

**AGROSAINSTEK****Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian**Website jurnal : <http://agrosainstek.ubb.ac.id>**Research Article****Multiplikasi Pucuk pada Tanaman Doyo (*Curculigo latifolia* Dryand.) Menggunakan Beberapa Kombinasi BAP dan IBA pada Perbanyakan In-Vitro*****Shoot Multiplication of Doyo plant (*Curculigo latifolia* Dryand.) Using Different Combinations of BAP and IBA in In-Vitro Propagation*****Aswan Efendi<sup>1,2</sup>, Widi Sunaryo<sup>3</sup>, Nurhasanah<sup>3\*</sup>**<sup>1</sup>Magister Pertanian Tropika Basah, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Jl. Krayan, Gn. Kelua, Kec. Samarinda Utara, Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75119.<sup>2</sup>Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Kalimantan Timur, Jl. PM. Noor, Sempaja Selatan Kecamatan Samarinda Utara, Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75119<sup>3</sup>Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Jl. Pasir Balengkong, Gn. Kelua, Kec. Samarinda Utara, Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75119

Received: September 18, 2020 /Received in revised : May 20, 2021/ Accepted: June 21, 2022

**ABSTRACT**

The development of the Ulap Doyo weaving industry in East Kalimantan is constrained by doyo plants availability as raw material. Cultivation of Doyo or Marasi plant conventionally faces obstacles due to the low germination rate and deterioration of doyo seeds. Tissue culture is considered as an important technology for mass propagation producing disease-free, high quality, uniform and rapid production of planting material. This study aims to induce regeneration and increase the multiplication of doyo plant for mass multiplication to support the doyo plant conservation program. The research was conducted in 3 stages: shoot initiation, shoot multiplication and plant regeneration (root induction). Shoot initiation and multiplication experiments were carried out using several combinations of 6-Benzylaminopurine (BAP) and Indole-3-butyric acid (IBA) in solid MS media, and two explants types, shoots and rhizomes. The root induction was carried out by growing the plants in MS media containing 0.25 mg L<sup>-1</sup> IBA. The results showed that the rhizome was the best part of the plant as a source of explants in doyo plant tissue culture. Initiation medium of 3.75 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0.50 mg L<sup>-1</sup> IBA and the multiplication medium of 37.50 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0.50 mg L<sup>-1</sup> IBA, gave the best effect resulting in the highest survival and responsiveness percentage (80%), percentage of shoot producing explants (60%), and number of shoots per explant (4.00). The plant regeneration has good potential for doyo plant mass propagation, in which 87.50% of the resulting shoots were able to form good root system.

**Keywords:** *Curculigo latifolia*; BAP; IBA.**ABSTRAK**

Pengembangan industri kerajinan tenun Ulap Doyo di Kalimantan Timur terkendala sulitnya mendapatkan tanaman doyo sebagai bahan baku. Upaya yang dapat dilakukan untuk pembudidayaan doyo adalah dengan kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi regenerasi dan meningkatkan multiplikasi tunas tanaman doyo untuk perbanyakan tanaman secara massal dalam waktu yang relatif singkat sehingga dapat mendukung program konservasi tanaman doyo. Penelitian dilakukan dalam 3 tahapan: tahap inisiasi tunas,

\*Korespondensi Penulis.

E-mail : [nurhasanah\\_2710@yahoo.com](mailto:nurhasanah_2710@yahoo.com)DOI: <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v6i1.192>

*multiplikasi tunas dan regenerasi tanaman (induksi pengakaran). Percobaan inisiasi dan multiplikasi tunas menggunakan RAL faktorial 2 faktor. Faktor pertama yaitu variasi kombinasi konsentrasi ZPT BAP dan IBA dalam media MS padat (7 kombinasi), sedangkan faktor kedua adalah jenis eksplan yaitu tunas dan rimpang. Setiap kombinasi perlakuan diulang 5 kali. Tahapan regenerasi tanaman dilakukan dengan menumbuhkan tanaman pada media MS padat yang mengandung 0,25 mg L<sup>-1</sup> IBA untuk merangsang pertumbuhan akar. Data dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan uji BNJ 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rimpang merupakan bagian tanaman terbaik sebagai sumber eksplan dalam kultur jaringan tanaman doyo, eksplan rimpang yang diinduksi pada media perlakuan inisiasi i6 = 3,75 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0,50 mg L<sup>-1</sup> IBA dan media perlakuan multiplikasi m6 = 37,50 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0,50 mg L<sup>-1</sup> IBA, memberikan pengaruh terbaik dengan persentase hidup dan responsif tertinggi yaitu 80% serta persentase bertunas tertinggi yaitu 60% dengan rerata jumlah tunas per eksplan 4,00. Regenerasi tanaman hasil multiplikasi memiliki potensi yang baik untuk perbanyakan tanaman secara massal yang ditandai dengan 87,50% tunas yang dihasilkan mampu membentuk sistem perakaran yang baik.*

**Kata kunci:** *Curculigo latifolia; BAP; IBA; Tenun ulap doyo; Kultur jaringan.*

## 1. Pendahuluan

Doyo atau Marasi (*Curculigo latifolia*) merupakan plasma nutfah tumbuhan lokal yang tumbuh liar di hutan Kalimantan Timur. Tanaman doyo sangat potensial untuk dibudidayakan mengingat nilai ekonominya yang tinggi karena dapat dimanfaatkan menjadi bahan baku produk makanan, kesehatan dan tekstil. Daun doyo mempunyai serat yang kuat dan digunakan sebagai bahan baku benang dari tenun ulap doyo. Tenun ulap doyo merupakan kain tradisional yang telah lama dikenal sebelum abad ke-17 sejak masa Kerajaan Kutai. Tenun ulap doyo merupakan kerajinan tangan kaum perempuan sekaligus identitas suku Dayak Benuaq di Kutai Barat, Kalimantan Timur, Indonesia. Tenun ulap doyo dikenal dengan keistimewaan berkualitas tinggi, ramah lingkungan serta seluruh bahan pembuatannya didapat secara alami termasuk pewarna alami dari tumbuh-tumbuhan. Tenun yang terbuat dari serat tumbuhan doyo ini biasa dipakai oleh Suku Dayak Benuaq dalam upacara-upacara adat dan digunakan sebagai mahar pada upacara perkawinan. Motif pada tenun ulap doyo menunjukkan strata sosial dari kelompok masyarakat pemakainya. Motif waniq ngelukng, misalnya, yang digunakan oleh masyarakat biasa, sedangkan motif jaunt nguku digunakan kalangan bangsawan atau raja (Dinas Komunikasi dan Informatika Provinsi Kalimantan Timur 2018).

