

# INDUKSI KALUS TANAMAN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth,) MENGGUNAKAN BENZYL AMINO PURIN DAN NAPHTALENE ACETIC ACID SECARA IN VITRO

## (Induction of Patchouli Callus (*Pogostemon cablin* Benth,) using Benzyl Amino Purine and Naphtalene Acetic Acid under In Vitro Condition)

Suci Rahmanissa N<sup>1\*</sup>, Elly Kesumawati<sup>1</sup>, Marai Rahmawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

<sup>1\*</sup>Email: sucirahmanissa17@gmail.com

### ABSTRAK

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi BAP dan NAA serta interaksi antara kedua faktor terhadap pertumbuhan tunas eksplan pucuk tanaman nilam varietas Tapak Tuan secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh. Penelitian berlangsung dari bulan April sampai Juli 2021. Penelitian ini terdiri dari 2 faktor, faktor pertama adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari 5 taraf yaitu kontrol, 0,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 0,75 mg L<sup>-1</sup>, dan 1 mg L<sup>-1</sup>. Faktor kedua adalah konsentrasi NAA yang terdiri dari 4 taraf yaitu kontrol, 0,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, dan 0,75 mg L<sup>-1</sup>, sehingga terdapat 20 kombinasi perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi BAP dan NAA berpengaruh pada persentase pembentukan kalus terbaik (100%) dijumpai pada konsentrasi 0,25 mg L<sup>-1</sup> NAA dan 0,75 mg L<sup>-1</sup> NAA. Persentase jumlah akar dengan konsentrasi 0,75 mg L<sup>-1</sup> NAA menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak yaitu sebesar 7,8 akar, dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

**Kata kunci : BAP, kalus, NAA, nilam.**

### ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of BAP and NAA concentrations and the interaction between these two factors on the growth of explant shoots. patchouli shoots of the Tapak Tuan variety *in vitro*. This research was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Syiah Kuala University, Darussalam, Banda Aceh. The study took place from April to July 2021. This study consisted of 2 factors, the first factor was the concentration of BAP which consisted of 5 levels, namely control, 0.25 mg L<sup>-1</sup>, 0.5 mg L<sup>-1</sup>, 0.75 mg L<sup>-1</sup>, and 1 mg L<sup>-1</sup>. The second factor was the concentration of NAA which consisted of 4 levels, namely control, 0.25 mg L<sup>-1</sup>, 0.5 mg L<sup>-1</sup>, and 0.75 mg L<sup>-1</sup>, so there were 20 treatment combinations. The results showed the combination of BAP and NAA had an effect on the proportion of callus formation, the best percentage of callus formation (100%) was found at concentrations of 0.25 mg L<sup>-1</sup> NAA and 0.75 mg L<sup>-1</sup> NAA. The percentage of the number of roots with a concentration of 0.75 mg L<sup>-1</sup> NAA resulted in a larger number of roots, which was 7.8 roots, compared to other treatments.

**Keywords: BAP, callus, NAA, patchouli**

### PENDAHULUAN

Tanaman nilam ialah tanaman herba yang mempunyai nilai perekonomian yang menguntungkan. Nilam adalah jenis tanaman aromatik yang menghasilkan minyak atsiri, dikenal juga dengan sebutan *patchouli oil*. Negara yang mengekspor minyak nilam tersebar salah satunya adalah Indonesia, serta mengalami peningkatan setiap tahun.

Fungsi dari minyak nilam dapat untuk pengikat (fiksatif) jenis minyak atsiri lainnya yang masih dalam keadaan tidak ada penggantinya. Kebutuhan minyak ini sendiri dapat digunakan dalam berbagai kebutuhan, seperti kesehatan, industri kimia, parfum serta kosmetik. (Hadipoentyanti et al., 2010 ; Mangun et al., 2012 ).

Produksi nilam Tahun 2019 mencapai 2,30 ribu ton dengan 50-70% produksi

nasional dihasilkan dari Provinsi Aceh. Pada tahun 2020, produksi nilam meningkat dari tahun sebelumnya dengan produksi mencapai 2,442 ton dengan luas lahan mencapai 21,477 ha (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020).

