



Micropopagation of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm. Trough Optimizing Callus Induction with Benzylaminopurine (BAP) Supplementation

¹Muhammad Hanafi, ^{2*}Zozy Aneloi Noli, ³M. Idris, ⁴Iga Permata Hany

^{1,2,3,4}Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.

*Corresponding Author e-mail: zozynoli@sci.unand.ac.id

Received: April 2025; Revised: May 2025; Accepted: June 2025; Published: June 2025

Abstrak: Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh konsentrasi BAP terhadap respon eksplan dan pembentukan kalus *Massoia*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan konsentrasi BAP: 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, dan 1,5 mg/L, masing-masing dengan 24 ulangan. Media dasar yang digunakan adalah MS (Murashige dan Skoog), dan pengamatan dilakukan selama 7 hari setelah tanam (HST). Parameter yang diamati meliputi persentase eksplan hidup, browning, kontaminasi, rata-rata pembentukan kalus, warna, dan tekstur kalus. Data dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf 5%. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi 0,5 mg/L memberikan persentase eksplan hidup tertinggi (54%), tingkat browning terendah (13%), dan kontaminasi sebesar 35%. Sementara itu, konsentrasi 1,5 mg/L menghasilkan rata-rata pembentukan kalus tertinggi (0,21) dengan tekstur kompak dan warna kecoklatan. Meskipun tidak berbeda nyata secara statistik, konsentrasi BAP terbukti memengaruhi viabilitas eksplan dan pembentukan kalus. Konsentrasi 0,5 mg/L cenderung optimal untuk menjaga viabilitas eksplan, sedangkan 1,5 mg/L lebih efektif untuk induksi kalus. Temuan ini memberikan dasar awal dalam optimalisasi teknik kultur jaringan *Massoia*.

Kata Kunci: *In vitro*; *massoia*; *massoialactone*; mikropropagasi; sitokinin

Abstract: This study aimed to evaluate the effect of BAP concentrations on explant response and callus formation in *Massoia*. The experiment was arranged in a Completely Randomized Design (CRD) with three BAP concentrations: 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, and 1.5 mg/L, each with 24 replications. The culture medium used was Murashige and Skoog (MS), and observations were carried out for 7 days after planting. Parameters observed included the percentage of viable explants, browning, contamination, average callus formation, callus color, and texture. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) at a 5% significance level. The results showed that 0.5 mg/L BAP yielded the highest explant survival rate (54%), the lowest browning rate (13%), and 35% contamination. Meanwhile, 1.5 mg/L BAP produced the highest average callus formation (0.21) with compact texture and brown coloration. Although not statistically significant, BAP concentrations affected explant viability and callus formation. A concentration of 0.5 mg/L tended to be optimal for maintaining explant viability, while 1.5 mg/L was more effective in inducing callus. These findings provide a preliminary basis for optimizing *Massoia* tissue culture techniques.

Keywords: *In vitro*; *massoia*; *massoialactone*; micropropagation; cytokinin

How to Cite: Hanafi, M., Noli, Z., Idris, M., & Hany, I. (2025). Micropopagation of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm. Trough Optimizing Callus Induction with Benzylaminopurine (BAP) Supplementation. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(2), 1509-1518. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i2.13852>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i2.13852>

Copyright© 2025, Hanafi et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



PENDAHULUAN

Massoia (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm.) merupakan salah satu tumbuhan dari famili Lauraceae dan merupakan salah satu tumbuhan endemik di wilayah Papua dan Papua Nugini (Triatmoko *et al.*, 2016). Tumbuhan ini tersebar di beberapa daerah di Papua seperti Manokwari, Sorong, Nabire, Biak Numfor, Yapen Waropen, Merauke, dan Jayapura (Hutapea *et al.*, 2020). *Massoia* dikenal sebagai salah satu hasil hutan bukan kayu (HHBK) unggulan Papua yang memiliki nilai ekonomis tinggi serta berperan penting sebagai tanaman obat (Hutapea *et al.*, 2020). Produk utama yang dihasilkan dari *massoia* adalah kulit kayu yang mengandung

senyawa bioaktif masoilakton, yang digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan, kosmetik, dan farmasi (Graf & Stappen, 2022).