Hasil kerajinan tangan tenun ulap doyo, saat ini telah mendapat perhatian masyarakat nasional dan internasional akan keindahan serta kesakralan yang bernilai tinggi. Sejak akhir tahun 1970, Desa Tanjung Isuy mulai dikenal sebagai Sentra Kerajinan Tenun Ulap Doyo. Pada tahun 2016, Dewan Kerajinan Nasional Daerah (Dekranasda) Kutai Barat mematenkan kepemilikan kain tenun ulap doyo dan tenun ulap doyo juga ditetapkan sebagai Warisan Budaya Tak Benda Nasional oleh

Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan pada tahun 2013 (Pro Kaltim 2016).

Menurut Dinas Perindustrian, Perdagangan, Koperasi, dan UMKM Kalimantan Timur, di zaman modern ini kain ulap doyo bukan hanya sebagai pakaian tradisional namun telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan tas, dompet, sepatu, kemeja dan celana yang telah merambah pasar di Asia dan Eropa. Namun untuk memenuhi permintaan tersebut terdapat kendala yang dihadapi yaitu sentra pembuatan ulap doyo dan bahan baku daun doyo yang masih terbatas. Untuk menghasilkan satu kain dengan panjang sekitar 1,5 m membutuhkan 1.800-2.160 daun doyo (Pro Kaltim 2016). Menurut salah satu pengrajin tenun ulap doyo, sentra produksi yang ada di Kutai Barat seperti di Desa Tanjung Isuy dan Desa Mancong sering dikunjungi oleh wisatawan asing yang membuat permintaan semakin meningkat. Sekali pemesanan biasanya berkisar antara 50 sampai 100 lembar kain dengan ukuran 150 x 50 cm sehingga jika diambil rerata pemesanan terendah dalam sekali pemesanan memerlukan 9.000 tanaman doyo (50 x 1.800 / 10 helai daun per tanaman) (BBC Indonesia 2015). Tidak semua jenis tanaman doyo dapat dijadikan sebagai bahan baku ulap doyo. Salah satu jenis berkualitas tinggi yang biasa digunakan untuk bahan tenun ialah Doyo Pentih dengan ciri-ciri morfologi berleher pendek, daun panjang dan lebar, terdapat bulu-bulu halus di bagian bawah daun serta mempunyai warna daun hijau kekuningan. Doyo pentih memiliki keunggulan yaitu: 1) mempunyai serat yang hampir sama dengan Doyo Temayo yaitu jenis doyo yang memiliki kualitas terbaik untuk bahan baku ulap doyo, dan 2) jenis ini lebih tahan terhadap sinar matahari (Raden et al. 2017).

Tumbuhan doyo jenis tersebut pada saat ini semakin sulit ditemukan, akibat beralih fungsinya hutan di Kalimantan Timur menjadi lahan untuk

perkebunan dan pertambangan. Selain itu, hingga saat ini tumbuhan doyo belum dibudidayakan oleh masyarakat. Selama ini, masyarakat masih mengambil tanaman liar yang ada di hutan untuk memenuhi kebutuhan bahan baku tenun ulap doyo. Hal tersebut meningkatkan peluang resiko terjadinya kepunahan tanaman ini (Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah Kabupaten Kutai Kartanegara 2009). Di alam, perkembangan doyo cenderung lambat karena sulitnya untuk melakukan perbanyakan secara konvensional. Studi awal pada tingkat perkecambahan benih doyo menunjukkan bahwa benih memiliki tingkat perkecambahan yang rendah. Hal ini diduga bahwa benih doyo bersifat rekalsitran, artinya membutuhkan media berkecambah, perawatan yang khusus serta viabilitas benih cepat menurun sehingga tidak dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama (Syabana *et al.* 2015). Solusi tepat untuk tumbuhan yang sulit dikembangkan secara konvensional ialah melalui teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan merupakan solusi alternatif metode perbanyakan untuk mengatasi ancaman kepunahan tumbuhan doyo serta untuk perbanyakan tanaman secara massal sehingga diharapkan dapat mengatasi permasalahan terkait kekurangan bahan baku tenun ulap doyo. Perbanyakan melalui kultur jaringan dapat menghasilkan anakan dalam jumlah yang besar, seragam, tidak tergantung musim dan lebih cepat daripada secara konvensional.

Informasi mengenai kultur jaringan doyo masih sangat terbatas baik pada publikasi nasional maupun internasional. Penelitian yang dilakukan masih terkait pada masalah sterilisasi dan mengatasi *browning* yang mengakibatkan kematian pada eksplan (Syabana *et al.* 2015). Selain itu, kecilnya persentase pertumbuhan eksplan tanaman doyo merupakan salah satu kendala lain yang ditemukan. Beberapa penelitian yang mampu menginduksi regenerasi doyo dilakukan dengan menggunakan eksplan dari tunas (Babaei *et al.* 2014) dan umbi (Farzinebrahimi *et al.* 2016) dengan menggunakan kombinasi ZPT BAP dari golongan sitokinin dan IBA dari golongan auksin.

Tujuan penelitian ini untuk menginduksi regenerasi dan meningkatkan multiplikasi tunas tanaman doyo untuk perbanyakan tanaman secara massal dalam waktu yang relatif singkat sehingga dapat mendukung program konservasi tanaman doyo serta meningkatkan ketersediaan bahan baku ulap doyo. Setiap tahapan penelitian dilakukan untuk mengetahui: 1) bagian tanaman doyo yang terbaik sebagai sumber eksplan untuk kultur jaringan tanaman doyo, 2) kombinasi konsentrasi ZPT BAP dan IBA yang terbaik untuk menginisiasi

terbentuknya tunas pada eksplan 3) kombinasi konsentrasi ZPT BAP dan IBA terbaik untuk menghasilkan multiplikasi tunas terbanyak, serta 4) potensi regenerasi dan pengakaran tunas untuk perbanyakan tanaman secara massal.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan selama 5 bulan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman, mulai bulan Agustus-Desember 2019. Penelitian dilakukan dalam 3 tahapan yaitu inisiasi dan multiplikasi tunas serta regenerasi tanaman (induksi pengakaran).

