh oleh tunas pada media dengan konsentrasi BA secara berturut-turut adalah 1.0-1.5, 1.0-2.0, 0.5-2.0, dan 1.0-1.5 mg L⁻¹. Eksplan berakar pada media tanpa tambahan BA. Analisis regresi non-linier menunjukkan bahwa konsentrasi optimum BA untuk mendapatkan jumlah tunas dan jumlah daun tertinggi adalah 1.31 dan 1.35 mg L⁻¹, sedangkan eksplan akan berakar pada media tanpa tambahan BA. Jadi, perbanyak pepaya 'Sukma' secara in vitro perlu dilakukan dua tahap yakni untuk pertunasan dan pengakaran secara berurutan.

Kata kunci: benih, kalus, perbanyak klonal, true-to-type

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: dardaefendi@gmail.com

PENDAHULUAN

Pepaya merupakan buah tropika yang berasal dari Amerika bagian selatan dan telah banyak dibudidayakan di Indonesia. Perbanyakan pepaya umumnya dilakukan dengan cara generatif menggunakan benih karena lebih mudah dibandingkan dengan metode perbanyakan lainnya. Namun demikian, perbanyakan generatif ini menyebabkan terjadinya segregasi sehingga sifat yang diwariskan ke generasi berikutnya menjadi berbeda dengan tetuanya (Al-Shara *et al.*, 2018). Selain itu, pepaya merupakan tanaman trioecious yang memiliki tiga variasi tipe bunga, yaitu jantan, betina, dan hermafrodit. Tipe bunga pepaya yang ditumbuhkan melalui benih, baru dapat ditentukan setelah berumur 6 bulan (Roy *et al.*, 2012), sehingga peluang didapatkannya tanaman hermafrodit belum dapat diketahui. Oleh karena itu, diperlukan metode perbanyakan klonal yang dapat mempertahankan genetik dan tipe bunga pepaya.

Metode perbanyakan klonal efisien yang dapat digunakan sebagai alternatif adalah melalui kultur *in vitro*. Metode ini merupakan satu-satunya cara ekonomis yang dapat digunakan untuk memproduksi tanaman pepaya seragam secara masal dengan tipe bunga yang sudah diketahui (Bindu dan Podikunju, 2017). Kultur *in vitro* pepaya telah berhasil dilakukan dengan menggunakan proses organogenesis, embriogenesis somatik, dan percabangan tunas aksilar. Eksplan yang biasa digunakan adalah tunas pucuk, tunas lateral, dan epikotil (Al-Shara *et al.*, 2018), tetapi eksplan tunas pucuk merupakan eksplan yang paling baik karena memiliki tingkat kestabilan genetik yang tinggi, memiliki daya tumbuh kembali lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan lainnya, dan memiliki jaringan meristem yang merupakan jaringan yang belum terdiferensiasi (Wang *et al.*, 2008). Ketiga eksplan tersebut dapat menghasilkan *planlet-planlet* yang baik pada media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang telah diperkaya dengan zat pengatur tumbuh (ZPT).

Studi perbanyakan pepaya secara *in vitro* melalui perbanyakan tunas aksilar telah dilaporkan oleh Wu *et al.* (2012), Mumo *et al.* (2013), dan Setargi *et al.* (2015). Ketiga peneliti tersebut menggunakan ZPT yang sama yaitu BA dan NAA dengan kombinasi konsentrasi tertentu dan dihasilkan kombinasi terbaik yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut terjadi karena genotipe dan eksplan yang digunakan dalam setiap percobaan juga berbeda. Konsentrasi BA yang digunakan oleh para peneliti tersebut yaitu 0.25-2.00 mg L⁻¹ dan konsentrasi NAA yaitu 0.10-0.50 mg L⁻¹.

Salah satu pepaya yang memiliki sifat unggul adalah Pepaya 'Sukma'. Pepaya ini merupakan varietas yang berasal dari seleksi pohon induk pilihan yang telah dibudidayakan oleh petani sejak lama di Desa Cibodas, Kecamatan Parung Kuda, Sukabumi. Pepaya 'Sukma' merupakan salah satu pepaya berukuran besar dengan bobot mencapai 2.4-3.0 kg, panjang buah 30-35 cm, dan diameter buah 12.1-12.8 cm (Kementan 2009). Metode kultur *in vitro* perlu dikembangkan untuk mendapatkan bibit pepaya 'Sukma' yang sama dengan tetuanya (*true-to-type*). Salah satu cara yang dapat digunakan adalah dengan

