

This file has been cleaned of potential threats.

If you confirm that the file is coming from a trusted source, you can send the following SHA-256 hash value to your admin for the original file.

51b0a7f1b02928dedba2acd8c078258b68bae0d1bac693823db11020691ecc65

To view the reconstructed contents, please **SCROLL DOWN** to next page.

INDUKSI KALUS DARI EKSPLAN BIJI IMMATURE KEPEL (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook.f. & Th.) SECARA IN VITRO
*Callus Induction From Immature Seed Explant of Kepele (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) by In Vitro Technique*

Tri Suwarni Wahyudiningsih^{1,2}, Noor Farid³, Esna Dilli Novianto², dan Tia Noviantika²

¹Kontributor Utama, ^{1,2}Universitas Tidar

Jl. Kapten S.Parman 39 Potrobangsari, Magelang Utara, Jawa Tengah, Indonesia

³Universitas Jenderal Soedirman

Jl. DR. Soeparno No.63, Karang Bawang, Grendeng, Kec. Purwokerto Utara,
Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah, Indonesia

email penulis korespondensi : trisuwarni@untidar.ac.id

Tanggal diterima: 11 April 2022, Tanggal direvisi: 13 April 2022, Disetujui terbit: 23 Juni 2022

ABSTRACT

*Endosperm in immature seeds of *Stelechocarpus burahol* can be used as explants for triploid callus induction. The objective of this study was to induce callus from immature seed explants of *S. burahol* on Murashige & Skoog media with NAA and picloram concentration treatments. The research was carried out from April to October 2021 at the Tissue Culture Laboratory at the Faculty of Agriculture, Tidar University. The first study used two-factor RAL, factor I: the concentration of NAA (N0, N2, N4, N6, N8, N10 mg/L), factor II: seed diameter (D1 = 0.3 cm, D2 = 0.6 cm, D3 = 0.9 cm). The second study used RAL single factor was picloram concentration (P0; P0,5; P1; P2; P4; P8 mg/L). In first study, explants stretched at 3 days after planting and produced 6 callus at 7 days after planting. Three callus were formed in N4D1 and one callus each in N0D3, N4D3 and N6D12. The Callus texture formed were crumbs and compact. Callus color were white, transparent white, and greenish yellow. One heart and cotyledon of somatic embryos were found in the N2D1. In second study produced 17 callus. At 0.5 Picloram; 1; 2 mg/L produced compact and crumb callus, callus color were white and transparent. At 4 and 8 mg/L picloram produced the white compact callus. The use of types and concentrations of auxin and cytokinin as well as explants of younger immature seeds are expected to produce more callus numbers for ploidy analysis so that callus and plantlets are triploid.*

Keywords: somatic embryo, crumb callus, compact callus, cotyledons, triploid

ABSTRAK

Endosperma pada biji immature *Stelechocarpus burahol* merupakan eksplan untuk induksi kalus triploid. Tujuan penelitian adalah menginduksi kalus dari eksplan biji immature *S. burahol* pada media Murashige & Skoog dengan perlakuan konsentrasi NAA dan picloram. Penelitian dilakukan bulan April sampai dengan Oktober 2021 di laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Tidar. Penelitian pertama menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dua faktor, faktor pertama yaitu konsentrasi NAA (N0, N2, N4, N6, N8, N10 mg/L); sedangkan faktor kedua yaitu diameter biji (D1= 0,3 cm, D2= 0,6 cm, D3= 0,9 cm). Penelitian kedua menggunakan RAL, faktor tunggal berupa konsentrasi picloram (P0; P0,5; P1; P2; P4; P8 mg/L). Penelitian I, eksplan membentangi pada 3 hst dan dihasilkan 6 kalus mulai 7 HST. Tiga kalus terbentuk pada N4D1 dan masing-masing satu kalus pada N0D3, N4D3 dan N6D12. Kalus bertekstur remah dan kompak. Warna kalus putih, putih transparan, dan kuning kehijauan. Satu embrio somatik fase hati dan kotiledon terdapat pada N2D1. Pada penelitian II dihasilkan 17 kalus. Pada Picloram 0,5; 1; 2 mg/L dihasilkan kalus kompak dan remah, warna kalus putih dan transparan. Pada picloram 4 dan 8 mg/L dihasilkan kalus kompak berwarna putih. Penggunaan macam dan konsentrasi auksin maupun sitokinin serta eksplan biji immature lebih muda diharapkan akan dihasilkan jumlah kalus lebih banyak untuk dianalisis ploidi sehingga diperoleh kalus dan plantlet bersifat triploid.