Permintaan global terhadap massoia diperkirakan mencapai 500.000 ton per tahun. Namun, pasokan utama masih terbatas dengan kontribusi Indonesia yang hanya sekitar 2% dari total kebutuhan global (Darwo & Yeny, 2018). Keterbatasan ini menyebabkan harga massoia cukup tinggi di pasaran. Tingginya permintaan terhadap massoia mendorong terjadinya eksploitasi yang berlebihan di habitat alami dan mengancam keberlanjutan populasinya. Selain itu, usaha perbanyakan dan budidaya Massoia belum dilakukan oleh masyarakat maupun industri belum dikembangkan secara optimal, sehingga ketergantungan pengambilan dari alam tetap tinggi (Wibisono *et al.*, 2021). Budidaya massoia secara konvensional cukup sulit dilakukan karena tergolong pada tanaman berkayu yang memiliki daya regenerasi rendah sehingga diperlukan usaha perbanyakan lain dengan daya regenerasi dan tingkat keberhasilan lebih tinggi.

Salah satu metode perbanyakan tanaman yang efektif adalah melalui teknik *in vitro* atau kultur jaringan (Shahzad *et al.*, 2017). Kultur jaringan merupakan teknologi bioteknologi yang memungkinkan perbanyakan tanaman dilakukan dalam kondisi steril dan terkontrol, sehingga meminimalkan kegagalan perbanyakan. Metode ini menggunakan bagian tanaman yang bersifat meristematik atau memiliki daya regenerasi tinggi untuk tumbuh menjadi individu baru dalam waktu relatif singkat. Kultur jaringan sangat berguna untuk memperbanyak tanaman langka atau yang sulit berkembang biak di alam (Sharma & Kathayat, 2021), serta dapat menghasilkan tanaman dengan sifat unggul atau toleran terhadap kondisi lingkungan yang kurang mendukung (Espinosa-Leal *et al.*, 2018). Dengan demikian, eksploitasi langsung terhadap tanaman di alam dapat ditekan dan kelestarian populasi Massoia dapat terjaga. Pada tanaman Massoia, teknik ini telah terbukti efektif dalam menginduksi kalus dan meningkatkan persentase hidup eksplan (Noli *et al.*, 2024).

Keberhasilan perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) pada medium pertumbuhan (Gusmiaty *et al.*, 2020). ZPT berfungsi untuk merangsang atau mengatur proses fisiologis tanaman, seperti pembelahan sel, elongasi, dan diferensiasi jaringan (Lestari *et al.*, 2019). Jenis dan konsentrasi ZPT yang diberikan pada eksplan sangat mempengaruhi hasil perbanyakan, karena setiap tanaman memiliki respons yang berbeda terhadap ZPT tertentu (Majumder & Rahman, 2016). Sitokinin merupakan salah satu kelompok zat pengatur tumbuh (ZPT) yang memainkan peran penting dalam proses perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan.

Sitokinin umumnya berfungsi untuk merangsang pembelahan sel, mempercepat pertumbuhan tanaman, serta mempengaruhi diferensiasi dan pengembangan organ (Park & Kim, 2020). Dalam kultur jaringan, sitokinin digunakan untuk merangsang pertumbuhan eksplan, seperti pembentukan kalus, yang sangat penting dalam proses regenerasi tanaman (Lu *et al.*, 2020). Kalus adalah massa sel yang tumbuh tidak teratur dan memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai tipe jaringan (Rahman *et al.*, 2019). Penambahan ZPT kinetin 1,0 mg/L merupakan konsentrasi yang optimal untuk meningkatkan persentase hidup eksplan dan meminimalkan browning, sedangkan 1,5 mg/L lebih efektif untuk menginduksi pembentukan kalus (0,25) pada tanaman massoia (Noli., 2024). Namun, jumlah tersebut masih tergolong rendah untuk memenuhi kebutuhan perbanyakan massoia. Penggunaan ZPT sitokinin jenis yang berbeda dapat meningkatkan pertumbuhan eksplan Massoia.

Salah satu sitokinin sintesis yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk menginduksi kalus adalah 6-benzylaminopurine (BAP). BAP diketahui

merangsang pembelahan sel dan pembentukan jaringan kalus dengan cara memengaruhi sintesis asam nukleat dan protein yang berperan dalam proses pembelahan dan diferensiasi sel. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa efektivitas BAP sangat bergantung pada konsentrasi dan jenis tanaman yang digunakan. Misalnya, pemberian 1 mg/L BAP menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik pada eksplan batang *Solanum tuberosum* (Aprilia et al., 2022) dan *Pogostemon cablin* (Mayerni et al., 2020), sedangkan kombinasi 0,5 mg/L BAP dan 3,0 mg/L NAA menghasilkan kalus optimal pada *Aquilaria malaccensis* (Wahyuni et al., 2020).