### *Inisiasi Tunas*

Rancangan yang digunakan RAL faktorial 2 faktor. Faktor pertama yaitu media inisiasi (I) yang terdiri atas  $i_0$  (0 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_1$  (1,25 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_2$  (2,50 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_3$  (3,75 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_4$  (1,25 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_5$  (2,50 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $i_6$  (3,75 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA) pada media dasar MS padat sedangkan faktor kedua yaitu jenis eksplan (E) yang terdiri dari eksplan tunas ( $e_1$ ) dan eksplan rimpang ( $e_2$ ). Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Setiap unit percobaan terdiri atas 2 eksplan. Total eksplan yang diinokulasi sebanyak 140 eksplan (7 x 2 x 5 x 2).

### *Multiplikasi Tunas*

Hasil inisiasi tunas yang didapatkan pada percobaan pertama dipindahkan ke media multiplikasi, yaitu media yang mengandung konsentrasi sitokinin (BAP) 10 kali lipat dari konsentrasi sitokinin pada media inisiasi untuk memacu perbanyakan tunas dengan konsentrasi IBA yang sama seperti pada media inisiasi dalam media dasar MS padat (M), yang terdiri atas  $m_0$  (0 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_1$  (12,5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_2$  (25,0 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_3$  (37,5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,250 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_4$  (12,5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_5$  (25,0 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA);  $m_6$  (37,5 mg L<sup>-1</sup> BAP dan 0,50 mg L<sup>-1</sup> IAA).

### *Regenerasi Tanaman*

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS padat yang mengandung 0,25 mg L<sup>-1</sup> ZPT IBA untuk merangsang pertumbuhan akar (Babaei *et al.* 2013).

## Multiplikasi Pucuk pada Tanaman Doyo (*Curculigo latifolia* Dryand.) Menggunakan Beberapa Kombinasi BAP dan IBA pada Perbanyakan In-Vitro

Tanaman Doyo Biang atau Doyo Pentih fase *juvenile* yang dijadikan sebagai sumber eksplan diambil di Desa Lebaq Mantan Kecamatan Muara Wis Kabupaten Kutai Kartanegara. Sterilisasi dilakukan dalam 2 tahapan yaitu di luar *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dan di dalam LAFC). Tahapan di luar LAFC, eksplan dicuci menggunakan air mengalir dan cairan antiseptik kloroksilenol untuk menghilangkan tanah yang tersisa selama 35 menit. Kemudian eksplan diletakkan di dalam larutan fungisida mankozeb 2 g L<sup>-1</sup> + 3 tetes tween 20 lalu dikocok dengan kecepatan 150 rpm dalam larutan tersebut selama 30 menit, kemudian dibilas dengan air aquades sebanyak 3 kali bilasan. Eksplan dipindahkan ke larutan bakterisida streptomisin sulfat 2 g L<sup>-1</sup> + 3 tetes tween 20 dan dikocok dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit, kemudian dibilas sebanyak 3 kali bilasan

Di dalam LAFC eksplan direndam ke dalam etanol 70% selama 30 detik, kemudian dipindah dan direndam ke dalam larutan cairan pemutih pakaian natrium hipoklorit 30% selama 30 menit, lalu dibilas dengan air steril tiga kali masing-masing selama 10 menit. Eksplan tunas dan rimpang yang telah disterilkan dipotong berukuran 5x10 mm<sup>2</sup> dan diinokulasikan kedalam media inisiasi tunas sesuai dengan perlakuan.



Gambar 1. Bagian tanaman doyo fase *juvenile* sebagai sumber eksplan (A) eksplan tunas, (B) eksplan rimpang. Tanda panah berwarna hitam menunjukkan bagian tanaman yang dipotong untuk dijadikan sebagai sumber eksplan tunas dan panah berwarna putih untuk eksplan rimpang.

Setiap rumpun tunas yang muncul pada media multiplikasi segera dipisahkan dan dipindah ke media MS yang mengandung *Charcoal* 2% selama 2 minggu (Sari *et al.* 2015), gunanya adalah untuk

menghilangkan sisa ZPT yang terbawa pada media sebelumnya dan merangsang pertumbuhan serta pembesaran tunas (Hesami *et al.* 2018). Plantlet yang sudah cukup besar dipindah ke media perakaran selama 4 minggu untuk merangsang pertumbuhan akar (Kassaye & Bekele 2015).

Variabel yang diamati terdiri dari tahap Inisiasi Tunas (jumlah eksplan hidup, eksplan responsif, eksplan *browning*), Tahap Multiplikasi Tunas (persentase eksplan bertunas dan jumlah tunas per eksplan), Tahap Regenerasi Tanaman (persentase tunas berakar) dan perbandingan respons eksplan tunas dan eksplan rimpang. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam, apabila berpengaruh nyata, maka dilanjutkan uji BNJ 5%.

### 3. Hasil

#### Tahap Inisiasi Tunas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT dan interaksinya dengan jenis eksplan berpengaruh tidak nyata, namun jenis eksplan menunjukkan berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah eksplan hidup dan eksplan responsif (Tabel 1). Persentase eksplan tunas hidup tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{1i0}$  dan  $e_{1i5}$  dengan persentase 60% sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{1i1}$  yaitu 0% atau tidak ada yang hidup (Gambar 2). Sedangkan untuk persentase eksplan rimpang hidup tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{2i6}$  dengan persentase 80% sedangkan untuk yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{2i4}$  dengan persentase 40%. Eksplan rimpang memberikan respons yang lebih baik terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT dengan persentase eksplan hidup lebih tinggi yaitu 60,00% (42 eksplan hidup dari 70 eksplan yang diinduksi) dibandingkan eksplan tunas 31,43% (22 eksplan hidup dari 70 eksplan yang diinduksi).

