

Effect of Citric Acid and Polyvinylpyrrolidone (PVP) on Browning of Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f. & Thomson) Nodes

Yunita Kendek Marendeng¹, Miranda Gardha Viorenta¹, Meisi Olivia Sinaga¹, Nita Elvira Christy¹, Devi Sonti Sibarani¹, Ratih Restiani^{1*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia;

Article History

Received : October 10th, 2024

Revised : October 30th, 2024

Accepted : November 21th, 2024

*Corresponding Author:

Ratih Restiani, Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia;

Email:

ratih.restiani@staff.ukdw.ac.id

Abstract: Browning is a major constraint in in vitro propagation of Kepel (*S. burahol*). Therefore, the selection of an effective anti-browning compound can be useful to prevent browning in Kepel in vitro culture and produce explants that are able to regenerate. This study was aimed to investigate the effect of the addition of citric acid and PVP at different concentrations and incubation conditions on the prevention of browning in in vitro cultures of *S. burahol*. This research is an experimental study using *S. burahol* node explants. The research design used a Completely Randomized Design (CRD) with citric acid and PVP treatments of 300 and 400 ppm respectively and control incubated in dark and light conditions. Each treatment was repeated twice. The culture was incubated for 28 days. Observations were conducted on browning initiation time, browning intensity and callus initiation time. Data were analyzed descriptively. The results showed that citric acid treatment of 300 and 400 ppm and incubation of cultures in dark conditions effectively reduced the intensity of browning (0.2) and browning initiation time (6 DAI). In addition, the supplementation of 400 ppm citric acid and incubation in light conditions was also effective in initiating the fastest callus at 2 DAI. The results suggest that the addition of citric acid at concentrations of 300 and 400 ppm is more effective at slowing browning and reducing browning intensity for *S. burahol* node explants than PVP. The results of this study play an important role in supporting efforts to increase the productivity of *S. burahol* nodes growth through in vitro culture.

Keywords: Browning, callus, citric acid, PVP, *Stelechocarpus burahol*.

Pendahuluan

Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f. & Thomson), anggota famili Annonaceae yang memiliki habitus tanaman berkayu, merupakan salah satu flora identitas Daerah Istimewa Yogyakarta (Angio & Firdiana, 2021). Tanaman ini memiliki beragam manfaat dalam bidang kesehatan seperti pencegah kanker, radang ginjal, peluruh air kencing dan penurunan kadar kolesterol serta dapat digunakan sebagai KB alami (anti-implantasi) (Angio & Firdiana, 2021; Rofiqah *et al.*, 2021). Beragam khasiat ini dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang dihasilkan pada setiap bagian tanaman Kepel, khususnya senyawa fenol. Meskipun tanaman

Kepel memiliki banyak manfaat dalam kesehatan, namun saat ini mulai sulit ditemukan karena rendahnya budidaya terhadap tanaman tersebut. Selain itu, budidaya tanaman Kepel juga relatif sulit karena masa dormansi biji yang lama dan karena laju multiplikasi yang rendah (Handayani *et al.*, 2021; Sekar *et al.*, 2023). Beberapa alasan ini menjadi salah satu penyebab Kepel dikategorikan sebagai spesies yang membutuhkan upaya konservasi (*Conservation Dependent*) (Angio & Firdiana, 2021).

Perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro* dapat menjadi salah satu solusi dalam mencegah kelangkaan tanaman Kepel. Strategi ini memungkinkan penyediaan bibit tanaman Kepel yang lebih efisien dan berkelanjutan.