mengaplikasikan NAA dan BA di dalam media kultur *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan protokol perbanyakan *in vitro* pepaya 'Sukma' dari eksplan tunas pucuk *seedling* dari benih yang dikecambahkan secara *in vitro*. Protokol ini nantinya diharapkan akan dapat digunakan untuk perbanyakan *in vitro* tunas aksilar yang berasal dari pepaya dewasa di lapangan.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) IPB pada bulan Juli sampai dengan November 2018. Pepaya yang digunakan merupakan pepaya 'Sukma' dan diambil dari pertanaman pepaya di kebun percobaan IPB Pasir Kuda, Babakan Pasir Mas, Ciomas, Bogor. Buah pepaya yang diambil merupakan buah yang telah masak secara fisiologis dengan tanda adanya semburat warna kuning pada kulit buahnya sebesar 25-49% (Suketi *et al.*, 2010).

Benih pepaya disterilisasi secara berseri dengan merendamnya di dalam alkohol 70% selama 10 menit. Setelah itu benih dibilas dengan air steril. Benih direndam dengan larutan NaOCl 1.05% selama 20 menit, kemudian direndam kembali dalam larutan NaOCl 0.525% selama 30 menit. Benih kemudian dibilas tiga kali dengan air steril sebelum dikecambahkan pada media dasar MS. Media dasar MS adalah media yang mengandung garam-garam mineral makro dan mikro dari formulasi Murashige dan Skoog (1962), yang diperkaya dengan tiamin HCl 0.1 mg L⁻¹, piridoksin HCl 0.5 mg L⁻¹, asam nikotinat 0.5 mg L⁻¹, glisin 2 mg L⁻¹, mio-inositol 100 mg L⁻¹, dan sukrosa 30 g L⁻¹. Semua media diatur pH-nya menjadi 5.8, sebelum ditambah dengan bubuk agar 7 g L⁻¹ sebagai pematid media. Media yang sudah diberi bubuk agar dididihkan, lalu dimasukkan ke dalam botol kultur berkapasitas 350 mL, masing-masing botol berisi 20 mL. Botol yang telah berisi media ditutup dengan plastik dan disterilkan menggunakan autoklaf pada tekanan 15 Psi dan suhu 121 °C selama 15 menit. Semua botol kultur diletakkan di rak-rak di dalam ruang kultur dengan penerangan lampu fluoresens putih berintensitas cahaya 1000±100 lux, dengan fotoperiodisitas 16 jam terang dan 8 jam gelap setiap hari, dan suhu 22±2 °C.

Setelah berumur 6-8 minggu, tunas pucuk yang berukuran kurang lebih 1 cm dengan jumlah daun 4 diambil dari hasil perkecambahan secara *in vitro* dan digunakan sebagai eksplan. Tunas pucuk hasil perkecambahan kemudian ditanam di media dasar MS yang diperkaya dengan BA dan NAA sesuai dengan perlakuan yang dicobakan.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam percobaan adalah rancangan acak kelompok dengan hari penanaman eksplan digunakan sebagai kelompok sehingga terdapat empat kelompok. Perlakuan yang diuji adalah berbagai konsentrasi 6-*benzyladenin* (BA) sebagai faktor tunggal, yang ditambahkan ke dalam media dasar MS yang sudah diberi NAA 0.5 mg L⁻¹. Konsentrasi BA yang digunakan terdiri dari lima taraf yaitu 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, dan 2.0 mg L⁻¹. Kontrol merupakan tunas pucuk pepaya yang ditanam di media dasar MS tanpa ZPT. Jumlah perlakuan

pada percobaan adalah 6 sehingga terdapat 24 unit amatan. Setiap unit amatan terdiri dari 5 botol kultur yang masing-masing berisi empat eksplan tunas pucuk, sehingga seluruhnya terdapat 480 eksplan di dalam 120 botol kultur.

Pengamatan dilakukan setiap minggu sekali selama 8 minggu dengan variabel yang diamati adalah tinggi tunas, jumlah buku, jumlah tunas, jumlah daun, persentase tunas berakar, dan persentase eksplan berkalus. Persentase tunas berakar dihitung dengan cara membagi eksplan yang berakar dengan eksplan yang ditanam dikalikan 100%. Persentase eksplan berkalus dihitung dengan cara membagi eksplan yang berkalus dengan eksplan yang ditanam dikalikan 100%. Data yang diperoleh dalam pengamatan kemudian diolah dengan menggunakan program *Microsoft Excel 2016* dan dianalisis keragamannya (ANOVA) dengan program *Statistical Analysis Software (SAS)* versi 9.1. Hasil ANOVA yang berbeda nyata kemudian diuji lanjut *Duncan Multiple Range Test (DMRT)*.