Persentase eksplan tunas responsif tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{1i0}$  dengan persentase 40% sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{1i1}$  dan  $e_{1i5}$  yaitu 0% atau tidak ada yang eksplan yang responsif terhadap media inisiasi yang diberikan (Gambar 3). Persentase eksplan rimpang responsif tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{2i6}$  dengan persentase 80% sedangkan untuk yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{2i4}$  dengan persentase 40%. Eksplan rimpang memberikan respons yang lebih baik terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT dengan persentase eksplan responsif lebih tinggi yaitu 94,48% (39 eksplan responsif dari 42 eksplan yang diinduksi) dibandingkan eksplan

tunas 50,00% dari (11 eksplan responsif dari 22 eksplan yang diinduksi).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT dan

jenis eksplan serta interaksinya berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah eksplan *browning*. Persentase eksplan tunas *browning* tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{1i_1}$  dengan persentase

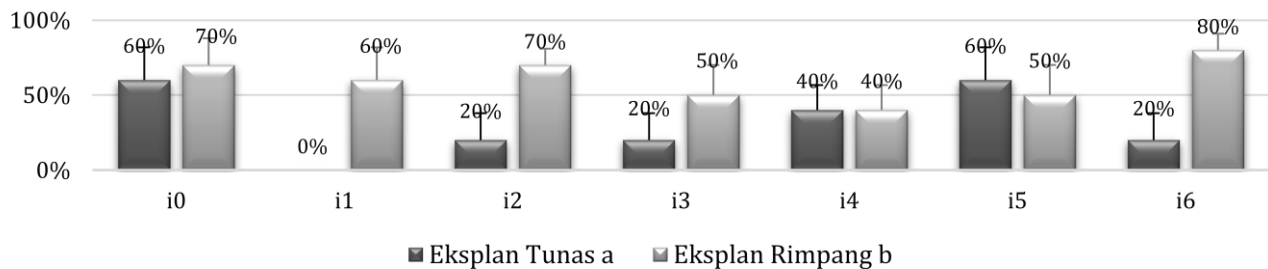
Tabel 1. Hasil analisis ragam pengaruh media inisiasi dan sumber eksplan terhadap inisiasi eksplan tanaman Doyo

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Nilai F-hitung				
		Jumlah eksplan hidup	Jumlah eksplan responsif	Jumlah eksplan <i>browning</i>	Jumlah eksplan bertunas	Jumlah Tunas per eksplan
Media Inisiasi (I)	6	0,81 <sup>tn</sup>	0,70 <sup>tn</sup>	1,72 <sup>tn</sup>	0,94 <sup>tn</sup>	1,20 <sup>tn</sup>
Eksplan (E)	1	10,16 <sup>**</sup>	21,12 <sup>**</sup>	1,25 <sup>tn</sup>	11,57 <sup>**</sup>	10,24 <sup>**</sup>
I x E	6	1,26 <sup>tn</sup>	0,65 <sup>tn</sup>	1,44 <sup>tn</sup>	0,56 <sup>tn</sup>	1,80 <sup>tn</sup>

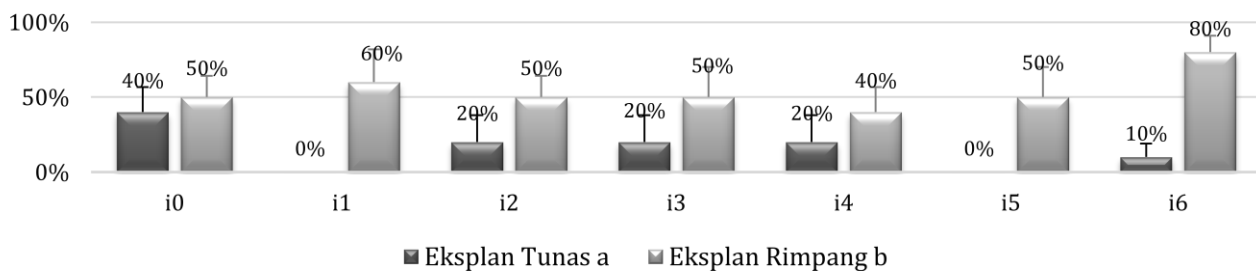
Ket:

tn = Berpengaruh tidak nyata

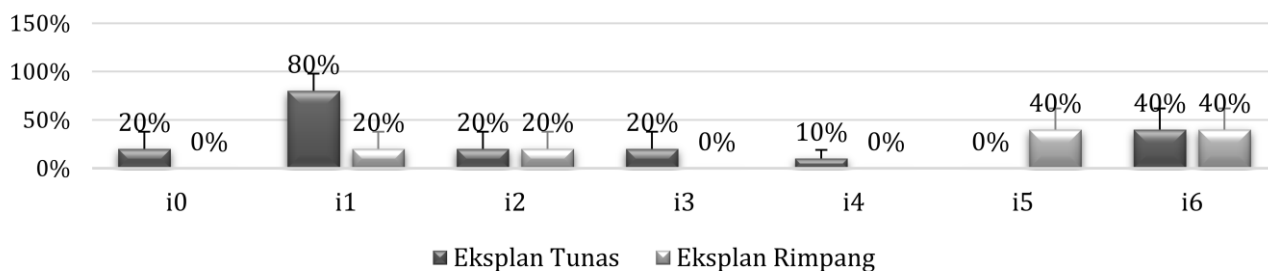
\*\* = Berpengaruh sangat nyata



Gambar 2. Grafik persentase eksplan hidup pada eksplan tunas dan eksplan rimpang terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT. Huruf yang berbeda pada jenis eksplan menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5% = 1,20



Gambar 3. Grafik persentase eksplan responsif pada eksplan tunas dan eksplan rimpang terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT. Huruf yang berbeda pada jenis eksplan menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5% = 1,09

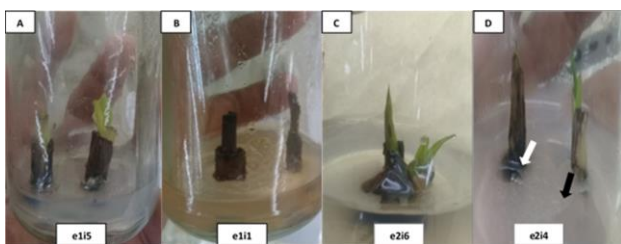


Gambar 4. Grafik persentase eksplan yang mengalami *browning* pada eksplan tunas dan eksplan rimpang terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT



## Multiplikasi Pucuk pada Tanaman Doyo (*Curculigo latifolia* Dryand.) Menggunakan Beberapa Kombinasi BAP dan IBA pada Perbanyakan In-Vitro

80% sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{1i5}$  yaitu 0% atau tidak ada yang mengalami *browning* (Gambar 4). Pada eksplan rimpang, persentase eksplan *browning* tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{2i5}$  dan  $e_{2i6}$  dengan persentase 40% sedangkan untuk yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{2i0}$ ,  $e_{2i3}$  dan  $e_{2i4}$  yaitu 0% atau tidak ada yang mengalami *browning*. Eksplan rimpang memberikan respons yang lebih baik terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT dengan persentase eksplan yang mengalami *browning* lebih rendah yaitu 17,14% (12 eksplan *browning* dari 70 eksplan yang diinduksi) dibandingkan eksplan tunas 27,14% (19 eksplan *browning* dari 70 eksplan yang diinduksi).



Gambar 5. Eksplan tunas yang hidup (A), mengalami *browning* (B) dan eksplan rimpang yang responsif (C), mengalami kontaminasi (D). Tanda panah berwarna hitam menunjukkan bakteri seperti benang putih pada media dan panah berwarna putih menunjukkan lendir pada pangkal eksplan yang disebabkan oleh bakteri

### Tahap Multiplikasi Tunas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT dan interaksinya dengan jenis eksplan berpengaruh tidak nyata, namun jenis eksplan menunjukkan berpengaruh sangat nyata terhadap variabel jumlah eksplan bertunas dan rerata jumlah tunas per eksplan. Persentase eksplan bertunas tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{1m0}$  dengan persentase 40% sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{1m1}$  dan  $e_{1m5}$  yaitu 0% atau tidak menghasilkan tunas (Gambar 6). Pada eksplan rimpang Persentase eksplan bertunas tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{2m6}$  dengan persentase 60% sedangkan untuk yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{2m1}$  dengan persentase 20%. Eksplan rimpang memberikan respons yang lebih baik terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT dengan persentase eksplan bertunas lebih tinggi yaitu 73,81% (31 eksplan

bertunas dari 42 eksplan yang diinduksi) dibandingkan eksplan tunas 50,00% (11 eksplan bertunas dari 22 eksplan yang diinduksi).

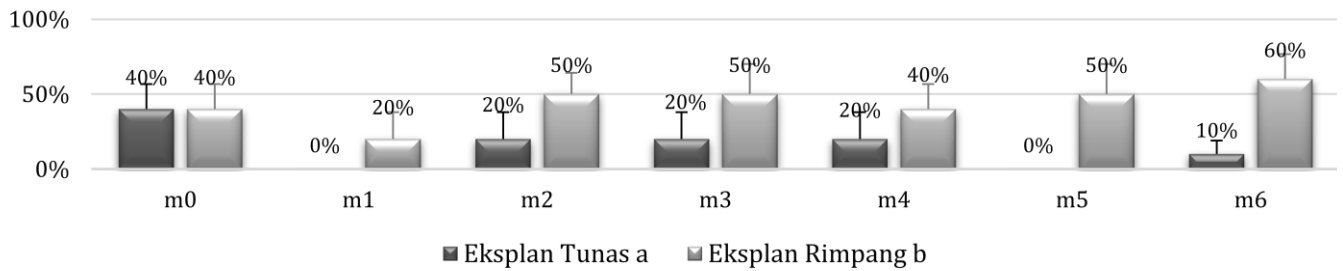
Rerata jumlah tunas per eksplan berada pada kisaran 1 s/d 4 tunas per eksplan. Rerata jumlah tunas per eksplan pada eksplan tunas tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{1m4}$  dengan jumlah rerata 3,00 sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{1m1}$  dan  $e_{1m3}$  yaitu 0,00 atau tidak menghasilkan tunas (Gambar 7). Rerata jumlah tunas per eksplan pada eksplan rimpang tertinggi terdapat pada perlakuan  $e_{2m6}$  dengan jumlah rerata 4,00 sedangkan untuk yang terendah terdapat pada perlakuan  $e_{2m4}$  dengan jumlah rerata 2,00.

### Tahap Regenerasi Tanaman

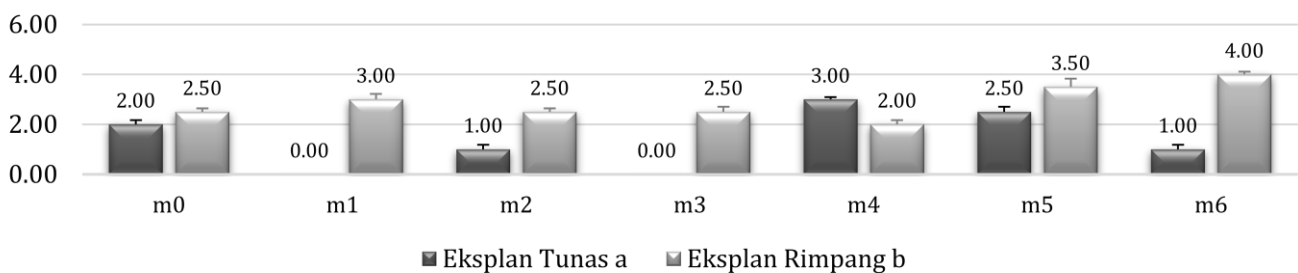
Pada tahap regenerasi tanaman, eksplan yang berasal dari tunas mengalami kontaminasi oleh bakteri secara terus-menerus dan hanya bertahan hingga minggu keenam, setelah itu keseluruhan tanaman mati. Seperti yang telah jelaskan sebelumnya, kontaminan bakteri tetap ada setelah disubkulturkan beberapa kali, karena hidupnya memang secara epifit di dalam jaringan tanaman yang lama-kelamaan menyebabkan seluruh sampel eksplan tunas mati (Silva *et al.* 2015). Pada eksplan rimpang, tunas yang mampu membentuk dan menghasilkan akar pada media MS yang mengandung auksin yaitu ZPT IBA mencapai 87,50%. Hal ini sesuai dengan pendapat Khan *et al.* (2015) yang mengatakan bahwa tunas yang sehat mampu membentuk perakaran pada media kultur jaringan yang ditambahkan dengan ZPT auksin (IBA). Kemampuan tunas pada eksplan rimpang untuk membentuk perakaran tersebut menunjukkan bahwa eksplan rimpang memiliki potensi regenerasi tanaman sehingga dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman secara massal.