Pada *Aglaonema Siam Aurora*, konsentrasi 1,2 mg/L BAP memberikan pertumbuhan kalus maksimal (Anjani & Ratnawati, 2023). Temuan-temuan ini mengindikasikan bahwa respons eksplan terhadap BAP bersifat spesifik tergantung jenis tanaman dan jaringan yang digunakan, serta memerlukan optimasi dosis yang tepat. Namun, hingga saat ini belum ditemukan laporan mengenai penggunaan BAP untuk induksi kalus pada tanaman *Massoia*, yang memiliki karakter fisiologis unik dan belum banyak dieksplorasi dalam konteks kultur jaringan. Oleh karena itu, penting untuk mengevaluasi efektivitas BAP dalam menginduksi kalus pada *Massoia*, guna membuka peluang regenerasi *in vitro* bagi pelestarian dan pengembangan tanaman ini.

Berdasarkan urgensi pelestarian *massoia* dan belum optimalnya protokol kultur jaringan, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi konsentrasi Benzylaminopurine (BAP) yang paling efektif dalam mempertahankan viabilitas eksplan dan menginduksi pembentukan kalus tanaman *massoia* (*Cryptocarya massoy*) secara *in vitro*. Fokus khusus diarahkan pada respons eksplan terhadap variasi konsentrasi BAP dalam hal persentase hidup, tingkat pencoklatan, kontaminasi, dan pembentukan kalus. Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh konsentrasi BAP terhadap respon eksplan dan pembentukan kalus *Massoia*.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen *in vitro* yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas 3 perlakuan dengan masing-masing diulang sebanyak 24 kali sehingga diperoleh 72 unit percobaan tanpa kontrol negatif. Studi ini bersifat eksploratif dan berfokus pada perbandingan antar konsentrasi untuk menentukan efektivitas relatif induksi kalus. Sebagai perlakuan adalah konsentrasi BAP yang digunakan dalam induksi kalus yaitu:

A: 0,5 mg/L

B: 1,0 mg/L

C: 1,5 mg/L

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; nodus muda dari bagian ranting pohon tanaman *Massoia* (*Cryptocarya massoy*) yang berumur 15 tahun tanam dari lahan pertanian di kawasan PT. Mitra Ayu Adi Pratama, Kota Padang, Sumatera Barat. Media yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog) (PhytoTech, USA) dan zat pengatur tumbuh (ZPT) 6-Benzylaminopurine (BAP) (Sigma-Aldrich, Germany). Bahan sterilan yang digunakan adalah sabun anti bakteri, Tween 20,

NaOCl, fungisida Ketoconazole, bakterisida Tetracycline, HgCl 0,1%, asam askorbat 2 g/L, alkohol 70%, dan air akuades steril. Sedangkan alat yang digunakan adalah Autoclave GEA LS-75LJ, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) Astec HLF 1.200 L. Sterilisasi peralatan kultur.

Prosedur Penelitian

Semua peralatan yang digunakan dibersihkan di bawah aliran air menggunakan deterjen antibakteri dan dikeringkan di dalam oven. Peralatan juga disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan disimpan di lemari steril hingga siap digunakan. Sebelum digunakan, peralatan tanam disterilkan kembali di dalam Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan paparan sinar UV selama 2 jam untuk menjaga kondisi aseptik.

Persiapan media kultur

Media yang dipakai merupakan media Murashige and Skoog (MS) dengan komposisi yang merujuk pada formula (Murashige & Skoog, 1962). Media tersebut ditambahkan dengan ZPT BAP sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan dalam perlakuan. Sterilisasi media MS dilakukan menggunakan autoklaf, kemudian diinkubasi di rak media selama 3 hari sebelum digunakan. Media yang dipakai untuk propagasi dipastikan bebas dari kontaminasi.

Sterilisasi eksplan

Eksplan nodus *C. massoy* diperoleh dari pohon *C. massoy* yang berada di kawasan PT. Mitra Ayu Adi Pratama, Lubuk Minturun, Kota Padang, Sumatera Barat. Sterilisasi nodus dilakukan dengan menggunakan sabun anti bakteri, tween 20 sebanyak 1 tetes/100mL, larutan natrium hipoklorit (NaOCl) 20% dan 10%, fungisida 2 g/L dan bakterisida 2 g/L. Proses sterilisasi kemudian dilanjutkan di dalam Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) menggunakan larutan fungisida, bakterisida, HgCl 0,1%, dan asam askorbat 2 g/L, alkohol 70%, dan air akuades steril.

Penanaman eksplan

Nodus *C. massoy* steril diletakkan diatas tisu steril untuk membersihkan eksplan dari sisa sterilan yang masih tersisa. Eksplan yang ditransfer ke dalam media perbanyak dengan ukuran 2 cm dan dimasukkan ke dalam botol yang sudah berisi media perlakuan. Setiap botol percobaan terdiri dari satu eksplan nodus *C. massoy*.