Variabel yang berbeda nyata kemudian dianalisis kembali dengan analisis regresi non-linier menggunakan software *Minitab16*. Pada setiap variabel, akan didapatkan model regresi non-linier yang dapat digunakan untuk menduga variabel berdasarkan konsentrasi BA yang diberikan. Hasil dugaan dan hasil dalam percobaan kemudian di uji t untuk melihat kesesuaian model regresi non-linier dengan hasil yang didapatkan dalam percobaan. Apabila nilai p pada uji t lebih dari 0.05 maka model sesuai, sedangkan apabila nilai p pada uji t kurang dari 0.05 maka model tidak sesuai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi BA terhadap Perbanyakan Tunas Pepaya 'Sukma'

Eksplan pada media dasar MS tanpa ZPT dapat tumbuh dengan baik tapi tidak disertai dengan munculnya tunas baru pada buku (Gambar 1A). Tunas hanya tumbuh memanjang dengan penambahan buku yang lebih sedikit dibandingkan dengan eksplan pada media dasar MS dengan ZPT. Selain itu, pada beberapa pangkal tunas muncul akar pada minggu ke-4. Hal ini sama dengan pernyataan Wu *et al.* (2012) bahwa eksplan pada media dasar MS tanpa ZPT akan tetap tumbuh tanpa adanya pertumbuhan tunas baru.

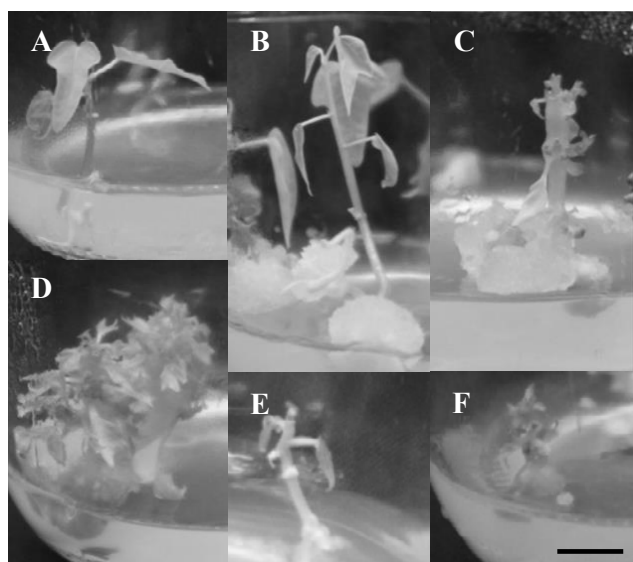
Konsentrasi BA pada media dasar MS yang telah ditambahkan NAA 0.5 mg L⁻¹ memberikan pengaruh yang berbeda-beda pada variabel yang diamati pada minggu ke-2 hingga minggu ke-8 (Tabel 1). Pada minggu ke-2, BA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas. Pada minggu ke-3, BA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas dan jumlah daun. Pada minggu ke-4 dan ke-5, BA berpengaruh nyata kepada jumlah tunas, jumlah daun, dan persentase eksplan berkalus. Pada minggu ke-6 dan ke-7, BA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, jumlah daun, persentase eksplan berakar, dan persentase eksplan berkalus. Pada minggu ke-8, BA berpengaruh nyata pada semua variabel yang diamati kecuali pada variabel tinggi tunas.

Tunas yang memiliki tinggi yang paling baik (1.46 cm) yaitu eksplan yang pada media dasar MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ tanpa tambahan BA, meskipun tidak berbeda nyata dengan tinggi tunas pada media dengan tambahan BA 0.5, 1.0, dan 1.5 mg L⁻¹ BA (Tabel 2). Hasil menunjukkan pula bahwa konsentrasi BA yang lebih dari 1.0 mg L⁻¹ menyebabkan tunas semakin pendek. Mumo *et al.* (2013) menyatakan hal yang serupa bahwa konsentrasi BA yang lebih besar dari 1.0 mg L⁻¹ dapat menghambat pertumbuhan tunas sehingga menjadi lebih pendek.

