

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*) merupakan tanaman endemik Indonesia yang dapat ditemukan di pulau Sumatra, Jawa, Kalimantan, Bali, dan Sulawesi (Handayani dkk., 2021). Meskipun dapat ditemukan di beberapa tempat di Indonesia, kepel ditetapkan sebagai flora identitas dari Daerah Istimewa Yogyakarta dengan status konservasi dilindungi (Fitrianingsih, 2021). Status kepel sebagai flora identitas Daerah Istimewa Yogyakarta berasal dari konsumsi kepel yang dilakukan oleh putri Keraton sebagai cara menghilangkan bau badan (Shadrina dkk., 2022). Konsumsi oleh anggota keraton ini mengakibatkan jumlah tanaman kepel yang ditanam di luar lingkungan keraton sedikit, dikarenakan adanya pandangan bahwa kepel hanya dapat ditanam di lingkungan keraton (Soeroto dkk., 2018). Populasi tanaman kepel yang rendah mendorong upaya perbanyakan tanaman kepel.

Perbanyakan tanaman kepel secara generatif terhambat oleh siklus pembuahan kepel yang baru dapat berjalan saat tanaman kepel mencapai umur 8 tahun (Shadrina dkk., 2022). Lambatnya proses pembuahan kepel juga terhambat pada biji kepel yang membutuhkan waktu beberapa bulan untuk berkecambah. Permasalahan ini sebelumnya dicoba untuk diatasi melalui perbanyakan vegetatif seperti penyetekan dan pencangkokan namun hasil yang diperoleh tidak memuaskan (Soeroto dkk., 2018). Sulitnya perbanyakan tanaman kepel secara generatif dan ketidakberhasilan perbanyakan dengan

metode vegetatif mengakibatkan dibutuhkan metode alternatif untuk mempermudah perbanyakan dari tanaman kepel.

Metode perbanyakan yang dapat dilakukan salah satunya melalui kultur *in vitro* dengan mikropropagasi. Mikropropagasi merupakan proses perbanyakan tanaman menggunakan bagian kecil tanaman tersebut dalam kondisi steril. Metode mikropropagasi yang potensial untuk perbanyakan adalah embriogenesis somatik. Metode ini dapat menghasilkan tanaman dengan sifat yang sama dengan induknya dan memiliki kemampuan diferensiasi yang sama dengan embrio zigotik (Ponmurugan dan Kumar, 2012). Salah satu eksplan yang umum digunakan menurut Lee dkk. (2024) adalah eksplan daun dikarenakan kemampuan regenerasinya yang tinggi namun, berdasarkan Shadrina dkk. (2022), daun kepel memiliki kandungan fenolik yang tinggi. Tingginya senyawa fenolik pada daun kepel menjadi hambatan untuk kultur *in vitro*, dikarenakan akumulasi senyawa fenolik yang menurut Kurniasari dkk., (2019) dapat mengakibatkan terjadinya *browning*.

Browning merupakan salah satu indikator kematian sel pada eksplan yang ditandai dengan adanya perubahan warna eksplan menjadi coklat yang dapat dicegah dengan merendam eksplan dalam larutan antioksidan seperti asam askorbat. *Browning* terjadi dikarenakan pemotongan eksplan menimbulkan luka yang memicu pelepasan senyawa fenolik yang mudah teroksidasi (Kurniasari dkk., 2019). Antioksidan yang digunakan dalam penelitian adalah asam askorbat yang menurut Kurniasari dkk., (2019) dapat

menghambat *browning* hingga 30% melalui pengikatan radikal bebas yang dilepaskan oleh eksplan sehingga proses oksidasi dapat dicegah. Penelitian sebelumnya dengan imersi vitamin C untuk pencegahan *browning* dilakukan oleh Kurniasari dkk. (2019), yang menggunakan eksplan daun *Rhynchosyilis retusa*. Penelitian pencegahan *browning* pada tanaman kepel juga sebelumnya pernah dilakukan oleh Sibarani dkk. (2024), dengan eksplan nodus yang diimersi dalam asam askorbat dan arang aktif, serta penelitian oleh Marendeng dkk. (2024), dengan eksplan nodus yang ditanam pada medium dengan penambahan asam sitrat dan *polyvinylpyrrolidone*.

Indirect somatic embryogenesis merupakan metode somatik embriogenesis yang didahului dengan pembentukan kalus embriogenik kemudian membentuk embrio somatik. Induksi kalus embriogenik umumnya dilakukan dengan bantuan hormon (Li dkk., 2025). Hormon 2,4-Diklorofenoksi asetat (2,4-D) merupakan hormon golongan auksin sintetik yang umum digunakan untuk menginduksi kalus dari eksplan daun (Mahood dkk., 2022). BAP (6-Benzilaminopurin) merupakan hormon golongan sitokinin sintetik yang dapat meningkatkan proliferasi pada sel tumbuhan (Deswiniyanti dan Lestari, 2020). Kombinasi antara BAP dan 2,4-D diharapkan dapat menghasilkan kalus embriogenik dengan cepat untuk memperbanyak tanaman kepel.