Kata kunci: embrio somatik, kalus remah, kalus kompak, kotiledon, triploid

I. PENDAHULUAN

Tanaman *Stelechocarpus burahol* atau kepele, termasuk Famili *Annonaceae* yang

tersebar di Indonesia dan Malaysia (Soeroto et al., 2018). Buah kepele bermanfaat untuk mengharumkan bau keringat, air seni dan nafas (Mun'im et al., 2017). Ekstrak buah kepele

bermanfaat sebagai antibakteri penyebab bau mulut. Buah tersebut berpotensi sebagai deodoran alami melalui mekanisme farmakologis dengan absorpsi aroma feses dan meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacteria* yang merupakan bakteri asam laktat yang hidup di dalam usus besar (Darusman et al., 2012). Buah kepel berkhasiat sebagai obat radang ginjal, meringankan penyakit asam urat, menyehatkan saluran kemih, mencegah peradangan, pencegah dehidrasi, antioksidan, meningkatkan daya tahan tubuh, sumber energi dan bermanfaat untuk diet (Amin et al., 2018).

Permasalahan pada buah kepel adalah biji berjumlah 5-6 biji dan berukuran cukup besar (50%). Daging buah yang dapat dimakan dan dimanfaatkan hanya 50%, sehingga perlu upaya untuk menghasilkan buah *S. burahol* tanpa biji, salah satunya melalui pembentukan tanaman triploid.

Tanaman triploid memiliki tiga set kromosom dengan beberapa sifat yang diinginkan. Sifat tersebut berupa daun tanaman lebih tebal dan lebih panjang, produksi biomassa lebih besar, bunga dan buah lebih besar serta umumnya tanpa biji, sehingga diminati konsumen dan layak diproduksi. Tanaman triploid dapat diinduksi melalui seleksi alam, hibridisasi seksual, fusi protoplas dan kultur endosperm (Wang et al., 2016). Endosperma adalah jaringan triploid dibentuk oleh peleburan inti sperma haploid dengan dua inti kutub haploid di dalam kantung embrio (Thomas et al., 2000). Tanaman triploid telah dihasilkan dari kultur endosperma pada beberapa jenis tanaman dalam jumlah terbatas (Wang et al., 2016). Dengan demikian, regenerasi tanaman dari kultur endosperm menjadi hal yang menarik diteliti pada tanaman *S. burahol*.

Endosperma merupakan jaringan berumur pendek sebagai cadangan makanan untuk perkembangan embrio. Endosperm sebagian besar terdiri dari sel parenkim dan belum berdiferensiasi (Johri, 1982). Penelitian mengenai tanaman triploid dari jaringan

endosperma yang berdiferensiasi menjadi planlet telah dilakukan pada *Citrus* spp. (Gmitter et al., 1990), *Morus alba* (T. D. Thomas et al., 2000), *Azadirachta indica* (Chaturvedi et al., 2003), *Actinidia deliciosa* (Góralski, G. et al., 2005), Rimau Gerga Lebong (Sari et al., 2019), *Passiflora edulis* (Antoniazia et al., 2018).

Endosperm matang dan belum matang dari spesies yang berbeda, berpotensi untuk berkembang biak, berdiferensiasi, dan akhirnya beregenerasi tanaman triploid (Hoshino et al., 2011). Penelitian mengenai penggunaan eksplan endosperm pada biji *immature S. burahol* secara *in vitro* untuk mendapatkan tanaman triploid belum pernah dilaporkan. Selain itu, media penginduksi kalus serta karakter kalus dari eksplan biji *immature* belum banyak diketahui.

Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi kalus dari eksplan biji *immature S. burahol* pada media *Murashige & Skoog* dengan perlakuan konsentrasi NAA dan picloram. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang karakter kalus dari biji *immature* yang berisi embrio dan endosperma *S. burahol*.

II. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan bulan Februari sampai dengan Oktober 2021. Tempat penelitian di laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Tidar dan Laboratorium Kultur Jaringan KBTPH Salaman, Magelang, Jawa Tengah.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: autoklaf, oven, timbangan digital, spatula, erlenmeyer, panci, pengaduk kaca, pH meter, gelas ukur gelas beker, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), cawan petri, pinset, kaca preparat, mikroskop stereo, dan optilab.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu eksplan biji kepel (2n) belum masak yang sudah terbentuk endosperm (3n). Pada biji yang belum masak terdapat jaringan endosperm yang lebih banyak dibanding jaringan embrio