Pembentukan tunas pada eksplan dimulai pada hari ke-7 setelah tanam. Jumlah tunas terbanyak yaitu 3.3, didapatkan pada eksplan yang ditanam pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 1.5 mg L⁻¹ (Gambar 1D) tetapi tidak berbeda nyata dengan eksplan pada media dengan BA 1.0 mg L⁻¹ (Gambar 1C). Oleh karena itu, kombinasi yang terbaik dalam variabel jumlah tunas adalah BA 1.0-1.5 mg L⁻¹ dan NAA 0.5 mg L⁻¹. Hasil ini sesuai dengan Setargi *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kombinasi BA 1.0 mg L⁻¹ dan NAA 0.5 mg L⁻¹ dapat menghasilkan jumlah tunas yang terbanyak. Akan tetapi, berbeda halnya dengan Wu *et al.* (2012) dan Mumo *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa kombinasi konsentrasi yang lebih rendah dari hasil percobaan merupakan kombinasi yang terbaik untuk proliferasi tunas pepaya. Wu *et al.* (2012) melaporkan bahwa pada tahap inisiasi dan proliferasi tunas, perlakuan terbaik adalah 0.25-0.50 mg L⁻¹ BA pada media MS dengan sukrosa 40 g L⁻¹. Mumo *et al.* (2013) menyatakan bahwa pada tahap inisiasi dan proliferasi tunas, perlakuan terbaik adalah menggunakan media MS dengan BA 0.5 mg L⁻¹, NAA 0.1 mg L⁻¹, dan sukrosa 30 g L⁻¹.

Pertambahan daun pada eksplan dimulai pada hari ke-7 dan berbeda nyata pada minggu ke-3 hingga minggu ke-8 (Tabel 1). Sama halnya dengan jumlah tunas, jumlah daun per eksplan terbanyak yaitu 9.3 didapatkan pada media dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 1.5 mg L⁻¹ (Gambar 1D), tetapi tidak berbeda nyata dengan eksplan pada media yang diperkaya BA 1.0 mg L⁻¹ (Gambar 1C) maupun 2.0 mg L⁻¹ (Gambar 1f). Oleh karena itu, kombinasi yang terbaik untuk jumlah daun adalah BA 1.0-2.0 mg L⁻¹ dan NAA 0.5 mg L⁻¹. Hal ini sedikit berbeda dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Setargi *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kombinasi terbaik untuk jumlah daun adalah BA 1.0 mg L⁻¹ dan NAA 0.5 mg L⁻¹. Konsentrasi BA 2 mg L⁻¹ menyebabkan perubahan bentuk daun akibat efek toksik dari BA (Setargi *et al.*, 2015).

Gaba (2005) menyatakan bahwa rasio auksin dan sitokinin dalam media kultur jaringan menentukan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Media dengan rasio auksin-sitokinin yang lebih tinggi akan menginisiasi tunas membentuk akar, menginduksi kalus pada tanaman monokotil, dan menginisiasi embriogenesis somatik. Media dengan rasio auksin-sitokinin yang sama akan menginduksi pembentukan akar adventif dari kalus dan menginisiasi pembentukan kalus pada tanaman dikotil. Media dengan rasio auksin-sitokinin yang lebih rendah akan menginduksi tunas adventif dan pembentukan tunas aksilar pada eksplan tunas. Berdasarkan berat molekulnya, hasil menunjukkan



Gambar 1. Kondisi eksplan 8 minggu setelah tanam pada media A) MS, B) MS + NAA 0.5 mg L⁻¹, C) MS + NAA 0.5 mg L⁻¹ + BA 1.0 mg L⁻¹, D) MS + NAA 0.5 mg L⁻¹ + BA 1.5 mg L⁻¹, E) MS + NAA 0.5 mg L⁻¹ + BA 0.5 mg L⁻¹, F) MS + NAA 0.5 mg L⁻¹ + BA 2.0 mg L⁻¹ (Garis skala = 5 mm)

bahwa rasio NAA dan BA yang memberikan jumlah tunas dan jumlah daun tertinggi dalam percobaan adalah 1:4.4.

Beberapa laporan mengenai proliferasi tunas menggunakan auksin dan sitokinin menghasilkan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi tersebut juga berbeda dengan hasil yang didapatkan dalam percobaan ini. Anandan *et al.* (2011) melaporkan bahwa proliferasi tunas pepaya 'Co7' terbaik dengan menggunakan eksplan epikotil didapatkan pada media MS dengan BA 1.13 mg L⁻¹ dan NAA 0.01 mg L⁻¹. Efendi dan Putra (2017) melaporkan bahwa konsentrasi kombinasi NAA dan BA terbaik untuk pembentukan tunas pepaya 'Callina' dengan eksplan tunas pucuk dari *seedling* adalah masing-masing 0.1 dan 0.5 mg L⁻¹. Bindu dan Podikunju (2017) melaporkan pula bahwa aplikasi BA 0.5 mg L⁻¹ dan NAA 0.1 mg L⁻¹ pada eksplan