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa perbanyakannya *in vitro* *S.burahol* dapat menggunakan berbagai bagian tanaman (eksplan) seperti biji (Handayani *et al.*, 2021), daun (Habibah *et al.*, 2013), mesokarp buah (Habibah *et al.*, 2017), dan nodus (Hutabarat dkk., 2022; Sekar dkk., 2023). Namun, kendala utama yang sering dihadapi saat proses regenerasi *in vitro* Kepele adalah tingginya *browning* pada eksplan maupun kalus yang terbentuk. Hal ini menyebabkan laju regenerasi eksplan yang rendah dan menyebabkan kematian kultur jika tidak diatasi dengan tepat sehingga menurunkan produktivitas perbanyakannya *in vitro* (Amente & Chimdessa, 2021; Permadi *et al.*, 2023). *Browning* atau pencoklatan pada eksplan umumnya dikategorikan sebagai *browning* enzimatis karena pencoklatan dipicu oleh aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PPO). Enzim ini selanjutnya meningkatkan oksidasi senyawa fenol menjadi melanin sehingga eksplan berwarna coklat. Proses isolasi eksplan saat tahap inisiasi kultur memicu terjadinya pemecahan sel sehingga senyawa fenol terakumulasi di bagian irisan eksplan dan memicu berlangsungnya oksidasi oleh PPO (Permadi *et al.*, 2023).

Pencoklatan eksplan secara enzimatis dapat diatasi dengan menambahkan senyawa antioksidan ke dalam media kultur atau saat proses perendaman eksplan sebelum inokulasi (Ginting *et al.*, 2023; Güler *et al.*, 2021; Helena dkk., 2022). Dari berbagai jenis antioksidan, senyawa antioksidan yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* adalah asam sitrat dan polivinilpirolidon (PVP). Menurut Permadi *et al.* (2024), asam sitrat merupakan salah satu senyawa antioksidan yang berperan penting dalam mengikat ion tembaga yang menjadi penyebab reaksi *browning*. Penggunaan asam sitrat sebagai *anti-browning* dikarenakan asam sitrat dapat menurunkan pH hingga 2.63 dan berfungsi sebagai *chelating agent* sedangkan enzim PPO bekerja baik pada rentang pH 4-8. Adanya penambahan asam sitrat menyebabkan penurunan kadar pH hingga dibawah pH optimum PPO sehingga menyebabkan enzim mengalami denaturasi dan tidak aktif sehingga reaksi *browning* tidak terbentuk.

Konsentrasi asam sitrat yang tinggi akan menyebabkan semakin asam pH media yang dihasilkan sehingga akan semakin efektif dalam pencegahan *browning* karena akan menghambat

reaksi *browning* dengan meminimalkan aktivitas enzim PPO yang dipengaruhi oleh kadar pH yang dihasilkan oleh asam sitrat. Selain asam sitrat, penambahan PVP sebagai *anti-browning* dikarenakan senyawa fenol dapat diabsorpsi oleh PVP melalui ikatan hidrogen, untuk melindungi oksidasinya. Selain itu, penambahan PVP juga dapat meningkatkan pembentukan kalus, diferensiasi dan pertumbuhan tunas, serta pertumbuhan akar melalui penghambatan pencoklatan jaringan selama inisiasi kultur dan subkultur (Chai *et al.*, 2018; Kassahun Bantte & Feyissa, 2015).

Berbagai penelitian terkait efektivitas asam sitrat dan PVP dalam menurunkan persentase *browning* telah banyak dilaporkan. Lestari dkk (Lestari *et al.*, 2018) melaporkan bahwa perendaman eksplan daun *Lilium longiflorum* dalam asam sitrat 500 mg/L dan asam askorbat 300 mg/L selama 30 menit efektif menurunkan persentase *browning* sebesar 80%. Selain itu, Guler *et al.*, (2021) melaporkan bahwa penambahan asam sitrat 40 mg/L ke dalam media MS efektif menurunkan intensitas *browning* (intensitas rendah) dengan persentase eksplan nodus tanaman alpukat yang hidup sebesar 75%. Penelitian oleh Chai *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa penambahan PVP 300 mg/L ke dalam media MS menghasilkan persentase *browning* eksplan batang tanaman kiwi paling rendah sebesar 40% dibandingkan senyawa antioksidan lain seperti vitamin C dan asam sitrat pada konsentrasi yang sama.

Berbagai hasil penelitian ini menunjukkan bahwa efektivitas senyawa antioksidan dalam menurunkan persentase *browning* dipengaruhi oleh jenis tanaman, jenis eksplan dan metode penambahan senyawa antioksidan. Sampai saat ini, penelitian mengenai pencegahan *browning* eksplan nodus *S.burahol* menggunakan asam sitrat dan PVP belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh asam sitrat dan PVP terhadap pencegahan *browning* eksplan nodus *S.burahol*. Hasil penelitian diharapkan bermanfaat dalam mendukung upaya penyediaan bibit yang efisien dan berkelanjutan.