Parameter

- 1. Persentase eksplan hidup:** Persentase eksplan hidup dihitung berdasarkan jumlah eksplan yang masih menunjukkan aktivitas regenerasi, seperti pembentukan tunas atau kalus, pada 7 hari setelah tanam (HST).
- 2. Persentase eksplan browning:** Persentase eksplan *browning* dihitung dengan mengamati jumlah eksplan yang mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan dan tidak menunjukkan aktivitas regenerasi pada 7 hari setelah tanam (HST).
- 3. Persentase eksplan terkontaminasi:** Persentase eksplan terkontaminasi dihitung berdasarkan jumlah eksplan yang menunjukkan gejala kontaminasi oleh mikroorganisme, seperti bakteri atau jamur, pada 7 hari setelah tanam (HST).
- 4. Rata-rata eksplan yang membentuk kalus:** Rata-rata eksplan yang membentuk kalus dihitung dengan mencatat jumlah eksplan yang menunjukkan pembentukan kalus pada 7 hari setelah tanam (HST).
- 5. Warna kalus:** Warna kalus diamati secara visual dan dikategorikan berdasarkan spektrum warna yang muncul, seperti putih, hijau, kuning, atau kecoklatan pada 7 hari setelah tanam (HST).
- 6. Tekstur kalus:** Tekstur kalus diamati secara visual dan taktil, dan dikategorikan menjadi; kompak dan remah pada 7 hari setelah tanam (HST).

Analisis Data

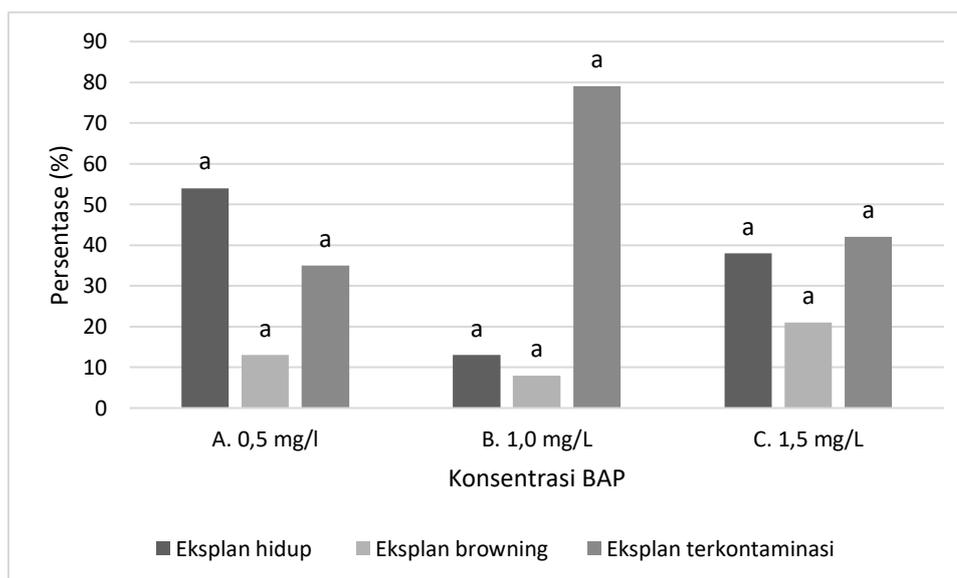
Data kuantitatif yang didapat dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA. Jika analisis data menunjukkan berbeda nyata antar masing-masing perlakuan akan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) dengan taraf 5%. Sedangkan data kualitatif dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang respon pertumbuhan dan induksi kalus tumbuhan massoia (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm.) dengan penambahan beberapa konsentrasi BAP secara *in vitro*, dapat diperoleh data berikut.

Respon Eksplan

Hasil dari respon eksplan tumbuhan massoia (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm.) pada beberapa konsentrasi BAP disajikan pada Gambar 1.



Keterangan: Angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik berdasarkan hasil analisis ANOVA pada taraf 5%.

Gambar 1. Respon eksplan nodus tanaman massoia (*Cryptocarya massoia* (Oken) Kosterm.) dengan penambahan beberapa konsentrasi ZPT BAP setelah 7 hari setelah inisiasi (HSI).

Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa setiap perlakuan konsentrasi BAP tidak memberikan perbedaan nyata secara statistik ($p > 0,05$) terhadap parameter yang diamati. Namun demikian, tetap terlihat adanya kecenderungan pola respon eksplan yang berbeda antar perlakuan. Pada konsentrasi BAP 0,5 mg/L (A), diperoleh persentase eksplan hidup tertinggi, yaitu sebesar 54%, dengan 13% eksplan mengalami *browning* dan 35% eksplan terkontaminasi. Perlakuan ini menunjukkan kecenderungan respon pertumbuhan eksplan yang paling baik dibandingkan perlakuan lainnya pada tanaman massoia.

Sebaliknya, pada konsentrasi 1,0 mg/L (B), persentase eksplan hidup menurun drastis menjadi 13%, disertai dengan 8% eksplan mengalami *browning*, serta tingkat kontaminasi tertinggi, yaitu sebesar 79%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut kurang mendukung viabilitas eksplan dan cenderung meningkatkan risiko kontaminasi. Sementara itu, pada perlakuan 1,5 mg/L (C), persentase eksplan hidup meningkat kembali menjadi 38%, namun peningkatan tersebut diikuti oleh tingginya tingkat *browning* (21%) dan kontaminasi (42%). Meskipun menunjukkan perbaikan

dibandingkan perlakuan 1,0 mg/L, kondisi eksplan pada konsentrasi 1,5 mg/L tetap tidak sebaik pada konsentrasi 0,5 mg/L.

Berdasarkan hasil tersebut, meskipun tidak berbeda nyata secara statistik, terdapat kecenderungan bahwa konsentrasi BAP 0,5 mg/L memberikan respon eksplan terbaik. Hal ini terlihat dari kombinasi antara persentase eksplan hidup yang tinggi serta tingkat *browning* dan kontaminasi yang lebih rendah dibandingkan perlakuan lainnya. Kemungkinan besar hal ini disebabkan oleh peran BAP sebagai sitokinin sintetik yang mampu merangsang pembelahan sel dan organogenesis, khususnya dalam pembentukan tunas. Pada konsentrasi optimal (0,5 mg/L), BAP berperan dalam mendukung homeostasis sel dan meningkatkan viabilitas eksplan secara lebih efektif.

Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih tinggi, seperti 1,0 mg/L dan 1,5 mg/L, BAP berpotensi menimbulkan stres fisiologis pada jaringan tanaman. Kondisi ini dapat mempercepat proses senescence atau meningkatkan kerentanan eksplan terhadap kontaminasi. Penurunan tajam eksplan hidup hingga 13% serta lonjakan kontaminasi hingga 79% pada konsentrasi 1,0 mg/L mengindikasikan adanya potensi toksisitas atau ketidakseimbangan hormonal yang berdampak negatif terhadap eksplan.

Hal ini sejalan dengan pernyataan bahwa BAP merupakan sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel dan diferensiasi jaringan. Pada konsentrasi rendah, BAP mampu mendukung keseimbangan hormon endogen dalam eksplan, sehingga meningkatkan viabilitas dan aktivitas metabolik sel (Hailu *et al.*, 2020). Namun, pada konsentrasi yang lebih tinggi, BAP dapat mengganggu keseimbangan hormon endogen, yang berujung pada penghambatan pertumbuhan serta peningkatan sensitivitas jaringan terhadap stres lingkungan, dan akhirnya menurunkan persentase hidup (Polivanova & Bedarev, 2022).

Tingkat *browning* yang rendah pada konsentrasi 0,5 mg/L (13%) dan 1,0 mg/L (8%) menunjukkan bahwa BAP pada konsentrasi ini memberikan pengaruh positif dalam menekan stres oksidatif. Browning biasanya disebabkan oleh oksidasi senyawa fenolik yang dikatalisis oleh enzim seperti polifenol oksidase, dan umum terjadi pada eksplan yang mengalami cekaman. Konsentrasi BAP yang optimal membantu menjaga stabilitas membran sel dan mengurangi akumulasi fenol. Sebaliknya, pada konsentrasi 1,5 mg/L, tingkat *browning* mencapai angka tertinggi (21%). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kerusakan jaringan akibat stres hormonal dan lingkungan, sehingga sel-sel mengalami kematian sebelum sempat mengalami oksidasi fenol (Patuhai *et al.*, 2023).

Tingkat kontaminasi eksplan yang terjadi disebabkan oleh jamur dan bakteri yang mencapai tingkat tertinggi pada konsentrasi BAP 1,0 mg/L (79%) dan terendah pada konsentrasi 0,5 mg/L (35%). Tingginya kontaminasi ini dapat disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder yang tinggi pada eksplan *C. massoy*, yang dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu, stres yang dialami eksplan akibat pemberian BAP dalam konsentrasi yang tidak optimal dapat mengurangi kemampuan jaringan dalam mempertahankan integritas membran serta menurunkan produksi senyawa antimikroba (Hassen *et al.*, 2022).

