

PERTUMBUHAN DAN MORFOLOGI KULTUR TUNAS SEMPUR
(*Dillenia philippinensis* Rolfe) PADA MEDIA MS-BAP-NAA
(*Growth and Morphology of Sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe) Shoot Culture on MS –BAP-NAA Media*)

**Deritha Ellfy Rantau^{1*}, Dyah Retno Wulandari¹, Tri Muji Ermayanti¹, Rudiyanto¹,
Betalini Widhi Hapsari¹, Aida Wulansari¹, Evan Maulana² dan/and Herlambang
Laksmna Firdaus³**

¹Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jalan Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong 16911,
Jawa Barat, Indonesia, (021) 8754587

²Pusat Pemanfaatan dan Inovasi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Jalan Raya Jakarta-Bogor
Km. 47, Cibinong 16911, Jawa Barat, Indonesia, (021) 8754588

³PT. Astra Internasional Tbk., Jalan Gaya Motor Raya 8, Sunter II, Jakarta Utara, 14330, Indonesia

*E-mail: dellfyra_2@yahoo.com; dellfyra@gmail.com

Tanggal diterima: 24 Maret 2021; Tanggal disetujui: 24 Mei 2021; Tanggal direvisi: 31 Mei 2021

ABSTRACT

*Propagation of sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe) using conventional vegetative methods is considered ineffective due to slow process and low germination level. Propagation by tissue culture is considered more effective because it does not depend on the season and requires less plant material. It can benefit sempur conservation since it is categorized as threatened with extinction in 2020 on the IUCN red list. This study aimed to evaluate the effect of BAP and NAA on the growth of sempur's shoots and to observe the morphology of shoot culture. The media used as a control was MS without growth regulators. The treatment medium was MS with the addition of BAP and NAA. Shoots were used as explants. Shoot growth and plantlet morphology were observed eight weeks after planting. The results indicated that the combination of 1 mg/l BAP and 0.5 mg/l NAA resulted in the highest total number of leaves, nodes and adventitious shoots. The combination of BAP and NAA, each 1 mg/l, resulted in the highest fresh weight and callus formation. The combination of 1 and 2 mg/l BAP and 0.5-1 mg/l NAA could not form roots. In comparison, the combination of BAP and NAA in culture media could change the shape and size of the leaves. The survival rate of growth of plantlets derived from MS medium was 50% at 22 weeks after acclimatization.*

Keywords: Morphology, shoot culture, sempur, BAP (Benzil Amino Purin), NAA (Naphthalene Acetic Acid)

ABSTRAK

Perbanyak tanaman sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe) dengan metode konvensional secara vegetatif memerlukan waktu lama dan daya kecambah biji juga rendah. Perbanyak dengan kultur jaringan dianggap lebih menguntungkan karena tidak tergantung musim, memerlukan sedikit bahan tanaman dan bermanfaat untuk konservasi sempur karena termasuk spesies yang hampir terancam punah tahun 2020 dalam daftar merah IUCN. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh BAP dan NAA terhadap pertumbuhan tunas sempur serta mengamati morfologi kultur tunas. Media yang digunakan sebagai kontrol adalah MS yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh. Media perlakuan adalah

MS dengan penambahan BAP dan NAA. Tunas pucuk dipergunakan sebagai eksplan. Pertumbuhan tunas dan morfologi planlet diamati pada delapan MST. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kombinasi 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah total daun, buku dan jumlah tunas adventif tertinggi. Kombinasi BAP dan NAA masing-masing 1 mg/l menghasilkan bobot basah dan pembentukan kalus tertinggi. Kombinasi antara BAP 1 dan 2 mg/l serta NAA 0,5-1 mg/l tidak mampu membentuk akar. Kombinasi BAP dan NAA pada media kultur mengubah bentukan dan ukuran daun. Daya tumbuh planlet yang berasal dari media MS adalah 50% pada 22 minggu setelah aklimatisasi.

Kata kunci: Morfologi, kultur tunas, sempur, BAP (Benzil Amino Purin), NAA (Naphthalene Acetic Acid)

I. PENDAHULUAN

Sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe) adalah tanaman berkayu dari famili Dilleniaceae, berupa semak atau pohon yang dapat tumbuh hingga 10-15 m. Dua jenis lainnya, yang juga sering disebut dengan nama sempur adalah *D. indica* dan *D. suffruticosa*. Pohon sempur dimanfaatkan kayunya untuk pertukangan atau bahan bangunan (Ramadnil, Iskandar, & In'am, 2011) dan sebagai tanaman peneduh serta tanaman hias. Sempur mempunyai buah tunggal, dengan kelopak bunga tetap melekat membungkus buah, daging buah bersekat dan berwarna hijau transparan. Buahnya dapat diolah menjadi minuman, saus, selai dan penyedap rasa pada olahan ikan (Yazan & Armania, 2014). *Dillenia* sp. memiliki banyak khasiat seperti untuk pereda rasa sakit, menghilangkan kelebihan gas dalam perut, menurunkan suhu tubuh, meningkatkan sistem saraf dan menghilangkan lelah, obat pencemar dan *astringent* (penyegar), jus buah sempur sebagai penguat jantung (Barua, Yasmin, & Buragohain, 2018). Buah sempur mengandung antosianin dan polifenol (Racquel, Barcelo, Rosuman, & Adeltrudes, 2017), simplisia daun dapat menurunkan gula darah tikus jantan (Wahyuni, Hernawati, & Djuarsa, 2016), sebagai antibakteri (Gandhi, Dipal, & Mehta, 2013), analgesik dan antioksidan (Alam et al., 2012), serta sebagai pestisida nabati (Asmaliyah, Hadi, Waluyo, & Muslimin, 2016), antidiabetes (Angeles, Divina, & Judan, 2018) dan antikanker (Dante, Ferrer, & Jacinto, 2019).

