

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*) merupakan tanaman endemik Indonesia yang tersebar di pulau Sumatra, Jawa, Kalimantan, Bali, dan Sulawesi (Handayani dkk., 2021). Tanaman ini juga dikenal dengan nama kecindul, simpol, cindul, burahol, turalak, dan *keppel apple* (Angio dkk., 2021). Kedudukan taksonomi tanaman kepel menurut Ramadhina dkk. (2019), yaitu:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Suku	: Annonaceae
Marga	: <i>Stelechocarpus</i>
Spesies	: <i>Stelechocarpus burahol</i>

Tanaman kepel dicirikan dengan tingginya yang mencapai 6-20 meter dengan batang lurus dan berwarna coklat tua. Batang kepel memiliki permukaan tidak rata yang berasal dari benjolan-benjolan bekas bunga ataupun buahnya. Bunga dari kepel berkelamin tunggal dengan bunga jantan pada batang atas dan mengelompok sebanyak 8-16 bunga sedangkan bunga betina terdapat pada batang bagian bawah. Buah dari kepel berwarna coklat dengan permukaan halus dan berdiameter 4-7 cm. Kepel memiliki daun tunggal jorong memanjang dengan panjang 10-28 cm dan lebar 4-10 cm (Angio dkk., 2021). Pohon dan daun dari kepel dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman kepel (A) pohon kepel; (B) daun kepel (Angio dkk., 2021).

Bagian dari tanaman kepel memiliki berbagai manfaat. Buah dari kepel telah dikenal dapat membantu untuk menghilangkan bau badan dan bau mulut. Ekstrak dari buah dan daun kepel memiliki aktivitas antibakteri (Shadrina dkk., 2019).

Kepel memiliki nilai budaya tinggi bagi masyarakat Yogyakarta sehingga ditetapkan sebagai flora identitas dari Daerah Istimewa Yogyakarta. Signifikansi kepel pada budaya masyarakat Yogyakarta berasal dari Putri Keraton yang sering mengkonsumsi kepel untuk menghilangkan bau badannya. Hal ini memunculkan pandangan di kalangan masyarakat bahwa kepel hanya dapat ditanam di lingkungan Keraton, sehingga populasinya sedikit yang mendorong usaha perbanyak populasinya (Angio dkk., 2021). Usaha perbanyak kepel terhambat oleh pohon kepel yang hanya dapat berbuah setelah mencapai umur 8 tahun (Shadrina dkk., 2022). Permasalahan ini sebelumnya dicoba untuk ditangani secara vegetatif melalui metode

pencangkakan dan stek namun tidak memberikan hasil yang memuaskan (Soeroto dkk., 2018).

B. Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur Jaringan Tumbuhan merupakan proses perbanyakan sel, jaringan, ataupun organ tanaman secara *in vitro* dalam kondisi aseptis, menggunakan medium dalam lingkungan yang terkendali. Kultur Jaringan Tumbuhan didasari sifat totipotensi yang dimiliki oleh sel tumbuhan. Totipotensi sel merupakan kemampuan jaringan ataupun organ tumbuhan untuk berdiferensiasi menjadi sel baru, atau bahkan menghasilkan individu tanaman baru (Ponmurugan dan Kumar, 2012).

Embriogenesis somatik merupakan metode penghasilan embrio tanaman tanpa melalui tahap meiosis ataupun pembuahan, melainkan melalui induksi pada sel soma tumbuhan. Embrio yang dihasilkan melalui sel soma akan memiliki sifat yang identik dengan induknya (Salaün dkk., 2021). Induksi embriogenesis somatik dapat dilakukan secara *indirect* ataupun *direct*. *Direct somatic embryogenesis* terbentuk secara langsung dari sel tumbuhan tanpa pembentukan kalus dan sebaliknya *indirect somatic embryogenesis* melalui pembentukan kalus terlebih dahulu (Ramírez-Mosqueda, 2022).

Induksi kalus dapat dipicu oleh adanya cekaman pada sel tumbuhan. Cekaman tersebut dapat berupa kondisi pH yang ekstrem, perlukaan, serta perubahan suhu atau osmosis secara tiba-tiba, namun metode yang umum digunakan adalah pemberian zat pengatur tumbuh (Salaün dkk., 2021).

Terbentuknya kalus embriogenik sangat dipengaruhi dengan konsentrasi hormon auksin yang digunakan, dikarenakan tingginya konsentrasi auksin akan meningkatkan produksi asam giberelat yang akan menghambat pembentukan kalus embriogenik (Joshi dkk., 2023).