(Gambar 2). Bagian jaringan endosperm ($3n$) tersebut bila dikulturkan akan menghasilkan *seedling* atau individu triploid ($3n$). Biji kepel berasal dari Desa Kalinegoro Kecamatan Mertoyudan Kabupaten Magelang. Kriteria pohon yang dipilih yaitu pohon dan buah dalam kondisi sehat, terbebas dari hama dan penyakit, buahnya memiliki rasa manis, teksturnya lembut dan diameter buah masakanya antara 5-6 cm. Bahan kimia yang digunakan untuk media kultur jaringan yaitu media dasar *Murashige Skoog* (MS) + 0,25 mg/L BAP (*Benzyl Amino Purin*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), dan Picloram. Bahan kimia untuk sterilisasi ekplan yaitu fungisida dan bakterisida, larutan deterjen, H_2O_2 20%, Klorox 30% dan 20%, akuades steril, serta alkohol 70%. Buah Kepel dikelompokkan sesuai ukuran, dicuci dalam air mengalir, kemudian buah disimpan dalam gelas kimia steril dalam kotak laminar. Buah dibelah secara longitudinal dan eksplan biji kepel belum masak yang berisi embrio dan endosperm dikultur.

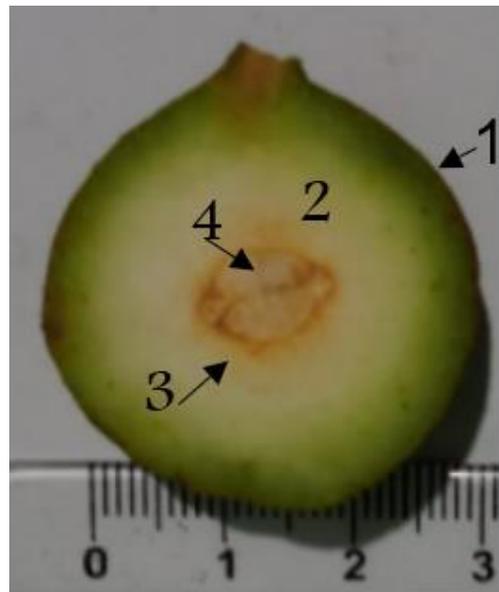
Rancangan penelitian pada penanaman pertama digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan tiga blok. Setiap botol kultur ditanami 2 eksplan. Faktor pertama berupa konsentrasi NAA yaitu $N_0 = 0$ mg/L; $N_2 = 2$ mg/L; $N_4 = 4$ mg/L; $N_6 = 6$ mg/L; $N_8 = 8$ mg/L ; $N_{10} = 10$ mg/L. Faktor kedua ukuran diameter biji yaitu $D_1 = 0,3$ cm, $D_2 = 0,6$ cm, dan $D_3 = 0,9$ cm, sehingga diperoleh 18 kombinasi perlakuan. Pada penanaman kedua digunakan RAL dengan satu faktor yaitu konsentrasi picloram (0; 0,5; 1; 2; 4; 8 mg/L) pada media MS + 0,25 BAP. Eksplan berupa biji belum masak ukuran 0,3 cm.

Parameter kuantitatif meliputi waktu eksplan mulai bertambah besar (hari), jumlah eksplan membentang (eksplan), waktu muncul kalus (hst), jumlah kalus muncul (eksplan), berat kalus (g), jumlah eksplan yang membentuk embrio somatik fase kotiledon yang normal dan abnormal. Parameter kualitatif berupa tekstur, warna, dan anatomi kalus. Data kuantitatif pada hasil penelitian tidak memenuhi

kriteria uji normalitas tidak dilanjutkan uji sidik ragam, sehingga data kuantitatif dan kualitatif dianalisis secara deskripsi.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Endosperma merupakan massa sel parenkim yang relatif homogen, tanpa elemen jaringan pembuluh, sel-selnya bervariasi dalam ukuran, pembelahan, pemisahan kromosom, dan poliploidinya. Endosperma terdapat pada individu yang mencakup lebih dari 81% pada tumbuhan berbunga. Fungsi endosperma adalah memelihara embrio selama pertumbuhan pada fase heterofit dan memberikan sumber energi selama perkecambahan dan pertumbuhan embrio. Jaringan endosperma ada yang habis dikonsumsi seluruhnya oleh embrio ketika biji menjadi tua, biji tumbuhan tersebut disebut non endosperma, tetapi bila endospermanya tetap ada ketika biji menjadi tua sebagai makanan cadangan dalam bentuk tepung, lemak atau protein, disebut biji yang endosperma (Johri, 1982). Pada biji kepel belum masak jaringan endosperma terdapat pada seluruh bagian biji belum masak sedangkan embrio masih berkembang seperti disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagian-bagian buah *S. burahol*.