Tanaman sempur sebelumnya dinilai sebagai spesies yang rentan punah (*vulnerable*), namun pada tahun 2020 spesies ini secara global dinilai sebagai spesies yang hampir terancam punah (*near threatened*) dalam daftar merah IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*) (EDC, 2020), sehingga tanaman ini perlu dikonservasi dan perbanyak tanaman merupakan prioritas untuk dikembangkan. Secara alami, sempur berkembang biak dengan biji. Namun biji tanaman *D. suffruticosa* tidak dapat berkecambah (Manjul & Metali, 2016), Perkecambahan biji *D. obovata* memerlukan waktu lebih dari satu tahun (Lemmens, Soerianegara, & Wong, 1995) oleh karena itu perlu dilakukan perbanyak secara vegetatif. (Abidin & Metali, 2015).

Penelitian kultur jaringan genus *Dillenia* belum banyak dilakukan. Mikropropagasi *D. indica* telah dilakukan oleh (Abd El-Kadder, Essam, & Hammad, 2012), pada media MS dengan penambahan 2 mg/l BAP, dan perakaran dengan penambahan IBA dan AgNO₃. Abd El-Kadder, Lashin, Aref, Hussain, & Ewais (2014), melakukan kultur kalus untuk studi metabolit sekunder pada *D. indica* dengan perlakuan elisitasi fisik menggunakan iradiasi sinar ultraviolet, gelombang *microwave* dan pencahayaan yang berbeda. Hasilnya diperoleh keragaman respon terhadap produksi kalus, kandungan fenol dan aktivitas antioksidan.

Kultur jaringan *D. philippinensis* juga telah dilakukan oleh Lumeran (2016)

melalui perkecambahan *in vitro* biji pada media Knudson C yang ditambahkan BAP serta NAA, setelah tumbuh kalus, dipindahkan ke media MS yang mengandung BAP serta NAA. Media perbanyak tunas terbaik adalah MS yang ditambahkan BAP dan NAA pada konsentrasi yang sama yaitu 1 mg/l, namun tunas yang terbentuk masih tidak berbeda nyata dengan 0,5 mg/l dan pengamatan tentang morfologi tunas belum dilakukan. Wulandari et al., (2019a) melaporkan bahwa perkecambahan *in vitro* biji pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh, berlangsung sangat lambat dan keberhasilan tumbuhnya rendah (4,3%). Penambahan GA₃ tidak meningkatkan daya kecambah biji. Media MS dan WP yang mengandung BAP dapat menginisiasi kultur tunas dari eksplan pucuk. Perbanyak tunas dari kalus kompak yang mengandung calon tunas dan peningkatan ketegaran eksplan dengan GA₃ telah dilakukan oleh Wulandari et al., (2019b). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui respon tumbuh dan morfologi kultur tunas sempur dengan menggunakan modifikasi media hasil penelitian Lumeran (2016), yaitu menggunakan kombinasi BAP dan NAA dengan konsentrasi 1-2mg/l dan 0,5-1 mg/l, dari eksplan tunas pucuk kultur *in vitro*.

II. METODOLOGI

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium biak sel dan jaringan tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong Bogor. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019 sampai dengan Februari 2020.

B. Metode

1. Pembuatan kultur *in vitro* tunas pucuk sempur

Sumber eksplan yang digunakan dalam percobaan ini adalah koleksi kultur jaringan sempur (*D. philippinensis*). Kultur tunas

yang diinisiasi dari perkecambahan biji secara *in vitro* ini, telah disubkultur secara rutin setiap 8-12 minggu sekali dan siap digunakan sebagai eksplan. Kultur *in vitro* diinisiasi dari perkecambahan biji yang diperoleh dari buah tanaman sempur yang tumbuh di kebun plasma nutfah - Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI di Cibinong.

Percobaan diawali dengan pembuatan media untuk menumbuhkan eksplan tunas pucuk sempur di laboratorium. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige & Skoog, 1962), dengan penambahan 1 dan 2 mg/l BAP dikombinasikan dengan 0,5 dan 1 mg/l NAA. Kombinasi perlakuannya adalah: 1) MS+1 mg/l BAP+0,5 mg/l NAA; 2) MS+2 mg/l BAP+0,5 mg/l NAA; 3) MS+ 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA; 4) MS+2 mg/l BAP+1 mg/l NAA dan sebagai media kontrol adalah MS tanpa penambahan BAP dan NAA. Percobaan menggunakan enam botol sebagai ulangan, pada setiap botol berisi empat eksplan berupa tunas pucuk. Gula yang ditambahkan ke media sebanyak 30 g/l dan dipadatkan menggunakan agar 3 g/l. Media disterilisasi menggunakan otoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm suhu 121°C. Eksplan yang digunakan berupa tunas pucuk dari kultur stok yang telah ditanam pada media MS selama 12 minggu. Inkubasi kultur dilakukan pada suhu 25-27°C di ruang kultur. Dengan pencahayaan lampu TL kontinyu selama delapan minggu. Desain penelitian yang digunakan adalah RAL faktor tunggal dengan perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin BAP dan golongan auksin NAA yang ditambahkan ke dalam media kultur.

Pada umur delapan minggu setelah tanam (MST), pertumbuhan tunas diamati dengan mencatat tinggi tunas, jumlah tunas adventif, jumlah daun total, daun hijau daun coklat, jumlah buku, dan terjadinya pembentukan kalus pada pangkal tunas. Selain itu bobot segar tunas dan kandungan klorofil juga dihitung. Bobot segar ditimbang sebanyak empat ulangan,

sedangkan analisis kandungan klorofil total dilakukan dengan tiga ulangan. Morfologi tunas dan daun diamati dengan pengambilan foto. Sebanyak empat tunas berumur delapan MST diambil secara acak selanjutnya 5-8 helai daunnya dipisahkan kemudian difoto pada kertas milimeter blok.

2. Analisis klorofil

Analisis total klorofil dilakukan menggunakan metode Pérez-Patricio et al., (2018), dengan modifikasi. Sebanyak 0,5 g daun digerus dalam 10 ml aseton 80%, dihomogenisasi dengan *vortex* selama lima menit lalu disaring. Selanjutnya 1 ml larutan diencerkan 10 kali sebelum dilakukan pembacaan absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 663 nm dan 645 nm. Pembacaan absorbansi dilakukan triplo. Kandungan klorofil total dihitung dengan menggunakan rumus (Pérez-Patricio et al., 2018):

$$\text{Klorofil total (mg/g)} = (8,2 \cdot A_{663}) + (20,2 \cdot A_{645})$$

Dimana: A_{663} dan A_{645} adalah hasil pengukuran absorbansi dari $\lambda=663$ nm dan $\lambda=645$, dengan aseton 80% sebagai blanko.