Terdapat tiga varietas nilam di Indonesia, berupa jenis nilam Aceh (*P. cablin* Benth.), nilam sabun (*P. hortensis* Becker.), dan nilam Jawa (*P. heyneanus* Benth.), Nilam Aceh yang paling banyak dijadikan sebagai usaha karena memiliki kandungan minyak yang tinggi (Mariska et al., 2003). Pada nilam Aceh memiliki kandungan minyak sebesar 2,5-5%, maka dari itu banyak peminatnya dari kalangan pasar khususnya para petani. Sedangkan nilam jawa dan nilam sabun, minyaknya yang terkandung sebesar 0,5 -1,5 % (Nuryani, 2006).

Kultur jaringan dimanfaatkan sebagai cara mengatasi permasalahan bibit pada budidaya tanaman nilam dan untuk peningkatan kualitas minyak nilam. Kalus ialah kumpulan sel yang belum terorganisir atau berdiferensiasi secara sempurna, yang tidak dapat ditentukan arah pertumbuhannya (apakah akan menjadi daun, tunas, akar atau batang). Kalu terjadi akibat adanya pelukaan pada bagian eksplan yang ditanam (Marlin et al., 2012)

Pemilihan zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah faktor yang perlu diperhatikan agar tercapainya tujuan dari kultur jaringan tersebut. ZPT yang paling sering dipakai adalah dari kelompok sitokinin dan auksin. Sitokinin yang umumnya digunakan yaitu BAP karena harganya terjangkau, efektif, tidak sulit didapatkan, serta lebih stabil dibanding jenis lainnya. BAP memberikan pengaruh pada kegiatan produksi tunas, pemecahan dormansi, peningkatan pembelahan sel. Namun dapat memperlambat terbentuk akarnya. Auksin yang umumnya dimanfaatkan yaitu NAA. Terdorongnya pembelahan sel serta produksi protein, dan memacu tumbuhnya kalus disebabkan oleh penambahan NAA didalam media yang digunakan (Isnaeni, 2018).

Penelitian terkait perbanyakan tanaman nilam secara *in vitro* menggunakan media

MS dengan penambahan BAP dan NAA telah dilakukan oleh Hidayah et al. (2012) menunjukkan kombinasi BAP sebesar 1 mg L<sup>-1</sup> dengan NAA sebesar 0,25 mg L<sup>-1</sup> pada eksplan buku tanaman nilam terbukti memberikan jumlah tunas tertinggi (32,93 tunas) dan panjang tunas 3,80 cm. Berdasarkan permasalahan tersebut, maka diperlukan penelitian mengenai pengaruh perbanyakan menggunakan eksplan pucuk nilam varietas Tapak Tuan dengan menggunakan konsentrasi BAP dan dan NAA serta interaksi diantara kedua faktor tersebut secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh. Penelitian berlangsung dari bulan April sampai Juli 2021.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, timbangan analitik *hot plate*, *magnetic stirrer*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), pH meter, *orbital shaker*, microwave, gelas kimia (1000 ml, 500 ml dan 300 ml), gelas ukur (1000, 100, 50, 25, dan 10 ml), erlenmeyer (1000, 500, dan 300 ml), *hand sprayer*, suntik 1 ml, cawan petri, bunsen, pinset, pipet tetes, wadah plastik, *scalpel*, *surgical blade* nomor 24, 120 botol kultur, spatula, rak kultur, ember, lampu flourescens, stop kontak timer, digital thermometer-hygrometer, digital Lux Meter.

Bahan yang dipakai ialah pucuk tunas (*shoot tip*) tanaman nilam varietas Tapak Tuan sebanyak 120 pucuk hasil perbanyakan nilam yang berasal dari stek pucuk nilam umur 4 bulan, Media Murashige dan Skoog (MS), BAP, NAA, akuades steril, alkohol 96% dan 70%, larutan NaOCl 10% dan 5%, KOH 0,1 N , HCl 0,1 N , plastik wrap, plastik transparan anti panas, karet gelang, kertas saring, masker, tisu, spiritus, korek api, dan stiker label.

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 5x4 yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi BAP terdiri kontrol, 0,25; 0,5; 0,75; dan 1 mg L<sup>-1</sup>. Faktor kedua ialah konsentrasi NAA terdiri kontrol, 0,25; 0,5; 0,75 mg L<sup>-1</sup>. Terdapat 20 kombinasi perlakuan, dengan 6 ulangan. Total sebanyak 120 satuan percobaan. Pada setiap satuan percobaannya terdapat 1 eksplan.

### **Metode Penelitian**

Prosedur percobaan meliputi sterilisasi alat, pembuatan larutan stok dan pengenceran ZPT, pembuatan media Murashige dan Skoog (MS), isolasi bahan tanam, sterilisasi eksplan, induksi pertumbuhan eksplan, dan pengamatan parameter.