Usaha perbanyakan tanaman kepel menggunakan metode kultur jaringan telah dilakukan sebelumnya oleh Wahyudiningsih dkk. (2022), menggunakan eksplan biji *immature*. Perbanyakan menggunakan biji *immature* memiliki permasalahan yang sama dengan perbanyakan tanaman kepel secara generatif yaitu hanya dapat dilakukan setelah tanaman kepel dapat berbuah, oleh karena itu eksplan daun digunakan untuk melewati masa pembuahan kepel. Eksplan daun menurut Lee dkk. (2024), memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi selain itu berdasarkan Shehata dkk. (2018); dan Danial dkk. (2023), eksplan daun mudah untuk diperoleh dan metode sterilisasinya sederhana dibandingkan eksplan lain. Daun yang digunakan dalam induksi kalus merupakan daun yang berada pada pucuk kedua dan ketiga, dikarenakan menurut Smith (2013) daun yang berasal dari pucuk kedua dan ketiga memiliki sifat meristematik sehingga dapat membentuk kalus dengan baik.

Pembentukan kalus pada eksplan daun dapat terjadi dengan pelukaan pada jaringan tumbuhan. Luka tersebut akan memicu aktivasi faktor transkripsi WIND1 (*Wound Induced Dedifferentiation*) (Pais, 2019). Kalus yang terbentuk pada sisi luka eksplan kemudian akan tumbuh memenuhi seluruh permukaan eksplan (Zhai dan Xu, 2021). Pembentukan kalus yang diawali dari sisi luka eksplan, kemudian memenuhi seluruh permukaan eksplan terjadi pada induksi

kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) (Anwar dan Isda, 2021). Pembentukan kalus juga ditandai dengan menggulungnya sisi terluka daun secara adaksial, seperti pada tanaman *Betula pendula* (Chen dkk., 2022).

Kalus embriogenik secara morfologis dicirikan dengan warnanya yang putih atau putih kekuningan dengan tekstur remah (Pardede dkk., 2021). Kalus embriogenik juga dapat ditandai dengan morfologi warna hijau dengan tekstur granuler (Li dkk., 2025). Kalus embriogenik dengan tekstur *friable* memiliki potensi terbaik untuk perbanyakan dikarenakan aktivitas pembelahan selnya yang aktif dan kemampuan penyerapan nutrisinya yang lebih baik. Hal ini mengakibatkan kalus embriogenik *friable* memiliki kemampuan untuk membentuk tanaman baru yang lebih tinggi (Syombua dkk., 2021).

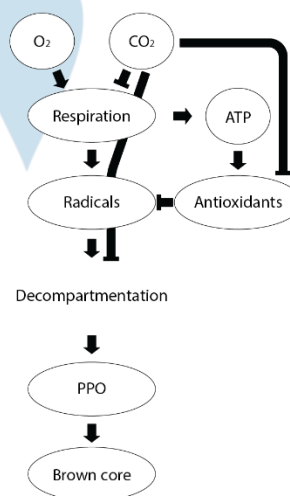
Sifat embriogenik ini dapat dikonfirmasi melalui pengamatan secara histologis di bawah mikroskop. Ciri-ciri sel embriogenik bervariasi antar spesies yang berbeda. Umumnya ciri embriogenik ditandai pada ekspresi sifat meristematis oleh sel tumbuhan, seperti bentuk sitoplasma yang lebih besar, isodiametris, dan padat, dengan nukleus dan nukleolus berukuran besar dan mudah diamati (Rocha dkk., 2016).

C. *Browning* dan Asam L-Askorbat

Daun kepel memiliki kandungan senyawa fenolik yang tinggi. Ekstrak dari daun kepel memiliki kandungan fenolik yang tinggi pada 73,09% dan kandungan flavonoid 30,99% (Shadrina dkk., 2021). Senyawa fenolik yang dilepas oleh eksplan dapat memicu terjadinya *browning* atau perubahan warna

eksplan menjadi coklat yang menjadi salah satu indikator kematian sel. Senyawa fenolik yang dilepas oleh eksplan sebagai respon terhadap luka yang dapat dioksidasi udara memicu reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik terjadi dikarenakan adanya enzim *polyphenoloxidase* (PPO) dan *peroxidase* (POD) yang membentuk quinon dengan polifenol. *Browning* dapat dicegah dengan mengimersi eksplan dalam larutan antioksidan (Kurniasari dkk., 2019). Mekanisme pencegahan *browning* oleh antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.

