

In vitro shoot induction from petiole explants of tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) using 6-benzylaminopurine

Induksi tunas dari eksplan petiol tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) dengan penambahan 6-benzilaminopurin secara *in vitro*

Mayta Novaliza Isda*, Riche Afrilla

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

ARTICLE INFO

Article History

Received: Nov 3, 2022
Accepted: May 13, 2023
Available Online: Dec 24, 2023

Keywords:

in vitro micropropagation,
Fagraea fragrans Roxb,
shoot regeneration,
tissue culture,
sustainable plant.

Cite this:

J. Ilm. Pertan., 2023, 20 (3) 209-218
DOI:
<https://doi.org/10.31849/jip.v20i3.11772>

ABSTRACT

Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) is a valuable woody plant from the Loganiaceae family, utilized in construction and furniture production. Unfortunately, the tembesu population continues to decline due to excessive logging, forest fires, and a lack of cultivation efforts. Planting through seeds takes a long time, making *in vitro* propagation an attractive alternative. This research aims to evaluate the effect of 6-benzylaminopurine (BAP) in inducing shoots and determine the optimal BAP concentration on tembesu petiole explants *in vitro*. A completely randomized design (CRD) with six treatment levels (0, 0.5, 1, 1.5, 2, and 2.5 mg/L BAP) and five replications was employed. Despite a 10% shoot formation rate for each treatment, the optimal BAP concentration for callus formation was found to be 0.5 mg/L, with the highest percentage reaching 70%. The results indicate that the addition of different concentrations of BAP to the Murashige & Skoog (MS) medium was ineffective in inducing shoots in tembesu petiole explants. Therefore, further research and the development of more sophisticated *in vitro* propagation techniques are necessary to enhance the success of shoot induction in tembesu. It is hoped that this research will serve as a foundation and motivation for subsequent in-depth studies on *in vitro* propagation of tembesu, supporting the conservation and development of this plant.

ABSTRAK

Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) merupakan tanaman kayu berharga dari famili Loganiaceae, digunakan dalam konstruksi dan pembuatan furnitur. Sayangnya, populasi tembesu terus mengalami penurunan akibat penebangan berlebihan, kebakaran hutan, dan kurangnya usaha budidaya. Penanaman melalui biji memakan waktu lama, sehingga perbanyakan *in vitro* menjadi pilihan alternatif yang menarik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh 6-benzilaminopurin (BAP) dalam menginduksi tunas dan menentukan konsentrasi BAP optimal pada eksplan petiol tembesu secara *in vitro*. Rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam taraf perlakuan (0, 0.5, 1, 1.5, 2, dan 2.5 mg/L BAP) dan lima ulangan digunakan dalam penelitian ini. Meskipun persentase pembentukan tunas mencapai 10% untuk setiap perlakuan, konsentrasi BAP terbaik untuk pembentukan kalus adalah 0.5 mg/L dengan persentase tertinggi 70%. Hasil menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi BAP pada media Murashige & Skoog (MS) belum efektif menginduksi tunas pada eksplan petiol tembesu. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut dan pengembangan teknik perbanyakan *in vitro* diperlukan untuk meningkatkan keberhasilan induksi tunas pada tembesu. Harapannya, penelitian ini dapat menjadi dasar dan motivasi bagi penelitian lanjutan yang mendalam terkait perbanyakan *in vitro* pada tanaman tembesu, mendukung pelestarian dan pengembangan tanaman ini.

*Corresponding author

E-mail: mayta.isda@lecturer.unri.ac.id

PENDAHULUAN

Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) termasuk tanaman pionir yang tumbuh pada daerah bekas terbakar dan padang rumput. Tanaman ini dapat ditemukan di hutan primer dan hutan sekunder pada daerah rawa ataupun rawa gambut (Ardiansyah et al., 2014). Populasi tembesu terus menurun karena belum banyak upaya budidaya yang dilakukan masyarakat (Mindawati et al., 2014). Pohon tembesu saat masa pemanenan memiliki pertumbuhan yang lama setelah ditebang yaitu sekitar 20 tahun (Istomo et al., 2014). Penanaman tembesu kebanyakan menggunakan bibit asalan (cabutan alami dan benih bukan hasil pemuliaan) (Sianturi et al., 2017). Namun bibit cabutan ini tidak mencukupi untuk produksi karena perkecambahan biji tembesu yang lama. Biji tembesu memiliki ukuran yang cukup variatif dan sangat kecil. Jumlah biji dalam satu buah bervariasi antara 8-50 biji tergantung ukuran buah. Kulit biji relatif keras sehingga biji memiliki sifat dormansi yang tinggi akibatnya biji tembesu sangat sulit untuk berkecambah. Dormansi terjadi disebabkan keadaan fisik, fisiologis, dan kimiawi. Buah tembesu mempunyai ukuran yang cukup variatif, baik antar pohon maupun dalam pohon yang sama. Perbanyakkan tembesu secara vegetatif sudah dilakukan seperti cara setek batang dengan keberhasilan tumbuh 92%. (Ardiansyah et al., 2014; Azahra et al., 2022). Solusi lain dalam mengatasi perbanyakkan tembesu adalah menggunakan teknik *in vitro*.