Aklimatisasi dilakukan terhadap 24 planlet dengan umur 12 MST yang berasal dari media dasar MS yang tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh sebagai media perbesaran dan pembentukan planlet yang siap untuk diaklimatisasi (tunas sempur memiliki batang tegar dan berakar). Aklimatisasi planlet dilakukan di rumah kaca menggunakan baki plastik berukuran 45 cm x 35 cm x 15 cm, lalu ditutup dengan plastik transparan. Komposisi media tanam terdiri atas tanah, pupuk kompos serta sekam bakar dengan perbandingan 1:1:1. Sebelum ditanam planlet dibersihkan dari sisa-sisa media kultur yang mengandung agar, lalu dicelupkan ke dalam larutan benlate 3%. Kemampuan tumbuh planlet diamati hingga 22 MST dan diharapkan saat ini tanaman sudah tumbuh lebih besar.

3. Analisis data

Data dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan *software* DSAASTAT ver 1.021 dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 0,05 untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pertumbuhan kultur tunas pucuk Sempur

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan BAP pada konsentrasi 1-2 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 0,5-1 mg/l berpengaruh nyata terhadap parameter pertumbuhan; tinggi tunas, jumlah buku, jumlah tunas, jumlah total daun, total klorofil dan bobot basah planlet. Pertumbuhan kultur tunas pucuk *in vitro* tanaman sempur (*D. philippinensis*) umur 8 MST yang ditanam di media MS mengandung kombinasi BAP serta NAA disajikan pada Tabel 1. Eksplan yang ditanam di media kontrol, yaitu MS tanpa penambahan BAP maupun NAA menghasilkan tunas tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan eksplan yang ditanam pada media yang mengandung BAP dan NAA. Media yang mengandung 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah buku dan jumlah tunas adventif tertinggi. Penambahan 2 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA, menghasilkan respon yang tidak berbeda dengan kontrol untuk parameter pengamatan jumlah buku dan jumlah daun total. Media MS yang mengandung kombinasi 1 mg/l BAP dengan 0,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah buku dan jumlah tunas adventif tertinggi, dan menunjukkan respon berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Penambahan 2 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA menghasilkan jumlah tunas adventif terendah. Hanya media kontrol yang tidak mengandung BAP dan NAA yang mampu menghasilkan akar.

Tabel (Table) 1. Rata-rata tinggi tunas, jumlah buku, dan jumlah tunas adventif planlet sempur (*D. philippinensis*) umur delapan minggu pada media MS dengan penambahan BAP dan NAA (*The average of shoot height, number of nodes, and number of sempur's adventitious plantlets (D. philippinensis) at eight weeks after culture on MS medium with the addition of BAP and NAA*)

Media (Medium)	Tinggi tunas (Shoot height) (cm)	Jumlah buku (Node numbers)	Jumlah tunas adventif (Adventitious shoot numbers)	Pembentukan akar* (Root formed*)
MS (MS)	2,08 ± 0,10a	3,75±0,14b	0,00±0,00d	+
MS+1 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	1,58±0,04b	4,85±0,13a	2,40±0,20a	-
MS+2 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	1,55±0,06bc	3,70±0,11b	1,85±0,22b	-
MS+1 mg/l BAP +1 mg/l NAA	1,56±0,06bc	3,55±0,11b	1,5±0,22bc	-
MS+2 mg/l BAP +1 mg/l NAA	1,36±0,01c	3,60±0,03b	1,15±0,05c	-

Keterangan (Remarks): Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05 (*The numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at the 0,05 test level*)

*) + Terbentuk akar (*Roots formed*), - Tidak terbentuk akar (*No roots formed*)

Tabel (Table) 2. Jumlah daun, persentase daun hijau dan coklat serta panjang daun dan total kandungan klorofil planlet sempur (*D. philippinensis*) umur delapan minggu pada media MS dengan penambahan BAP dan NAA (*Number of leaves, percentage of green and brown leaves and the leaves' length, and total chlorophyll content of sempur's (D. philippinensis) plantlets at eight weeks after culture on MS medium with the addition of BAP and NAA*)

Media (Medium)	Jumlah total daun (Helai) (Total number of leaves) (Sheet)	Daun hijau (Green leaves) (%)	Daun coklat (Brown leaves) (%)	Panjang daun (Leaf length) (mm)	Total klorofil (Total chlorophyll) (mg/g)
MS	7,70±0,21c	90,81	9,19	14,73±0,24	2,073±0,081a
MS+1 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	14,50±0,72a	88,97	11,03	7,79±0,90	0,720±0,145b
MS+2 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	10,90±0,45b	93,10	6,90	12,33±2,32	0,848±0,203b
MS+1 mg/l BAP +1 mg/l NAA	8,85±0,058c	91,09	8,91	9,00±1,95	0,844±0,122b
MS+2 mg/l BAP +1 mg/l NAA	8,25±0,35c	87,39	12,61	7,37±0,82	0,654±0,117b

Keterangan (Remarks): Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05 (*The numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at the 0,05 test level*)

Tabel (Table) 3. Rata-rata bobot basah dan persentase terjadinya pembengkakan pada planlet sempur (*D. philippinensis*) umur delapan minggu pada media MS dengan penambahan BAP and NAA (The average of fresh weight and the percentage of swelling of sempur's (*D. philippinensis*) plantlets at eight weeks after culture on MS medium with the addition of BAP and NAA)

Media (Medium)	Bobot basah (Fresh weight) (g)	Terbentuk pembengkakan pada pangkal batang (Swelling forms at the base of the stem) (%)
MS	0,328±0,144b	0,00
MS+1 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	0,148±0,020c	10,0
MS+2 mg/l BAP +0,5 mg/l NAA	0,138±0,017c	29,17
MS+1 mg/l BAP +1 mg/l NAA	0,505±0,029a	64,29
MS+2 mg/l BAP +1 mg/l NAA	0,144±0,018c	32,14

Keterangan (Remarks): Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05 (The numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at the 0,05 test level)