Bahan dan Metode

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2023 di Laboratorium Bioteknologi Dasar II Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap berjumlah 10 perlakuan meliputi kontrol (media basal tanpa antioksidan) inkubasi gelap dan terang dan perlakuan asam sitrat (300 dan 400 mg/L) serta PVP (300 dan 400 mg/L) inkubasi gelap dan terang (Tabel 1). Setiap perlakuan terdiri dari dua kali pengulangan.

Tabel 1. Rancangan perlakuan antioksidan dalam mencegah *browning* eksplan nodus *S.burahol*

Perlakuan	Konsentrasi	Inkubasi	
Kontrol	-	Terang	Gelap
PVP	300 mg/L	Terang	Gelap
	400 mg/L	Terang	Gelap
Asam sitrat	300 mg/L	Terang	Gelap
	400 mg/L	Terang	Gelap

Sterilisasi dan inokulasi eksplan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan nodus muda yang diambil dari urutan kedua sampai ketiga tanaman Kepel. Eksplan selanjutnya direndam dalam campuran deterjen cair : akuades : tween 80 sebanyak 3 tetes dan direndam selama 45 detik (pra-sterilisasi) di luar *Laminar Air Flow* (LAF). Eksplan selanjutnya dicuci sampai bersih menggunakan akuades sebanyak 3 kali dan dibilas kembali menggunakan akuades steril sebelum disterilisasi dalam LAF. Pada tahap sterilisasi (di dalam LAF), eksplan direndam menggunakan berbagai sterilan kombinasi yaitu klorox 10% + etanol 70% + carbendazim 5% (fungisida) selama 5 menit 30 detik. Eksplan selanjutnya dicuci bersih menggunakan akuades steril sebanyak 3 kali.

Eksplan yang telah steril kemudian dipotong berukuran 1 x 2 cm² diantara internodus kemudian diinokulasi ke dalam media Murashige and Skoog (MS)(Murashige & Skoog, 1962) padat dengan penambahan hormon auksin (IAA 2.5 mg/L) dan sitokinin (BAP 5 mg/L) serta variasi perlakuan senyawa antioksidan (Tabel 1) yang telah diatur pHnya menjadi 5.7-5.8 dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Botol kultur berisi eksplan diinkubasi pada suhu 25 ± 2 °C pada kondisi

gelap (ditutup kain hitam) dan terang (intensitas cahaya 1000 lux). Kultur diinkubasi selama 28 hari dan diamati *browning* dan pertumbuhannya setiap 2 hari sekali.

Pengamatan dan analisis data

Parameter yang diamati meliputi waktu inisiasi *browning* (HST), intensitas *browning*, persentase *browning*, waktu inisiasi kalus (HST), dan persentase kalus (%). Pengukuran terhadap intensitas *browning* mengacu pada skoring *browning* oleh (Admojo & Indrianto, 2016)(Tabel 2). Analisis data dilakukan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk rerata.

Tabel 2. Skoring Intensitas *Browning* (Admojo & Indrianto, 2016)

No.	Skoring	Keterangan
1.	0 - 0,24	0 - <1/4 bagian eksplan mengalami <i>browning</i>
2.	0,25 - 0,49	1/4 - 1/2 bagian eksplan mengalami <i>browning</i>
3.	0,50 - 0,74	1/2 - 3/4 bagian eksplan mengalami <i>browning</i>
4.	0,75 - 0,99	3/4 - <1 bagian eksplan mengalami <i>browning</i>
5.	1,00	Seluruh bagian eksplan mengalami <i>browning</i>