tunas pucuk dan tunas samping dapat menghasilkan jumlah tunas yang paling banyak pada tahap proliferasi tunas pepaya 'Pusa Nanha' secara *in vitro*. Perbedaan kombinasi konsentrasi antara NAA dan BA ini terjadi karena genotipe dan jenis eksplan yang digunakan pada setiap percobaan berbeda-beda sehingga memberikan respon yang berbeda pula. Selain itu, perbedaan hasil percobaan ini dengan percobaan terdahulu disebabkan karena konsentrasi NAA yang ditambahkan pada percobaan terdahulu lebih rendah, sehingga rasio sitokinin dan auksin di media tersebut lebih tinggi untuk konsentrasi BA yang sama pada percobaan ini.

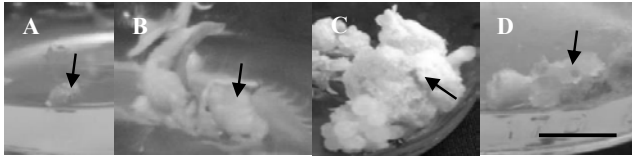
Pada variabel jumlah buku, eksplan pada media MS dengan tambahan NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA dalam berbagai konsentrasi memberikan hasil yang sama tetapi berbeda nyata dengan eksplan pada media tanpa ZPT (Tabel 2). Hal ini menandakan bahwa variabel jumlah buku tidak dapat digunakan untuk mendeteksi mana perlakuan konsentrasi BA terbaik untuk perbanyak *in vitro* pepaya. Hasil menunjukkan pula bahwa perbedaan jumlah tunas per eksplan tidak diikuti dengan jumlah buku yang meningkat, padahal jumlah daunnya secara signifikan bertambah. Hal ini terjadi karena tunas-tunas yang terbentuk gagal untuk memanjang atau sangat pendek dengan jumlah buku dan jumlah daun yang banyak. Wu *et al.* (2012) juga menyatakan hal yang serupa bahwa konsentrasi BA 0.5-1.0 mg L⁻¹ dapat menyebabkan terbentuknya kalus pada pangkal eksplan yang membuat ruas semakin pendek dengan jumlah daun atau buku yang semakin banyak. Konsentrasi BA yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terbentuknya kalus yang semakin banyak (Wu *et al.* 2012).

Kalus terbentuk pada setiap perlakuan yang diujikan dengan persentase yang berbeda-beda. Pembentukan kalus dimulai pada pengamatan minggu ke-3. Kombinasi NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 1.5 mg L⁻¹ merupakan kombinasi dengan persentase yang paling tinggi tetapi tidak berbeda nyata dengan kombinasi NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 1.0 mg L⁻¹, dengan persentase 65.00% dan 64.58% (Tabel 2). Kalus yang terbentuk dapat berupa kalus yang kompak (*hard callus*) (Gambar 2A, 2B) dan kalus yang remah (*soft friable callus*) (Gambar 2C, 2D). Terbentuknya kalus pada perlakuan ini merupakan hal yang tidak diinginkan karena

Tabel 1. Rekapitulasi hasil uji F (nilai P) tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah buku, jumlah daun, persentase eksplan berakar, dan persentase eksplan berkalus terhadap konsentrasi BA pada pengamatan minggu ke-2 sampai minggu ke-8

Variabel yang diamati	Nilai P pada pengamatan minggu ke-						
	2	3	4	5	6	7	8
Tinggi tunas (cm)	0.17tn	0.36tn	0.09tn	0.08tn	0.07tn	0.05tn	0.08tn
Jumlah tunas	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
Jumlah buku	0.02*	0.07tn	0.12tn	0.20tn	0.13tn	0.08tn	0.00*
Jumlah daun	0.17tn	0.00*	0.01*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
Eksplan berakar (%)	0.45tn	0.12tn	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
Eksplan berkalus (%)	0.21tn	0.67tn	0.74tn	0.54tn	0.02*	0.01*	0.01*

Keterangan: tn = konsentrasi BA tidak berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati, * = konsentrasi BA berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati pada α 5%