Sitokinin berperan dalam pembentukan dan perbanyakkan tunas serta pembelahan sel. Sitokinin yang sering digunakan dalam teknik *in vitro* yaitu 6-benzilaminopurin (BAP). BAP memiliki kemampuan yang tinggi dalam inisiasi tunas, pemanjangan tunas, pembentukan tunas samping, pelebaran daun, dan mampu merangsang pembentukan pucuk (Ashraf et al., 2014). Pada tanaman tembesu untuk induksi tunas dengan pemberian BAP sangat mempengaruhi jumlah tunas yang dihasilkan. Beberapa penelitian untuk induksi tunas tembesu dengan penambahan BAP sudah dilakukan menggunakan eksplan tunas dan biji. Induksi tunas menggunakan eksplan tunas tembesu pada media MS dengan penambahan 1.5 mg/L BAP mampu menginduksi tunas adventif dan aksiler serta memiliki nilai tertinggi jumlah daun yang dihasilkan dibandingkan dengan perlakuan tanpa BAP. Pada perlakuan 1.5 mg/L BAP menggunakan media MS menghasilkan 8,667 tunas per eksplan tunas tembesu (Ardiansyah et al., 2014). Berdasarkan penelitian Sianturi et al. (2017) pemberian 1 mg/L BAP pada media MS dari eksplan daun tembesu menghasilkan tunas aksiler lebih banyak yaitu 7 tunas per eksplan dan pada konsentrasi 1.5 mg/L BAP menghasilkan tunas adventif dengan persentase tertinggi yaitu 13%. Pada penelitian ini menggunakan eksplan petiol (tangkai daun).

Sumber eksplan petiol (tangkai daun) merupakan eksplan alternatif karena petiol dapat diperoleh dalam jumlah yang banyak. Umumnya penggunaan eksplan tangkai daun (petiol) untuk perbanyakkan tanaman lebih efisien karena tidak mengganggu hasil produksi atau panen (Ibrahim, 2019). Penelitian Hesami et al. (2018), regenerasi tunas dari petiol *Ficus religiosa* pada media MS diperoleh hasil rata-rata tunas 10.13 tunas per eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian BAP dalam menginduksi tunas dan menentukan konsentrasi BAP terbaik dari eksplan petiol tembesu (*F. fragrans* Roxb) secara *in vitro*. Diharapkan nantinya dapat menghasilkan banyak tunas yang bersifat embriosomatik yang sifatnya sama dengan induknya, sehingga dapat dihasilkan tembesu yang berkualitas.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan petiol tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb) yang diambil dari pohon induk di kebun Jurusan Biologi FMIPA UNRI, sementara bahan-bahan kimia komersial diperoleh secara lokal. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 taraf perlakuan dan 5 ulangan. Konsentrasi BAP yang digunakan yaitu P0 (kontrol), P1 (0.5 mg/L BAP), P2 (1 mg/L BAP), P3 (1.5 mg/L BAP), P4 (2 mg/L BAP) dan P5 (2.5 mg/L BAP).

Preparasi eksplan petiol mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Andriani (2022) dengan beberapa modifikasi. Eksplan petiol tembesu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dicuci dengan deterjen selama 10 menit sambil diaduk. Setelah itu dibilas dengan air mengalir sebanyak 3 kali. Selanjutnya eksplan dibiarkan di bawah air mengalir selama

10 menit kemudian direndam dengan fungisida dan bakterisida selama 10 menit sambil diaduk. Eksplan dibilas dengan air mengalir sebanyak 3 kali dan dibiarkan di bawah air mengalir selama 60 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Kemudian sterilisasi dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (Daihan Lab Tech, Korea Selatan). Eksplan direndam dengan larutan fungisida dan bakterisida masing-masing selama 60 menit. Eksplan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali kemudian direndam dalam larutan amoksisilin (Hexpharm Jaya, Indonesia) (500 mg dalam 200 mL akuades) selama 10 menit dan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Selanjutnya eksplan direndam dengan ketokonazol 2% (Mycoral®, PT Kalbe Farma, Indonesia) selama 10 menit dan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Kemudian eksplan direndam dalam larutan NaOCl 5% (Bayclin®, S. C. Johnson, Amerika Serikat) dan ditetesi dengan Tween-20® (Merck, Amerika Serikat) sebanyak 3-5 tetes selama 10 menit dan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Eksplan direndam lagi menggunakan alkohol (OneMed, Indonesia) 70% selama 7 menit dan dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Eksplan dipotong menggunakan *scalpel* dengan ukuran sekitar 0.5-1 cm dan ditanam secara aseptik pada media MS dengan (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5) mg/L BAP. Setiap botol kultur ditanam dua eksplan petiol dengan posisi horizontal.

