



Optimasi Sterilisasi Endosperma Kepel (*Stelechocarpus burahol* [BI] Hook F. & Th) Secara In Vitro

Etty Handayani^{1,*}, Muhammad Burhanuddin Irsyadi^{1,2}, Irfan Aris¹, Riffa Leshia Muhvi Nur Alawiyah¹, Nandini Ayuningtias³, Fany Permatasari¹, Innaka Ageng Rineksane¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, 55676, D. I. Yogyakarta, Indonesia

²Departemen Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada Jl. Flora, Bulaksumur, Depok, Sleman, 55281, D. I. Yogyakarta, Indonesia

³Departemen Ilmu Hama Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada Jl. Flora, Bulaksumur, Depok, Sleman, 55281, D. I. Yogyakarta, Indonesia

Email: etty@umy.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.32938/jbe.v6i2.1179>

Abstrak

Kepel (*Stelechocarpus burahol* [BI] Hook F. & Th.) merupakan buah asli Indonesia berbiji banyak dengan ukuran yang besar. Bagian buah yang dapat dikonsumsi hanya 49% dengan bagian lain berupa biji. Perbanyakan kepel secara konvensional masih sulit dilakukan dengan hasil yang rendah. Kultur endosperma secara in vitro adalah metode perbanyakan yang tepat untuk memperoleh tanaman triploid dengan buah tanpa biji. Sterilisasi merupakan tahap awal yang menjadi kunci keberhasilan kultur in vitro. Hingga kini belum dilaporkan metode sterilisasi endosperma kepel secara in vitro yang tepat. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode sterilisasi eksplan yang tepat untuk kultur endosperma kepel. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September 2018 – Januari 2019 di Laboratorium Kultur In Vitro, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan perlakuan berbagai konsentrasi bahan sterilan yang terbagi 8 aras: H₂O₂ (3%10', 3%15', 5%10', 5%15') NaOCl (5%5', 5%10', 10%5', 10%10') dengan 3 kali ulangan dan 3 sampel. Parameter yang diamati yaitu: persentase kontaminasi, browning, hidup, vitrifikasi, jenis kontaminasi, waktu kontaminasi dan waktu browning. Hasil penelitian diperoleh bahwa perlakuan NaOCl 10% selama 10 menit merupakan metode sterilisasi paling tepat dengan presentase eksplan hidup 44,44%, persentase eksplan vitrifikasi 66,66%, serta tidak terjadi kontaminasi dan browning.

Kata Kunci: Clorox; Endospermaa; Hidrogen peroksida, Kepel; Sterilisasi

Abstract

Kepel (*Stelechocarpus burahol* [BI] Hook F. & Th.) is an Indonesian original fruit with large seeds and only 49% of the fruit can be consumed. Conventional propagation of kepel is still difficult with low yields. Endosperma culture in vitro is an appropriate propagation method for obtaining triploid plants with seedless fruit. Furthermore, sterilization is an early stage to successful in vitro culture. Until now, the appropriate method of sterilization of endosperm kepel in vitro has not been reported. This study aims to obtain the appropriate sterilization method for endosperm culture kepel. This research was conducted in September 2018 - January 2019 at the Laboratory of In Vitro Culture, Faculty of Agriculture, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. This study used an experimental method arranged in a single factor

Completely Randomized Design (CRD) with the treatment of various concentrations of sterilant divided into 8 levels: H₂O₂ (3%10', 3%15', 5%10', 5%15') NaOCl (5%5', 5%10', 10%5', 10%10') with 3 repetitions and 3 samples. The parameters observed were: percentage of contamination, browning, life and vitrification, type of contamination, time of contamination and time of browning. The results showed that concentration of NaOCl 10% for 10 minutes was the most appropriate sterilization method with a live explant percentage of 44.44%, percentage of 66.66% vitrified explants, and not contamination and browning.

Keywords: Clorox; Endosperm; Hydrogen peroxide; Kepel; Sterilization

PENDAHULUAN

Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Bl] Hook F. & Th) atau burahol merupakan salah satu tanaman buah asli Indonesia. Kepel menjadi tanaman identitas Daerah Istimewa Yogyakarta pada tahun 1992 (Batubara dkk., 2010). Buah kepel berbentuk bulat oval, berukuran sebesar genggam tangan dengan warna kecoklatan. Buah dan daun kepel mengandung antioksidan dan flavonoid cukup tinggi. Buah kepel dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan bau mulut, mengharumkan bau mulut dan sebagai deodoran oral. Selain itu, kepel berkhasiat sebagai pencegah kanker, radang ginjal, peluruh air kencing dan penurun kadar kolesterol (Elfasyari, 2020; Fiani dan Yuliah, 2018).