### **Isolasi Bahan Tanam (Eksplan)**

Kegiatan mengisolasi eksplan dilakukan dengan cara memilih tanaman induk serta pemeliharannya. Ciri dari tanamannya yaitu sehat, tidak terjangkit penyakit, dan baik dalam pertumbuhannya. Pemilahan tersebut dilakukan agar eksplan yang akan ditanam pada kegiatan kultur jaringan tidak terdapat mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi.

### **Sterilisasi Bahan Tanam**

Eksplan diambil sepanjang 3 cm dan semua tangkai dan daun dihilangkan. Eksplan dicuci menggunakan air mengalir sebanyak 3 kali. Eksplan dilakukan perendaman didalam larutan detergen 5% selama 5 menit, lalu dibilas menggunakan air bersih. Tahap sterilisasi didalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC) dilakukan dengan eksplan digojok dengan larutan Clorox 30% dalam waktu 5 menit lalu dibilas 3 kali dengan aquadest steril. Eksplan direndam pada larutan alkohol 70% selama 30 detik, selanjutnya dilakukan pembilasan dengan aquadest steril sebanyak 3 kali. Setelah itu, ujung pucuk dikeringkan didalam cawan petri yang diberi alas kertas saring, hal ini untuk menghilangkan kelebihan air.

### **Penanaman Eksplan Pucuk Tunas Muda**

Tahap penanaman eksplan dilakukan didalam L AFC. Setelah dilakukan sterilisasi pada eksplan, eksplan yang terpotong kemudian dilakukan penanaman kedalam media tanam. Media disesuaikan dengan perlakuan ZPT yang telah ditentukan. Botol kultur dibuka dan dapat langsung ditanam. Satu botol terdapat satu eksplan. Penanaman dilakukan didekat dengan bunsen untuk mengurangi terjadinya kontaminasi. Pengambilan eksplan dengan pinset yang dipanaskan terlebih dahulu dengan bunsen. Panaskan juga mulut botol, kemudian tutup rapat botol dengan plastik, lalu ikat menggunakan dengan karet. Botol kultur diberikan label berupa jenis tanaman dan tanggal penanaman. Kemudian eksplan disimpan didalam ruang inkubasi, pada suhu 25°C serta pencahayaan 16 jam.

### **Parameter Pengamatan**

Pengamatan terhadap eksplan tanam nilam dilaksanakan setiap minggu, dimulai dari 1 hingga 8 minggu setelah tanam (MST). Persentase muncul kalus (%) dan jumlah akar.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Persentase Kalus Eksplan Tunas Tanaman Nilam**

Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase pembentukan kalus yang tertinggi dijumpai pada konsentrasi 0,25 mg L<sup>-1</sup> NAA dan 0,75 mg L<sup>-1</sup> NAA sebesar 100 %. Persentase tumbuh kalus 0% dijumpai pada perlakuan kontrol, dan konsentrasi 0,5 mg L<sup>-1</sup> BAP. Hal ini disebabkan karena eksplan yang tumbuh pada media tersebut menghasilkan tunas tunggal, tanpa mengalami terjadinya kalus. Eksplan yang tidak mengalami perubahan menjadi kalus umumnya akan tumbuh dan pertambahan tinggi eksplan dan jumlah daun.

Pada penelitian ini terdapat 2 tipe kalus yang terjadi, yaitu kalus yang menghasilkan akar dan kalus yang menghasilkan daun. Dapat dilihat pada gambar 1, eksplan nilam sama sama mengalami pengkalusan, tetapi

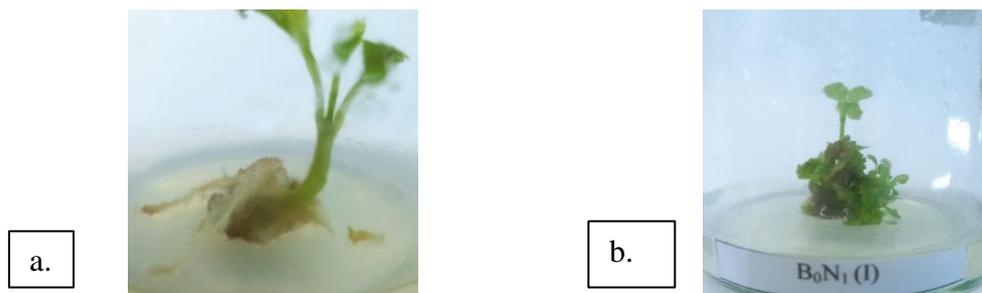
satu eksplan menghasilkan akar dan satu eksplan lagi menghasilkan daun.