Pengamatan pada penelitian ini dilakukan selama 30 hari setelah tanam (HST) berdasarkan penelitian terdahulu (Ardiani, 2022) dengan parameter pengamatan yaitu persentase eksplan hidup (%), persentase terbentuknya tunas (%), waktu terbentuknya tunas (HST), jumlah tunas, persentase terbentuknya kalus (%), dan persentase eksplan browning (%). Data hasil pengamatan disajikan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase eksplan hidup & persentase terbentuknya tunas

Persentase eksplan hidup dan persentase terbentuknya tunas pada eksplan petiol tembesu (*F. fragrans* Roxb) disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 eksplan petiol tembesu memiliki persentase hidup berkisar antara 40% sampai dengan 60%. Semua eksplan yang hidup memberikan perkembangan membentuk tunas, kalus, nodul dan eksplan berwarna hijau.

Tabel 1. Persentase eksplan hidup (%) dan persentase terbentuknya tunas (%) dengan konsentrasi BAP yang berbeda selama 30 HST (n = 5)

Perlakuan BAP (mg/L)	Persentase eksplan hidup (%)	Persentase terbentuknya tunas (%)
0	40	10
0.5	60	10
1	50	10
1.5	50	10
2	50	10
2.5	40	10

Persentase hidup terendah terdapat pada kontrol dan perlakuan P5 (2.5 mg/L BAP) yaitu 40%. Pada kontrol rendahnya persentase hidup diduga karena media yang hanya terdiri dari media MS yang berisi kandungan nutrisi tanpa penambahan ZPT. Perlakuan P1 (0,5 mg/L BAP), P2 (1 mg/L BAP), P3 (1.5 mg/L BAP) dan P4 (2 mg/L BAP) memiliki persentase hidup yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Diduga dengan penambahan BAP mendukung pertumbuhan eksplan membentuk tunas dan kalus. Perlakuan P1 (0.5 mg/L BAP) menghasilkan persentase hidup tertinggi yaitu 60% merupakan perlakuan terbaik dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini menunjukkan penambahan BAP lebih dari 0.5 mg/l pada media menyebabkan persentase hidup semakin rendah. Menurut Prasetyo et al. (2020) ZPT dengan konsentrasi tinggi akan menghambat pertumbuhan sedangkan konsentrasi rendah tidak dapat memacu pertumbuhan. Rendahnya persentase hidup eksplan pada penelitian ini diduga juga dikarenakan terjadinya browning pada eksplan, beberapa

eksplan juga mengalami kontaminasi di setiap ulangan pada perlakuan. Menurut Yanti (2020) eksplan hidup ditandai dengan warna eksplan yang masih hijau, tidak mengalami kontaminasi jamur atau bakteri dan tidak mengalami browning. Adanya kontaminasi diduga dari asal eksplan yang digunakan dimana eksplan langsung diambil dari lapangan sehingga kontaminasi terhadap eksplan sangat tinggi.

Proses sterilisasi eksplan pada penelitian ini dilakukan di luar dan di dalam *laminar air flow* (LAF) menggunakan senyawa kimia seperti sabun cair, bakterisida, fungisida, amoksisilin, alkohol 70%, NaOCl 5%, dan ketokonazol 2%. Admojo & Prasetyo (2016) menyatakan bahwa penggunaan eksplan petiol berpotensi memiliki mikroba yang lebih banyak karena mengandung getah lebih banyak dibandingkan eksplan midrib daun tanaman karet (*Havea brasiliensis* Muell. Arg.) sehingga membutuhkan sterilisasi yang lebih lama dan lebih banyak. Tembesu juga memiliki getah yang banyak terutama pada bagian petiol. Diduga getah pada eksplan petiol tembesu merupakan faktor penghambat pembentukan tunas eksplan petiol tembesu. Di dalam getah terdapat senyawa fenolik yang keluar ketika terjadi perlakuan pada jaringan tanaman. Senyawa fenolik yang bersifat toksik mengakibatkan eksplan mengalami browning dan menghambat penyerapan nutrisi oleh eksplan sehingga mengakibatkan kematian. Menurut Syabana et al. (2015) pada getah terkandung senyawa fenolik yang saat terjadi pelukaan atau pemotongan akan keluar dan teroksidasi sehingga terjadi browning.