Pada saat ini, tanaman kepel mengalami kelangkaan, sehingga keberadaannya sulit ditemukan. Apabila kondisi ini dibiarkan tanaman kepel akan mengalami kepunahan. Kondisi tersebut dapat disebabkan karena pertumbuhan tanaman lambat dan sulit dibudidayakan secara konvensional. Selain itu, kelangkaan disebabkan oleh masyarakat yang enggan untuk menanam karena buah kepel memiliki nilai ekonomis yang rendah (Handayani dkk., 2020; Haryjanto, 2012). Hal ini dikarenakan bagian buah kepel yang dapat dikonsumsi hanya 49%, sementara bagian lainnya hanya berupa biji. Biji kepel berukuran besar dan melintang dalam buah (Tisnadjaja dkk., 2006). Untuk meningkatkan nilai ekonomis kepel, dapat dilakukan pemuliaan tanaman melalui kultur endosperma untuk memperoleh buah tanpa biji.

Endosperma merupakan massa sel parenkim yang homogen tanpa jaringan pembuluh dan pembelahan yang berada di dalam biji yang berfungsi sebagai cadangan makanan embrio. Kultur endosperma yaitu metode perbanyakan secara *in vitro* dengan menggunakan eksplan endosperma dari biji untuk mendapatkan tanaman triploid dan buah tanpa biji (Sukanto 2010). Metode ini dilakukan secara *in vitro* dengan lingkungan terkendali dalam kondisi yang aseptis. Kelebihan perbanyakan secara *in vitro* yaitu memperoleh bibit dalam jumlah yang banyak dengan waktu relatif cepat. Selain itu bibit yang dihasilkan bebas dari serangan hama atau penyakit (Irsyadi, 2021). Faktor keberhasilan dalam kultur endosperma secara *in vitro* yaitu pada tahap sterilisasi. Sterilisasi merupakan tahap pembersihan eksplan dari kotoran, hama dan mikroba yang masih menempel pada eksplan. Tahapan ini pada umumnya dilakukan dengan pencucian eksplan pada air mengalir serta penambahan bahan sterilan seperti deterjen, bakterisida, fungisida, Sodium hipoklorit (NaOCl) dan Hidrogen peroksida (H₂O₂). Kondisi eksplan tidak steril dapat mengakibatkan kontaminasi yang dapat menghambat pertumbuhan eksplan. Selain itu, sterilisasi kurang tepat dapat memicu muncul browning pada permukaan eksplan (Suratman dan Mulyani, 2013).

Hingga kini, metode sterilisasi eksplan endosperma kepel optimal belum pernah dilaporkan. Maka perlu dilakukan pengujian terhadap bahan sterilan untuk sterilisasi endosperma kepel. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode sterilisasi eksplan

endoperm kepel yang tepat pada kultur endosperma secara in vitro.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah terlaksana pada bulan September 2018 hingga Januari 2019 di Laboratorium Kultur In Vitro, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, D. I. Yogyakarta, Indonesia.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu biji kepel, aquades, larutan deterjen 2 g/l, larutan bakterisida 2 g/l dan fungisida 2 g/l, alkohol 70%, NaOCl, H₂O₂, Media Murashige and Skoog + 2,4 D 2 ppm + BAP 0,5 ppm. Alat yang digunakan yaitu: autoclave, laminar air flow, scalpel, pinset, petridisk, erlenmeyer, botol kultur, gelas ukur, timbangan analitik dan lampu UV serta bunsen.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan perlakuan berbagai konsentrasi bahan sterilan yang terdiri dari 8 aras: H₂O₂ (3% 10', 3% 15', 5% 10' dan 5% 15'), NaOCl (5% 5', 5% 10', 10% 5' dan 10% 10'), setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 sampel.