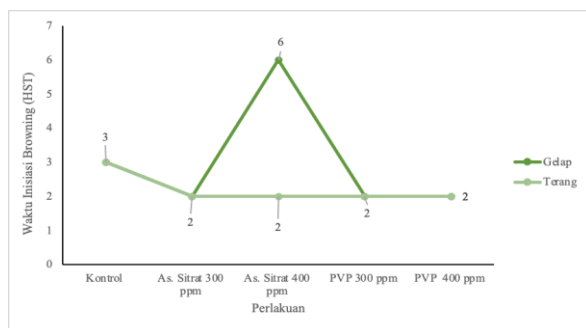
Hasil dan Pembahasan

Waktu Inisiasi *Browning*

Efektivitas penambahan senyawa anti-browning ke dalam media kultur dalam mencegah *browning* dapat diamati berdasarkan waktu inisiasi *browning*. Waktu inisiasi *browning* pada eksplan yang semakin cepat mengindikasikan bahwa senyawa anti-browning yang digunakan belum dapat mencegah atau mengurangi *browning*, sebaliknya semakin lama *browning* pada eksplan muncul mengindikasikan bahwa senyawa anti-browning yang digunakan telah efektif dalam mencegah atau mengurangi *browning*. Gambar 1 menunjukkan bahwa waktu inisiasi *browning* eksplan nodus *S.burahol* tercepat (2 HST) dihasilkan dari perlakuan media dengan penambahan asam sitrat dan PVP masing-masing pada konsentrasi 300 dan 40 ppm

yang diinkubasi pada kondisi terang. Waktu inisiasi ini lebih cepat dibandingkan kontrol (media tanpa penambahan anti-browning) yaitu 3 HST.

Waktu inisiasi browning paling lama yang ditunjukkan pada eksplan nodus *S.burahol* dihasilkan dari media kultur dengan penambahan asam sitrat 400 ppm yang diinkubasi pada kondisi gelap. Perbedaan respon waktu inisiasi browning pada kedua kondisi inkubasi (gelap dan terang) dapat disebabkan karena cahaya dapat meningkatkan aktivitas enzim Polifenol Oksidase (PPO) penyebab browning enzimatis pada kultur *in vitro*. Peningkatan aktivitas enzim PPO selanjutnya berdampak pada kecepatan reaksi oksidasi senyawa fenol yang menghasilkan browning selama proses isolasi eksplan pada tahap inisiasi (Tampak *et al.*, 2019). Hasil penelitian ini sejalan dengan Dolonseda *et al.*, (2021) yang melaporkan bahwa cahaya berpengaruh dalam mempercepat pembentukan browning pada eksplan nodus *Dendrocalamus asper* (6 HST) dan Sibarani *et al.*, (2024) yang menunjukkan bahwa cahaya juga mempercepat inisiasi browning pada eksplan nodus *S.burahol* yang dikulturkan dalam media dengan penambahan asam askorbat dan arang aktif (2-4 HST).



Gambar 1. Pengaruh asam sitrat dan PVP terhadap waktu inisiasi browning eksplan nodus *S.burahol* pada kondisi inkubasi gelap dan terang

Gambar 1 menunjukkan penambahan asam sitrat 400 ppm lebih efektif dalam memperpanjang waktu pembentukan browning dibandingkan PVP pada konsentrasi 300 dan 40 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa asam sitrat lebih efektif dalam mencegah browning pada eksplan nodus *S.burahol*. Hasil penelitian ini sejalan dengan Bhat *et al.*, (2022) yang menunjukkan bahwa penambahan asam organik

seperti asam askorbat pada konsentrasi 550 ppm jauh lebih efektif dalam mengurangi persentase browning eksplan nodus Persian Walnut (*Juglans regia* L.) dibandingkan pada perlakuan penambahan PVP pada konsentrasi yang sama. Namun demikian, hasil ini berbanding terbalik dengan Chai *et al.*, (2018) yang menunjukkan bahwa penambahan PVP pada konsentrasi 300 dan 400 ppm lebih efektif dalam mengurangi browning (40 – 50%) dibandingkan dengan penambahan asam sitrat pada konsentrasi 100 – 300 ppm. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa efektivitas senyawa *anti browning* dalam mencegah pencoklatan pada eksplan sangat dipengaruhi oleh jenis senyawa anti-browning, konsentrasi senyawa anti browning, kondisi inkubasi eksplan, dan jenis tanaman atau eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro*, terutama eksplan yang mengandung senyawa fenol yang tinggi dan bersifat rekalsitran sehingga lebih rentan menghasilkan browning (Ginting *et al.*, 2023; Permadi *et al.*, 2024).