Tabel 1. Rerata persentase kalus (%)eksplan dan jumlah akar eksplan pucuk tanaman nilam akibat konsentrasi BAP dan NAA pada umur 4 dan 8 MST

Perlakuan	Persentase muncul kalus (%)		Jumlah akar (akar)	
	4 MST	8 MST	4 MST	8 MST
Kontrol	0	2,7	2,7	6,3
0,25 mg L <sup>-1</sup> NAA	67	1,5	1,5	4,2
0,5 mg L <sup>-1</sup> NAA	50	4,5	4,5	6,8
0,75 mg L <sup>-1</sup> NAA	50	4,3	4,3	7,8
0,25 mg L <sup>-1</sup> BAP	0	0	0	0
0,25 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,25 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
0,25 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,5 mg L <sup>-1</sup> NAA	33	0	0	0
0,25 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,75 mg L <sup>-1</sup> NAA	50	0	0	0
0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP	0	0	0	0
0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,25 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,5 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
0,5 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,75 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
0,75 mg L <sup>-1</sup> BAP	0	0	0	0
0,75 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,25 mg L <sup>-1</sup> NAA	0	0	0	0
0,75 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,5 mg L <sup>-1</sup> NAA	33	0	0	0
0,75 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,75 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
1 mg L <sup>-1</sup> BAP	17	0	0	0
1 mg L <sup>-1</sup> BAP+0,25 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
1 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,5 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0
1 mg L <sup>-1</sup> BAP+ 0,75 mg L <sup>-1</sup> NAA	17	0	0	0

Pembentukan kalus diakibatkan terjadinya luka pada bagian tanaman, sehingga akan terbentuknya kalus dan akan terus berkembang seiring tertutupnya bagian yang terluka tersebut. Hasil dari penelitian ini

diperoleh berupa tekstur kalusnya kompak dan remah. Kalus remah ini bertekstur berupa komponen sel-selnya lunak, tampaknya tidak padat, serta pemisahan kalusnya terlihat mudah.



Gambar 1. Eksplan yang mengalami perubahan menjadi kalus, (a) kalus yang menghasilkan akar, (b) kalus yang menghasilkan daun

Terbentuknya kalus yang memiliki tekstur remah didorong oleh auksin endogen yang dihasilkan dari eksplan dan media tanam yang memiliki kandungan auksin eksogen (Nisak et al., 2002). Kalus remah berasal dari pertumbuhan yang mengacu terbentuknya sel yang memiliki ukuran kecil serta longgar ikatan dari sel-sel tersebut. Kalus kompak

bertekstur sulit dilakukan pemisahan serta padat susunan sel-selnya. Tekstur kalus kompak ialah hasil daripada auksin dan sitokinin memberikan potensial air didalam sel. Keadaan tersebut mengakibatkan meningkatnya air yang terserap dari media ke sel dan menyebabkan sel menjadi lebih keras (Fitriani, 2008).

Berdasarkan pengamatan visual mengenai warna kalus, awalnya warna kalus putih kehijauan, lalu berubah jadi kekuningan pada tiap minggu dan pada akhirnya berwarna kecoklatan. Terdapat 2 tipe kalus pada penelitian ini, berupa kalus yang menghasilkan akar serta kalus yang menghasilkan daun. Pada Gambar 1, eksplan nilam mengalami pengkalusan, satu eksplan menghasilkan akar dan satu eksplan lagi menghasilkan daun.

#### Jumlah Akar

Pembentukan akar hanya terjadi pada 4 konsentrasi, yaitu pada kontrol, konsentrasi  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  NAA, konsentrasi  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  NAA, dan konsentrasi  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  NAA. Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  NAA jumlah akar lebih banyak sebesar 7,8 akar, dibandingkan dengan perlakuan

lainnya. Penelitian rozalina et al (2013) bahwa konsentrasi  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  NAA+ $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP menghasilkan akar sebanyak 2,90 buah akar.

Pada penelitian ini, perlakuan kontrol juga menghasilkan akar sebesar 6,3 akar. Walaupun ditanaman pada media yang tidak memiliki penambahan ZPT, tetapi ekplan pucuk tanaman nilam juga menghasilkan akar. Hal ini Karena pada jaringan eksplan masih terdapat auksin endogen yang cukup untuk menghasilkan akar.