Respon Kalus

Hasil dari respon kalus tanaman (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm.) pada beberapa konsentrasi BAP disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Respon kalus tanaman massoia (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm.) pada beberapa konsentrasi BAP 7 hari setelah inisiasi (HIS).

Konsentrasi BAP	Rata rata kalus	Warna kalus	Tekstur kalus
A. 0,5 mg/L	0,17 a	Kecoklatan	Kompak
B. 1,0 mg/L	0,00 a	-	-
C. 1,5 mg/L	0,21 a	Kecoklatan	Kompak

Keterangan: Angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik berdasarkan hasil analisis ANOVA pada taraf 5%.

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa setiap perlakuan konsentrasi BAP tidak menunjukkan perbedaan nyata secara statistik ($p > 0,05$) terhadap rata-rata kalus yang terbentuk, namun tetap memperlihatkan kecenderungan pola respon eksplan yang berbeda. Pada perlakuan konsentrasi BAP 1,5 mg/L (C), diperoleh rata-rata kalus tertinggi, yaitu 0,21, diikuti oleh perlakuan 0,5 mg/L (A) sebesar 0,17. Sementara itu, pada konsentrasi 1,0 mg/L (B), tidak teramati adanya pembentukan kalus (0,00). Secara visual, kalus yang terbentuk pada perlakuan A dan C memiliki warna kecoklatan dan tekstur kompak, yang mengindikasikan adanya aktivitas pembelahan sel, meskipun disertai dengan kemungkinan akumulasi senyawa fenolik yang menyebabkan perubahan warna. Tidak terbentuknya kalus pada perlakuan B mengindikasikan bahwa pada konsentrasi ini, BAP tidak memberikan stimulus optimal terhadap pembelahan sel eksplan Massoia. Ketidakterbentukan kalus pada konsentrasi menengah (1,0 mg/L) dapat menunjukkan bahwa respon eksplan tidak bersifat linier terhadap peningkatan konsentrasi BAP, dan kemungkinan terdapat titik optimum di luar konsentrasi tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan kalus pada eksplan Massoia tidak mengikuti pola linier terhadap peningkatan konsentrasi BAP. Hal ini sejalan dengan prinsip dasar fisiologi tanaman bahwa respon tanaman terhadap hormon eksogen seperti BAP cenderung bersifat kurvilinear atau bahkan biphasic, tergantung pada jenis jaringan, tahapan perkembangan, dan kemampuan metabolik eksplan. Tidak terbentuknya kalus pada konsentrasi 1,0 mg/L menunjukkan bahwa konsentrasi ini tidak memberikan stimulus proliferasi yang cukup, atau sebaliknya justru menghambat aktivitas meristematik sel.

Kalus terbentuk melalui aktivasi ulang siklus sel dan pembelahan sel dediferensiasi. Adanya pembentukan kalus berwarna kecoklatan dan tekstur kompak pada 0,5 dan 1,5 mg/L menunjukkan aktivitas mitosis, meskipun disertai akumulasi fenolik yang menyebabkan pencoklatan. Warna kecoklatan sering kali menjadi indikator stres fenolik, namun dalam konteks ini tidak sepenuhnya menghambat pembentukan kalus, yang berarti bahwa aktivitas pembelahan sel tetap berlangsung secara aktif. Meskipun secara statistik tidak berbeda nyata, pengamatan visual terhadap tekstur dan warna kalus memberikan informasi penting mengenai kualitas dan viabilitas kalus. Kalus yang kompak umumnya lebih potensial untuk diferensiasi lebih lanjut dibandingkan kalus yang lunak atau berair.

Tidak terbentuknya kalus pada konsentrasi 1,0 mg/L mengindikasikan bahwa konsentrasi optimum BAP untuk inisiasi kalus tidak selalu berada pada nilai tengah. Sebaliknya, ini menunjukkan adanya toleransi fisiologis eksplan Massoia terhadap rentang tertentu, dan kemungkinan bahwa faktor-faktor lain seperti interaksi hormon endogen, kondisi eksplan, atau sinyal stres yang juga mempengaruhi efektivitas BAP.