Gambar 8. Akar yang terbentuk pada tunas eksplan rimpang



Gambar 6. Grafik persentase eksplan bertunas pada eksplan tunas dan eksplan rimpang terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT. Huruf yang berbeda pada jenis eksplan menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5% =1,12



Gambar 7. Grafik rerata jumlah tunas per eksplan pada eksplan tunas dan eksplan rimpang terhadap perlakuan variasi kombinasi konsentrasi ZPT yang berbeda. Huruf yang berbeda pada jenis eksplan menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5% =1,12

#### 4. Pembahasan

##### Tahap Inisiasi Tunas

Pengaruh tidak nyata pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT disebabkan karena sumber eksplan yang digunakan merupakan bagian tanaman yang memiliki jaringan muda yang sel-selnya masih aktif, sedang tumbuh dan membelah diri. Pada kondisi tersebut regenerasi tanaman lebih dipengaruhi oleh kemampuan regenerasi eksplan sendiri yang lebih tinggi karena berasal dari jaringan muda dibandingkan pengaruh oleh ZPT. Menurut Mridula *et al.* (2019), bagian-bagian vegetatif pada umumnya lebih siap beregenerasi daripada bagian generatif. Ditambahkan oleh Muliati *et al.* (2016), Eksplan yang berasal dari jaringan muda yang ditumbuhkan pada media MS yang memiliki kandungan hara makro, mikro, garam dan nitrat yang cukup untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta kandungan hormon endogen tanaman sudah mencukupi untuk tumbuhnya eksplan, sehingga penambahan ZPT eksogen tidak lagi berpengaruh terhadap persentase keberhasilan tumbuh. Pengaruh nyata pada variasi jenis eksplan menunjukkan bahwa

pemilihan jenis eksplan sangat penting pada kultur jaringan (Sari *et al.* 2015). Menurut Momeni *et al.* (2018), kondisi fisik eksplan yang baik dapat membuatnya bertahan hidup pada media kultur dengan atau tanpa penambahan hormon/ ZPT. Eksplan yang berasal dari rimpang diduga memiliki hormon endogen yang lebih tinggi serta kondisi fisik yang lebih baik sehingga mampu bertahan terhadap gangguan kontaminasi dan *browning*.

Jumlah eksplan hidup pada penelitian ini dipengaruhi oleh jumlah eksplan yang mengalami kontaminasi ataupun *browning*, semakin banyak eksplan yang mati karena mengalami kontaminasi ataupun *browning* maka semakin sedikit persentase eksplan yang bertahan hidup. Penyebab kontaminasi diperkirakan karena eksplan yang digunakan berasal dari hutan. Menurut Choudhary *et al.* (2015), eksplan yang berasal dari alam liar (hutan) memiliki tingkat kontaminasi yang tinggi. Jumlah kontaminasi terbesar pada saat penelitian disebabkan oleh bakteri dengan ciri-ciri seperti benang putih pada media dan lendir pada pangkal eksplan yang lama-kelamaan menyebabkan eksplan membusuk dan mati. Bakteri menyerang pada saat eksplan berumur 4 MST (pada saat

eksplan sudah dipindahkan ke media multiplikasi), sedangkan pada masa inisiasi serangan belum terlihat, hal tersebut disinyalir karena bakteri berasal dari bagian terdalam dari eksplan, sterilisasi eksplan yang dilakukan tidak mampu menembus lapisan terdalam eksplan sehingga bakteri keluar dan berkembang seiring dengan pertumbuhan eksplan. Hal ini didukung oleh Silva *et al.* (2015), yang menyatakan bahwa mikroorganisme endofilik (organisme yang hidup di dalam sel atau antar ruang antar sel tanaman) merupakan biota dari tanaman sumber eksplan yang sering menyebabkan kontaminasi yang sulit diatasi dengan sterilisasi permukaan. Keadaan ini disebabkan oleh koloni bakteri sering tidak muncul pada saat baru dikulturkan pertama kali, tetapi beberapa minggu kemudian muncul koloni bakteri. Bakteri tersebut tetap ada setelah disubkulturkan beberapa kali, karena hidupnya memang secara epifit di dalam jaringan tanaman.

Selain kontaminasi, faktor yang mempengaruhi persentase eksplan hidup adalah jumlah eksplan yang mengalami *browning*. *Browning* adalah pencokelatan yang terjadi pada eksplan yang disebabkan oleh oksidasi senyawa fenolik akibat dilukainya jaringan eksplan pada saat inokulasi (Apriani *et al.* 2016). Oksidasi senyawa tersebut disebabkan oleh aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga seperti polifenol oksidase dan tirosinase yang dilepaskan atau disintesis dan tersedia pada kondisi oksidatif ketika jaringan dilukai (Chuanjun *et al.* 2015). Untuk mengurangi *browning* pada penelitian ini, dilakukan subkultur secara rutin setiap 2 (dua) minggu sekali. Menurut Hutami (2016), subkultur (pemindahan ke media yang baru) dengan media yang sama dapat mengatasi *browning*.

Pengaruh tidak nyata pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT pada jumlah eksplan responsif disebabkan karena beberapa eksplan yang mengalami kontaminasi dan *browning* yang mengakibatkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi terhenti sehingga data terdistribusi secara tidak normal terutama pada eksplan tunas. Pada eksplan tunas, jumlah eksplan responsif tertinggi justru terdapat pada perlakuan kontrol, namun begitu pada eksplan rimpang terlihat pengaruh pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT walaupun tidak nyata. Hal tersebut dapat dilihat dari perlakuan  $e_2i_6$  sebagai taraf perlakuan tertinggi yang menghasilkan jumlah eksplan rimpang responsif tertinggi yang berarti bahwa penambahan konsentrasi ZPT berbanding lurus dengan persentase eksplan rimpang responsif. Menurut Khan *et al.* (2015), ZPT memiliki peranan yang sangat penting bagi

tanaman yaitu untuk menginduksi pembentukan dan perkembangan tunas dan akar serta pembentukan kalus. Untuk memacu pembentukan tunas umumnya digunakan sitokinin salah satunya yaitu ZPT BAP dengan rasio lebih besar dibandingkan auksin dalam hal ini ZPT IBA. Tingginya konsentrasi sitokinin dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan tunas pada tanaman kultur jaringan.