Pra sterilisasi: Buah kepel yang telah masak diperoleh dari sekitar Yogyakarta dicuci menggunakan air mengalir. Setelah itu biji kepel dipisahkan dari daging buah. Biji kemudian dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir. Selanjutnya biji dilakukan Pra-sterilisasi dengan direndam dalam larutan deterjen 2 g/l selama 10 menit. Setelah itu, biji dibilas menggunakan aquades 3 kali kemudian direndam dalam larutan bakterisida dan fungisida masing-masing 2 g/l selama 60 menit sambil digojok. Setelah itu biji dibilas menggunakan aquades 3 kali di dalam laminar air flow. Setelah itu, biji dicelupkan ke dalam alkohol 70% selama 3 detik. Selanjutnya biji ditiriskan diatas tisu steril kemudian biji dibelah menggunakan scalpel untuk mengambil endosperma kepel.

Sterilisasi: endosperma kepel disterilisasi sesuai dengan perlakuan masing-masing menggunakan H₂O₂ 3% selama 10 menit, 3% selama 15 menit, 5% selama 10 menit dan 5% selama 15 menit, NaOCl 5% selama 5 menit, 5% selama 10 menit, 10% selama 5 menit dan 10% selama 10 menit. Setelah itu endosperma dibilas menggunakan aquades 3 kali kemudian dipotong persegi dalam larutan antiseptik. Selanjutnya endosperma diinokulasi pada media Murashige and Skoog + 2,4 D 2 ppm + BAP 0,5 ppm. Eksplan disimpan di ruang inkubasi selama 60 hari pada suhu 23°C.

Parameter yang diamati antara lain: persentase kontaminasi, persentase browning, persentase eksplan hidup, persentase vitrifikasi, jenis kontamin, waktu kontaminasi dan waktu browning. Data persentase dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA) pada software R studio, apabila terdapat beda nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf $\alpha = 5\%$. Sementara data pada parameter jenis kontaminan, waktu kontaminasi dan waktu browning dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Kontaminasi

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) yang signifikan menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi H₂O₂ dan NaOCl berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi (Tabel 1). Kontaminasi hanya terjadi pada 2 perlakuan yaitu H₂O₂ 3% selama 10 menit sebesar 100% yang tidak berbeda nyata dengan H₂O₂ 3% selama 15 menit sebesar 88,88%,

sementra pada perlakuan lainnya tidak terjadi kontaminasi. Perlakuan konsentrasi NaOCl 5%, 10% dan H₂O₂ 5% dapat menekan kontaminasi pada eksplan. Keberadaan endosperma di dalam biji kondisinya steril sehingga tidak terdapat mikroba endogen. Kontaminasi dapat disebabkan karena kondisi eksplan atau media yang kurang steril. Nasution (2013) menjelaskan bahwa kontaminan dapat berasal dari sumber eksplan, peralatan yang digunakan, lingkungan dan tangan yang kurang steril saat di dalam laminar air flow.

NaOCl merupakan disinfektan yang bersifat hipertonis yang dapat mengakibatkan mikroorganisme mengalami hidrolisis secara osmosis (Permatasari 2013). Singh dkk., (2011) menambahkan bahwa NaOCl merupakan disinfektan derajat tinggi yang aktif mengendalikan mikroba. Hasil penelitian Rineksane dkk., (2012) bahwa sterilisasi biji Manggis *Gracinea mangostana* L. menggunakan NaOCl 5% mampu menekan tingkat kontaminasi sebanyak 9,75%. Srivastava dkk., (2010) melaporkan bahwa H₂O₂ mampu menggumpalkan protein mikroba sehingga akan kehilangan fungsinya. Hasil penelitian Farooq dkk., (2002) bahwa penggunaan H₂O₂ 12% selama 15 menit mampu mencegah kontaminasi pada sterilisasi permukaan pada biji srikaya *Annona Squamosa* sebanyak 50%. Selain itu, Martiansyah dkk., (2013) melaporkan bahwa penggunaan konsentrasi H₂O₂ yang umum digunakan untuk sterilisasi permukaan eksplan berkisar 3-20%. Akan tetapi, pada konsentrasi 3% belum mampu mengendalikan kontaminasi diduga waktu yang dibutuhkan terlalu cepat dibanding perlakuan lainnya karena jumlah konsentrasi sedikit memerlukan waktu lebih lama untuk mengendalikan mikroba dalam jaringan tanaman.