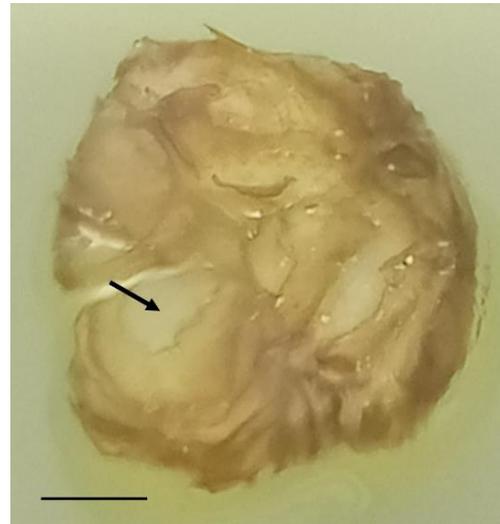
Keterangan: 1. Eksocarpium, 2. Mesokarpium, 3. Endokarpium, 4. Biji belum masak didominasi dengan jaringan endosperm

Kultur endosperma secara *in vitro* akan mendapatkan tanaman triploid karena endosperma adalah jaringan triploid. Pada tumbuhan yang bijinya non endosperma, pengambilan eksplan endospermanya ketika biji belum tua. Pada biji *S. burahol* yang sudah tua endosperma sangat keras sehingga digunakan biji *immature*.

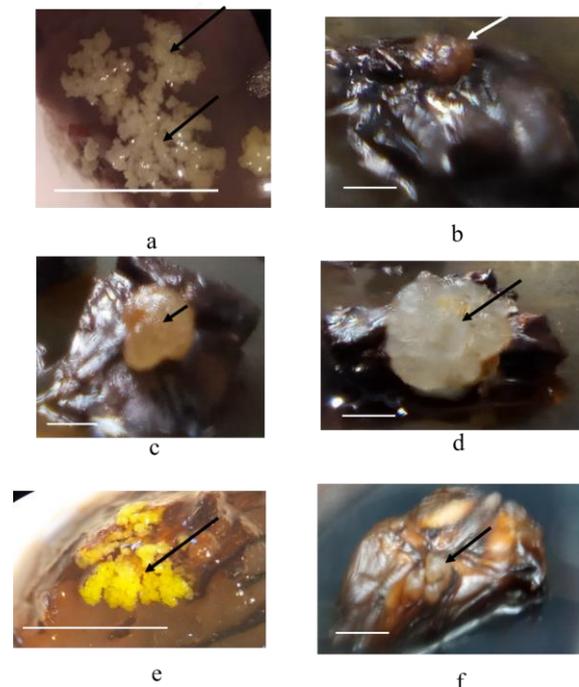
Tanaman triploid ($2n = 3x$) adalah tanaman yang jumlah kromosomnya kelipatan tiga dari kromosom dasarnya ($3n$), buahnya kebanyakan tidak berbiji atau berbiji tapi steril. Tanaman triploid tidak diinginkan bila bertujuan untuk menghasilkan benih yang komersial, tetapi sangat berharga karena memberikan nilai tambah ekonomi yang tinggi dalam memperbaiki kualitas dan kuantitas buah, yaitu buahnya tidak berbiji, lebih besar dan hasilnya lebih produktif, seperti pada buah pisang, apel, jeruk, anggur, pepaya (T. Thomas & Chaturvedi, 2008). Tanaman triploid memberikan keuntungan lain, yaitu pertumbuhan tanamannya lebih cepat dan bunganya lebih besar atau dapat dipanen lebih awal dan mendapatkan biomasa kayu yang lebih besar, seperti pada *Populus tremuloides* untuk bahan baku kertas (Johri, 1982; T. Thomas & Chaturvedi, 2008).

Berdasar pengamatan waktu eksplan membenteng tercepat adalah 3 hst (hari setelah tanam) pada perlakuan diameter biji 0,6 cm (D_2), sedang eksplan dengan diameter biji *immature* 0,3 cm dan 0,9 cm membenteng pada kisaran 5 hingga 10 hst. Pada Gambar 2 menunjukkan bagian eksplan yang mengalami pembentangan. Pembentangan terjadi sebagai respon eksplan terhadap zat pengatur tumbuh yang menjadi awal penanda kalus akan muncul. Menurut (Rasud et al., 2020), kalus yang akan muncul diawali oleh adanya bagian pelukaan eksplan sehingga sel-sel menutupi bekas luka kemudian eksplan terlihat menebal sebagai hasil respon eksplan terhadap media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh. Pada penelitian ini telah berhasil

memberikan respon pembentangan sebagai tahap awal untuk pembentukan kalus pada eksplan biji *immature S. burahol*.



