Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

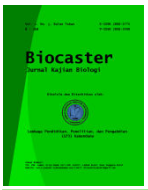
PENGARUH KOMBINASI 2,4-D DAN BAP TERHADAP INDUKSI KALUS JERUK SITRUN (*Citrus limon* L.)

Maryam Hamzah[1], Jusna Ahmad[2], Devi Bunga Pagalla[3]*, Novri Youla Kandowangko[4], & Indriati Husain[5]
[1,2,3,&4]Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Jalan Jenderal Sudirman Nomor 6, Gorontalo, Gorontalo 96128, Indonesia
[5]Program Studi Agroteknologi, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo, Jalan Jenderal Sudirman Nomor 6, Gorontalo, Gorontalo 96128, Indonesia
**Email: devibungapagalla@ung.ac.id*
Submit: 26-06-2026; Accepted: 06-07-2026; Published: 29-10-2026

ABSTRAK: Jeruk Sitrun (*Citrus limon* L.) merupakan tanaman hortikultura bernilai ekonomi tinggi yang dimanfaatkan dalam bidang pangan, kesehatan, dan kosmetik. Perbanyakan secara konvensional masih menghadapi kendala, terutama ketersediaan bibit seragam, efisiensi perbanyakan, dan risiko kontaminasi penyakit, sehingga diperlukan alternatif melalui kultur jaringan. Tahap penting dalam kultur jaringan adalah induksi kalus yang keberhasilannya dipengaruhi oleh keseimbangan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), khususnya auksin dan sitokinin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons induksi kalus jeruk sitrun secara *in vitro* terhadap beberapa taraf kombinasi 2,4-D dan BAP serta menentukan kombinasi ZPT yang paling efektif. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo menggunakan eksplan kecambah *in vitro* jeruk sitrun yang terdiri atas kotiledon, hipokotil, dan epikotil. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap nonfaktorial dengan empat perlakuan, yaitu M0 berupa media MS tanpa ZPT; M1 berupa 1 mg L^{-1} 2,4-D + 1 mg L^{-1} BAP; M2 berupa 2 mg L^{-1} 2,4-D + 2 mg L^{-1} BAP; dan M3 berupa 3 mg L^{-1} 2,4-D + 3 mg L^{-1} BAP, masing-masing diulang tiga kali. Parameter pengamatan meliputi waktu munculnya kalus, persentase pertumbuhan kalus, dan karakteristik morfologi kalus. Hasil penelitian menunjukkan respons berbeda antarperlakuan. Waktu muncul kalus tercepat terdapat pada M1, yaitu 15,33 ± 3,59 hari setelah inokulasi, sedangkan yang terlama pada M3, yaitu 20,40 ± 2,00 hari. Persentase pertumbuhan kalus tertinggi terdapat pada M1 sebesar 44,64%, diikuti M3 41,11% dan M2 31,64%. Kalus umumnya kompak, berwarna putih kekuningan hingga kuning kecokelatan. Kombinasi 1 mg L^{-1} 2,4-D dan 1 mg L^{-1} BAP merupakan perlakuan terbaik dalam kondisi *in vitro*.

Kata Kunci: 2,4-D, BAP, *Citrus limon*, Induksi Kalus, Kultur Jaringan.