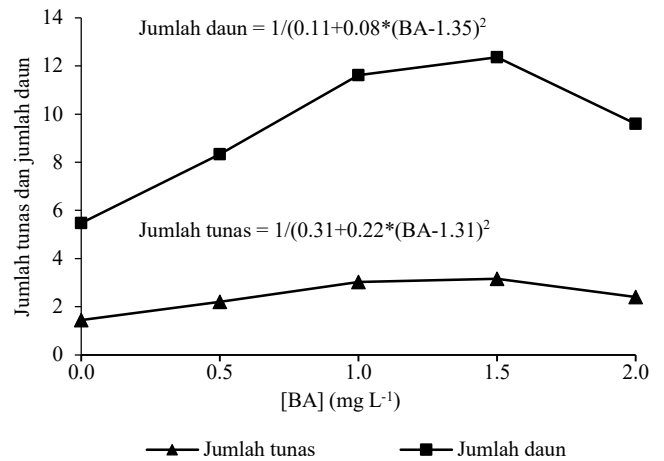
Gambar 2. Tipe-tipe kalus yang ditemukan, A, B) Kalus yang kompak (*hard callus*), C, D) Kalus yang remah (*soft friable callus*) (Garis skala = 5 mm)

pada perbanyak *in vitro* melalui pola regenerasi tunas samping, eksplan yang memiliki *pre-existing buds* didorong atau dirangsang pecah sehingga tunas akan tumbuh melalui buku-buku. Tunas aksilar yang normal ini kemudian akan disubkulturkan pada media baru untuk tahapan selanjutnya.

Selain kalus, akar juga terbentuk pada salah satu perlakuan yang diujikan. Akar terbentuk dengan persentase paling tinggi (40.46%) pada eksplan dengan media dasar MS dengan tambahan NAA 0.5 mg L⁻¹ (Tabel 2). Sama halnya dengan kalus, terbentuknya akar dalam percobaan ini merupakan hal yang tidak diinginkan, karena tujuan utamanya adalah memperbanyak tunas. NAA merupakan salah satu ZPT yang dapat menginduksi pembentukan akar. Oleh karena itu, pemberian NAA 0.5 mg L⁻¹ pada media MS menyebabkan eksplan terkonsentrasi untuk membentuk akar tanpa pertambahan tunas.

Analisis Regresi Non-linier pada Jumlah Daun, Jumlah Tunas, dan Persentase Eksplan Berakar

Analisis regresi hanya dilakukan pada variabel jumlah daun, jumlah tunas dan persentase eksplan berakar karena ketiga variabel tersebut berbeda sangat nyata pada tingkat kepercayaan 95% maupun 99% dibandingkan dengan variabel-variabel lainnya. Regresi non-linier jumlah tunas dan jumlah daun terhadap konsentrasi BA tersaji pada Gambar 3. Konsentrasi BA optimal dalam menginduksi tunas adalah 1.31 mg L⁻¹ pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹. Konsentrasi BA optimal dalam menginduksi daun adalah 1.35 mg L⁻¹ pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹. Jumlah tunas dan daun akan menurun seiring dengan penurunan



Gambar 3. Regresi non-linier konsentrasi BA pada jumlah tunas dan jumlah daun pada pengamatan minggu ke-8

dan penambahan konsentrasi BA optimal. Berdasarkan uji t, jumlah tunas dan jumlah daun dugaan hasil dari regresi tidak berbeda nyata dengan jumlah tunas pada percobaan dengan nilai p yang sama 0.98 ($\alpha = 5\%$) (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa model regresi non-linier tersebut dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi BA dalam memproduksi tunas dan daun secara optimal.

Pada perbanyak tunas aksilar dengan menggunakan tunas pucuk dari *seedling*, peran sitokinin dan auksin adalah untuk meningkatkan ketahanan dan perkembangan tunas serta mendorong pecahnya mata tunas dan menumbuhkan mata tunas menjadi tunas (Kane, 2011). Proliferasi tunas akan meningkat bila konsentrasi sitokinin juga meningkat tetapi tunas yang terbentuk menjadi lebih kecil dan memperlihatkan adanya gejala *hyperhydricity*. Pernyataan ini sesuai dengan hasil dalam percobaan yaitu tunas aksilar yang didapatkan kecil dan kompak dengan pangkal yang menggelembung. Penambahan auksin mungkin dapat meningkatkan proliferasi tunas aksilar dan mencegah efek penghambatan pemanjangan tunas oleh sitokinin (Kane, 2011). Rasio konsentrasi auksin dan sitokinin yang dibutuhkan dalam kultur jaringan tergantung pada jenis