Kontaminasi oleh jamur ditandai dengan terdapat hifa berwarna putih pada eksplan yang terus berkembang dan memenuhi media dan menyebabkan kematian eksplan. Sedangkan kontaminasi oleh bakteri ditandai dengan terdapat lendir berwarna putih yang membentuk koloni pada media dan di bawah eksplan. Kontaminasi dapat terjadi karena eksplan yang diambil berasal dari lapangan terbuka yang rentan terkena mikroorganisme. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, persentase terbentuknya tunas sangat rendah dengan rata-rata 10% untuk setiap perlakuan (Tabel 1). Diduga hal ini terjadi karena eksplan petiol tembesu memiliki kemampuan yang rendah dalam membentuk tunas pada media MS tanpa ataupun dengan penambahan BAP. Tunas yang terbentuk ditandai dengan adanya titik berwarna hijau pada ujung eksplan petiol yang kemudian meruncing dan memanjang. Pada penelitian ini pembentukan tunas dari petiol terjadi secara langsung (organogenesis langsung). Hasil yang sama juga diperoleh dari penelitian Sianturi et al. (2017), tunas yang tumbuh pada eksplan daun tembesu terbentuk melalui organogenesis langsung pada media MS yaitu dengan penambahan 1.5 mg/L BAP dihasilkan tunas adventif sebesar 13%.

Waktu muncul tunas

Waktu muncul tunas pada eksplan petiol tembesu selama 30 HST disajikan dalam Tabel 2. Hasil penelitian yang diperoleh tidak semua ulangan pada setiap perlakuan mampu menghasilkan tunas. Diduga media MS dengan penambahan BAP kurang optimal dalam menginduksi tunas pada eksplan petiol tembesu.

Tabel 2. Waktu muncul tunas (HST) dengan konsentrasi BAP yang berbeda selama 30 HST

Perlakuan BAP (mg/L)	Ulangan				
	1	2	3	4	5
0	10	-	-	-	-
0.5	-	2	-	-	-
1	4	-	-	-	-
1.5	-	-	10	-	-
2	-	7	-	-	-
2.5	-	7	-	-	-

Keterangan: Tanda (-) menunjukkan tunas tidak tumbuh

Berdasarkan Tabel 2 waktu muncul tunas tercepat yaitu perlakuan P1 (0.5 mg/L BAP) dengan waktu muncul tunas 2 HST. Tunas yang terbentuk ditandai dengan adanya titik berwarna hijau pada pangkal eksplan petiol yang kemudian meruncing dan memanjang. Sama halnya dengan penelitian Sianturi et al. (2017) tunas yang terbentuk diawali dengan munculnya titik berwarna putih hingga hijau keputihan pada eksplan. P0 (kontrol) dan P3 (1.5 mg/L) merupakan perlakuan dengan waktu muncul tunas terlama yaitu 10 HST. Munculnya tunas pada perlakuan kontrol menunjukkan bahwa media MS tanpa penambahan BAP mampu menginduksi tunas dari eksplan petiol tembesu.

Waktu muncul tunas pada eksplan petiol tembesu lebih cepat dibandingkan eksplan daun tembesu yang dilakukan oleh Sianturi et al. (2017) yaitu waktu munculnya tunas pada eksplan daun tembesu yaitu minggu keempat setelah tanam pada media MS dengan penambahan 1.5 mg/L BAP. Hasil penelitian Ardiansyah et al. (2014) bahwa pertumbuhan tunas pada eksplan tunas tembesu terjadi pada minggu kedua yang ditandai dengan adanya tunas-tunas kecil yang terdapat pada ketiak daun dan tunas yang tumbuh pada daun.

Jumlah tunas

Jumlah tunas dari eksplan petiol pada penelitian ini berkisar 1-2 buah tunas (Tabel 3 dan Gambar 1). Berdasarkan Tabel 3 pada kontrol dan perlakuan 2 mg/L BAP memiliki jumlah tunas terbanyak yaitu menghasilkan 2 (dua) tunas/eksplan terdapat pada kontrol dan penambahan 2 mg/L BAP. Penggunaan zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi 0.5; 1; 1.5; 2 dan 2.5 mg/L diduga kurang efektif dalam menginduksi tunas dari eksplan petiol tembesu.

