

## ***Effect of IAA and BAP Differences on Patchouli Plant Growth (Pogestemon cablin Benth) In-Vitro***

Aifa Kurnia, Desvita Rahma, Hafizah Fadhilah, Mutiara Sari, Puspa Anggraeni Putri, Linda Advinda

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara, Sumatera Barat 25171  
Email: puspaangraeni001@gmail.com

### **ABSTRAK**

Tanaman nilam (*Pogestemon cablin Benth*) merupakan salah satu penghasil minyak atsiri potensial yang ada di Indonesia. Rendahnya produktivitas nilam karena mutu genetik yang rendah, teknik budidaya yang sederhana. Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu genetik nilam dengan mengumpulkan plasma nutfah nilam bersifat lokal, baik daerah sentra produksi maupun daerah lainnya. Metode alternatif perbanyakan bibit unggul dalam waktu relatif singkat dapat dilakukan melalui kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berbagai komposisi media yang efektif untuk pembentukan kalus dan regenerasi menjadi planlet pada tanaman nilam. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2022 di Ruang Kultur Jaringan, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimen dengan 6 perlakuan dan 1 kontrol serta 7 kali pengulangan, jadi total percobaan sebanyak 70 unit. Pengamatan penelitian berupa pembentukan pucuk, akar dan kalus yang diamati setiap minggu selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan terdapat beberapa perlakuan yang didominasi mengalami kontaminasi oleh jamur. Sehingga penanaman eksplan tidak dapat dilanjutkan dan dilakukan pembuatan media tumbuh dan penanaman eksplan kembali. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (baik internal maupun eksternal), organisme kecil yang masuk kedalam media, botol kultur atau alat-alat yang kurang steril, lingkungan kerja dan ruang kultur yang kurang steril (spora di udara).

**Kata kunci: BAP, IAA, kultur jaringan, MS, *Pogestemon cablin*, ZPT**

### **PENDAHULUAN**

Tanaman nilam (*Pogestemon cablin Benth*) adalah tanaman perdu wangi yang memiliki ciri-ciri berakar serabut, bentuk daun bervariasi dari bulat hingga lonjong dan batangnya berkayu dengan diameter berkisar antara 10-20 mm, serta sebagian besar daun yang melekat pada ranting hampir selalu berpasangan satu sama lain. Jumlah cabang yang banyak dan bertingkat mengelilingi batang sekitar 3-5 cabang/tingkat. Setelah tanaman berumur 6 bulan, tinggi dapat mencapai 1 m dengan radius cabang selebar lebih kurang 60 cm (Daniel, 2012). Tanaman nilam merupakan salah satu tanaman penghasil minyak yang dikenal dengan minyak nilam (*patchouly oil*) (Zuyasna, 2009). Minyak nilam merupakan salah satu dari

beberapa jenis minyak atsiri. Minyak atsiri ini banyak digunakan dalam industri kosmetik, parfum, sabun, antiseptik, dan insektisida (Sugiharto, 2007).

Nilam merupakan tanaman yang potensial untuk dikembangkan. Dalam rangka memperoleh varietas unggul tanaman nilam diawali dengan eksplorasi dan koleksi plasma nutfah yang ada di setiap sentra produksi nilam. Mutu minyak sangat ditentukan oleh komponen utama yang terkandung pada tanaman nilam yaitu *patchouli alcohol* (PA), senyawa kelompok seskuiterpen dengan rumus molekul  $C_{15}H_{20}O_6$ . Kadar PA yang tinggi dalam minyak nilam dapat diartikan bahwa semakin baik kualitas minyak tersebut (Mayura, 2020).