Tabel 2 menunjukkan jumlah daun tunas *in vitro* sempur, meliputi jumlah total daun yang merupakan penjumlahan dari jumlah daun hijau dan yang mengalami pencoklatan (layu) serta kandungan total klorofil pada delapan MST. Berdasarkan pengamatan, media yang mengandung 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA menghasilkan total daun terbanyak dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan yang lain. Namun persentase jumlah daun hijau tertinggi terdapat pada media MS yang mengandung 2 mg/l BAP dikombinasikan dengan 0,5 mg/l NAA. Persentase jumlah daun coklat tertinggi ditunjukkan oleh tunas pada media MS yang mengandung 2 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA. Nilai persentase tersebut didapatkan dengan menghitung jumlah daun hijau dibagi dengan jumlah daun total, dan jumlah daun coklat dibagi dengan jumlah daun total dalam setiap perlakuan. Ukuran daun pada tunas yang ditanam di media tanpa zat pengatur tumbuh, lebih panjang dibandingkan dengan ukuran daun pada media yang mengandung BAP dan NAA. Tunas yang ditanam di media kontrol memiliki kandungan total klorofil tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

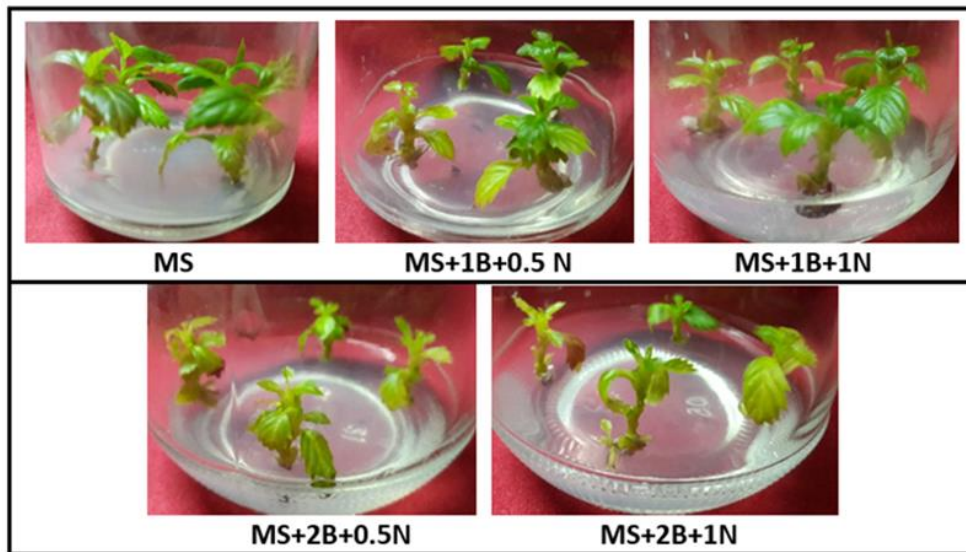
Pertumbuhan kultur tunas sempur pada delapan MST juga ditunjukkan dengan bobot basahnya, seperti tertera pada Tabel 3. Hasil penimbangan bobot basah tunas menunjukkan tunas yang ditanam di media dengan penambahan 1 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Pada media ini persentase pembentukan kalus juga tertinggi.

2. Morfologi kultur tunas sempur

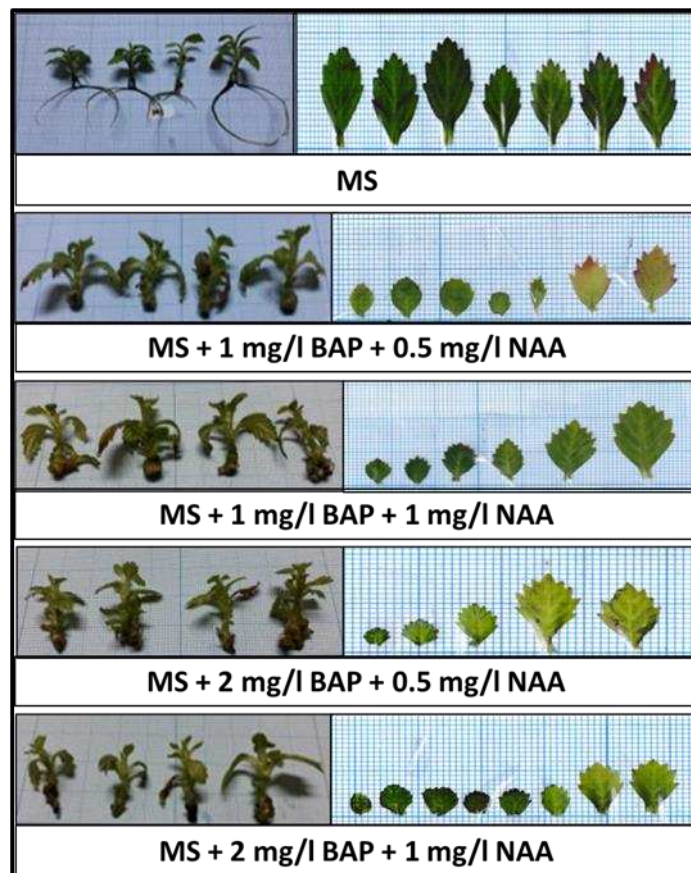
Keragaman kultur tunas pucuk tanaman sempur hasil perlakuan kombinasi BAP dan NAA ditampilkan pada Gambar 1. Secara visual tunas tidak berbeda pada umur delapan MST di media yang mengandung empat kombinasi konsentrasi BAP dan NAA. Namun pada bagian pangkal batang, tunas yang ditanam pada media dengan kombinasi BAP dan NAA, tampak mengalami penebalan atau pembengkakan, sedangkan tunas yang ditanam pada media MS tanpa BAP maupun NAA, tampak lebih kecil dan tidak terjadi pembengkakan. Penebalan atau pembengkakan tersebut berupa kalus. Penampilan tunas, planlet dan bentuk daun secara lebih jelas terdapat pada Gambar 2.