ABSTRACT: *Lemon (Citrus limon L.) is a horticultural crop with high economic value and is widely utilized in the food, health, and cosmetic industries. Conventional propagation still faces several constraints, particularly the availability of uniform seedlings, propagation efficiency, and the risk of disease contamination; therefore, an alternative method through tissue culture is required. One important stage in tissue culture is callus induction, whose success is influenced by the balance of plant growth regulators, particularly auxins and cytokinins. This study aimed to determine the in vitro callus induction response of lemon to several levels of 2,4-D and BAP combinations and to identify the most effective plant growth regulator combination. The study was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Universitas Negeri Gorontalo, using in vitro lemon seedling explants consisting of cotyledons, hypocotyls, and epicotyls. A non-factorial Completely Randomized Design was used with four treatments: M0, MS medium without plant growth regulators; M1, 1 mg L^{-1} 2,4-D + 1 mg L^{-1} BAP; M2, 2 mg L^{-1} 2,4-D + 2 mg L^{-1} BAP; and M3, 3 mg L^{-1} 2,4-D + 3 mg L^{-1} BAP, with each treatment replicated three times. The observed parameters included the time of callus emergence, percentage of callus growth, and callus morphological characteristics. The results showed different responses among treatments. The fastest callus emergence was observed in M1, at 15.33 ± 3.59 days after inoculation, whereas the longest was recorded in M3, at 20.40 ± 2.00 days. The highest percentage of callus growth was*



Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

obtained in M1 at 44.64%, followed by M3 at 41.11% and M2 at 31.64%. The callus was generally compact in texture, with colors ranging from yellowish white to brownish yellow. The combination of 1 mg L^{-1} 2,4-D and 1 mg L^{-1} BAP was the best treatment under in vitro conditions.

Keywords: *2,4-D, BAP, Citrus limon, Callus Induction, Tissue Culture.*

How to Cite: Hamzah, M., Ahmad, J., Pagalla, D. B., Kandowangko, N. Y., & Husain, I. (2026). Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus Jeruk Sitrun (*Citrus limon* L.). *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi, 6*(4), 2199-2207. https://doi.org/10.36312/biocaster.v6i4.1677



Biocaster : Jurnal Kajian Biologi *is Licensed Under a CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.*

PENDAHULUAN

Citrus limon termasuk tanaman hortikultura yang mempunyai nilai ekonomi tinggi dan banyak dimanfaatkan dalam industri pangan, kesehatan, serta kosmetik, karena kandungan vitamin C, flavonoid, dan asam sitratnya (Chaturvedi *et al.*, 2016). Namun, perbanyakan tanaman secara konvensional masih menemui berbagai hambatan, seperti keterbatasan bibit unggul, serangan patogen, serta tingginya keragaman genetik tanaman (Catalano *et al.*, 2022). Oleh sebab itu, diperlukan metode perbanyakan yang lebih efisien dan efektif guna menghasilkan bibit berkualitas dalam jumlah yang besar.

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman yang dilakukan secara *in vitro* dalam kondisi lingkungan yang terkontrol, sehingga mampu menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat. Salah satu tahap penting dalam kultur jaringan adalah induksi kalus, yaitu pembentukan massa sel yang belum terdiferensiasi akibat adanya pengaruh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Keberhasilan induksi kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jenis eksplan, media kultur yang digunakan, serta keseimbangan ZPT, terutama antara auksin dan sitokinin (Pan *et al.*, 2024). Teknik ini juga memungkinkan perbanyakan tanaman yang memiliki sifat genetik seragam serta mendukung pelestarian tanaman yang sulit diperbanyak secara konvensional.

2,4-D (2,4-*dichlorophenoxyacetic acid*) merupakan auksin sintetis yang berfungsi merangsang dediferensiasi dan pembelahan sel, sehingga dapat memacu pembentukan kalus. Pagalla *et al.* (2025) melaporkan bahwa penambahan 2,4-D ke dalam medium MS mampu menginduksi kalus pada *Citrus microcarpa*. Penelitian lain oleh Hasan *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D pada *Citrus sinensis* menghasilkan tingkat induksi kalus yang tinggi. Selain auksin, BAP (6-*benzylaminopurine*) yang termasuk dalam golongan sitokinin berperan dalam merangsang pembelahan sel dan diferensiasi jaringan. Dalam kultur jaringan, penggunaan auksin dan sitokinin secara bersama-sama dapat memengaruhi respons pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Keseimbangan kedua kelompok ZPT tersebut menjadi salah satu faktor penting dalam menentukan arah pertumbuhan jaringan, termasuk pembentukan kalus. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons induksi kalus *Citrus limon* secara *in vitro* terhadap beberapa kombinasi 2,4-D dan BAP serta menentukan kombinasi ZPT yang memberikan respons terbaik dalam mendukung pembentukan kalus.

Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2025 hingga Februari 2026 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo. Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) nonfaktorial yang terdiri atas empat perlakuan kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), yaitu M0 (media MS tanpa ZPT), M1 (media MS + 1 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP), M2 (media MS + 2 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP), dan M3 (media MS + 3 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP). Setiap perlakuan terdiri atas tiga ulangan, dengan tiga botol kultur pada setiap ulangan. Dengan demikian, terdapat 36 botol kultur sebagai unit percobaan. Setiap botol kultur berisi lima eksplan kecambah *Citrus limon* L., berumur 4 minggu, sehingga total eksplan yang digunakan sebanyak 180 eksplan.

Biji jeruk sitrun (*Citrus limon* L.) yang digunakan sebagai bahan tanaman terlebih dahulu disterilisasi dengan menghilangkan aril yang menutupi biji, kemudian direndam dalam larutan *Bayclin* selama 15 menit dan dibilas menggunakan air mengalir. Sterilisasi lanjutan dilakukan secara aseptik di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) menggunakan alkohol 70% selama 5 menit, kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan akuades steril. Biji yang telah steril selanjutnya ditanam pada media perkecambahan dan diinkubasi selama empat minggu hingga menghasilkan kecambah *in vitro*. Kecambah berumur empat minggu tersebut digunakan sebagai eksplan pada tahap induksi kalus. Induksi kalus dilakukan dengan mengkultur eksplan kecambah pada media MS yang mengandung kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-*dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) sesuai perlakuan. Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan fotoperiode 16 jam terang dan 8 jam gelap. Pengamatan dilakukan selama 43 Hari Setelah Tanam (HST).

Parameter yang diamati meliputi waktu munculnya kalus, persentase pembentukan kalus, serta karakteristik morfologi kalus berupa warna dan tekstur. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 43 Hari Setelah Tanam (HST). Waktu muncul kalus dihitung sejak eksplan ditanam hingga terlihat tanda awal pembentukan kalus berupa pembengkakan dan munculnya jaringan berwarna putih atau bening pada area luka eksplan. Persentase pembentukan kalus dihitung berdasarkan jumlah eksplan yang membentuk kalus dibandingkan dengan jumlah eksplan yang dikulturkan. Karakteristik morfologi kalus diamati secara visual pada akhir masa pengamatan. Warna kalus dikategorikan menjadi putih, kuning-putih, hijau, dan cokelat, sedangkan tekstur kalus dikategorikan menjadi kompak, intermediet, dan friabel.

Data kuantitatif berupa waktu muncul kalus dan persentase pembentukan kalus dianalisis menggunakan ANOVA satu arah pada taraf signifikansi 5%. Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan, analisis dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Data kualitatif berupa warna dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan perbedaan karakteristik morfologi antarperlakuan. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Hasil analisis tersebut digunakan untuk menentukan pengaruh masing-masing perlakuan terhadap keberhasilan induksi kalus.

Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian, diperoleh data mengenai pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan eksplan jeruk sitrun (*Citrus limon* L.) secara *in vitro*. Parameter yang diamati meliputi waktu munculnya kalus, persentase pembentukan kalus, dan karakteristik morfologi kalus. Hasil dari masing-masing parameter disajikan sebagai berikut:

Waktu Muncul Kalus

Tabel 1. Rata-rata Waktu Muncul Kalus Eksplan Jeruk Sitrun (*Citrus limon* L.).