Tabel 3. Jumlah tunas yang muncul (buah) dengan konsentrasi BAP yang berbeda selama 30 HST

Perlakuan BAP (mg/L)	Ulangan				
	1	2	3	4	5
0	2	-	-	-	-
0.5	-	1	-	-	-
1	1	-	-	-	-
1.5	-	-	1	-	-
2	-	2	-	-	-
2.5	-	1	-	-	-

Keterangan: Tanda (-) menunjukkan tunas tidak tumbuh



Gambar 1. Tunas dari eksplan petiol tembesu pada media MS dengan penambahan BAP: (a) P1 (0,5 mg/L) (b) P4 (2 mg/L)

Hal ini diduga sel-sel pada eksplan memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon media pertumbuhan. Menurut Mukasyaf et al. (2017) adaptasi awal eksplan terhadap media kultur akan menyebabkan terjadinya keragaman pertumbuhan dan perkembangan tunas. Hal ini berbeda dari penelitian Ardiansyah et al. (2014) yaitu jumlah tunas yang lebih tinggi pada perlakuan dengan penambahan 1.5 mg/L BAP menghasilkan 8.67 tunas/eksplan dibandingkan perlakuan tanpa penambahan BAP hanya menghasilkan 1.333 tunas/eksplan. Rosyidah et al. (2014) menyatakan bahwa tidak semua eksplan dapat merespon ZPT pada media karena setiap sel memiliki kemampuan yang berbeda dalam memberikan respon terhadap media pertumbuhan. Diduga penggunaan eksplan petiol pada tembesu kurang efektif dibandingkan eksplan tunas dan daun.

Pertumbuhan kalus

Eksplan petiol juga membentuk kalus pada penelitian ini. Eksplan yang digunakan merupakan bagian meristematik yang aktif membelah karena petiol yang diambil merupakan daun muda yang terletak di ujung ranting. Eksplan petiol akan mengalami pembengkakan pada bagian pangkal yang dipotong pada minggu pertama setelah tanam yang merupakan respon eksplan terhadap penyerapan nutrisi pada media. Kemudian pembengkakan akan semakin membesar dan berbentuk bulatan kalus.

Tabel 4. Persentase terbentuknya kalus, pertumbuhan kalus, waktu muncul kalus, tekstur dan warna kalus pada media dengan penambahan BAP (30 HST) (n=5)

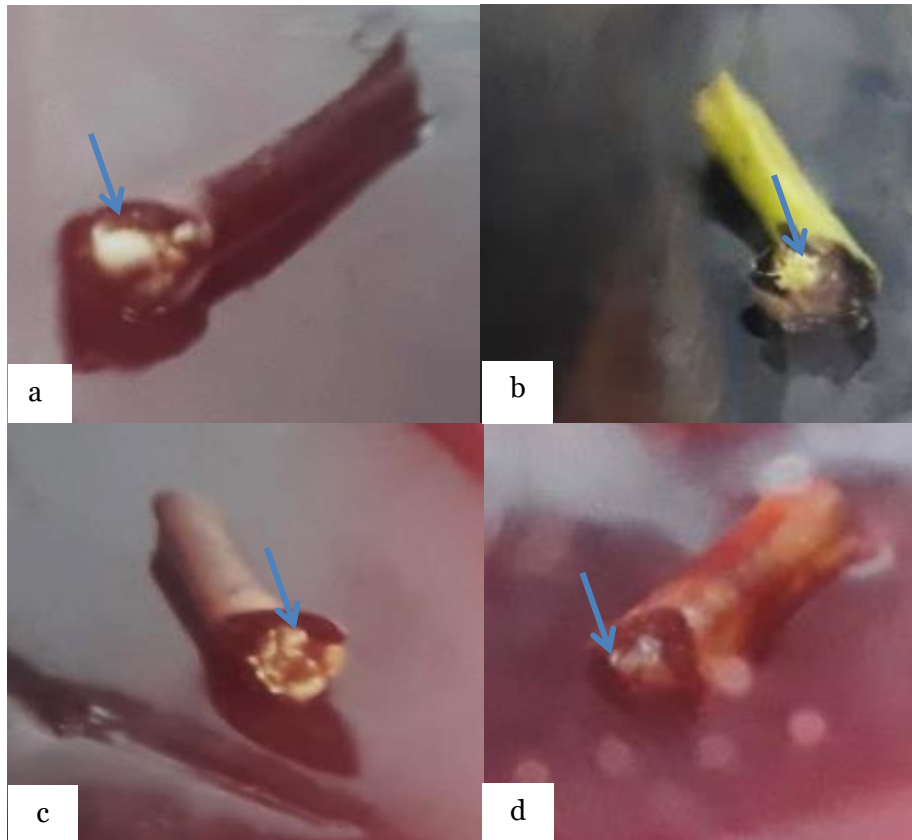
Perlakuan BAP (mg/L)	Persentase terbentuknya kalus (%)	Pertumbuhan kalus	Tekstur kalus	Warna Kalus
0	30	+	Kompak	Putih
0.5	70	++	Kompak	Hijau, kuning
1	60	++	Kompak	Hijau, kuning
1.5	60	+	Kompak	Hijau, kuning
2	50	+	Kompak	Kuning
2.5	30	+	Kompak	Kuning kecoklatan