Pertumbuhan dan Morfologi Kultur Tunas Sempur (Dillenia philippinensis Rolfe) pada Media MS-BAP-NAA

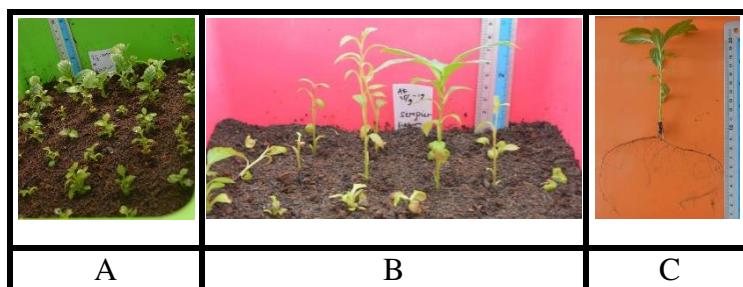
Deritha Ellfy Rantau, Dyah Retno Wulandari, Tri Muji Ermayanti, Rudiyanto, Betalini Widhi Hapsari, Aida Wulansari, Evan Maulana dan/and Herlambang Laksamana Firdaus



Gambar (Figure) 1. Kultur tunas sempur (*D. philippinensis*) yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan BAP dan NAA umur delapan minggu (*Culture of sempur's (D. philippinensis) shoot grown on MS medium with the addition of BAP and NAA at eight weeks of age*)



Gambar (Figure) 2. Planlet dan helai daun hasil kultur *in vitro* tanaman sempur (*D. Philippinensis*) pada media MS dengan penambahan BAP dan NAA umur delapan minggu (*Plantlets and leafblades from in vitro culture of sempur (D. philippinensis) grown on MS medium with the addition of BAP and NAA at eight weeks of age*)



Gambar (Figure) 3. Hasil aklimatisasi planlet sempur (*D. philippinensis*). A. Umur 1 MST. B. Umur 22 MST dan C. Planlet sempur dengan sistem perakaran yang baik umur 22 MST. (Results of sempur's plantlets (*D. philippinensis*) acclimatization. A. one week after planting. B. 22 weeks after planting, and C. sempur plantlets with good roots, 22 weeks after planting)

Tampilan tunas dan planlet secara utuh dan morfologi daun umur delapan MST, tampak berbeda antar perlakuan (Gambar 2). Sistem perakaran yang baik ditunjukkan oleh tunas yang ditanam pada media tanpa BAP maupun NAA. Jumlah akar berkisar antara 2-5, dengan panjang antara 2-14 cm. Pada media dengan kombinasi BAP dan NAA, akar tidak terbentuk karena konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari auksin dapat menghambat biosintesis auksin dalam membentuk akar. Tunas baru yang terbentuk, terletak pada bagian ketiak daun dan masih menempel pada tanaman induk. Bentuk daun pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh lebih memanjang dengan tepi daun bergerigi berbentuk *ovate* warna daun lebih hijau, sedangkan bentuk daun pada perlakuan media dengan kombinasi BAP dan NAA lebih membulat, tepi daun bergerigi atau *deltate* dengan warna daun hijau muda hingga hijau kekuningan. Daun pada tunas yang ditanam di media kontrol memiliki ukuran lebih besar dibandingkan daun pada tunas yang ditanam di media yang mengandung BAP dan NAA.

3. Aklimatisasi planlet

Hasil aklimatisasi planlet sempur menunjukkan bahwa 50% dapat bertahan hidup hingga minggu ke-22. Planlet yang diaklimatisasi adalah planlet sudah memiliki akar, batang dan daun yang sudah terbentuk dengan baik, dan planlet ini dihasilkan oleh media tanpa penambahan

BAP dan NAA. Tunas yang terbentuk pada media BAP dan NAA masih memerlukan tahapan kultur lebih lanjut, yaitu tahapan elongasi batang dan induksi akar secara *in vitro*. Pengamatan minggu pertama setelah aklimatisasi menunjukkan 92% planlet tampak segar, namun banyak planlet mengalami busuk pangkal batang pada minggu kedelapan setelah aklimatisasi, sehingga menurunkan persentase daya hidup planlet. Busuk pada pangkal batang terjadi pada planlet dengan sistem perakaran yang tidak baik, sedangkan planlet yang memiliki sistem perakaran baik mampu tumbuh hingga minggu ke-22. Banyak akar serabut tumbuh dari akar utama dan akar utama bertambah panjang. Hasil aklimatisasi planlet sempur dapat dilihat pada Gambar 3.

B. Pembahasan

Media terbaik untuk pertambahan tinggi tunas, ukuran daun yang lebih panjang serta terbentuknya akar adalah media yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh. Peningkatan banyaknya buku, jumlah tunas adventif dan banyaknya daun ditunjukkan pada media yang mengandung 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin memacu perbanyak tunas. Lebih banyaknya jumlah buku, tunas adventif dan daun pada perlakuan media yang mengandung kombinasi BAP dengan NAA

membuat jarak antar buku pada tunas Sempur tampak lebih pendek (Gambar 1). Kondisi ini disebabkan oleh pertumbuhan tunas baru yang aktif, sehingga pertumbuhan tinggi tunas terhambat, yang menyebabkan batang lebih tebal dan bentuk eksplan menjadi lebih roset. Hasil di atas sejalan dengan hasil mikropropagasi terhadap tiga kultivar murbei selama delapan minggu menunjukkan bahwa tinggi planlet berkaitan dengan jumlah tunas yang dihasilkan. Semakin banyak tunas yang dihasilkan maka tanaman yang terbentuk akan semakin pendek, karena unsur-unsur hara yang terdapat pada media kultur dipergunakan oleh banyak tunas sehingga setiap tunas hanya memperoleh sedikit unsur hara (Nursyamsi, 2012).