Penggunaan konsentrasi NAA tunggal pada penelitian ini dapat menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak dari pada perlakuan lainnya, akar mulai terlihat dari 4 MST. Seperti pernyataan Swamy et al., (2016), pada 4 MSI telah mengalami pertumbuhan akar pada eksplan nilam yang dilakukan inisiasi.



Gambar 2. Eksplan tanaman nilam yang menghasilkan akar

Penggunaan konsentrasi NAA tunggal pada penelitian ini dapat menghasilkan akar yang tinggi daripada perlakuan lainnya, akar mulai terlihat dari 4 MST. Seperti pernyataan Swamy et al., (2016), pada 4 MSI telah mengalami pertumbuhan akar pada eksplan nilam yang dilakukan inisiasi.

Pengamatan secara visual, ciri- ciri awal terbentuknya akar adalah terdapat butiran berwarna putih memanjang seperti kalus yang keluar dari bagian batang eksplan yang terluka yang lama kelamaan akan menjadi akar. Dalam penelitian ini, pada umur 8 MST hanya eksplan dengan perlakuan NAA tunggal yang menghasilkan akar, sedangkan perlakuan kombinasi konsentrasi NAA dan BAP tidak menghasilkan akar. Perlakuan kontrol juga menghasilkan akar pada 8 MST.

Pada pernyataan tersebut diketahui bahwa terdapatnya auksin endogen yang pada tanaman nilam menyebabkan sel-sel jaringan mempunyai kemampuan berkembang hingga dapat menghasilkan akar (Sulasiah et al., 2015).

#### SIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi BAP dan NAA berpengaruh pada parameter muncul kalus dan jumlah akar. Persentase pembentukan kalus terbaik (100%) dijumpai pada konsentrasi  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  NAA dan  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  NAA. Persentase jumlah akar dengan konsentrasi  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  NAA jumlah akar lebih banyak sebesar 7,8 akar, dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jendral Perkebunan., 2020. Nilam.Statistik Perkebunan Indonesia 2017-2020.
- Fitriani, H., 2008. *Kajian Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia Annu L. secara In Vitro*.Skripsi. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Hadipoentyanti, E., 2010. *Perbanyak Benih Nilam Veritas Unggul, Sehat dan Murah Hasil Kultur Jaringan*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Hidayah, W. N., Noeriah, J. S., Sharifah, S. M., Sharipah, S. A., Ruzaina and Faezah, P., 2012.Effect of Medium Strength and Hormones Concentration on Regeneration of *Pogostemon cablin* Using Nodes Explant.*Asian Journal of Biotechnology*, 4(1), pp.46-52.
- Isnaeni.S., Chaidir, L. dan Novie, D., 2018.Pengaruh Pertumbuhan Tanaman Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Penambahan Naftalen Asam Asetat (NAA).*Jurnal Hexagro*, 2(1), pp.11-16.
- Mangun, H. M. S., Waluyo, H. dan Purnama, S. A., 2012. *Nilam; Hasilkan Rendemen Minyak Hingga 5 Kali Lipat dengan Fermentasi Kapang*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mariska, I. dan Lestari, E. G., 2003.Pemanfaatan Kultur *In Vitro* untuk Meningkatkan Keragaman Genetik Tanaman Nilam. *Jurnal Litbang Pertanian*, 22(2), pp.64-69.
- Maelin, M. Yulian, Y., dan Hermansyah, H., 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang “Curup” Dengan Pemberian Sukrosa, BAP dan 2,4 . *Agrivigor*, 11(2), 276-284.
- Nisak, K., Nurhidayati, T., Purwani, K. I., 2002.Pengaruh Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* L. Var. Prancak 95.*J. Sains dan Seni Pomits*, 1(1), pp.1-6.
- Rozalina, Siregar L. A. M., dan Bayu, E. S., 2013. Pengaruh *Benzil Amino Purina dan Asam Asetat Naftalena* Terhadap Pembentukan Tunas Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *In Vitro*, 1(3), pp.626-637.
- Sulasiah, A., Tumilisar, C., dan Lestari, T., 2015. Pengaruh Pemberian Jenis dan Konsentrasi Auksin Terhadap Induksi Perakaran pada Tunas *Dendrobium Sp.* secara *In Vitro*. *Bioma UNJ Pr*, 11(1), pp.56-66.
- Swamy, M. K., Sinniah, U. R., 2016.. Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): Botany, Agrotechnology and Biotechnological Aspects. *Industrial Crops and Products*, (87), pp.161-17