Secara keseluruhan, meskipun tidak terdapat perbedaan nyata secara statistik dalam pembentukan kalus antar perlakuan BAP, namun respon biologis eksplan menunjukkan bahwa konsentrasi 1,5 mg/L memiliki kecenderungan paling mendukung

pembelahan sel dan pembentukan kalus. Karakteristik kalus yang kompak dan berwarna kecoklatan pada seluruh perlakuan dapat dijelaskan melalui dua faktor utama. Tekstur kompak kalus sering kali berkaitan dengan regulasi hormon yang lebih terfokus pada pembelahan sel dibandingkan ekspansi sel. Dalam hal ini, BAP pada konsentrasi yang diberikan mampu mempertahankan pengaturan hormonal yang mendukung struktur jaringan kalus yang padat (Lestari et al., 2019). Warna kecoklatan pada kalus terjadi akibat akumulasi senyawa fenolik yang dihasilkan sebagai respon eksplan terhadap stres *in vitro*, seperti luka pada jaringan (Andaryani et al., 2022). Senyawa fenolik sering teroksidasi oleh aktivitas enzim seperti polifenol oksidase, yang menghasilkan warna kecoklatan khas pada kalus.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi BAP memberikan pengaruh terhadap viabilitas eksplan *Massoia* serta pembentukan kalus, meskipun tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik ($p > 0,05$) pada seluruh parameter yang diamati. Konsentrasi BAP 0,5 mg/L menunjukkan kecenderungan terbaik terhadap viabilitas eksplan, ditunjukkan oleh persentase eksplan hidup tertinggi (54%) serta tingkat browning dan kontaminasi yang lebih rendah dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi ini relatif lebih mendukung pertumbuhan awal eksplan. Sementara itu, untuk pembentukan kalus, konsentrasi BAP 1,5 mg/L menunjukkan kecenderungan paling efektif, dengan rata-rata kalus tertinggi (0,21) serta karakteristik kalus kompak dan berwarna kecoklatan, meskipun juga tidak berbeda nyata secara statistik dibanding perlakuan lain. Dengan demikian, secara praktis, penggunaan BAP pada konsentrasi 0,5 mg/L dapat dianjurkan untuk mempertahankan viabilitas eksplan, sedangkan 1,5 mg/L lebih disarankan untuk tujuan induksi kalus awal. Temuan ini dapat menjadi dasar dalam pengembangan protokol kultur jaringan *Massoia* secara lebih efisien untuk tujuan konservasi atau produksi bahan tanaman secara *in vitro*.

REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, disarankan untuk mengeksplorasi perlakuan dengan potensi untuk mengoptimalkan pertumbuhan eksplan, pembentukan kalus dan mengurangi tingkat browning, seperti dengan pemberian kombinasi ZPT BAP dengan jenis ZPT lainnya pada propagasi *Cryptocarya massoy*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Riset, Teknologi dan Pengabdian kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi atas hibah penelitian pada Skema Penelitian Tesis Magister Dengan Kontrak Penelitian Nomor 041/E5/PG 02.00 PL/2024 dan Nomor 227/UN16.19/PT.01.03/PL/ 2024, Tahun Anggaran 2024 dan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas yang sudah memfasilitasi kegiatan penelitian ini, sehingga penelitian ini berlangsung dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Andaryani, S., Samanhudi, S., & Yunus, A. (2022). Effect of BAP and 2,4-D on callus induction of *Jatropha curcas* *in vitro*. *Cell Biology and Development*, 3(2). <https://doi.org/10.13057/cellbioldev/v030202>