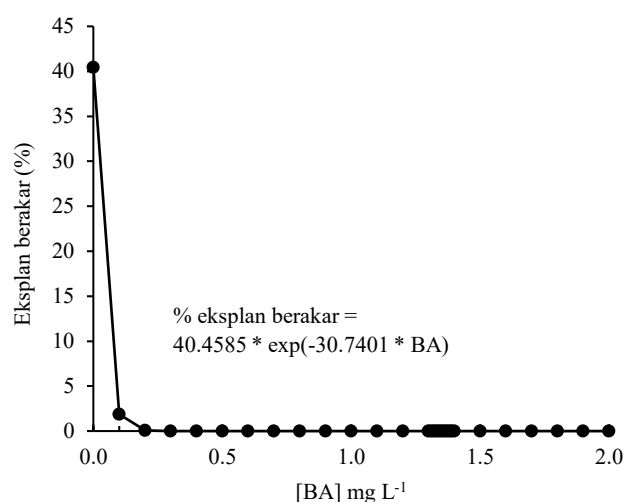
Tabel 2. Pengaruh konsentrasi BA pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ terhadap tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah buku, jumlah daun, persentase eksplan berakar, dan persentase eksplan berkalus pada minggu ke-8

Media	Tinggi tunas (cm)	Jumlah tunas (buah)	Jumlah daun (helai)	Jumlah buku (buah)	Eksplan berakar (%)	Eksplan berkalus (%)
MS (kontrol)	1.02b	1.2d	3.2d	3.84b	3.75b	3.13c
MS + NAA 0.5 mg L ⁻¹	1.46a	1.5cd	4.0cd	4.99a	40.46a	58.69ab
MS + NAA 0.5 mg L ⁻¹ + BA 0.5 mg L ⁻¹	1.14ab	2.2bc	6.2bc	4.52a	0.00b	22.08bc
MS + NAA 0.5 mg L ⁻¹ + BA 1.0 mg L ⁻¹	1.23ab	2.9ab	8.5ab	4.91a	2.50b	64.58a
MS + NAA 0.5 mg L ⁻¹ + BA 1.5 mg L ⁻¹	1.32ab	3.3a	9.3a	5.00a	1.25b	65.00a
MS+ NAA 0.5 mg L ⁻¹ + BA 2.0 mg L ⁻¹	1.06b	2.3bc	7.1ab	4.64a	0.00b	47.50ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama adalah berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

tanaman yang dikultur, kondisi kultur, dan bentuk zat pengatur tumbuh yang digunakan (Gaspar *et al.*, 1996).

Regresi non-linier persentase eksplan berakar terhadap konsentrasi BA tersaji pada Gambar 4. Eksplan yang membentuk akar tertinggi (40.46%) ditemui pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ tanpa penambahan BA. Selain itu, akar juga terbentuk pada eksplan yang dikulturkan pada media MS dengan NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 0.1 mg L⁻¹. Penambahan BA dengan konsentrasi yang lebih tinggi menyebabkan eksplan tidak membentuk akar. Hal ini terjadi karena adanya dominansi sitokinin yang menyebabkan eksplan akan membentuk tunas. Berdasarkan uji t, persentase eksplan berakar dugaan dari regresi tidak berbeda nyata dengan persentase eksplan berakar pada percobaan dengan nilai p 0.21 ($\alpha = 5\%$) (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa model regresi non-linier tersebut dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi BA sehingga terbentuknya akar dalam perbanyakan tunas aksilar dapat dihindari.



Gambar 4. Regresi non-linier konsentrasi BA pada persentase eksplan berakar pada pengamatan minggu ke-8

Tabel 3. Perbandingan jumlah tunas, jumlah daun, dan persentase eksplan berakar dugaan dengan hasil dalam percobaan pada pengamatan minggu ke-8 dengan menggunakan uji t ($\alpha = 5\%$)

[BA] (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas dugaan	Jumlah tunas dalam percobaan	Jumlah daun dugaan	Jumlah daun dalam Percobaan	Eksplan berakar dugaan (%)	Eksplan berakar dalam percobaan (%)
0.0	1.45	1.49	4.03	3.99	40.46	40.46
0.5	2.20	2.24	6.13	6.23	0.00	0.00
1.0	3.03	2.92	8.58	8.47	0.00	2.50
1.5	3.16	3.27	9.21	9.30	0.00	1.25
2.0	2.41	2.33	7.18	7.14	0.00	0.00
Nilai p pada uji t	0.98		0.98		0.21	