Table 1. Pengaruh Konsentrasi NaOCl dan H₂O₂ Terhadap Sterilisasi Endosperma Kepel

Perlakuan	Persentase Kontaminasi (%)	Jenis Kontaminan	Waktu Kontaminasi (HST)
H ₂ O ₂ 3% 10 menit	100 a	Bakteri	11
H ₂ O ₂ 3% 15 menit	88,89 a	Bakteri	8,6
H ₂ O ₂ 5% 10 menit	0 b	-	-
H ₂ O ₂ 5% 15 menit	0 b	-	-
NaOCl 5% 5 menit	0 b	-	-
NaOCl 5% 10 menit	0 b	-	-
NaOCl 10% 5 menit	0 b	-	-
NaOCl 10% 10 menit	0 b	-	-
CV %	28,81	-	-

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji lanjut DMRT dengan taraf $\alpha = 5\%$, HST = hari setelah tanam.

Jenis dan Waktu Kontaminasi

Berdasarkan pada tabel 1, dapat diketahui bahwa jenis kontaminan yang muncul pada perlakuan H₂O₂ 3% 10 menit dan 15 menit berupa bakteri pada hari ke 11 dan 8,6 setelah tanam. NaOCl sebagai bahan sterilan mampu menghilangkan dan membersihkan sumber kontaminan berupa bakteri atau jamur pada eksplan. Kontaminasi bakteri ditandai dengan munculnya lendir putih kekuningan yang menyelimuti permukaan eksplan hingga media. Semakin lama waktu yang digunakan maka seluruh permukaan eksplan dan media akan tertutupi oleh bakteri. Nasution, (2013) melaporkan bahwa

bakteri mengandung *glycocalyx* yang mampu untuk menetralkan senyawa antibakteri untuk melindungi diri. Oleh karena itu, pada konsentrasi sterilant rendah, diduga bakteri dapat menetralkan untuk bertahan hidup.

Rismayani dan Hamzah (2010) melaporkan bahwa kontaminasi pada eksplan dapat menghambat pertumbuhan hingga dapat mengakibatkan kematian eksplan. Hal ini dikarenakan terjadi persaingan penyerapan nutrisi media antara eksplan dengan bakteri atau jamur. Lama waktu kontaminasi lebih dari seminggu setelah tanam diduga disebabkan oleh mikroba endogen yang tertinggal dalam eksplan, sehingga membutuhkan waktu lebih lama untuk muncul. Shofiyani dan Damajanti (2017) melaporkan bahwa kontaminasi internal yang disebabkan mikroba endogen terjadi lebih dari 10 hari setelah tanam, sedangkan kontaminasi eksternal (eksogen) dapat terjadi beberapa hari setelah tanaman.

Persentase Hidup

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) tidak signifikan maka perlakuan berbagai konsentrasi NaOCl dan H₂O₂ tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup (Tabel 2). Perolehan persentase eksplan hidup cenderung lebih baik pada perlakuan NaOCl 10% selama 10 menit sebesar 44,44% dibanding dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan H₂O₂ 3% persentase eksplan hidup 0% karena mengalami kontaminasi dan browning. Tingkat persentase hidup rendah dikarenakan banyaknya eksplan yang mengalami vitrifikasi. Eksplan hidup ditandai dengan perkembangan eksplan yang tidak mengalami kontaminasi dan browning. Kultur endosperma tanpa penyertaan embrio sulit untuk pembentukan kalus. Hasil penelitian Sukanto (2010) menyatakan bahwa kultur endosperma alpukat *Persea americana* Mill. tanpa penyertaan embrio tidak terjadi pertumbuhan kalus, tetapi eksplan endosperma yang disertai embrio memperoleh persentase terbentuk kalus mencapai 44,85% pada 15 minggu setelah tanam.

Umur endosperma muda pada fase meristemik merespon baik bila dikulturkan. Umur endosperma tua juga dapat digunakan untuk kultur endosperma (Tao dkk., 1996). Menurut Nair dkk., (1986) bahwa penggunaan endosperma srikaya *Annona squamosa* Linn tua dapat digunakan untuk kultur endosperma. Eksplan yang tidak dilakukan sterilisasi lebih lanjut dapat menurunkan hasil kultur endosperma. Hasil penelitian Prabakti dkk., (2017) sterilisasi endosperma kluwek *Pangium edule* Reinw hanya menggunakan aquades steril ditambah antiseptik selama 3 menit diperoleh persentase berkalus hanya mencapai 18,8%. Kundu dkk., (2017) melaporkan bahwa penggunaan bahan sterilant NaOCl dengan konsentrasi 5 - 10% selama 5 - 10 menit dapat digunakan untuk sterilisasi permukaan biji.