Perlakuan	Rata-rata Waktu Muncul Kalus (HST)±Std
M0	0±0.00[a]
M1	15,33±3,59[b]
M2	18,20±2,42[bc]
M3	20,40±2,00[c]

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan berbeda nyata antarperlakuan berdasarkan uji lanjut *Duncan* 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap waktu muncul kalus pada eksplan jeruk sitrun (*Citrus limon* L.). Perlakuan kontrol (M0) tidak menghasilkan kalus hingga akhir masa pengamatan, sedangkan seluruh perlakuan yang mengandung kombinasi 2,4-D dan BAP mampu menginduksi pembentukan kalus. Hasil ini menunjukkan bahwa keberadaan ZPT eksogen berperan penting dalam memacu proses dediferensiasi dan pembelahan sel yang diperlukan dalam pembentukan kalus. Menurut Carbajal & Milla-Lewis (2026), ZPT eksogen berperan dalam menginisiasi pembentukan kalus melalui aktivasi kembali pembelahan sel dan proses dediferensiasi jaringan. Thiry *et al.* (2026) juga menyatakan bahwa auksin seperti 2,4-D berfungsi merangsang dediferensiasi dan proliferasi sel, sedangkan sitokinin seperti BAP mendukung aktivitas pembelahan sel, sehingga keduanya bekerja secara sinergis dalam menginduksi pembentukan kalus.

Berdasarkan Tabel 1, waktu muncul kalus tercepat diperoleh pada perlakuan M1 (1 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP), yaitu 15,33 ± 3,59 HST, sedangkan waktu muncul kalus terlama terdapat pada perlakuan M3 (3 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP), yaitu 20,40 ± 2,00 HST. Perlakuan M2 menghasilkan waktu muncul kalus sebesar 18,20 ± 2,42 HST. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap waktu munculnya kalus ($p < 0,001$). Hasil uji *Duncan* menunjukkan bahwa perlakuan M1 berbeda nyata dengan M3, namun tidak berbeda nyata dengan M2. Selain itu, perlakuan M2 juga tidak berbeda nyata dengan M3. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa kombinasi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP memberikan respons yang lebih baik dalam mempercepat pembentukan kalus dibandingkan dengan kombinasi ZPT yang lebih tinggi.

Kemunculan kalus yang lebih cepat pada perlakuan M1 diduga disebabkan oleh keseimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin yang sesuai untuk mendukung proses dediferensiasi dan proliferasi sel. Auksin berupa 2,4-D berperan dalam menginduksi sel-sel yang telah terdiferensiasi untuk kembali bersifat meristematik, sedangkan BAP sebagai sitokinin berfungsi merangsang pembelahan sel. Sinergi

Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

kedua hormon tersebut memungkinkan eksplan membentuk kalus dalam waktu yang lebih singkat. Mazzoni-Putman *et al.* (2021) menjelaskan bahwa auksin berperan penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan sel melalui interaksinya dengan berbagai fitohormon, termasuk sitokinin. Sejalan dengan itu, Gao *et al.* (2024) menyatakan bahwa keseimbangan antara auksin dan sitokinin berpengaruh terhadap aktivitas fisiologis sel serta menentukan respons pertumbuhan jaringan tanaman.

Waktu muncul kalus yang lebih lama pada perlakuan M2 dan M3 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi 2,4-D dan BAP tidak selalu mempercepat pembentukan kalus. Keberhasilan induksi kalus tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah ZPT yang diberikan, tetapi juga oleh keseimbangan rasio antara auksin dan sitokinin dalam media kultur. Zhai & Xu (2021) menyatakan bahwa rasio auksin dan sitokinin berperan penting dalam mengatur proses dediferensiasi sel selama pembentukan kalus. Selain itu, Di Bonaventura *et al.* (2024) melaporkan bahwa keseimbangan hormon yang tepat diperlukan untuk mendukung pertumbuhan kalus yang optimal. Pasternak & Steinmacher (2024) menjelaskan bahwa pemberian ZPT dalam konsentrasi yang terlalu tinggi dapat mengganggu keseimbangan hormonal pada jaringan eksplan, sehingga menurunkan respons pertumbuhan dan morfogenesis. Kondisi tersebut diduga menyebabkan pembentukan kalus pada perlakuan M2 dan M3 berlangsung lebih lambat dibandingkan perlakuan M1.