Gambar 2. Eksplan mengalami pembentangan pada 3 hst pada 3 hst. Bar = 0,5 cm.



Gambar 3. Kalus pada beberapa perlakuan umur 40 hst. Bar = 7,5 mm.

Keterangan: a. perlakuan N_0D_1 tekstur kalus remah warna putih. b, c, dan d perlakuan N_4D_1 tekstur kalus remah, warna putih transparan. e. Perlakuan N_4D_3 tekstur kalus remah dan kompak, warna kuning. f. Perlakuan N_4D_2 tekstur kalus kompak, warna putih

Waktu muncul kalus pada eksplan mulai 1 mst (minggu setelah tanam). Pertumbuhan kalus terjadi pada perlakuan N₄D₁ terdapat 3 eksplan. Hal ini mengindikasikan bahwa eksplan biji diameter 0,3 cm yang ditanam pada media MS + 0,25 mg/L BAP dengan penambahan 4 mg/L NAA mampu menghasilkan kalus yang bersifat remah, berwarna putih dengan ukuran kalus lebih besar. Kalus juga terbentuk pada perlakuan N₀D₁, N₄D₂, dan N₄D₃ masing masing satu eksplan. Jumlah eksplan yang muncul kalus pada penelitian

pertama hanya enam eksplan. Lima kalus terbentuk pada perlakuan NAA 4 mg/L dengan eksplan dari diameter 0,3 cm ada tiga kalus, kemudian diameter 0,6 cm dan 0,9 cm masing masing satu kalus. Dengan demikian NAA 4 mg/L mampu memacu terbentuk kalus pada eksplan dengan diameter 0,3 sampai dengan 0,9 cm. Morfologi, tekstur, dan warna kalus terdapat pada Gambar 3. Kalus yang dihasilkan memiliki tekstur kompak, remah, serta campuran remah dan kompak.

Tabel 1 Jumlah eksplan yang muncul kalus berdasar ukuran eksplan biji *immature S. Burahol*

Kelompok	Ukuran diameter biji (cm)	Jumlah eksplan yang dikultur	Jumlah eksplan yang membentuk kalus	Persentase tumbuh kalus (%)	Persentase eksplan mengalami browning pada 10 MST	Persentase eksplan mengalami kontaminasi (%) pada 10 MST
D1	0,3	36	4	8,34	100	5,56
D2	0,6	36	1	2,78	100	8,34
D3	0,9	36	1	2,78	100	2,78
		108	8			

Keterangan: D1= diameter biji 0,3 cm, D2= diameter biji 0,6 cm, dan D3= diameter biji 0,9 cm.

Tabel 2 Jumlah dan persentase eksplan membentuk kalus dan embrio somatik fase kotiledon

No.	Perlakuan Konsentrasi NAA (mg/L)	Respon tercepat terbentuk kalus (MST)	Jumlah eksplan yang membentuk kalus	Persentase membentuk embrio somatik tahap kotiledon normal (%)	Persentase membentuk embrio somatik tahap kotiledon abnormal (%)
1.	0	4	1	-	11,12
2.	2	-	-	5,56	-
3.	4	2	4	-	-
4.	6	1	2	-	-
5.	8	-	-	-	-
6.	10	1	1	-	-

Ukuran endosperma berubah seiring dengan umur perkembangan buah. Pada tahap awal endosperma membesar mengikuti ukuran buah namun seiring perkembangan embrio dan kotiledon, ketebalan endosperma menipis menyerupai selaput dan bahkan akhirnya menghilang. Endosperma merupakan jaringan pada biji yang menyimpan cadangan makanan. Endosperma sebagai cadangan makanan bagi embrio, mengandung zat gizi seperti karbohidrat dan protein yang sangat dibutuhkan untuk awal pertumbuhan kalus. Berdasarkan persentase tumbuhnya kalus maka semakin

besar ukuran buah maka persentase tumbuh kalus semakin menurun (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena semakin besar ukuran buah maka ukuran biji juga semakin besar. Sel parenkim yang bersifat meristematis pada biji yang belum masak akan berdiferensiasi membentuk sel sklerenkim sehingga permukaan biji semakin keras dan sifat meristematis semakin berkurang.

Kultur biji belum masak yang terdapat endosperma pada *S. burahol* dapat tumbuh apabila disertai dengan embrionya karena struktur embrio masih kurang jelas terlihat

karena masih dalam proses perkembangan seiring dengan perkembangan biji. Kultur endosperma cendana dapat tumbuh dengan ataupun penyertaan embrio (Lakshmi et al., 1980).