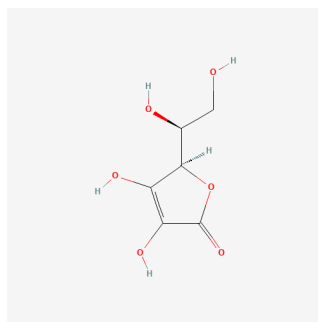
Berdasarkan Gambar 2. keberadaan antioksidan akan menangkap radikal bebas yang dilepas oleh eksplan setelah terluka. Tertangkapnya radikal bebas akan mencegah terjadinya *browning* dikarenakan aktivitas PPO yang terhenti ataupun terhambat (Kurniasari dkk., 2019). Asam askorbat juga dapat menghambat sekresi senyawa fenolik oleh eksplan, yang kemudian akan meningkatkan kemampuan eksplan untuk menyerap nutrisi dari medium (Vijayalakshmi dan Shourie, 2016).



Gambar 2. Mekanisme Pencegahan Browning oleh Antioksidan(Kurniasari dkk., 2019).

Asam L-askorbat ($C_6H_8O_6$) atau juga dikenal sebagai vitamin C merupakan senyawa yang dapat ditemukan pada buah-buahan *citrus* dan berbagai macam sayuran. Asam L-askorbat berbentuk bubuk dengan warna putih kekuningan dan tidak berbau. Asam L-askorbat bersifat tidak tahan panas atau termolabil (Pubchem, 2025).

Asam L-askorbat merupakan antioksidan kuat yang dapat mengikat radikal bebas yang dilepas oleh tanaman terluka sehingga proses oksidasi tidak terjadi (Devi dkk., 2024). Sifat asam dari asam L-askorbat juga dapat membantu menghambat kinerja enzim PPO yang aktif pada pH 5,8-7,0 (Vijayalakshmi dkk., 2016). Asam L-askorbat selain berperan dalam menghambat *browning* juga dapat meningkatkan kemampuan eksplan dalam menyerap nutrisi dari medium (Kurniasari dkk., 2019). Kemampuan asam askorbat dalam menghambat *browning* juga dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Kurniasari dkk. (2019), pada *Rhynchosyilis retusa* dengan imersi vitamin C 100 ppm selama 30 menit dan juga penelitian oleh Ginting dkk. (2023), pada *Saurauia bracteosa* dengan vitamin C 150 ppm. Struktur dari asam L-askorbat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Asam L-askorbat (Sumber: Pubchem, 2025)

D. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan kumpulan senyawa yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. ZPT terbagi menjadi lima golongan yaitu auksin, sitokinin, giberelin, asam absisat, dan etilen. Induksi kalus umumnya dilakukan menggunakan ZPT dari golongan auksin dan sitokinin (Trigiano dan Gray, 2011). ZPT dapat berasal dari sumber alami dan sintetis. ZPT sintetis memiliki struktur yang menyerupai ZPT alami sehingga dapat mengaktifasi jalur respon spesifik pada tumbuhan (Danish dkk., 2024). Auksin berperan dalam diferensiasi sel dan elongasi, sedangkan sitokinin berperan dalam germinasi biji, pertumbuhan, dan inisiasi tunas (Deswiniyanti & Lestari, 2020).

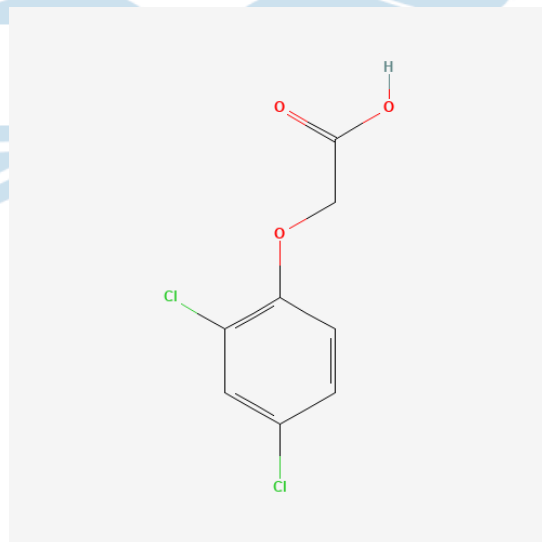
Auksin memiliki peran utama dalam induksi kalus embriogenik. Respon auksin oleh eksplan akan mendorong akumulasi faktor transkripsi *Somatic Embryogenesis Receptor Like Kinase 1* (SERK1). Akumulasi SERK1 merupakan faktor utama yang memungkinkan sel untuk membentuk kalus embriogenik. Konsentrasi senyawa auksin yang terlalu tinggi dapat menghambat pembentukan kalus embriogenik dikarenakan sintesis asam giberelat meningkat sehingga diperlukan konsentrasi auksin yang optimal. Konsentrasi auksin yang optimal akan memungkinkan terjadinya akumulasi faktor transkripsi *AGAMOUS-LIKE15* (AGL15) yang dapat menekan respon auksin sehingga sintesis asam giberelat menurun (Joshi dkk., 2022).