Keterangan: Tanda (+) lebih sedikit kalus yang tumbuh, tanda (++) kalus yang tumbuh lebih banyak

Menurut Saptiani et al. (2020) bahwa pertumbuhan awal pada eksplan terjadi pembengkakan pada bagian permukaan eksplan yang merupakan suatu proses dari penyerapan air dan nutrisi dari media oleh jaringan yang kemudian terjadi pembelahan sel. Menurut Ariani et al. (2016) umumnya kalus akan terbentuk pada bagian eksplan yang terluka. Hormon eksogen akan bedifusi ke dalam jaringan dan bekerja sama dengan hormon endogen yang kemudian menstimulasi pembelahan sel dan memicu terbentuknya kalus.

Perlakuan 2.5 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang menghasilkan kalus terendah yaitu 30% sedangkan perlakuan 0.5 mg/L BAP merupakan konsentrasi dengan persentase kalus tertinggi yaitu 70%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP maka semakin kecil terbentuknya kalus pada eksplan petiol tembesu. Rendahnya persentase pembentukan kalus diduga pada penelitian ini belum adanya tambahan auksin yang berperan penting dalam induksi kalus, sehingga peran BAP menjadi tidak optimal, dimana diketahui kerja BAP akan optimal jika diberi tambahan Auksin dalam jumlah sedikit. Pada penelitian Sianturi et al. (2014) pembentukan kalus pada eksplan daun tembesu sangat sedikit yang ditandai dengan butiran putih kompak dan saling menempel atau bahkan tidak ada sama sekali.

Salah satu indikator pertumbuhan kalus yang dapat dilihat secara visual adalah warna dan tekstur kalus. Kalus dari hasil penelitian ini memiliki tekstur kompak. Pada penelitian ini tidak ditemukan tekstur remah. Menurut Ariani et al. (2016) kalus kompak memiliki susunan yang padat dan sulit untuk dipisahkan, sedangkan kalus remah memiliki susunan yang renggang, rapuh dan sedikit mengandung air. Warna kalus yang dihasilkan dari eksplan petiol adalah warna putih, hijau dan kuning kecoklatan (Tabel 4 dan Gambar 2). Warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang terbentuk.



Gambar 2. Warna kalus eksplan petiol tembesu pada media MS dengan penambahan BAP, a: putih (P0 /kontrol); b: hijau (P1 /0.5 mg/L); c: kuning (P2/1 mg/L); d: kuning kecoklatan (P5 /2.5 mg/L).



Gambar 3. Kalus membentuk nodul, a: P1 (0.5 mg/L); b: P2 (1 mg/L); c: P3 (1.5 mg/L); d: P4 (2 mg/L).

Warna kalus yang berwarna kuning kecoklatan kemungkinan penurunan pertumbuhan pada sel sel kalus. Menurut Mahadi et al. (2016) bahwa perubahan warna kalus menjadi coklat (browning), hal ini diduga karena sel mengalami degradasi fisiologis akibat kekurangan unsur hara atau hormon tumbuhnya sehingga kalus menunjukkan ciri ketuaan. Puteri et al. (2014) menyatakan bahwa kalus warna putih belum mengandung kloroplas tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi dan memiliki jaringan embrionik. Perubahan warna kalus menjadi hijau seiring dengan berjalannya waktu merupakan pertanda bahwa kalus tumbuh dan sel-selnya aktif membelah diri.

Perkembangan kalus selanjutnya membentuk nodul (Gambar 3). Nodul merupakan pertumbuhan awal dari terbentuknya tunas. Hariono et al. (2018) menyatakan bahwa nodul merupakan sekumpulan sel yang belum terorganisasi ke dalam bentuk organ tunas atau akar berbentuk bulat dan bengkak pada eksplan. Dalam kondisi yang sesuai nodul akan menjadi tunas dan kebanyakan nodul akan membentuk tunas lebih banyak. Pada Gambar 4. dapat dilihat terbentuknya nodul pada perlakuan 0.5 mg/L BAP, 1 mg/L BAP, 1.5 mg/L BAP dan 2 mg/L BAP. Namun setelah 30 hari pengamatan nodul yang terbentuk tidak lagi berkembang dan berubah berwarna menjadi coklat. Sehingga nodul yang terbentuk tidak dapat membentuk tunas.