*Browning* dipengaruhi oleh besar-kecilnya kandungan senyawa fenolik yang ada pada eksplan bukan karena adanya pengaruh hormon endogen maupun eksogen sehingga menyebabkan tidak nyatanya pengaruh pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT. Namun dari penelitian ini dapat diketahui bahwa eksplan yang mengalami *browning* pada eksplan tunas lebih tinggi yaitu 27,14% bila dibandingkan dengan persentase eksplan rimpang yang mengalami *browning* yaitu 17,14%. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik yang terdapat pada eksplan. Pada saat sterilisasi dan inokulasi eksplan, terlihat senyawa fenolik (cairan lendir) lebih banyak terdapat pada eksplan tunas daripada eksplan rimpang.

Senyawa fenolik sebenarnya tidak selalu merugikan, di luar kegiatan kultur jaringan senyawa fenolik dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Ada 2 (dua) antioksidan komersial yang berasal dari senyawa fenolik yaitu *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) yang sering digunakan dalam makanan, pakan, dan juga dalam berbagai plastik (Alharbi, 2019). Hal ini mendukung pernyataan Farzinebrahimi *et al.* (2016), bahwa tanaman doyo juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan.

#### Tahap Multiplikasi Tunas

Sama seperti pada variabel jumlah eksplan responsif, pengaruh tidak nyata variasi kombinasi konsentrasi ZPT pada jumlah eksplan bertunas dan rerata jumlah tunas per eksplan yang juga disebabkan karena beberapa eksplan mengalami kontaminasi dan *browning* yang mengakibatkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi terhenti sehingga data terdistribusi secara tidak normal terutama pada eksplan tunas. Kontaminasi menyebabkan homogenitas pada data yang diperoleh akibat berkurangnya sampel pada ulangan sehingga tidak terdapat perlakuan yang menonjol. Selain itu *browning* juga menghambat pembelahan sel yang ada pada eksplan sehingga mempengaruhi pembentukan dan perkembangan tunas. Menurut Hutami (2016), pencokelatan jaringan dapat menghambat pertumbuhan kalus,



diferensiasi tunas dan perakaran. Pada eksplan tunas, persentase eksplan bertunas tertinggi justru terdapat pada perlakuan kontrol, namun begitu pada eksplan rimpang terlihat pengaruh pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT walaupun tidak nyata. Hal tersebut dapat dilihat dari perlakuan  $e_2m_6$  sebagai taraf perlakuan ZPT tertinggi yang menghasilkan persentase eksplan rimpang bertunas tertinggi yang berarti bahwa penambahan konsentrasi ZPT berbanding lurus dengan persentase eksplan rimpang bertunas.

Pada variabel rerata jumlah tunas per eksplan, eksplan rimpang tetap terlihat memberikan respons terhadap pemberian variasi kombinasi konsentrasi ZPT walaupun tidak nyata. Hal tersebut dapat dilihat dari perlakuan  $e_2m_6$  sebagai taraf perlakuan tertinggi yang menghasilkan jumlah rerata tunas per eksplan tertinggi yaitu dengan rerata 4,00 tunas per eksplan yang berarti bahwa penambahan konsentrasi ZPT berbanding lurus dengan rerata jumlah tunas per eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Majid *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ZPT sitokinin (BAP) dengan rasio lebih besar dibandingkan auksin (IBA) dapat memacu pembentukan tunas pada tanaman kultur jaringan.

#### *Tahap Regenerasi Tanaman*

Pada tahap regenerasi tanaman, eksplan yang berasal dari tunas mengalami kontaminasi oleh bakteri secara terus-menerus dan hanya bertahan hingga minggu keenam, setelah itu keseluruhan tanaman mati. Seperti yang telah jelaskan sebelumnya, kontaminasi bakteri tetap ada setelah disubkulturkan beberapa kali, karena hidupnya memang secara epifit di dalam jaringan tanaman yang lama-kelamaan menyebabkan seluruh sampel eksplan tunas mati (Silva *et al.* 2015). Pada eksplan rimpang, tunas yang mampu membentuk dan menghasilkan akar pada media MS yang mengandung auksin yaitu ZPT IBA mencapai 87,50%. Hal ini sesuai dengan pendapat Khan *et al.* (2015) yang mengatakan bahwa tunas yang sehat mampu membentuk perakaran pada media kultur jaringan yang ditambahkan dengan ZPT auksin (IBA). Kemampuan tunas pada eksplan rimpang untuk membentuk perakaran tersebut menunjukkan bahwa eksplan rimpang memiliki potensi regenerasi tanaman sehingga dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara massal.

## 5. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rimpang merupakan bagian tanaman terbaik sebagai sumber eksplan dalam kultur jaringan tanaman doyo, eksplan rimpang yang diinduksi pada media perlakuan inisiasi  $i_6 = 3,75$  mg L-1 BAP + 0,50 mg L-1 IBA dan media perlakuan multiplikasi  $m_6 = 37,50$  mg L-1 BAP + 0,50 mg L-1 IBA, memberikan pengaruh terbaik dengan persentase eksplan hidup dan responsif tertinggi yaitu 80% serta persentase eksplan bertunas tertinggi yaitu 60% dengan rerata jumlah tunas per eksplan 4,00. Regenerasi hasil multiplikasi tunas memiliki potensi yang baik untuk memperbanyak tanaman secara massal yang ditandai dengan 87,50% tunas yang dihasilkan mampu membentuk sistem perakaran yang baik.