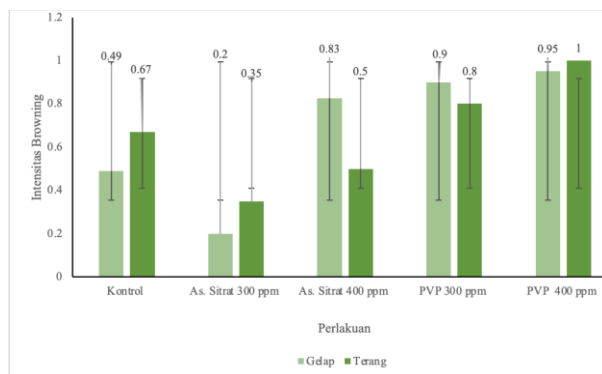
Intensitas Browning

Efektivitas senyawa anti-browning dalam mencegah *browning* pada eksplan kultur *in vitro* juga dapat diukur berdasarkan intensitas *browning* yang terbentuk pada setiap eksplan. Intensitas *browning* diukur berdasarkan nilai skoring pembentukan browning (0 – 1) mengacu pada (Admojo & Indrianto, 2016). Gambar 2 menunjukkan bahwa secara umum intensitas browning pada eksplan nodus *S.burahol* lebih tinggi (0.35 – 1) pada kondisi inkubasi terang dibandingkan pada kondisi inkubasi gelap. Hal ini dapat disebabkan karena cahaya berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas enzim PPO dalam mengoksidasi senyawa fenol sehingga intensitas browning yang dihasilkan lebih tinggi (Ginting *et al.*, 2023; Tampak *et al.*, 2019). Namun demikian, pada perlakuan asam sitrat 400 ppm dan PVP 300 ppm menunjukkan bahwa inkubasi kondisi terang menghasilkan intensitas browning lebih rendah (0.5 dan 0.8) dibandingkan pada kondisi terang. Perbedaan respon ini mungkin dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenol yang terdapat masing-masing eksplan meskipun berasal dari tanaman yang sama.

Gambar 2 menunjukkan penambahan asam sitrat konsentrasi 300 ppm dan inkubasi pada kondisi gelap menunjukkan intensitas browning

paling rendah (0.2) dibandingkan perlakuan media dengan penambahan PVP pada konsentrasi dan kondisi inkubasi yang sama (0.9).

Intensitas browning eksplan nodus *S.burahol* tertinggi (1) dihasilkan dari eksplan yang dikultur dalam media dengan penambahan PVP 400 ppm pada inkubasi kondisi terang. Efektivitas asam sitrat dalam menurunkan intensitas browning juga dilaporkan oleh Lestari *et al.* (2018) yang menghasilkan intensitas browning pada eksplan daun *Lilium longiflorum* sebesar 0.2 dari 1. Selain itu, Jakhar *et al.* (2019) juga menghasilkan intensitas browning eksplan nodus *Commiphora wightii* (Arnott) yang lebih rendah pada perlakuan asam sitrat 30 mg dibandingkan PVP pada konsentrasi yang sama. Namun demikian, hasil penelitian ini berbanding terbalik dengan Taghizadeh & Dastjerdi (2021) yang melaporkan bahwa penambahan PVP 0.5% jauh lebih efektif dalam mengurangi intensitas browning eksplan nodus *Spartium junceum* L. yaitu sebesar 0 dari 5. Perbedaan respon intensitas browning ini sangat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa anti browning yang digunakan dan kandungan senyawa fenol yang dihasilkan oleh setiap eksplan atau tanaman (Permadi *et al.*, 2024).