Keberhasilan kultur endosperma dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya umur endosperma yang dikultur dan penyertaan zigot embrio (Sukanto, 2010), selain itu berdasar penelitian ini juga dipengaruhi akibat terjadi pencoklatan (*browning*) dan umur kultur. Penentuan umur endosperma saat dikultur merupakan fase kritis terhadap respon pertumbuhannya (Tao et al., 2009). Jaringan endosperma yang terlalu muda ataupun yang terlalu tua melampaui fase meristimatis biasanya tidak respon bila dikultur. Endosperma muda pada fase sel-selnya masih meristematis, umumnya akan respon positif bila dikultur, seperti pada *Morus alba* (T. D. Thomas et al., 2000), *Azadirachta indica* (Chaturvedi et al., 2003). Penentuan umur endosperma *S. burahol* merupakan tahap awal untuk penentuan keberhasilan penelitian ini. Pemilihan zat pengatur tumbuh yang tepat dapat menentukan keberhasilan induksi kalus endosperma dari biji *immature*.

Tekstur remah dapat digunakan untuk kultur suspensi. Menurut Rineksane (2016) kalus remah dapat digunakan untuk kultur suspensi, Navarro et al., (1997) menyatakan bahwa tekstur kompak merupakan kalus yang bersifat embriogenik. Dalam perkembangannya kalus kompak akan tumbuh dan berkembang membentuk embrio somatik pada tahap globuler. kemudian membentuk struktur seperti hati, selanjutnya berbentuk terpedo dan akhirnya berbentuk kotiledon (Wahyudiningsih, 2016).

Kombinasi N_4D_2 menghasilkan tekstur kalus kompak dan berwarna putih. Kalus yang terbentuk pada hasil penelitian pertama (Gambar 3) setelah dua bulan kalus disubkultur mengalami *browning*. Pada penelitian ini jumlah kalus yang terbentuk berasal dari biji

belum masak yang terdapat bagian endosperma belum mencukupi untuk dianalisis ploidi, sehingga belum dapat diketahui kalus yang terbentuk bersifat triploid atau diploid.



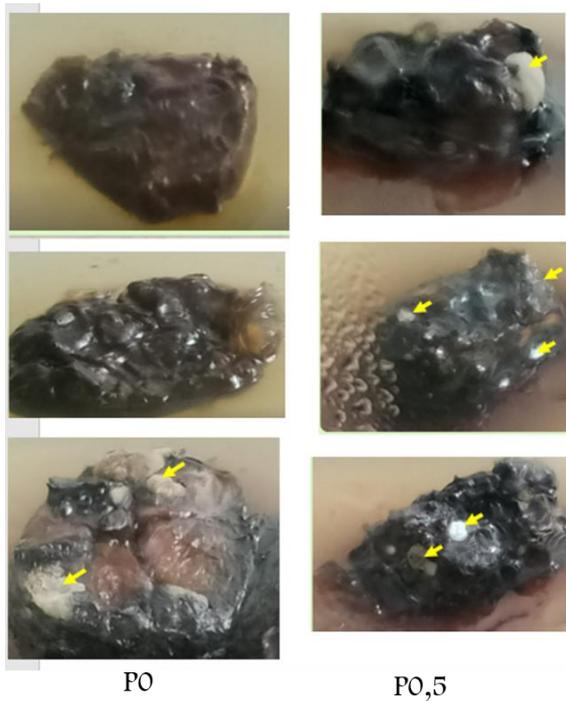
Gambar 4. Embrio somatik fase hati, terpedo, dan kotiledon pada perlakuan N_2D_1 umur 30 hst. Bar = 5 mm

Pada Gambar 4, merupakan perlakuan N_2D_1 yang menghasilkan embrio somatik secara langsung tanpa melalui tahap kalus. Pada fase hati (Gambar 4a) warna embrio somatik adalah putih, demikian juga pada fase terpedo (Gambar 4b) dan kotiledon (Gambar 4c). Pada fase pendewasaan embrio somatik, kotiledon pada perlakuan N_2D_1 berbentuk struktur normal karena terdapat dua meristem yang tumbuh. Menurut Adri (2019) embrio somatik dapat dicirikan dari strukturnya yang bipolar yaitu mempunyai meristem akar dan meristem tunas. Kotiledon pada N_0D_2 membentuk struktur abnormal. Fase kotiledon tersebut semua mengalami *browning*. *Browning* terjadi akibat oksidasi senyawa fenol dalam embrio menghasilkan senyawa quinon penyebab warna coklat pada jaringan embrio sehingga menyebabkan kematian.