## 6. Ucapan Terimakasih

Terimakasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional yang mendanai penelitian ini melalui Hibah Thesis Magister SK Nomor: 8/E1/KPT/2020. KONTRAK Nomor: 048/SP2H/LT/LT/DRPM/2020.

## 7. Pernyataan Konflik Kepentingan (Declaration of Conflicting Interests)

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi dari artikel ini (*The authors have declared no potential conflicts of interest concerning the study, authorship, and/or publication of this article*).

## 8. Daftar Pustaka

- Alharbi RM. 2019. Antioxidant properties of marine algae: an overview. *Bioscience Research*. 16(2), 986–996.
- Apriani R, Mulyaningsih T, Kurnianingsih R, dan Fitrahtunnisa. 2016. Penggunaan BA Pada Mikropropagasi Pisang (*Musa paradisiaca* L. ) Kultivar Kusto. *Jurnal Biologi Tropis*. 16(1), 25–32.
- Babaei N, Ashikin N, Abdullah P, Saleh G, Abdullah TL. 2013. Control of contamination and explant browning in *Curculigo latifolia* in vitro cultures. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(8), 448–454. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.859>

- Babaei N, Psyquay Abdullah NA, Saleh G, Lee Abdullah T. 2014. An efficient in vitro plantlet regeneration from shoot tip cultures of *Curculigo latifolia*, a medicinal plant. *The Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2014/275028>
- Badan Penelitian dan Pengembangan Daerah Kabupaten Kutai Kartanegara. 2009. *Kajian Plasma Nutfah Doyo-Balitbangda Kukar*. <https://balitbangda.kukarkab.go.id/2009/12/28/kajian-plasma-nutfah-tumbuhan-doyo/> Diakses: 21 Januari 2020
- BBC Indonesia. 2015. *Suku dayak Benuaq-BBC Indonesia*. <https://www.bbc.com/indonesia/majalah-51456120> Diakses: 31 Mei 2020
- Choudhary M, Jaiswal S, Singh R, Dev I, Sarita A. 2015. A micropropagation protocol for mass multiplication of Terminalia arjuna - a valuable medicinal tree. *Advance in Forestry Science*, 2(1), 1-6.
- Chuanjun X, Zhiwei R, Ling L, Biyu Z, Junmei H, Wen H, Ou H. 2015. The Effects of Polyphenol Oxidase and Cycloheximide on the Early Stage of Browning in Phalaenopsis Explants. *Horticultural Plant Journal*. 1(3), 172-180. <https://doi.org/10.16420/j.issn.2095-9885.2015-0030>
- Dinas Komunikasi dan Informatika Provinsi Kalimantan Timur. 2018. *Tenun ulap doyo ekspresi karya sang seniman*. <https://diskominfo.kaltimprov.go.id/tenun-ulap-doyo-ekspresi-karya-sang-seniman/> Diakses: 28 Mei 2019
- Farzinebrahimi R, Mat Taha R, Rashid KA, Ali Ahmed B, Danaee M, Rozali, S. E. (2016). Preliminary Screening of Antioxidant and Antibacterial Activities and Establishment of an Efficient Callus Induction in *Curculigo latifolia* Dryand (Lemba). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2016/6429652>
- Hesami M, Daneshvar MH, Yoosefzadeh-Najafabadi M, Alizadeh M. 2018. Effect of plant growth regulators on indirect shoot organogenesis of *Ficus religiosa* through seedling derived petiole segments. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 16(1), 175-180. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.11.001>
- Hutami S. 2016. ULASAN Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2), 83. <https://doi.org/10.21082/jbio.v4n2.2008.p83-88>
- Kassaye E, Bekele BD. 2015. In vitro optimization of the protocol for micropropagation of plum (*Prunus salicina* L. Var. Methley) from nodal explants. *Biotechnology International*, 8(4), 137-148
- Khan N, Ahmed M, Hafiz I, Abbasi N, Ejaz S, Anjum M. 2015. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*. 49(1), 37-45. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2015.49.1.95>
- Majid BN, Sampath KKK, Prakash HS, Geetha N. 2016. Rapid mass propagation of Salacia Chinensis L., an endangered valuable medicinal plant through direct organogenesis. *Indian Journal of Science and Technology*. 9(4), 1-8. <https://doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i4/84743>
- Momeni M., Ganji-Moghadam E, Kazemzadeh-Beneh H, Asgharzadeh A. 2018. Direct organogenesis from shoot tip explants of *Juniperus polycarpus* L.: Optimizing basal media and plant growth regulators on proliferation and root formation. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*. 19(1-2), 40-50.
- Mridula KR, Parthibhan S, Kumar TS, Rao AS. 2019. In vitro micropropagation of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers from shoot tip explants. *Agriculture and natural resources*. 53, 449-456.
- Muliati, Tengku Nurhidayah N. 2017. Pengaruh NAA, BAP dan Kombinasinya Pada Media MS Terhadap Perkembangan Eksplan *Sansevieria macrophylla* Secara In Vitro. *JOM faperta Universitas Riau*. 4(1), 1-13.
- Pro Kaltim. 2016. *Dekranasda Patenkan Tenun Ulap Doyo*. <https://kaltim.prokal.co/read/news/271472-dekranasda-patenkan-tenun-ulap-doyo.html>. Diakses: 1 Agustus 2019
- Raden I, Nugroho C. C, Syahrani. 2017. Identification and characterization of morphological diversity of Lemba (*Curculigo latifolia*) in East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 18(4), 1367-1376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191786>
- Sari DI, Nasir N. 2015. The Effect of Thidiazuron (TDZ) and Activated Charcoal Concentration on Shoot Sub Culture of Kepok Banana (*Musa paradisiaca* L.). *Online Jurnal of Natural Science*. 4(3), 280-289.

- Silva JAT, Winarto B, Dobránszki J, Zeng S. 2015. Disinfection procedures for in vitro propagation of Anthurium. *Folia Horticulturae*, 27(1), 3–14. <https://doi.org/10.1515/fhort-2015-0009>
- Syabana MA, Rohmawati I, Ningsih EP. 2015. In Vitro Marasi Plant (*Curculigo latifolia*) using different concentration of NAA (Naphthalene Acetic Acid) and BAP (Benzyl Amino Purine). *Jur. Agroekotek*. 7(1), 6–15.