Metode alternatif untuk memperbanyak bibit unggul dalam waktu yang relatif singkat dapat dilakukan melalui kultur jaringan. Salah satu usaha yang dilakukan untuk memperbanyak bibit nilam adalah dengan teknik kultur jaringan (Mayura, 2020). Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin berperan penting untuk merangsang pembelahan sel dan auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Heddy (1986) menyatakan bahwa ZPT dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi proses fisiologis tumbuhan. Hal ini disebabkan karena adanya asam yang langsung mempengaruhi sintesis protein dan mengatur aktivitas enzim (Gardner, Pearce dan Mitchell, 1985). Kultur jaringan sebagai salah satu teknik yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dengan menggunakan potongan kecil jaringan atau organ tanaman yang dipelihara dalam suatu medium dan dikerjakan seluruhnya dalam keadaan aseptik (Katuuk, 1989). Potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Pierik, 1987).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* antara lain faktor eksplan, komponen medium dan lingkungan kultur. Selain itu, ukuran, umur, sumber dan genotip eksplan ikut menentukan keberhasilan kultur *in vitro*. Eksplan yang terlalu kecil daya tahan untuk hidup kurang bagus dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya, eksplan yang terlalu besar akan mudah terkontaminasi dan mudah menggulung sehingga bagian eksplan yang kontak dengan medium sedikit (George dan Sherrington, 1984). Ukuran eksplan yang paling baik adalah antara 0,5-1 cm, tetapi ukuran ini dapat bervariasi tergantung bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan eksplan serta jenis tanaman (Katuuk, 1989).

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh dalam kultur *in vitro* adalah cahaya, temperatur, dan pH medium. Selama dalam kultur *in vitro* sel tumbuhan tidak melakukan fotosintesis secara efisien dan umumnya dalam keadaan non autotrof. Meskipun seluruh kebutuhan energi untuk pertumbuhan secara *in vitro* sudah dipenuhi dari gula tetapi untuk menghasilkan planlet hijau dengan daun normal diperlukan cahaya (Wetherell, 1982).

Keuntungan penyediaan benih melalui kultur jaringan diantaranya dapat meminimalisir penyakit (bebas dari mikroba/virus) dalam jumlah besar dan seragam. Keberhasilan dalam perbanyakan ditentukan oleh banyak faktor diantaranya jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh (Mayura, 2020). Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan antara lain auksin, sitokinin dan giberelin. Hormon-hormon ini sering digunakan karena mempunyai kemampuan untuk merangsang pertumbuhan eksplan dan mempengaruhi pertumbuhan akar. Dari ketiga jenis hormon ini yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin (Wetherell, 1982).

Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel (Wetherell, 1982). Auksin biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium. Konsentrasi auksin yang relatif tinggi akan mengacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen (fitohormon) di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan (Mayura, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi media zat pengatur tumbuh yang optimal untuk pertumbuhan tunas tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) secara *in vitro*.

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimen yang dilaksanakan di Ruang Kultur Jaringan, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang, yang dimulai dari bulan November- Desember 2022. Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan kualitatif. Parameter yang diamati meliputi pembentukan pucuk, akar, dan kalus yang diamati setiap minggu selama 4 minggu. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif yang diperoleh dari banyaknya eksplan yang hidup, mati dan terkontaminasi. Prosedur penelitian dimulai dari persiapan alat dan bahan seperti, botol kultur, gelas ukur, pisau scalpel, pinset, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, *hot plate*, cawan petri, lampu bunsen, tissue, aluminium foil, *plastic wrapping*, pH meter, timbangan analitis, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), autoklaf, alat-alat tanam, daun tanaman nilam, medium MS, ZPT, IAA, BAP, sukrosa, agar swallow, bakterisida, fungisida, tween-20, bayclin, akuades, dan alkohol.

Penelitian ini dilakukan dengan 6 perlakuan dan 1 kontrol serta 7 kali pengulangan, jadi total percobaan sebanyak 70 unit. Perlakuan hormon tumbuh

sebagai berikut:

A: MS + IAA 0,5 ppm + BAP 1 ppm

B: MS + IAA 0,5 ppm + BAP 2 ppm C: MS + IAA 0,5 ppm + BAP 3 ppm D: MS +

IAA 1 ppm + BAP 1 ppm E: MS + IAA 1 ppm + BAP 2 ppm F: MS + IAA 1 ppm

+ BAP 3 ppm G: MS (kontrol)

Pembuatan medium dilakukan dengan menimbang larutan MS instan, sukrosa, menambahkan larutan stok sesuai perlakuan hormon tumbuh. Kemudian, dilakukan pengukuran pH media menggunakan kertas pH (5,6-5,8) serta menambahkan agar dan dipanaskan. Selanjutnya media dituang ke dalam botol kultur dengan sama banyak, dan disterilisasi dalam autoklaf selama 25 menit pada tekanan 17,5 Psi dengan suhu 121°C.