Pada penelitian II menggunakan perlakuan konsentrasi picloram dihasilkan 17 eksplan yang membentuk kalus (Tabel 3). Pada konsentrasi 0 mg/L hanya satu eksplan yang membentuk kalus. Sebagian besar kalus bertekstur kompak, hanya beberapa yang bertekstur remah. Warna kalus lebih dominan putih hanya beberapa yang berwarna transparan. Berdasar hasil pengamatan penggunaan picloram mampu memacu terbentuknya kalus pada eksplan biji-biji belum masak. Data tidak memenuhi uji normalitas sehingga tidak dapat diuji sidik ragam. Eksplan membentang mulai 3 hst. Kalus terbentuk mulai 1 MST (minggu setelah tanam).

Tabel 3 Pertumbuhan kalus dari eksplan biji belum masak pada *S. burahol* pada perlakuan konsentrasi picloram (mg/l)

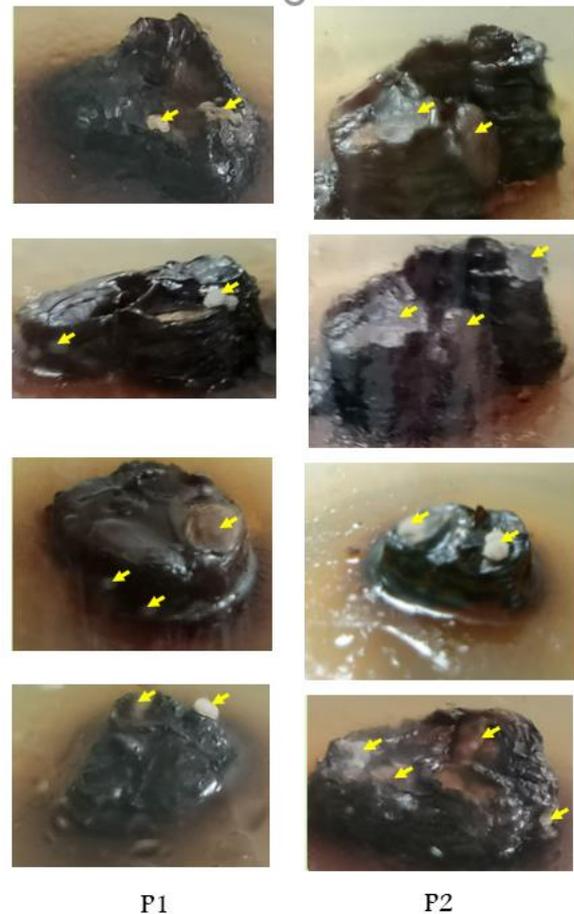
No.	Picloram (mg/l)	Eksplan membentuk kalus pada Minggu Setelah Tanam (MST)	Jumlah eksplan membentuk kalus	Struktur kalus	Warna kalus	Persentase pembentukan kalus
1.	0	4	1	Kompak	Putih	10
2.	0,5	1	3	Kompak, remah	Putih, tranparan	30
3.	1	1	4	Kompak, remah	Putih, transparan	40
4.	2	1	4	Kompak, remah	Putih, transparan	40
5.	4	2	2	Kompak	Putih	20
6.	8	2	3	Kompak	Putih	30
			$\Sigma=17$			



Gambar 5. Pertumbuhan kalus pada biji *immature* *S. burahol* dengan perlakuan picloram 0 mg/l dan 0,5 mg/l. Kalus ditandai panah warna kuning.

Struktur kalus dalam penelitian ini ada dua jenis, yaitu remah dan kompak. Kalus kompak terbentuk karena kalus mengalami lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai struktur keras dan kompak. Adapun kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi bagian-bagian kecil dinamakan kalus remah atau friabel. Tekstur kalus sebagai penanda penentuan kualitas kalus. Sel yang masih membelah pada kalus atau telah terhentikan pembelahan selnya

dapat dilihat melalui tekstur kalus (Ariani, 2016). Kalus dengan sel yang sulit untuk dipisahkan memiliki tekstur kompak kemudian untuk kalus dengan sel yang mudah untuk dipisahkan berarti memiliki tekstur remah (Prasetyo et al., 2020).



Gambar 6. Pertumbuhan kalus pada biji *immature* *S. burahol* dengan perlakuan picloram 1, 2, mg/l. Kalus ditandai panah warna kuning.