Persentase Vitrifikasi

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan berbagai konsentrasi NaOCl dan H₂O₂ berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan vitrifikasi (Tabel 2). Perolehan persentase vitrifikasi tertinggi pada perlakuan NaOCl 10% selama 10 menit sebesar 66,66% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Vitrifikasi ditandai dengan kondisi eksplan stagnasi yang tidak mengalami pertumbuhan dan berwarna putih bening. Kondisi ini apabila berlangsung lama akan mengalami kematian. Menurut Karyanti dan Ida (2013) vitrifikasi disebabkan oleh kerusakan sel secara fisiologis pada eksplan karena kandungan air dalam medium yang tinggi dan defisiensi klorofil. Kandungan air terlalu tinggi menyebabkan terjadinya

difusi air ke dalam sel eksplan. Selain itu, vitrifikasi dipengaruhi oleh kandungan sitokinin pada medium dan uap air yang berlebihan hasil respirasi di dalam botol kultur.

Persentase Browning

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan berbagai konsentrasi NaOCl dan H₂O₂ berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan browning. Konsentrasi NaOCl 10% 10 menit dan H₂O₂ 3% selama 10 menit merupakan perlakuan paling baik dengan ditandai tidak mengalami browning, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan sterilisasi H₂O₂ 3% selama 15 menit dengan perolehan sebesar 11,11%. Perolehan persentase browning cenderung tertinggi pada perlakuan NaOCl 5% selama 5 menit sebesar 88,89%. Browning ditandai perubahan warna eksplan menjadi kecoklatan di permukaan eksplan. Hal ini dapat menghambat pertumbuhan hingga mengakibatkan kematian eksplan. Browning dapat disebabkan adanya luka pada eksplan yang mengakibatkan keluarnya senyawa fenolik. Senyawa yang keluar mengaktifkan enzim *polifenol oksidase* (PPO) yang teroksidasi oleh oksigen menyebabkan pencoklatan atau browning pada eksplan.

Hatmi dan Widyayanti (2014) melaporkan bahwa biji kepel mengandung senyawa saponin, flavoid, polifenol dan alkaloid. Senyawa Polifenol tersebut yang menyebabkan browning. Penggunaan bahan eksplan yang telah masak dapat memicu terjadinya browning karena kandungan polifenol semakin meningkat. Eksplan yang telah tua akan mengeluarkan hasil oksidasi yang lebih banyak dibandingkan dengan eksplan muda. Hasil penelitian Setiani dkk. (2018) bahwa sterilisasi eksplan daun sukun *Artocarpus altilis* menggunakan NaOCl 5,25% selama 10 menit mengakibatkan browning mencapai 90%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yang (2009) bahwa clorox dan etanol dengan konsentrasi yang cukup tinggi dapat merusak jaringan eksplan sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan terjadinya browning.

Table 2. Pengaruh NaOCl dan H₂O₂ Terhadap Persentase Hidup, Vitrifikasi, Browning dan Waktu Browning

Perlakuan	Persentase Eksplan			Waktu Muncul Browning (HST)
	Hidup (%)	Vitrifikasi (%)	Browning (%)	
H ₂ O ₂ 3% 10 menit	0 a	0 b	0 c	-
H ₂ O ₂ 3% 15 menit	0 a	0 b	11,11 bc	5
H ₂ O ₂ 5% 10 menit	33,33 a	22,22 b	44,45 ab	5,3
H ₂ O ₂ 5% 15 menit	22,22 a	11,11 b	66,67 a	3
NaOCl 5% 5 menit	11,11 a	0 b	88,89 a	15
NaOCl 5% 10 menit	33,33 a	11,11 b	55,56 ab	16,33
NaOCl 10% 5 menit	33,33 a	22,22 b	44,45 ab	24
NaOCl 10% 10 menit	44,44 a	66,66 a	0 c	-
CV %	65,7	76,45	45,17	-

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji lanjut DMRT dengan taraf $\alpha = 5\%$, HST = hari setelah tanam.