Usaha memperbanyak tanaman kepel dengan mikropopagasi cenderung jarang dilakukan dan sedikit jumlah penelitian yang telah dilaksanakan.

Penelitian yang telah dilaksanakan sebelumnya adalah sterilisasi eksplan daun kepel untuk kultur jaringan tumbuhan yang dilakukan oleh Habibah dkk., (2013). Penelitian tersebut hanya dilakukan mencapai keberhasilan sterilisasi daun kepel, oleh karena itu penelitian yang akan dilakukan ini melanjutkan hingga induksi kalus embriogenik dengan eksplan daun kepel.

Penelitian induksi kalus kepel sebelumnya pernah dilakukan oleh Wahyudiningsih dkk., (2022) menggunakan eksplan biji *immature* kepel dengan hasil induksi kalus embriogenik yang rendah yaitu pada rentang 2,78-8,34%. Induksi kalus yang dilakukan oleh Habibah dkk. (2018), menggunakan biji *immature* kepel dengan *picloram* dapat membentuk kalus hingga 100%. Penelitian oleh Handayani dkk. (2022), menunjukkan bahwa induksi kalus embrio kepel dengan hormon 2,4-D 2 ppm dan BAP 0,5 ppm dapat menginduksi kalus hingga 36%. Perolehan kalus embriogenik menggunakan eksplan biji *immature* kepel ataupun embrio kepel akan memakan waktu yang lama dikarenakan menurut Shadrina dkk. (2018), tanaman kepel hanya dapat berbuah setelah berumur 8 tahun. Oleh karena itu diperlukan penelitian terhadap eksplan lain yang lebih mudah diakses seperti daun.

Embriogenesis somatik akan menghasilkan kalus embriogenik yang dapat digunakan untuk transformasi genetik dan perbanyakan tumbuhan yang diinginkan (Li dkk., 2025). Tahap pembentukan kalus menurut Solorzano-Cascante dkk. (2018), diawali dengan penggulungan daun kemudian terbentuk kalus pada luka. Tahap selanjutnya menurut Zhai dan Xu (2021) setelah

pembentukan kalus pada luka, kalus akan tumbuh memenuhi permukaan eksplan.

Sifat embriogenik dari kalus dapat ditentukan melalui pengamatan secara morfologi dan histologi pada kalus. Kalus embriogenik menurut Pardede dkk. (2021) memiliki morfologi berwarna putih atau putih kekuningan dengan tekstur remah dan menurut Li dkk. (2025) kalus embriogenik juga dapat bertekstur granuler. Sifat embriogenik secara histologis menurut Rocha dkk. (2016), dicirikan pada ukuran sitoplasma yang kecil, isodiametris, dan padat, dengan nukleus dan nukleolus berukuran besar dan mudah diamati.

Penelitian yang dilakukan menggunakan eksplan daun kepel yang berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan biji *immature*, embrio, dan nodus dari tanaman kepel. Eksplan daun digunakan agar perbanyakan dapat dilakukan tanpa menunggu tanaman berumur 8 tahun dan diharapkan dapat menghasilkan hasil yang lebih baik. Hambatan kandungan senyawa fenolik pada daun kepel yang dapat menyebabkan *browning* dalam penelitian ini ditangani dengan perlakuan imersi dalam asam askorbat, yang dilakukan dengan variasi waktu dan variasi konsentrasi asam askorbat. Hasil pencegahan *browning* yang terbaik kemudian digunakan sebagai *pre-treatment* untuk induksi kalus daun kepel dengan variasi hormon BAP dan 2,4-D.

B. Rumusan Masalah

1. Berapa konsentrasi asam askorbat dan waktu imersi yang terbaik dalam mengurangi *browning* pada eksplan daun kepel?
2. Berapa kombinasi konsentrasi BAP dan 2,4-D yang terbaik dalam induksi kalus embriogenik daun kepel?
3. Bagaimana tahap pembentukan kalus embriogenik dari daun kepel?
4. Bagaimana ciri-ciri secara morfologi dan histologi kalus embriogenik yang dihasilkan dari daun kepel?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui konsentrasi asam askorbat yang terbaik untuk mengurangi *browning* eksplan daun kepel.
2. Mengetahui kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang terbaik untuk menginduksi kalus embriogenik daun kepel.
3. Mengetahui tahap pembentukan kalus embriogenik daun kepel.
4. Mengetahui morfologi dan histologi kalus embriogenik yang dihasilkan dari daun kepel.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemahaman mengenai induksi kalus embriogenik daun kepel dan pemanfaatannya dalam propagasi tanaman kepel. Kalus embriogenik yang diperoleh diharapkan dapat membantu memperbanyak tanaman kepel untuk kepentingan komersial ataupun konservasi.