Menurut Lee, Hirakawa, Yamaguchi, & Ito (2019), sitokinin diperlukan untuk pembelahan sel pada jaringan meristematik, sementara auksin mendorong pembentukan organ, pertumbuhan dan differensiasi. Sitokinin dan auksin bekerja bersama dalam berbagai organ, jaringan dan sel, walaupun kedua zat pengatur tumbuh ini pada awalnya bekerja antagonis, selanjutnya keduanya berinteraksi sinergistik. Pada meristem tunas apikal terjadi lokalisasi aktivitas hormonal maksimal sitokinin yaitu meningkatkan proliferasi dari sel yang tidak berdiferensiasi di meristem tunas apikal sementara auksin beraksi di zona peripheral untuk menginduksi diferensiasi seluler dan perkembangannya (Schaller Bishopp, & Kieber, 2015). Pada kultur daun tembesu (*Fragraea fragrans* Roxb) BAP dengan konsentrasi 1-2 ppm dan konsentrasi nitrogen dalam media kultur 80 mmol dapat menginduksi tunas adventif (Damayanti, Supriyanto, Wulandari, & Subandy, 2017).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas yang ditanam di media yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh memiliki kandungan klorofil paling tinggi dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan dengan penambahan BAP dan NAA. Hal ini mengindikasikan bahwa tanaman lebih hijau mempunyai kemampuan fotosintesis

yang lebih baik. Klorofil adalah faktor dominan yang mengendalikan sifat yang berhubungan dengan vegetasi hijau yang sehat dan merupakan bagian penting dari proses fotosintesis. Kandungan klorofil juga berhubungan langsung dengan status nitrogen, umumnya nitrogen daun terintegrasi dalam klorofil. Konsekuensinya status nitrogen dapat secara tidak langsung teramati dengan mengukur kandungan klorofil daun (Andreas et al., 2015). Konsentrasi total klorofil pada tanaman *in vitro* maupun *ex vitro* dari famili Bryaceae bervariasi. Kinetin merupakan sitokinin yang paling efektif diaplikasikan pada konsentrasi tertinggi 2 mg/l, sementara BAP dan TDZ kurang efektif pada konsentrasi 0,2 dan 2 mg/l (Sabovljević, Sabovljević, & Vukojević, 2010) dan klorofil total merupakan salah satu indikator dari fungsi fotosintesis pada daun. Pada penelitian ini, penambahan BAP dan NAA menurunkan total klorofil pada kultur tunas pucuk sempur.

Perubahan bentuk dan ukuran pada daun yang dihasilkan oleh media yang mengandung BAP dan NAA diduga berkaitan adanya variasi somaklonal. Variasi antar tanaman yang diregenerasi dari berbagai bentuk kultur sel dan diinduksi selama siklus kultur jaringan diistilahkan dengan variasi somaklonal (Deepthi, 2018). Pemicu mutasi dalam kultur jaringan dikaitkan dengan berbagai faktor stress seperti pelukaan, paparan sterilant selama sterilisasi, jaringan yang tidak sempurna (contoh ekstrim adalah protoplas, yaitu sel tanpa dinding), ketidakseimbangan komponen media seperti konsentrasi zat pengatur pertumbuhan (auksin dan sitokinin), gula dari nutrisi medium sebagai pengganti fotosintesis pada daun, kondisi cahaya yang berkaitan dengan kelembaban tinggi dan transpirasi yang terganggu (Krishna et al., 2016). Biasanya variabilitas terjadi secara spontan yang mengakibatkan perubahan sementara atau permanen selama kultur *in vitro*. Hanya saja konsekuensi ekonomi dari

variasi somaklonal pada tanaman buah yang berkayu adalah siklusnya yang lama sehingga perilaku tanaman mikro harus dinilai setelah tahap juvenil yang panjang dan dalam kondisi lapang (Leva, Petruccelli, & Rinaldi, 2012).

Pertumbuhan tanaman berhubungan dengan perubahan yang tidak dapat balik dalam bentuk ukuran sel, organ atau seluruh bagian tanaman, yang terkait baik pada pembelahan sel atau perbesaran sel. Pertumbuhan tanaman dapat divisualisasikan dalam bentuk peningkatan tinggi tanaman, diameter batang, volume jaringan, peningkatan dalam jumlah sel, peningkatan bobot basah, bobot kering, peningkatan area dan bobot daun dan lain-lain (Vijay, Rakesh, & Madan, 2017). Pada percobaan ini bobot basah berbeda nyata dengan kontrol dan kombinasi perlakuan lainnya. Bobot basah tertinggi diperoleh pada kultur tunas pucuk sempur yang ditanam di media yang mengandung 1 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA, demikian juga halnya dengan persentase terjadinya pembengkakan pada pangkal batang yang mengarah pada terbentuknya kalus. Media tersebut merupakan komposisi media perlakuan dengan proporsi BAP dan NAA yang seimbang yaitu masing-masing 1 mg/l (Tabel 3). Tingginya bobot basah pada perlakuan ini diduga berhubungan dengan terbentuknya kalus pada pangkal batang tunas *in vitro*, sebagaimana yang dijelaskan oleh (Lestari, 2011) bahwa perimbangan sitokinin terhadap auksin dapat mengarahkan proses morfogenesis. Peningkatan konsentrasi NAA menjadi 1 mg/l pada media kultur mampu meningkatkan berat basah eksplan sebesar 0,357 g dan meningkatkan persentase pembengkakan pada pangkal batang sebesar 54,29%, dibandingkan dengan perlakuan penambahan 1 mg/l BAP serta 0,5 mg/l NAA.

Hasil penelitian Wulandari et al., (2019b) menunjukkan bahwa struktur kalus kompak yang telah mengandung calon tunas, yang dapat beregenerasi menghasilkan paling banyak lima tunas jika

ditumbuhkan pada media WP+2 mg/l BAP setelah 8 MST. Kalus kompak tersebut muncul dari daerah hipokotil kecambah biji yang dibiarkan tumbuh cukup lama pada media WP yang mengandung 1 mg/l BAP. Pada penelitian Lumeran (2016), kalus kompak terbentuk dengan eksplan akar kecambah *in vitro* pada media MS dengan penambahan berbagai kombinasi konsentrasi BAP dan NAA. Tunas dihasilkan dari regenerasi optimal kalus yang ditanam di media yang mengandung 1 mg/l BAP dan 1 mg/l NAA.