Gambar 2. Pengaruh asam sitrat dan PVP terhadap intensitas browning eksplan nodus *S.burahol* pada kondisi inkubasi gelap dan terang

Waktu Inisiasi Kalus

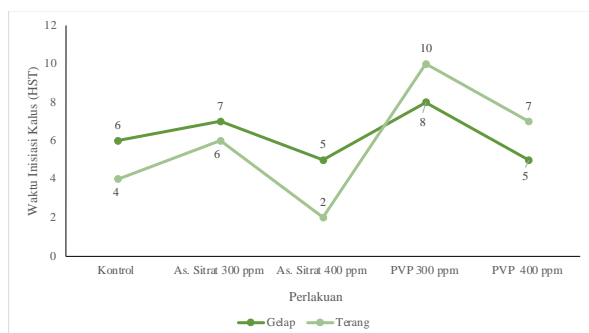
Efektivitas senyawa anti-browning tidak hanya diukur berdasarkan kemampuannya dalam mencegah atau mengurangi browning pada eksplan, namun juga perlu mempertimbangkan pengaruhnya terhadap regenerasi atau pertumbuhan eksplan. Pembentukan kalus merupakan salah satu indikator pertumbuhan

atau regenerasi eksplan. Senyawa anti-browning dikategorikan efektif jika mampu menghasilkan waktu inisiasi kalus lebih cepat dan mampu tumbuh tanpa mengalami browning. Berdasarkan hasil pada gambar 3, waktu inisiasi kalus paling cepat (2 HST) dihasilkan dari perlakuan asam sitrat 400 ppm yang diinkubasi pada kondisi terang, sedangkan waktu inisiasi kalus paling lama (10 HST) dihasilkan pada perlakuan penambahan PVP 300 ppm ke dalam media MS.

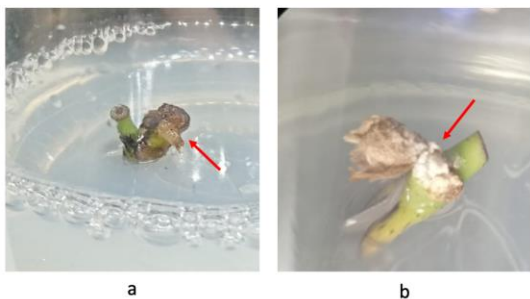
Waktu inisiasi kalus yang dihasilkan pada kontrol (tanpa penambahan anti-browning) menunjukkan waktu inisiasi pada kisaran 4 – 6 HST. Namun demikian, pada penelitian ini semua perlakuan dan kontrol mampu menghasilkan pertumbuhan kalus pada eksplan. Respon pertumbuhan kalus eksplan nodus *S.burahol* pada semua perlakuan ini disebabkan karena pemotongan eksplan menginduksi ekspresi gen-gen penting yang berperan dalam penutupan luka, sehingga dapat dikatakan pembentukan kalus ini sebagai respon alami adanya perlukaan. Gambar 4a dan b menunjukkan bahwa kalus terbentuk pada bagian pemotongan eksplan. Selain itu, pembentukan kalus juga dipengaruhi oleh interaksi hormon endogen yang terkandung dalam eksplan nodus dan ZPT (hormon eksogen) yang ditambahkan ke dalam media. Penambahan auksin (IAA 2.5 mg/L) dan sitokinin (BAP 5 mg/L) pada media perlakuan dan kontrol berperan dalam menstimulasi pertumbuhan kalus pada eksplan nodus *S.burahol*.

Tiap perlakuan menunjukkan respons kecepatan inisiasi kalus yang berbeda. Hal ini diduga sangat dipengaruhi oleh efektivitas senyawa anti-browning yang digunakan dalam mengurangi browning sehingga berdampak langsung pada kemampuan regenerasi eksplan. Hasil penelitian ini sejalan dengan (Jakhar *et al.*, 2019) yang melaporkan bahwa efektivitas asam sitrat pada konsentrasi 30 mg dalam mengurangi intensitas browning juga berpengaruh terhadap peningkatan biomassa kalus dari eksplan daun tanaman Guggul (*Commiphora wightii* (Arnott)). Namun demikian, hasil penelitian ini berbanding terbalik dengan (Taghizadeh & Dastjerdi, 2021) yang melaporkan bahwa penambahan PVP sebesar 0.5% ke dalam media menghasilkan skor pembentukan tertinggi pada eksplan nodus *S. junceum* (5 dari 5). Selain itu, (Aparna *et al.*, 2017) juga melaporkan bahwa penambahan PVP

pada konsentrasi lebih rendah (2 ppm) menghasilkan frekuensi pertumbuhan eksplan nodus *Gliricidia sepium* lebih besar (80%) dibandingkan pada perlakuan asam sitrat pada konsentrasi lebih tinggi (30 – 40 ppm) sebesar 60%. Hasil ini menunjukkan bahwa kemampuan eksplan dalam membentuk kalus tidak hanya ditentukan dari penambahan ZPT saja, namun juga dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa anti-browning dan jenis eksplan yang digunakan (Sekar et al., 2023).