Meskipun konsentrasi ZPT berperan penting dalam menentukan kecepatan pembentukan kalus, keberhasilan induksi kalus juga dipengaruhi oleh faktor genetik dan fisiologis eksplan. Menurut Nguyen *et al.* (2020), kemampuan pembentukan kalus berkaitan dengan faktor genetik yang mengatur respons kultur jaringan. Pernyataan tersebut didukung oleh Mwaniki *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa setiap genotipe tanaman dapat menunjukkan respons yang berbeda terhadap kombinasi ZPT yang diberikan. Oleh karena itu, keberhasilan pembentukan kalus pada penelitian ini diduga merupakan hasil interaksi antara faktor genetik eksplan jeruk sitrun dan keseimbangan konsentrasi 2,4-D serta BAP dalam media kultur, dengan perlakuan M1 menunjukkan respons terbaik dalam mempercepat pembentukan kalus.

Karakteristik Morfologi dan Persentase Tumbuh Kalus

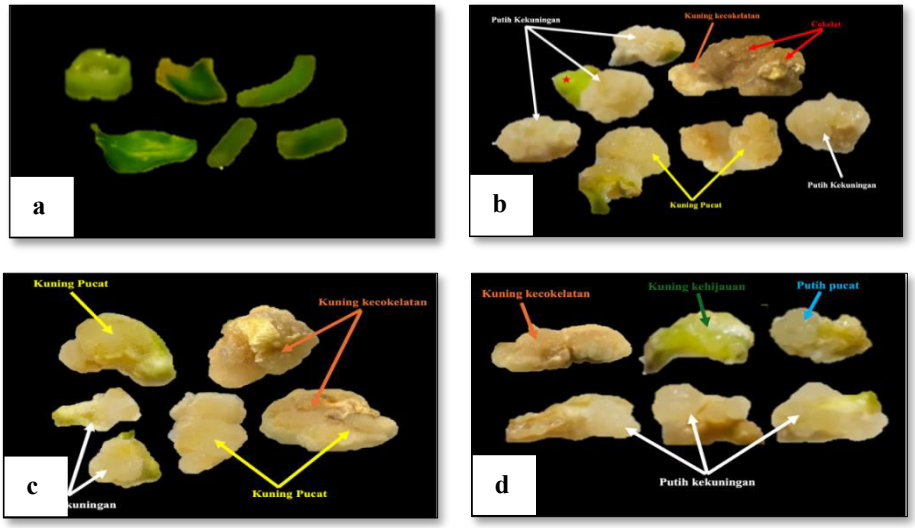
Selain waktu muncul kalus, karakteristik morfologi dan persentase pembentukan kalus juga diamati untuk mengetahui respons eksplan *Citrus limon* terhadap pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP. Hasil pengamatan karakteristik morfologi dan persentase pembentukan kalus pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Morfologi dan Persentase Tumbuh Kalus.

Perlakuan	Karakter Morfologi Kalus		
	Warna Kalus	Tekstur Kalus	Persentase Tumbuh Kalus (%)
M0	-	-	-
M1	Putih kekuningan, kuning kecokelatan, cokelat, dan kuning pucat	Kompak /padat	44,64

Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

Perlakuan	Karakter Morfologi Kalus		
	Warna Kalus	Tekstur Kalus	Persentase Tumbuh Kalus (%)
M2	Kuning pucat, putih kekuningan dan kuning kecokelatan	Kompak /padat	31,64
M3	Kuning kecokelatan, putih pucat, putih kekuningan, dan kuning kehijauan	Kompak /padat	41,11