KESIMPULAN

Pada kultur *in vitro* pepaya 'Sukma' dari eksplan *seedling* berumur 8 minggu setelah tanam, konsentrasi BA dengan kombinasi NAA 0.5 mg L⁻¹, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap variabel jumlah tunas aksilar, jumlah daun, jumlah buku, persentase eksplan berakar, dan persentase eksplan berkalus. Media kultur terbaik untuk menghasilkan jumlah tunas terbanyak adalah media MS yang diperkaya NAA 0.5 mg L⁻¹ dan BA 1.0-1.5 mg L⁻¹. Analisis regresi menunjukkan bahwa konsentrasi optimum BA untuk mendapatkan jumlah tunas dan jumlah daun tertinggi adalah 1.31 dan 1.35 mg L⁻¹ sedangkan persentase eksplan berakar tertinggi didapatkan pada media tanpa tambahan BA. Dengan demikian, perbanyakan pepaya 'Sukma' perlu dilakukan pada media terpisah untuk pertunasan dan pengakaran.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan Kementerian Keuangan RI yang telah membiayai percobaan ini dan penulis ucapkan

pula kepada Pusat Kajian Hortikultura Tropika IPB yang telah memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan bahan dan alat percobaan dalam laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Shara, B., R.M. Taha, K. Rashid. 2018. Biotechnological methods and limitations of micropropagation in papaya (*Carica papaya* L.) production [Review]. *The J. Anim. Plant Sci.* 28:1208-1226.
- Anandan, R., Thirugnanakumar, D. Sudhakar, P. Balasubramanian. 2011. *In vitro* organogenesis and plantlet regeneration of (*Carica papaya* L.). *J. Agric. Tech.* 7:1339-1348.
- Bindu, B. Podikunju. 2017. Tissue culture protocol for *in vitro* propagation of papaya (*Carica papaya* L.). *J. Krishi Vigyan* 6:205-212.
- Bottcher, C., C.A. Burbidge, C. Davies. 2013. Interaction between ethylene and auxin are crucial to the control of grape (*Vitis vinifera* L.) berry ripening. *BMC Plant. Biol.* 13:1-14.

- Efendi, D., M.R. Putra. 2017. Optimization of *in vitro* lateral shoots multiplication of papaya (*Carica papaya* L.) “Callina” with BAP and NAA. *J. Trop. Crops.* 4:102-107.
- Gaba, V.P. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. *In* R.N. Trigiano, D.J. Gray (Eds.). *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press, London, UK.
- Gaspar, T., C. Keveers, C. Penel, H. Grepin, D.M. Reid, T.A. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulation in plant tissue culture. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 32:272-289.
- Kane, M. 2011. Propagation by Shoot Culture. Di dalam: Trigiano, R.N., D.J. Gray, editor. *Plant Tissue Culture, Development and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2009. Deskripsi Pepaya Sukma. <http://varitas.net/dbkultivar/deskripsi/3397.pdf> [23 Desember 2017].
- Mumo, N.N., F.K. Rimberia, G.E. Mamati, A.W. Kihurani. 2013. *In vitro* regeneration of selected Kenyan papaya (*Carica papaya* L.) lines through shoot tip culture. *Afr. J. Biotechnol.* 12:6826-6832.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Robles, L., A. Stepanova, J. Alonso. 2013. Molecular mechanisms of ethylene-auxin interaction. *Molec. Plant* 6:1734-1737.
- Roy, P.K., S.K. Roy, Md.L. Hakim. 2012. Propagation of papaya (*Carica papaya* L.) cv. Shahi through *in vitro* culture. *Bangladesh J. Bot.* 41:191-195.
- Setargi, A., F. Mekbib, E. Abraha. 2015. *In vitro* propagation of papaya (*Carica papaya* L.). *World J. Agric. Sci.* 11:84-88.
- Strader, L.C., G.L. Chen, B. Bartel. 2010. Ethylene directs auxin to control root cell expansion. *Plant J.* 64:874-884.
- Suketi, K., R. Poerwanto, S. Sujiprihati, W.D. Widodo. 2010. Karakter fisik dan kimia buah pepaya pada stadia kematangan berbeda. *J. Agron. Indonesia* 38:60-66.
- Wang, Q.C., B. Panis, F. Engelman, M. Ambardi, J.P.T. Valkonen. 2008. Cryotherapy of shoot tips: a technique for pathogen eradication to produce healthy planting materials and prepare healthy plant genetic resources for cryopreservation. *Ann. Appl. Biol.* 154:351-363.
- Wu, K., S. Zeng, Z. Chen, J. Duan. 2012. *In vitro* mass propagation of hermaphroditic *Carica papaya* cv. Meizhonghong. *Pak. J. Bot.* 44:1669-1676.