Pada percobaan ini media dengan penambahan zat pengatur pertumbuhan BAP dan NAA belum menghasilkan sistem perakaran yang baik. Dengan demikian, sebelum aklimatisasi tunas yang terbentuk pada media yang mengandung kombinasi sitokinin dan auksin harus dipindahkan ke media yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh agar terjadi induksi akar. Perbanyakan sempur secara konvensional dilakukan melalui stek batang (Abidin, & Metali, 2015) dan pada *D. suffruticosa* dengan perlakuan beberapa jenis auksin, menunjukkan bahwa perlakuan NAA dan IAA dapat meningkatkan pembentukan akar lebih baik dibandingkan dengan IBA (Matali et al., 2017). Pada tanaman teh, setelah optimasi pada tahap multiplikasi, elongasi tunas diperlukan sebelum tahap pengakaran. Umumnya multiplikasi dan elongasi tunas pada kultur jaringan dilakukan pada dua tahapan terpisah. Efisiensi produksi planlet, pada tahapan multiplikasi dan elongasi dapat terjadi pada satu formulasi media yaitu dengan kombinasi tipe dan konsentrasi sitokinin dengan Giberellin (Gonbad, Azadi, Sinniah, Aziz, & Mohamad, 2014).

Penelitian oleh Bandaralage, Hayward, O'Brien, & Mitter (2015) menggunakan Meta-topolin yang merupakan sitokinin aromatik alami menggantikan BAP dikombinasikan dengan asam Giberelik dapat mengeliminasi kalus dan nekrosis, serta berpengaruh negatif pada perakaran tanaman alpukat. Kombinasi keduanya mempengaruhi pemanjangan ruas batang,

pertumbuhan daun dan mendorong dominasi apikal. Kombinasi 0,1 mg/l Metatopolin dan 0,1 mg/l GA₃ merupakan dosis yang paling efektif untuk meregenerasi tunas juvenil. Pada tanaman sempur induksi akar dari eksplan buku meningkat dengan meningkatnya konsentrasi GA₃, namun menurun pada eksplan tunas pucuk (Wulandari et al., 2019b).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Media MS yang mengandung 1 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA mampu meningkatkan jumlah buku, tunas adventif dan jumlah daun total dibandingkan kombinasi perlakuan lainnya. Jumlah buku, tunas adventif dan jumlah daun total yang dapat dihasilkan pada perlakuan ini masing-masing adalah 4,85±0,13; 2,40±0,20 dan 14,50±0,72. Setelah perbanyak tunas pada media MS dengan kombinasi BAP dan NAA, untuk tahap perakaran tunas perlu dipindahkan pada media MS tanpa penambahan BAP dan NAA sebelum proses aklimatisasi.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan ketegaran tunas *in vitro* hasil multiplikasi, agar planlet mempunyai perakaran yang lebih baik, sehingga daya tumbuh selama aklimatisasi lebih tinggi dan masa aklimatisasi di rumah kaca lebih cepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada PT Astra Internasional Tbk karena penelitian ini merupakan bagian kegiatan kerja sama antara Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI dengan PT Astra Internasional Tbk. Tahun 2019-2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Kadder, E.M., Lashin, I.I., Aref, M.S., Hussian, E.A., & Ewais, E.A., (2014). Physical elicitation of *Dillenia Indica* callus for production of secondary metabolites. *New York Science Journal*, 7(10), 48–57.
- Abd El-Kadder, Essam, M., & Hammad, H.H., (2012). *In vitro* propagation of *Dillenia Indica*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(7), 452–57.
- Abidin, N., & Metali, F., (2015). Effects of different types & concentrations of auxins on juvenile stem cuttings for propagation of potential medicinal *Dillenia Suffruticosa* (Griff. Ex Hook. F. and Thomson) Martelli Shrub. *Research Journal of Botany*, 10(3), 73–87. doi:10.3923/rjb.2015.73.87.
- Alam, M.B., Rahman, M.S., Hasan, M., Khan, M.M., Nahar, K., & Sultana, S., (2012). Antinociceptive and antioxidant activities of the *Dillenia Indica* Bark. *International Journal of Pharmacology*, 8(4), 243–51. doi: 10.3923/ijp.2012.243.251.
- Andreas, Süb., Danner, M., Obster, C., Locherer, M., Hank, T., & Richter, K., (2015). EnMAP Field Guides Technical Report Measuring Leaf Chlorophyll Content with the Konica Minolta SPAD-502Plus. *EnMAP Field Guides Technical Report, GFZ Data Services* 1–13.
- Angeles, M.G.B., Divina, C.C., & Judan, K.G., (2018). *Dillenia Philippinensis*, An Ilongot ethnobotanical of aurora, Philippines shows antidiabetic activity. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 7(7), 1374–83. doi:10.31032/ijbpas/2018/ 7.7.4494.
- Asmaliyah, E.E., Hadi, W., Waluyo, E.A., & Muslimin, I., (2016). Kandungan Fitokimia Beberapa Tumbuhan Obat di Pesisir Pantai. *Forestry Research and Development Agency* (February).