Gambar 1. Morfologi Kalus yang Teramati pada Setiap Perlakuan. a) Perlakuan M0; b) Perlakuan M1; c) Perlakuan M2; dan d) Perlakuan M3.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pembentukan kalus hanya terjadi pada perlakuan yang mengandung kombinasi 2,4-D dan BAP (M1, M2, dan M3), sedangkan pada perlakuan kontrol (M0) tidak ditemukan adanya kalus. Kalus yang terbentuk memperlihatkan variasi warna, mulai dari putih kekuningan, kuning pucat, kuning kecokelatan, kuning kehijauan hingga cokelat dengan tekstur yang relatif seragam, yaitu kompak. Perbedaan warna kalus tersebut mengindikasikan adanya variasi respons fisiologis eksplan terhadap kombinasi zat pengatur tumbuh yang diberikan. Pembentukan kalus merupakan proses yang diawali oleh dediferensiasi sel, yaitu perubahan sel yang telah terdiferensiasi menjadi sel yang kembali aktif membelah. Proses ini dipengaruhi oleh interaksi antara auksin dan sitokinin dalam media kultur. Bidabadi & Jain (2020) menjelaskan bahwa keseimbangan hormon eksogen berperan penting dalam mengatur dediferensiasi dan proliferasi sel, sehingga mendukung terbentuknya kalus selama kultur *in vitro*.

Tidak terbentuknya kalus pada perlakuan M0 mengindikasikan bahwa hormon endogen yang terdapat dalam eksplan belum cukup untuk merangsang proses dediferensiasi dan pembelahan sel tanpa adanya penambahan zat pengatur tumbuh dari luar. Dalam kultur jaringan, auksin dan sitokinin berperan penting dalam mengaktifkan kembali sel-sel yang telah terdiferensiasi agar kembali memasuki siklus pembelahan. Menurut Lardon & Geelen (2020), interaksi antara auksin dan sitokinin berfungsi mengatur *reprogramming* sel serta mendorong transisi menuju fase pembelahan aktif yang diperlukan dalam proses pembentukan kalus.

Biocaster : Jurnal Kajian Biologi
E-ISSN 2808-277X; P-ISSN 2808-3598
Volume 6, Issue 4, October 2026; Page, 2199-2207
Email: biocasterjournal@gmail.com

Variasi warna kalus yang diamati, mulai dari putih kekuningan hingga kuning kehijauan, mencerminkan perbedaan kondisi fisiologis dan tingkat perkembangan jaringan selama proses kultur *in vitro*. Kalus berwarna putih hingga kuning pucat umumnya mengindikasikan bahwa sel-sel penyusunnya masih aktif membelah dan memiliki tingkat viabilitas yang tinggi. Sebaliknya, munculnya warna kecokelatan pada sebagian kalus menunjukkan terjadinya proses *browning* yang berkaitan dengan oksidasi senyawa fenolik dalam jaringan. Menurut Amente & Chimdessa (2021), *browning* merupakan respons fisiologis yang sering terjadi pada kultur jaringan akibat stres oksidatif dan dapat menurunkan kualitas maupun pertumbuhan kalus. Sementara itu, terbentuknya warna kehijauan pada kalus menunjukkan adanya akumulasi klorofil yang menandakan awal diferensiasi jaringan. Kieber & Schaller (2018) menyatakan bahwa sitokinin berperan dalam merangsang pembentukan klorofil serta perkembangan plastida, sehingga mendukung terjadinya perubahan jaringan menuju fase yang lebih terdiferensiasi selama kultur *in vitro*.