Waktu Muncul Browning

Waktu muncul browning merupakan parameter untuk mengetahui kecepatan eksplan mengalami browning. hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan NaOCl

10% selama 5 menit dengan waktu paling lama 24 HST untuk muncul browning, sedangkan waktu muncul browning cenderung cepat pada perlakuan H₂O₂ 3% selama 15 menit dan 5% selama 10 dan 15 menit pada hari ke 3 – 5,3 setelah tanam (Tabel 2). Pada sterilisasi yang optimal dapat menghilangkan senyawa fenol yang berada di permukaan eksplan. Kecepatan browning diduga dapat dipengaruhi oleh tingkat kematangan biji kepel. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hatmi dan Widyayanti (2014) bahwa semakin tua umur eksplan akan meningkatkan kandungan senyawa polifenol, sehingga waktu browning lebih cepat dibanding eksplan yang masih muda. Rismayani dan Hamzah (2010) menambahkan bahwa proses pembilasan pada tahap sterilisasi membantu mengeluarkan fenol pada eksplan sehingga dapat menghambat proses browning.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat beda nyata antar perlakuan pada persentase eksplan kontaminasi, browning dan vitrifikasi. Sterilisasi endosperma kepel paling optimal menggunakan konsentrasi NaOCl 10% selama 10 menit dengan perolehan persentase eksplan hidup 44,44% dan persentase vitrifikasi 66,66% serta tidak mengalami kontaminasi dan browning.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bahan sterilan lain dan jenis eksplan yang berbeda pada kultur in vitro kepel.

DAFTAR RUJUKAN

- Batubara, Irmanida, Latifah K. Darusman, Edy Djauhari, and Tohr Mitsunaga. 2010. "Potency of Keipel (*Stelechocarpus Burahol*) as Cyclooxygenase-2 Inhibitor." *Indonesian Journal of Plant Medicine* 3(2):110–14.
- Elfasyari, Trie Yuni. 2020. "Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Beberapa Bagian Tanaman Keipel (*Stelechocarpus Burahol* Hook F. & Th)." *Jurnal Farmasi Udayana; Vol. 8, No. 2, Tahun 2019. DOI - 10.24843/JFU.2019.V08.I02.P08* .
- Farooq, S. A., T. T. Farooq, and T. V Rao. 2002. "Micropropagation of *Annona Squamosa* L. Using Nodal Explants." *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5(1):43–46. DOI: 10.3923/pjbs.2002.43.46.
- Fiani, A., and Yuliah. 2018. "Pertumbuhan Keipel (*Stelechocarpus Burahol* (Blume) Hook & Thomson) Dari Dua Populasi Di Mangunan, Bantul." Pp. 301–6 in *Prosiding SEMINAR NASIONAL PENDIDIKAN BIOLOGI DAN SAINTEK III. 5 Mei*. Sukoharjo.
- Handayani, E., Nandariyah, V. R. Cahyani, and Parjanto. 2020. "Morphological Characters of Keipel (*Stelechocarpus Burahol*) from Kulon Progo, Yogyakarta, Indonesia." in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 458.
- Haryjanto, L. 2012. "Konservasi Keipel (*Stelechocarpus Burahol* (Blume) Hook. f & Thomson): Jenis Yang Telah Langka." *Mitra Hutan Tanaman* 7(1):11-17.