- Barua, C.C., Yasmin, N., & Buragohain, L., (2018). A review update on *Dillenia Indica*, its morphology, phytochemistry and pharmacological activity with reference to its anticancer activity. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability Research*, 5(5), 244–54. doi: 10.15406/mojbb.2018.05.00110.
- Bandaralage, H., Hayward, J.A., O'Brien, C., & Mitter, N., (2015). Gibberellin and cytokinin in synergy for a rapid nodal multiplication system of avocado. *VIII World Avocado Congress*, 95–98.
- Bella, D.R.S., Suminar, E., Nuraini, A., & Ismail, A., (2016). Pengujian efektifitas berbagai jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap multiplikasi tunas mikro pisang (*Musa paradisiaca* L.) secara *in vitro*. *Jurnal Kultivasi*, 15(2), 74–80.
- Racquel C.B., Barcelo, J.M., Rosuman, P.F., & Adeltrudes, B., (2017). Preliminary *in vivo* evaluation of the acute toxicity of *Dillenia Philippinensis* (Rolfe) fruit extract, anthocyanins and polyphenols in mice (*Mus Musculus*). *International Journal of Biosciences (IJB)*, 10(05), 51–65. doi: 10.12692/ijb/10.5.51-65.
- Damayanti, R.U., Supriyanto, Wulandari, A.S., & Subandy, B., (2017). Regenerasi tunas adventif dari eksplan daun tembesu (*Fragraea fragrans* Roxb.) melalui teknik kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 14(1), 1–17.
- Dante, R.A.S., Ferrer, R.J.E., & Jacinto, S.D., (2019). Leaf extracts from *Dillenia Philippinensis* Rolfe exhibit cytotoxic activity to both drug-sensitive and multidrug-resistant cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 20(11), 3285–90. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.11.3285.
- Deepthi, V.P., (2018). Review article: Somaclonal variation in micropropagated bananas. *Advances in Plant & Agricultural Research*, 8(6), 624–627. doi:10.15406/apar.2018.08.00395
- Energy Development Corporation [EDC]. (2020). *Dillenia philippinensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-1.RLTS.T33202A68069633.en>
- Gandhi, Dipal, & Mehta, P., (2013). Phytochemical and therapeutic aspects. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(11), 134–42. doi:10.7324/JAPS.2013.31124.
- Gonbad, Azadi, R., Sinniah, U.R., Aziz, M.A., & Mohamad, R., (2014). Influence of cytokinins in combination with GA on shoot multiplication and elongation of tea clone Iran 100 (*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze). *The Scientific World Journal*, 2014. doi:10.1155/2014/943054.
- Krishna, H., Alizadeh, M., Singh, D., Singh, U., Chauhan, N., Eftekhari, M., sadh, R.K., (2016). Review article: somaclonal variation and their application in horticultural crops improvement. *3 Biotech*, 6(54) 18. doi: 10.1007/s13205-016-0389-7
- Lee, Z H., Hirakawa, T., Yamaguchi, N., & Ito, T., (2019). The roles of plant hormones and their interactions with regulatory genes in determining meristem activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16), doi: 10.3390/ijms20164065.
- Lemmens, R.H.M.J., Soerianegara, I., & Wong, W.C., (Editors), (1995). *Plant Resources of South-East Asia*, 5(2). Timber tress: Minor Commercial Timbers. *Prosea Foundation*, Bogor, Indonesia. 655 pp
- Lestari, E.G., (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63. doi:10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68.
- Leva, A.R., Petruccelli, R., & Rinaldi, L.M.R., (2012). Chapter 7. Somaclonal variation in tissue culture:

- A case study with olive. Intech Open Science.
<http://dx.doi.org/10.5772/50367>.
- Lumeran, B.T., (2016). Tissue culture of *Dillenia Philippinensis* Rolfe. *Iarjset*, 3(9), 113–16. doi:10.17148/iarjset.2016.3921.
- Manjul N.M.J., & F. Metali, F., (2016). Short communication: germination and growth of selected tropical pioneers in Brunei Darussalam: Effect of temperatur and seed size. *Research Journal of Seed Science*, 9(2), 48-53. doi:10.3923/rjss.2016.48.53.
- Matali, S., Abidin, N., Tuah, W.H., Pg Yusof, A.M.Q., Mohd Din, H.H., Taha, H., Sukri, R.S., & Metali, F., (2017). Propagation of *Dillenia suffruticosa* (Griff.) martelli stem cuttings using plant hormones: A promising approach to supply plantlets to revegetate degraded tropical heath forests in Brunei Darussalam. *Research Journal of Botany*, 12(1), 32–37. doi:10.3923/rjb.2017.32.37.
- Murashige, T., & Folke Skoog., (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15, 474–97.
- Nursyamsi, (2012). Propagasi tiga varietas murbei melalui teknik kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 9(2), 75-82.
- Pérez-Patricio, M., Camas-Anzueto, J.L., Sanchez-Alegría, A., Aguilar-González, A., Gutiérrez-Miceli, F., Escobar-Gómez, E., Voisin, Y., Rios-Rojas, C., & Grajales-Coutiño, R., (2018). Optical Method for estimating the chlorophyll contents in plant leaves. *Sensors (Switzerland)* 18(2), doi:10.3390/s18020650.
- Ramadhanil, P., Iskandar, L., & In'am, B., (2011). Profil herbarium celebense universitas tadulako dan deskripsi 100 jenis pohon khas Sulawesi. *Unit Pelaksana Teknis Herbarium Celebense Universitas Tadulako*, 114.
- Sabovljević, A., Sabovljević, M., & Vukojević, V., (2010). Effects of different cytokinins on chlorophyll retention in the moss *Bryum Argenteum* (Bryaceae). *Periodicum Biologorum*, 112(3), 301–5.
- Schaller, G.E., Bishopp, A., & Kieber, J.J., (2015). The Yin-Yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. *Plant Cell* 27(1), 44–63, doi: 10.1105/tpc.114.133595.
- Shipunov, A., (2012). Introduction to botany. Chapter 5. Tissue and Organs: or How the plant is built. doi:10.5962/bhl.title.54988
- Vijay, P., Rakesh, P., & Madan, P., (2017). Manual of ICAR sponsored training programme for technical staff of ICAR Institutes on physiological techniques to analyze the impact of climate change on crop plants. *Division of Plant Physiology, ICAR-Indian Agricultural Research Institute (IARI), New Delhi, India* (November), 130.
- Wahyuni, T., Hernawati & Djuarsa, P., (2016). Pengaruh pemberian simplisia daun simpur (*Dillenia philippinensis*) terhadap penurunan kadar gula darah mencit (*Mus Musculus* L.) jantan pasca induksi aloksan. *Universitas Pendidikan Indonesia*.
<http://repository.upi.edu>
- Wulandari D.R., Ermayanti, T.M., & Pamungkas, B.K., (2019a). Kultur *in vitro* tanaman buah sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe) sebagai upaya perbanyakan dan konservasi. *Prosiding Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Tumbuhan dan Satwa Liar “Riset Sebagai Fondasi Konservasi dan Pemanfaatan Tumbuhan dan Satwa Liar” 2019*. Bogor, 27 November 2018.
- Wulandari D.R., Ermayanti, T.M., Rantau, D.E., Rudiyanto, Arisandi, J.F., (2019b). Penemu. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2019 Juli 16. Metode perbanyakan tunas tanaman

sempur (*Dillenia philippinensis* Rolfe.)
secara *in vitro*. *Paten Indonesia*.
P00201905989.

Yazan, Saiful., Latifah, & Nurdin Armania.
(2014). *Dillenia* species: A review of
the traditional uses, active constituents
and pharmacological properties from
pre-clinical studies. *pharmaceutical
biology*, 52(7), 890–97.
doi:10.3109/13880209.2013.872672.