Persentase tumbuh kalus tertinggi diperoleh pada perlakuan M1 sebesar 44,64%, diikuti oleh perlakuan M3 sebesar 41,11%, sedangkan persentase terendah terdapat pada perlakuan M2 sebesar 31,64%. Tingginya persentase pembentukan kalus pada perlakuan M1 menunjukkan bahwa kombinasi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP mampu memberikan keseimbangan hormon yang sesuai untuk mendukung dediferensiasi dan pertumbuhan sel. Sebaliknya, peningkatan konsentrasi ZPT pada perlakuan M2 dan M3 tidak selalu meningkatkan kemampuan eksplan dalam membentuk kalus. Menurut Fehér (2019), keberhasilan pembentukan kalus dipengaruhi oleh respons sel terhadap keseimbangan hormon dalam media kultur. Oleh karena itu, kombinasi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP pada penelitian ini menunjukkan respons yang lebih baik terhadap pembentukan kalus pada eksplan jeruk sitrun.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh terhadap pembentukan kalus jeruk sitrun (*Citrus limon* L.) secara *in vitro*. Pembentukan kalus hanya terjadi pada media yang mengandung kombinasi kedua ZPT tersebut, sedangkan media kontrol tanpa penambahan ZPT tidak menunjukkan adanya pertumbuhan kalus. Perlakuan M1 (1 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP) menghasilkan respons terbaik yang ditandai dengan waktu muncul kalus paling cepat, yaitu 15,33 ± 3,59 HST, serta persentase tumbuh kalus tertinggi sebesar 44,64%. Kalus yang dihasilkan pada seluruh perlakuan memiliki tekstur kompak dengan variasi warna mulai dari putih kekuningan, kuning pucat, kuning kecokelatan, kuning kehijauan, hingga cokelat. Berdasarkan hasil tersebut, kombinasi 1 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP dapat direkomendasikan sebagai formulasi ZPT yang paling efektif untuk menginduksi kalus jeruk sitrun secara *in vitro*.

SARAN

Untuk meningkatkan keberhasilan kultur jaringan jeruk sitrun (*Citrus limon* L.), penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan mengeksplorasi kombinasi ZPT 2,4-

D dan BAP pada berbagai konsentrasi serta menguji potensi regenerasi kalus menjadi organ atau tanaman utuh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo yang telah menyediakan fasilitas dan sarana penelitian. Penelitian ini didanai melalui pendanaan PNBP BLU Universitas Negeri Gorontalo tahun anggaran 2025 , dengan nomor kontrak 565/UN47.D1/PT.01.03/2025. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing atas arahan dan bimbingan yang diberikan selama proses penelitian dan penyusunan artikel ini, serta kepada seluruh pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian hingga selesai.

DAFTAR RUJUKAN

Amente, G., & Chimdessa, E. (2021). Control of Browning in Plant Tissue Culture: A Review. *Journal of Scientific Agriculture, 5*(1), 67-71. https://doi.org/10.25081/jsa.2021.v5.7266

Bidabadi, S. S., & Jain, S. M. (2020). Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration. *Plants, 9*(6), 1-20. https://doi.org/10.3390/plants9060702

Carbajal, E. M., & Milla-Lewis, S. R. (2026). Influence of Auxin and Cytokinin Concentrations on Callus Induction, Subculture Growth, and Somatic Embryogenesis for Plant Regeneration in Zoysiagrass (*Zoysia* spp.). *Grass Research, 6*(1), 1-7. https://doi.org/10.48130/grares-0025-0034

Catalano, C., Las Casas, G., Giuffrida, A., Ferlito, F., Di Guardo, M., Continella, A., Bennici, S., La Malfa, S., Gentile, A., & Distefano, G. (2022). Reproductive Biology Factors Hampering Lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.] Genetic Improvement. *Agriculture, 12*(12), 1-15. https://doi.org/10.3390/agriculture12122020

Chaturvedi, D., Suhane, N., & Shrivastava, R. R. (2016). Basketful Benefit of *Citrus limon*. *International Research Journal of Pharmacy, 7*(6), 1-4. https://doi.org/10.7897/2230-8407.07653