- Konsentrasi 2,4 D dan BAP*. UNNES, Semarang.
- Chaturvedi, R., Razdan, M. K., & Bhojwani, S. S. (2003). An Efficient Protocol for the Production of Triploid Plants from Endosperm Callus of Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. *J. Plant Phys.*, 160, 557–564.
- Darusman, H. S., Rahminiwati, M., Sadiyah, S., Batubara, I., Darusman, L. K., & Mitsunaga, T. (2012). Indonesian Kepel fruit (*Stelechocarpus burahol*) as Oral Deodorant. *Research Journal of Medicinal Plant*. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2012.180.188>
- Gmitter, F.G., Ling, X.B., Deng, X. X. (1990). Induction of Triploid Citrus Plants from Endosperm Calli in Vitro. *Theor. Appl. Gen.*, 80, 785–790.
- Góralski, G., M., Popielarska, H., Slesak, D., Siwinska, M., & Batorycka. (2005). Organogenesis in Endosperm of *Actinidia deliciosa* cv. Hayward Cultured in Vitro. *Acta Biol. Cracov. Bot.*, 47, 121–128.
- Habibah, N., Moeljopawiro, S., Dewi, K., & Indrianto, A. (2017). Callus Induction and Flavonoid Production on The Immature Seed of *Stelechocarpus Burahol*. *International Conferences on Mathematics, Science and Education.*, 983.
- Hoshino, Y., Miyashita, T., & Thomas, T. D. (2011). In Vitro Culture of Endosperm and its Application in Plant Breeding: Approaches to Polyploidy Breeding. *Sci. Hortic.*, 130, 1–8.
- Johri, S. and. (1982). Endosperm Culture. In *Experimental Embryology of Vascular Plants*. © Springer-Verlag.
- Lakshmi, S. G., Raghva, R. N. V., & Vaidyanathan, C. S. (1980). Triploid Plants from Endosperm Culture of Sandalwood by Experimental Embryogenesis. *Plant Sci Lett*, 20, 63–69.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. . (2016). Pengaruh Pemberian Hormon 2,4 D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Jerik Kasturi (*Citrus microcarpa*). *Biogenesis*, 12(2), 99–104.
- Mun'im, A., B. D. Siswanto., O. Negishi., Sutriyo, A. Amin., A. R. (2017). Effect of Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f. & Thomson) Fruits Extract Mouthwash On Mouth Bad Deodorization. *Indian Journal of Traditional Knowledge.*, 16(3), 431–436.
- Navarro, C., Escobedo, R., & Mayo, A. (1997). In Vitro Plant Regeneration From Embriogenic Culture Of a Diploid and a Triploid Cavendish Banana. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture.*, 51, 17–25.
- Prasetyo, Y., Njudang, K., Wibowo, H., & Krisnawan, A. (2020). Evaluasi Pertumbuhan Suspensi Sel *Dendrobium anosmum* var. *gigantea* dan Aktivasnya sebagai Antioksidan. *Media Pharmaceutical Indonesia.*, 3(2), 70–79.
- Rasud, Yuliani, & Bustaman. (2020). Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–71.
- Rineksane, A. I. (2016). Pencapaian Fase Embriosomatik Manggis dengan Penambahan Thidiazuron dalam Medium Setengah MS Cair. *Plant Tropika Journal of Agro Science.*, 4(1), 25–31.
- Sari, R. A., Herawati, R., & Herison, C. (2019). Induction and Growth of Endosperm Callus of Rimau Gerga Lebong (RGL) Citrus on Several Media Composition. *Akta Agrosia*, 22(2), 55–62.
- Soeroto, E. H. D., Priatmodjo, G., Wisnubudi., & Sukartono, I. G. S. (2018). Pembibitan dan Pengembangan Tanaman Buah Lokal. In *Pusat Pemberdayaan Masyarakat Universitas Nasional*.
- Sukanto, L. A. (2010). Kultur In Vitro Endosperma, Protokol yang Efisien untuk Mendapatkan Tanaman Triploid secara Langsung. *Jurnal AgroBiogen*, 6(2), 107–112.
- Tao, R., Ozawa, K., Tamura, M., & Sugiura, A. (2009). Dodecaploid Plant Regeneration from Endosperm Culture of Persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Acta Hortic*, 436, 119–128.
- Thomas, T., & Chaturvedi, R. (2008). ndosperm Culture: a Novel Method for Triploid Plant Production. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 93, 1–14.
- Thomas, T. D., Bhatnagar, A. K., & Bhojwani, S. S. (2000). Production of Triploid Plants of Mulberry (*Morus alba* L.) by Endosperm Culture. *Plant Cell Rep.*, 395–399.
- Wahyudiningsih, T. S., I. S. (2016). Struktur dan Perkembangan Embrio Somatik Eksplan Daun Dyera lowii Hook. f. melalui Teknik in Vitro. *Hutan Tropika*, 10(2), 39–47.
- Wang, X., Cheng, Z. M., Zhi, S., & Xu, F. (2016). . Breeding Triploid Plants: a Review. *Plant Breed.*, 52, 41–54.