Gambar 3. Pengaruh asam sitrat dan PVP terhadap waktu inisiasi kalus eksplan nodus *S.burahol* pada kondisi inkubasi gelap dan terang



Gambar 4. Pembentukan kalus eksplan nodus *S.burahol* pada perlakuan asam sitrat (a) konsentrasi 300 ppm (b) konsentrasi 400 ppm pada 28 HST. Keterangan : panah berwarna menunjukkan kalus yang terbentuk pada bagian pemotongan eksplan

Kesimpulan

Penambahan sitrat sebanyak 300 dan 400 ppm ke dalam media MS dan inkubasi kultur dalam kondisi gelap efektif menurunkan intensitas browning sebesar 0.2 dan waktu inisiasi browning 6 HST. Selain itu, penambahan asam sitrat 400 ppm dan inkubasi dalam kondisi terang juga efektif menginisiasi kalus tercepat yaitu 2 HST. Hasil penelitian membuktikan

bahwa penambahan asam sitrat pada konsentrasi 300 dan 400 ppm lebih efektif memperlambat *browning* dan menurunkan intensitas *browning* untuk eksplan nodus *S.burahol*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana dan Kemendikbudristek Dikti yang telah memberikan pendanaan Program Inovasi Pembelajaran (*Project based Learning*) pada mata kuliah Teknik Kultur Jaringan melalui Program Kompetisi Kampus Merdeka (PKKM) tahun 2023.

Referensi

- Admojo, L., & Indrianto, A. (2016). Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus Pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell Arg) Pb 330. *Jurnal Penelitian Karet*, 3, 25–34. <https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v34i1.220>
- Amente, G., & Chimdessa, E. (2021). Control of browning in plant tissue culture: A review. *Journal of Scientific Agriculture*, 5, 67–71. <https://doi.org/10.25081/jsa.2021.v5.7266>
- Angio, M. H., & Firdiana, E. R. (2021). Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thompson), buah langka khas keraton Yogyakarta: sebuah koleksi kebun raya Purwodadi. *Warta Kebun Raya*, 19(2), 7–13.
- Aparna, Jakhar, M. L., Kumar Tiwari, R., & Bhatt, L. (2017). Effects of Antioxidants in Controlling Phenolic Exudates in in vitro Culture of *Gliricidia* [*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 4291–4296. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.504>
- Bhat, S. N., Khalil, A., Nazir, N., Mir, M. A., Khan, I., Mubashir, S. S., Dar, M. S., Wani, S. H., & Hossain, M. A. (2022). In Vitro Prevention of Browning in Persian Walnut (*Juglans regia* L.) cv. Sulaiman. *International Journal of Plant Biology*, 13(3), 330–342. <https://doi.org/10.3390/ijpb13030027>