Persentase eksplan browning

Berdasarkan Tabel 5 persentase browning tertinggi yaitu 60% pada perlakuan kontrol dan 2.5 mg/L BAP. Diduga penyebab terjadinya browning karena kandungan senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman tembesu. Eksplan mengalami perkembangan dan terjadi respon pembentukan tunas, kalus dan nodul. Namun beberapa eksplan mengalami kontaminasi dan pencoklatan atau browning. Pada awal penanaman eksplan berwarna hijau segar, kemudian eksplan mulai mencoklat pada bagian yang dipotong setelah beberapa hari penanaman. Pada minggu ketiga seluruh bagian eksplan mencoklat dan tidak terdapat tanda perkembangan dari eksplan yang mengindikasikan bahwa eksplan mengalami kematian.

Eksplan browning terjadi karena adanya senyawa fenolik dalam tumbuhan yang saat luka atau dipotong akan teroksidasi. Dwiyani (2015) menyatakan bahwa senyawa fenolik termasuk metabolit sekunder yang tersimpan di dalam vakuola sel tanaman. Saat pemotongan eksplan vakuola akan pecah dan eksudat senyawa fenol keluar. Senyawa fenolik yang teroksidasi akan menghasilkan senyawa kuinon yang toksik dan reaktif bagi tanaman dan menyebabkan kematian sel. Menurut Handayani et al. (2021) browning terjadi karena senyawa fenolik yang keluar dari eksplan akibat perlakuan yang mengaktifkan enzim polifenol oksidase (PPO) dan teroksidasi oleh oksigen.

Tabel 5. Persentase eksplan browning dengan konsentrasi BAP yang berbeda selama 30 HST (n=5)

Perlakuan BAP (mg/L)	Persentase browning (%)
0	60
0.5	30
1	30
1.5	30
2	40
2.5	60

Pada penelitian yang dilakukan dalam media tanam sudah ditambahkan arang aktif sebagai senyawa pencegah browning sebanyak 2 g/L pada media. Menurut Tarampak et al. (2019) arang aktif dapat menyerap senyawa fenol karena memiliki permukaan luas dan pori-pori yang terbuka. Diduga jumlah arang aktif yang ditambahkan ke dalam media belum mampu

mengatasi browning pada eksplan petiol tembesu. Hal ini dapat disimpulkan bahwa jumlah arang aktif yang ditambahkan dalam media belum mampu menghambat terjadinya browning pada eksplan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi BAP pada media MS belum memberikan pengaruh nyata dalam menginduksi tunas pada eksplan petiol tembesu (*F. fragrans* Roxb). Pada penelitian ini ditemukan persentase eksplan hidup tertinggi yaitu pada perlakuan 0.5 mg/L BAP sebesar 60%. Persentase terbentuknya tunas pada eksplan petiol sebesar 10% untuk setiap perlakuan. Eksplan petiol tembesu dapat membentuk kalus dengan persentase tertinggi sebesar 70% untuk perlakuan 0.5 mg/L BAP. Pada penelitian ini belum menghasilkan induksi tunas terbaik maka perlu dilakukan optimalisasi konsentrasi BAP untuk menginduksi tunas dari eksplan petiol tembesu dan perlakuan teknik sterilisasi yang dapat meminimalisir kontaminasi dan browning perlu penelitian lebih lanjut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dan memberi masukan selama penelitian. Terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Riau yang telah membiayai penelitian ini melalui dana DIPA Universitas Riau Skema Bidang Ilmu untuk Tahun Ajaran 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Admojo, L., & Prasetyo, N. E. (2016). Pengaruh sterilan terhadap tingkat kontaminasi pada kultur petiol dan midrib daun tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) Klon Pb 330. *Jurnal Penelitian Karet*, 34(2), 151-164. <https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v34i2.319>
- Ardiansyah, R., Supriyanto, Wulandari, A. S., Subandy, B., & Fitriani, Y. (2014). Teknik sterilisasi eksplan dan induksi tunas dalam mikropropagasi tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb). *Jurnal Silviculture Tropika*, 5(3), 167-173. <https://doi.org/10.29244/j-siltrop.5.3.%25p>
- Ariani, R., Anggraito, Y. U., Rahayu E. S. (2016). Respon Pembentukan Kalus Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP. *Jurnal MIPA*. 39(1): 20-28. <https://doi.org/10.15294/ijmns.v39i1.7695>
- Ardiani, W. (2022). Induksi Kalus Eksplan Petiol Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Dengan Penambahan BAP (*Benzyl Amino Purine*) Dan 2,4-D (*Dichloropenoxyacetic Acid*) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Universitas Riau.
- Ashraf, M. F., Aziz, M. A., Kemat, N., & Ismail, I. (2014). Effect of cytokinin types, concentrations and their interactions on *in vitro* shoot regeneration of *Chlorophytum borivilianum* Sant. & Fernandez. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(17) 275-279. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.08.004>.
- Azahra, T., Suharto, E., Putranto, B., & Agung, N. (2022). Pengaruh lama perendaman H₂SO₄ dan ukuran biji terhadap perkecambahan biji tembesu (*Fagraea fragran* Roxb.). *Journal of Global Forest and Environmental Science*, 2(3), 11-21.
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari Percetakan & Penertbit. Bali.
- Handayani, E., Irsyadi, M. B., Aris, I., Alawiyah R. L. M. N., Ayuningtias, N., Permatasari, F., & Rineksane, I. A. (2021). Optimalisasi sterilisasi endosperma kepel (*Stelecthocarpus burahol* [BI] Hook F. & Th) secara *in vitro*. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 4(2), 113-121. <https://doi.org/10.32938/jbe.v6i2.1179>
- Hariono, E., Isda, M. N., & Fatonah, S. (2018). Pembentukan Nodul dari biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis pada media WPM dengan penambahan BAP dan madu. *Journal of Biology*, 11(1), 16-24. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v11i1.5422>
- Hesami, M., Daneshvar, M. H., & Najafabadi, M. Y. (2018). An Efficient *In Vitro* Shoot Regeneration Through Direct Organogenesis From Seedling-Derived Petiole and Leaf Segments And Acclimatization of *Ficus religiosa*. *Journal of Forestry Research*, 30, 807-815. [10.1007/s11676-018-0647-0](https://doi.org/10.1007/s11676-018-0647-0)
- Ibrahim, M. S. D. (2019). Perbanyakkan lles-lles (*Amorphophallus* spp.) Secara Konvensional dan Kultur *In Vitro* serta Strategi Pengembangannya. *Perspektif*, 18(1), 67-78. <https://doi.org/10.21082/psp.v18n1.2019.67-78>