Di Bonaventura, A., Marchetti, S., Petrussa, E., Braidot, E., Colomban, S., Navarini, L., & Zancani, M. (2024). A Protocol for the Development and Maintenance of *Coffea arabica* (L.) Cell Suspension Cultures. *Plant Cell Tiss Organ Cult, 158*(1), 1-13. https://doi.org/10.1007/s11240-024-02848-9

Fehér, A. (2019). Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology? *Frontiers in Plant Science, 10*(1), 1-11. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536

Gao, J., Zhuang, S., & Zhang, W. (2024). Advances in Plant Auxin Biology: Synthesis, Metabolism, Signaling, Interaction with Other Hormones, and Roles under Abiotic Stress. *Plants, 13*(17), 1-20. https://doi.org/10.3390/plants13172523

Hasan, N., Hasan, M. R., Foysal, S. H., Hoque, H., Khan, F., Bhuiyan, F. H., & Prodhan, S. H. (2019). In-Vitro Regeneration of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck from Mature Seed-Derived Embryogenic Callus on Different Solid Basal

Media. *American Journal of Plant Sciences, 10*(1), 285–297. https://doi.org/10.4236/ajps.2019.102022

Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2018). Cytokinin Signaling in Plant Development. *Development (Cambridge, England), 145*(4), 1-7. https://doi.org/10.1242/dev.149344

Lardon, R., & Geelen, D. (2020). Natural Variation in Plant Pluripotency and Regeneration. *Plants, 9*(10), 1-28. https://doi.org/10.3390/plants9101261

Mazzoni-Putman, S. M., Brumos, J., Zhao, C., Alonso, J. M., & Stepanova, A. N. (2021). Auxin Interactions with Other Hormones in Plant Development. *Cold Spring Harbor perspectives in biology, 13*(10), 1-39. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039990

Mwaniki, W. I., Lubabali, A. H., Asava, K. K., Agwanda, C. O., & Anami, S. E. (2019). Effects of Genotype and Plant Growth Regulators on Callus Induction in Leaf Cultures of *Coffea arabica* L. F1 Hybrid. *African Journal of Biotechnology, 18*(31), 1004-1015. https://doi.org/10.5897/AJB2019.16913

Nguyen, T. H. N., Winkelmann, T., & Debener, T. (2020). Genetic Analysis of Callus Formation in a Diversity Panel of 96 Rose Genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 142*(3), 505-517. https://doi.org/10.1007/s11240-020-01875-6

Pagalla, D. B., Kandowangko, N. Y., Ahmad, J., & Febriyanti. (2025). In Vitro Germination of Lemon Cui (*Citrus microcarpa* Bunge). *Jurnal Biolokus : Jurnal Penelitian Pendidikan Biologi dan Biologi, 8*(1), 99–105. https://doi.org/10.30821/biolokus.v8i1.3952

Pan, H., Liao, R., Zhang, Y., Arif, M., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, Y., Zhao, P., Wang, Z., Han, B., & Song, C. (2024). Establishment of Callus Induction and Plantlet Regeneration Systems of *Peucedanum praeruptorum* Dunn Based on the Tissue Culture Method. *Plant Methods, 20*(1), 1-16. https://doi.org/10.1186/s13007-024-01300-5

Pasternak, T. P., & Steinmacher, D. (2024). Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture In Vitro. *Plants, 13*(2), 1-24. https://doi.org/10.3390/plants13020327

Thiry, M., Iken, M., Renaut, J., Lutts, S., & Guerriero, G. (2026). Impact of Plant Growth Regulators on Callus Induction in *Cannabis sativa* L. *Cells, 15*(4), 1-15. https://doi.org/10.3390/cells15040385

Zhai, N., & Xu, L. (2021). Pluripotency Acquisition in the Middle Cell Layer of Callus is Required for Organ Regeneration. *Nature Plants, 7*(11), 1453-1460. https://doi.org/10.1038/s41477-021-01015-8