Kemampuan kombinasi hormon BAP dan 2,4-D dalam menginduksi kalus juga dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Wulandari dkk. (2022), yang menunjukkan variasi terbaik untuk menginduksi kalus adalah 0,75

ppm 2,4-D dengan 0,75 ppm BAP, penelitian yang telah dilakukan oleh Munarwati dkk. (2024), menunjukkan bahwa perlakuan terbaik untuk induksi kalus adalah 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm., dan penelitian yang telah dilakukan oleh Zakaria dkk. (2021), menunjukkan bahwa perlakuan terbaik untuk induksi kalus adalah 2,4-D 5 ppm dan BAP 0,5 ppm.

1. Hormon 2,4-Diklorofenoksi asetat (2,4-D)

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). Hormon 2,4-D akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel secara terus menerus (Campanoni dan Nick, 2005). Struktur hormon 2,4-Diklorofenoksi asetat dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Hormon 2,4-Diklorofenoksi Asetat (Sumber: Pubchem, 2025)

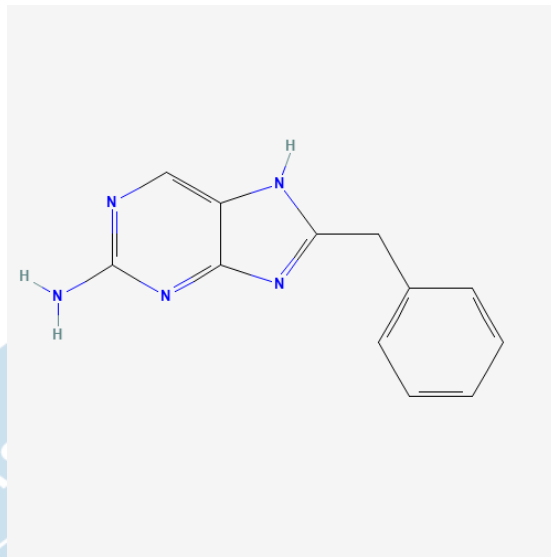
Hormon 2,4-D memiliki struktur menyerupai auksin alami IAA yang dihasilkan sel tumbuhan saat terjadi luka. Struktur yang menyerupai

ini mengakibatkan hormon 2,4-D dapat melakukan aktivitas yang serupa, sehingga dapat mendorong terjadinya proliferasi sel sebelum terdiferensiasi hingga terbentuk kalus (Lee dkk., 2024). Penambahan hormon 2,4-D akan mengembalikan sifat embriogenik dari sel tumbuhan dewasa (Sharma dkk., 2019). Penambahan hormon eksogen seperti 2,4-D pada medium berperan sebagai *stressor* yang dapat meningkatkan metabolisme dari hormon endogen eksplan (Joshi dkk., 2022). Peningkatan hormon endogen seperti IAA pada eksplan dibutuhkan untuk mengembalikan sifat embriogenik dari sel tumbuhan (Nic-Can dan Loyola-Vargas, 2016).

2. Hormon 6-Benzilaminopurin (BAP)

Hormon 6-Benzilaminopurin (BAP) merupakan hormon golongan sitokinin sintetik yang dapat meningkatkan pembelahan sel. Peningkatan pembelahan sel oleh BAP terjadi melalui peningkatan sintesis asam nukleat dan aktivitas protein sel tumbuhan pada tunas, akar, dan daun tumbuhan (Danish dkk., 2024). Struktur kimia dari BAP dapat dilihat pada Gambar 5.

Struktur kimia dari 6-Benzilaminopurin menyerupai hormon sitokinin alami adenin. Struktur kimia yang mirip ini memungkinkan 6-Benzilaminopurin untuk berinteraksi dengan reseptor sitokinin tumbuhan. Aktivasi reseptor sitokinin oleh 6-Benzilaminopurin akan menstimulasi pertumbuhan dari sel tumbuhan (Danish dkk., 2024).



Gambar 5. Struktur Hormon 6-Benzilaminopurin (Sumber: Pubchem. 2025)

E. Hipotesis

1. Perlakuan konsentrasi asam askorbat 100-150 ppm dan imersi 30 menit dapat mengurangi *browning* eksplan.
2. Variasi kombinasi 2.4-D 1-5 ppm dan BAP 0-1 ppm dapat menginduksi kalus embriogenik daun kepel.
3. Tahapan embriogenesis somatik akan diawali dengan melengkungnya daun kemudian pembentukan kalus pada bagian luka kemudian memenuhi permukaan daun.
4. Morfologi kalus embriogenik yang dihasilkan daun kepel adalah *friable* dan berwarna kuning. Struktur sel kalus daun yang diperoleh memiliki sitoplasma yang padat dan inti sel yang terlihat jelas dibandingkan sel sekitarnya.