- Istomo, Subiakto, A., & Rahmadianto, S. (2014). Pengaruh asal bahan dan media stek terhadap keberhasilan stek pucuk tembesu *Fagraea fragrans* (Roxb). *Berita Biologi*, 13(3), 275-281. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v13i3.671>
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. (2016). Pengaruh pemberian hormon 2,4-D dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*). *Jurnal Biogenesis*, 12(2), 99-104.
- Mindawati, N., Nurohma, H. S., & Akhmad, C. (2014). *Tembesu kayu raja andalan Sumatera*. Forda Press.
- Mukasyaf, A. A., Faridah, E., Indrioko, S., & Herawan, T. (2017). Induksi Tunas, Multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops versteegii*(Gilg.) domke Secara *In Vitro*. *JPTH*, 11, 155-168.
- Prasetyo R., Sugiyono, Prayoga, L. (2020). Induksi Tunas Mikro Pisang Kultivar Ambon Nangka (*Musa* sp.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Subtropika*. 5 (2): 45-50. <https://doi.org/10.31002/vigor.v5i2.3044>
- Puteri, R. F., Ratnasari E, Isnawati. (2014). Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) secara *In Vitro*. *LenteraBio* Vol 3(3): 154-159.
- Rosyidah, M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. S. (2014). Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi *Dichlorophenoxyacetic Acid*(2,4-D) dan *6-Benzylamino Purine*(BAP) Pada *Media MS Secara In Vitro*. *Lentera Bio*, 3(3), 147-153.
- Saptiani, E., Rahmi, H., & 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. <https://doi.org/10.33661/jai.v5i2.4351>.
- Sianturi D. R., Supriyanto, S., Wulandari, A.S., Subandy, B. (2017). Regenerasi Tunas Adventif Dari Eksplan Daun Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. 14 (1): 1-17. <https://doi.org/10.20886/jpht.2017.14.1.1-17>
- Syabana, M. A., Marianingsih, P., Hermita, N., & Rohimah, I. (2017). Induksi dan Pertumbuhan Kalus Tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni M.) dengan Perbedaan Konsentrasi Peg (Polyethylene Glycol) Pada Kondisi Pencahayaan Secara *In Vitro*. *Jurnal Biodidaktika*, Vol 12 (2), 57-68.
- Tarampak, T. C., Sullistiawati, & Nirmala, R. (2019). Metode Mengatasi Browning pada Eksplan Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) untuk Inisiasi Regenerasi Secara *In Vitro*. *Jurnal Agroteknologi Tropika Lembab*, 1(2), 106-117. <http://dx.doi.org/10.35941/jatl.1.2.2019.1972.106-113>
- Yanti, D. (2020). *Induksi Tunas dari Eksplan Nodus Jeruk Kasturi (Citrus microcarpa Bunge.) dengan penambahan 6-benzilaminopurine (BAP) secara in vitro* [Skripsi]. Universitas Riau.