- Anjani, D. D., & Ratnawati. (2023). The Effect of BAP and NAA Combination on Callus Induction of *Aglaonema Siam* Aurora Leaf Explants *in vitro*. *Indonesian Journal of Bioscience (IJOBI)*, 1(2), 85–92. <https://doi.org/10.21831/ijobi.v1i2.213>
- Aprilia, M., Setiari, N., & Nurchayati, Y. (2022). Callus Development from Potato (*Solanum tuberosum*) Stem at Various Concentrations of Benzylaminopurine. *Biosaintifika*, 14(2). <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v14i2.35703>
- Darwo, D., & Yeny, I. (2018). Penggunaan Media, Bahan Stek, Dan Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Keberhasilan Stek Masoyi (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 15(1). <https://doi.org/10.20886/jpht.2018.15.1.43-55>
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., & García-Lara, S. (2018). *in vitro* plant tissue culture: means for production of biological active compounds. In *Planta* (Vol. 248, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2910-1>
- Graf, M., & Stappen, I. (2022). Beyond the Bark: An Overview of the Chemistry and Biological Activities of Selected Bark Essential Oils †. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217295>
- Gusmiaty, Restu, M., Larekeng, S. H., & Setiawan, E. (2020). The optimization of *in vitro* micropropagation of betung bamboo (*Dendrocalamus asper* backer) by medium concentrations and plant growth regulators. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 575(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012024>
- Hailu, A., Sbhatu, D. B., & Abraha, H. B. (2020). *in vitro* Micropropagation of Industrially and Medicinally Useful Plant *Aloe trichosantha* Berger Using Offshoot Cuttings. *Scientific World Journal*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3947162>
- Hassen, N. I., Badaluddin, N. A., Mustapha, Z., & Zawaw, D. D. (2022). Identification and Prevention of Microbial Contaminants in *Musa paradisiaca* Tissue Culture. *Malaysian Applied Biology*, 51(5). <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i5.2374>
- Hutapea, F. J., Kuswandi, R., & Asmoro, J. P. (2020). Potensi Dan Sebaran Masoi (*Cryptocarya massoy*) Di Papua Barat. *Jurnal Penelitian Kehutanan Faloak*, 4(1), 57–70. <https://doi.org/10.20886/jpkf.2020.4.1.57-70>
- Hutapea Jontara, F., Kuswandi, R., & Asmoro, J. P. (2020). Potensi Dan Sebaran Masoi (*Cryptocarya massoy*) Di Kabupaten Teluk Bintuni Dan Kabupaten Kaimana. *Jurnal Penelitian Kehutanan*, 2(2).
- Lestari, K. dwipayani, Ni Wayan Deswiniyanti, Ida Ayu Astarini, & Luh Made Arpiwi. (2019). Callus and shoot induction of leaf culture *Lilium longiflorum* with NAA and BAP. *Nusantara Bioscience*, 11(2). <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n110209>
- Lu, H., Xu, P., Hu, K., Xiao, Q., Wen, J., Yi, B., Ma, C., Tu, J., Fu, T., & Shen, J. (2020). Transcriptome profiling reveals cytokinin promoted callus regeneration in *Brassica juncea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 141(1). <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01779-5>
- Majumder, S., & Rahman, M. M. (2016). Effect of different plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Clausena heptaphylla* (Roxb.): An aromatic and medicinal shrub. ~ 58 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(3), 58–63.
- Mayerni, R., Satria, B., Wardhani, D. K., & Chan, S. (2020). Effect of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) in callus induction of local patchouli plants (*Pogostemon cablin* Benth.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 583(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/583/1/012003>

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Noli, Z.A., Hanafi, M., Idris, M., dan Hany, I.P., 2024. Effect of Kinetin Concentration on Callus Induction of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm Under *in vitro* Conditions. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1b): 532–539. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1b.8162>
- Park, J. M., & Kim, W. S. (2020). Cytokinin promotes fast maturation and mass propagation of the moss *Brachythecium plumosum*. *Acta Horticulturae*, 1291. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1291.25>
- Patuhai, A., Wahab, P. E. M., Yusoff, M. M., Dewir, Y. H., Alsughayyir, A., & Hakimian, M. (2023). Plant Growth Regulator- and Elicitor-Mediated Enhancement of Biomass and Andrographolide Production of Shoot Tip-Culture-Derived Plantlets of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. (Hempedu Bumi). *Plants*, 12(16). <https://doi.org/10.3390/plants12162953>
- Polivanova, O. B., & Bedarev, V. A. (2022). Hyperhydricity in Plant Tissue Culture. In *Plants* (Vol. 11, Issue 23). <https://doi.org/10.3390/plants11233313>
- Rahman, N., Rosli, R., Kadzimin, S., & Hakimian, M. (2019). Auxin and Cytokinin Effects on Callus Induction in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Fundamental and Applied Agriculture*, 0. <https://doi.org/10.5455/faa.54779>
- Shahzad, A., Parveen, S., Sharma, S., Shaheen, A., Saeed, T., Yadav, V., Akhtar, R., Ahmad, Z., & Upadhyay, A. (2017). Plant tissue culture: Applications in plant improvement and conservation. In *Plant Biotechnology: Principles and Applications*. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2961-5_2
- Sharma, N., & Kathayat, K. (2021). Plant tissue culture in horticultural crops: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1).
- Triatmoko, B., Hertiani, T., & Yuswanto, A. (2016). Sitotoksisitas Minyak Mesoyi (*Cryptocarya massoy*) terhadap Sel Vero. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(2).
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara *in vitro*. *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1). <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Wibisono, Y., Putri, A.I., Hadiyan, Y., Haryjanto, L., Hakim, L., Sumardi, Yeny, I. and Utomo, P.M. 2021. Effect of axenic culture and NAA *in vitro* on masoyi (*Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm) seeds regeneration. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 914 012016: 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/914/1/012016>