- Hatmi, Retno Utami, and Setyorini Sudarmaji Widayanti. 2014. "Potensi Kepel (*Stelechocarpus Burahol* [Blume] Hook.F & Th.) Sebagai Sumber Pangan Fungsional." Pp. 248–57 in *Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian*,.
- Irsyadi, Muhammad Burhanuddin. 2021. "Factors That Effect of the Optimal Plantlet Growth from Tissue Culture on the Acclimatization Stage." Pp. 100–104 in *Proceeding International Conference on Science and Engineering, 23 October*. Yogyakarta, Oktober 23.
- Karyanti, J., and R. Ida. 2013. "Pemanfaatan Bahan Teknis KNO₃, CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄ Sebagai Hara Makro Dan Benzil Adenin Dalam Perbanyakkan Jati (*Tectona Grandis* L) Secara In Vitro." *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia* 14(3):203–8.
- Kundu, Monoj, Jayesh Pathak, and Sangita Sahni. 2017. "Embryo Culture and Endosperm Culture." Pp. 125–40 in *Plant Biotechnology*.
- Martiansyah, I., D. D. Eris, H. Nurhaimi, and D. Taniwiryono. 2013. "Optimasi Prosedur Sterilisasi Permukaan Eksplan Stek Mikro Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg)." *Menara Perkebunan* 81:9–14.
- Nair, S., Shirgukar, and Mascarenhas. 1986. "Studies on Endosperm Culture of *Annona Squamosal* Linn." *Plant Cell Report* 5:132–35. DOI: 10.1007/BF00269252
- Nasution, S. 2013. "Pengaruh Teknik Sterilisasi Terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan *Paulownia* (*Paulownia Elongata* SY. Hu) Secara In Vitro." [Thesis] Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Permatasari, I. Z. 2013. "Uji Efektivitas Natrium Hipoklorit Dalam Menghambat Pertumbuhan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In Vitro." [Skripsi] Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang
- Prabakti, Hendy D., Didik Pudji Restanto, and Sholeh Avivi. 2017. "Pengaruh Macam Eksplan Dan Konsentrasi 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Kluwek (*Pangium Edule* Reinw.) Secara In Vitro." *Gontor AGROTECH Science Journal* 3(2):39–58. DOI: 10.21111/agrotech.v3i2.930
- Rineksane, I. A., A. K. Mihdzar, K. Saleh, and Q. Z. Faridah. 2012. "In Vitro Development of Embryogenic Calli And Embryogenic Stages In Suspension Cultures of Mangosteen (*Garcinia Mangostana* L." *Journal of Medicinal Plants Research* 6(13):2548 – 2559.
- Rismayani, and F. Hamzah. 2010. "Pengaruh Pemberian Chlorox (NaOCl) Pada Sterilisasi Permukaan Untuk Perkembangan Bibit *Aglaonema* (*Donna Carmen*) Secara In Vitro." in *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PGJ dan PEJ XX*. Maros, Sulawesi Selatan.
- Setiani, Nur Asni, Fitri Nurwinda, and Dewi Astriany. 2018. "Pengaruh Desinfektan Dan Lama Perendaman Pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex. F.A Zorn) Fosberg)." *Biotropika: Journal of Tropical Biology; Vol 6, No 3 (2018)*. DOI - 10.21776/Ub.Biotropika.2018.006.03.01.

- Shofiyani, Anis, and Neni Damajanti. 2017. "Pengembangan Metode Sterilisasi Pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia Galangal* L)." *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto* 17(1):55–64. doi: 10.30595/agritech.v17i1.1345.
- Singh, V., A. Tyagi, P. K. Clrauhan, P. Kumari, and S. Kaushal. 2011. "Idenrification And Prevention Of Bacterial Contimination On Explant Used In Plant Tissue Culture Labs." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(4):160–63.
- Srivastava, N., B. Kamal, V. Sharma, Y. K. Negi, A. K. Dobriyal, S. Gupta, and V. S. Jadon. 2010. "Standardization of Sterilization Protocol for Micro-Propagation of *Aconitum Heterophyllum* an Endangered Medicinal Herb." *Acad Arena* 6(2):62–66.
- Sukanto, A. 2010. "Kultur In Vitro Endosperma, Protokol Yang Efisien Untuk Mendapatkan Tanaman Triploid Secara Langsung." *Jurnal Agro Biogen* 6(2):107–12. DOI: 10.21082/jbio.v6n2.2010.p107-112.
- Suratman, A. P., and S. Mulyani. 2013. "Keefektifan Penggunaan Bahan Sterilisasi Dalam Pengendalian Kontaminasi Eksplan Pada Perbanyakan Tanaman Sirsak (*Annona Muricata* L.) Secara In Vitro." *Publikasi Hasil Penelitian Hibah Bersaing Dikti* 1–8.
- Tao, R., K. Ozawa, M. Tamura, and A. Sugiura. 1996. "Dodecaploid Plant Regeneration from Endosperm Culture of *Persimmon* (*Diospyros Kaki* L)." Pp. 119–28 in *I International Persimmon Symposium*.
- Tisnadjaja, D., D. E. Saliman, Silvia, and P. Simanjuntak. 2006. "Pengkajian Burahol (*Stelechocarpus Burahol* (Blume) Hook & Thomson) Sebagai Buah Yang Memiliki Kandungan Senyawa Antioksidan." *Biodiversitas* 7(2):199–202. DOI: 10.13057/biodiv/d070223.
- Yang, Z. 2009. "Vegetatif Propagation and Genetic Fingerprinting OF *Eucalyptus Grandis* and *Eucalyptus Amplifolia*." University of Florida.