- Chai, J., Gao, Y., Dong, Y., Kong, L., & Zhang, Y. (2018). Browning Treatment in Tissue Culture of “Hongyang” Kiwifruit. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 452(2).
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/452/2/022075>
- Dolonseda, A. C., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2021). *The Use Of Ascorbic Acid And Active Charcoal As Anti-Browning In In Vitro Culture Initiation Of Petung Bamboo (Dendrocalamus asper (Schult .))*. 19(2), 1–10. 10.24198/biotika.v19i2.34733
- Ginting, N. B. O. P., Restiani, R., & Prasetyaningsih, A. (2023). Effect of Ascorbic Acid, Activated Charcoal and Dark Incubation on Browning Intensity of *Saurauia bracteosa* In Vitro Culture. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 15(3), 401–411.
- Güler, G., Gübbük, H., & Arslan, M. A. (2021). The Effect of Antioxidants on Micropropagation of Avocado by Nodal Segments. *Horticultural Studies*, 38(1), 50–55.
<https://doi.org/10.16882/hortis.900936>
- Habibah, N. A., Moeljopawiro, S., Dewi, K., & Indrianto, A. (2017). Flavonoid production, growth and differentiation of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) hook. f. and th. cell suspension culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20(4), 197–203.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.197.203>
- Habibah, N. A., Sumadi, & Ambar, S. (2013). Optimization of Leaf Surface Sterilization and Endophytic Elimination on Burahol. *Biosaintifika*, 5(2), 95–98.
- Handayani, E., Irsyadi, M. B., Aris, I., Alawiyah, R. L. M. N., Ayuningtias, N., Permatasari, F., & Rineksane, I. A. (2021). Optimasi Sterilisasi Endosperma Kepel (*Stelethocarpus burahol* [Bl] Hook F. & Th) Secara In Vitro. *BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(2), 113–121.
<https://doi.org/10.32938/jbe.v6i2.1179>
- Helena, A., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2022). Optimasi Antioksidan sebagai Penghambat Browning pada Tahap Inisiasi Kultur In Vitro Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*). *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 7(2), 86–93.
<https://doi.org/10.24002/biota.v7i2.4715>
- Hutabarat, C. T., Restiani, R., & Prasetyaningsih, A. (2022). Pengaruh Sterilisasi Tunggal dan Kombinasi pada Kultur In Vitro Nodus Kepel (*Stelechorcarpus burahol* Hook F. & Thomson). 9(2), 235–246.
<https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2022.v09.i02.p01>
- Jakhar, M. L., Verma, R., & Dixit, D. (2019). Effect of antioxidants on in vitro degree of browning and culture establishment of Guggul [*Commiphora wightii* (Arnott)]: A valuable desert medicinal plant. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5, 250–254.
- Kassahun Bante, D. S., & Feyissa, T. (2015). Effects of Polyvinyl Pyrrolidone and Activated Charcoal to Control Effect of Phenolic Oxidation on In Vitro Culture Establishment Stage of Micropropagation of Sugarcane (*Saccharum Officinarum* L.). *Advances in Crop Science and Technology*, 03(04), 10–13.
<https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000184>
- Lestari, N. K. D., Deswiniyanti, N. W., Astarini, I. A., & Arpiwi, L. M. (2018). Pencegahan Browning pada Eksplan In Vitro untuk Perbanyakan Tanaman Liliium longiflorum. *Seminar Ilmiah Nasional Teknologi, Sains, Dan Sosial Humaniora (SINTESA)*, November, 353–362.
- 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>
- Permadi, N., Akbari, S. I., Prismantoro, D., Indriyani, N. N., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2024). Traditional and next-generation methods for browning control in plant tissue culture: Current insights and future directions. *Current Plant Biology*, 38(March), 100339.
<https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100339>
- Permadi, N., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2023). Managing Lethal Browning and Microbial Contamination in *Musa* spp. Tissue Culture: Synthesis and Perspectives.

-
- Horticulturae*, 9(4), 1–16.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453>
- Rofiqah, U., Ananda, D., & Nurrahmah, I. (2021). The Encapsulation Process of Flavonoid from Kepel Seeds (*Stelechocarpus burahol*). *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 2(2), 155–161.
<https://doi.org/10.20885/eksakta.vol2.iss2.art9>
- Sekar, A. A., Restiani, R., & Prasetyaningsih, A. (2023). Induksi Kalus dari Eksplan Nodus *Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. F & Thomson sebagai Upaya Konservasi In Vitro. *BIOTIKA*, 21(5), 27–35.
<https://doi.org/10.24198/biotika.v21i1.42869>
- Sibarani, D. S., Restiani, R., & Prasetyaningsih, A. (2024). Browning Prevention Method in Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 10(March), 243–253.
- Taghizadeh, M., & Dastjerdi, M. G. (2021). Inhibition of browning problem during the callogenesis of *Spartium junceum* L. *Ornamental Horticulture*, 27(1), 68–77.
<https://doi.org/10.1590/2447-536X.V27I1.2230>
- Tarampak, T. C., Sulistiawati, & Nirmala, R. (2019). Metode Mengatasi Browning pada Eksplan Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) untuk Inisiasi Regenerasi Secara In Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab Volume*, 1(2), 106–117.