Eksplan diambil dari bagian daun ke-2 dan ke-5 dan dicuci dengan air mengalir. Setelah eksplan dicuci, kemudian direndam dalam larutan campuran bakterisida dan fungisida serta menggojoknya selama 10 menit. Kemudian eksplan dibilas kembali sebanyak 3 kali dengan akuades steril dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dengan ditutup aluminium foil ke dalam ruang kultur (LAF). Selanjutnya disterilisasi dengan merendam eksplan dalam larutan bayclin dan 3 tetes tween-20 selama 10 menit sampai pinggiran daun berwarna putih. Lalu, dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril. Eksplan diambil menggunakan pinset yang sudah diflaming terlebih dahulu, kemudian letakkan di atas cawan petri yang sudah dialas dengan kertas saring steril. Kemudian, eksplan dipotong dengan ukuran 1 cm dengan scalpel dan pinset steril dan segera ditanam dalam media yang telah disiapkan. Selanjutnya botol-botol tersebut diletakkan dalam rak kultur, dengan suhu 20°C dengan kelembaban relatif 70 %.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

NO	PENANAMAN	KONTAMINASI	TIDAK KONTAMINASI
1	Penanaman ke-1		

		 <p>Kontaminasi pada semua perlakuan sebanyak 70 unit perlakuan</p>	
2	Penanaman ke-2	 <p>Kontaminasi sebanyak 68 perlakuan</p>	 <p>Tidak kontaminasi sebanyak 2 perlakuan</p>

Eksplan adalah bagian dari tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk inisiasi suatu kultur. Pada penelitian ini menggunakan daun tanaman nilam, dimana jaringan yang diambil merupakan jaringan muda karena mempunyai kemampuan morfogenetik yang lebih besar dari pada jaringan yang tua. Media tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Murashige dan Skoog* (MS), sedangkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan yaitu *Indole Acetic Acid* (IAA) dan 6-benzylaminopurine (BAP) dengan konsentrasi yang berbeda.

Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) adalah auksin endogen yang berperan dalam pembesaran sel, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya absisi, berperan dalam pembentukan jaringan xilem dan floem, dan juga berpengaruh terhadap perkembangan dan pemanjangan akar. Hormon IAA merupakan hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga sintesis oleh bakteri tertentu merupakan alasan yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan tanaman (Aryantha et al., 2004). Sedangkan 6-Benzylamino Purin (BAP) berfungsi merangsang pembelahan sel dalam jaringan eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas (Wattimena et al., 1992). Penggunaan BAP pada konsentrasi yang tepat sangat efektif merangsang penggandaan tunas karena penambahan BAP dalam media perbanyak secara *in vitro* berperan aktif dalam organogenesis secara alami. Zat pengatur tumbuh BAP merupakan salah satu golongan sitokinin yang dapat memacu dan menginduksi tunas namun jenis dan konsentrasi tergantung jenis tanaman (George dan Sherrington, 1984).

Pada hasil pengamatan, diperoleh eksplan tanaman nilam tidak berhasil hidup.

Hal ini disebabkan oleh kontaminasi. Pada penanaman eksplan yang pertama, didapatkan hasil bahwa semua perlakuan mengalami kontaminasi, ini dibuktikan dengan ditemukannya jamur yang tumbuh pada eksplan dan media tumbuh. Pada penanaman eksplan yang kedua, ditemukan hasil bahwa terdapat 68 perlakuan yang mengalami kontaminasi dan terdapat 2 perlakuan yang tidak terkontaminasi. Eksplan tanaman nilam yang tidak terkontaminasi yaitu perlakuan F. Pada setiap perlakuan kultur jaringan tanaman nilam jamur kontaminan yang tumbuh didominasi jamur dengan warna putih dan membentuk benang-benang halus serta menyebar hingga menutupi permukaan eksplan dan media tanam (Gambar hasil pengamatan penanaman 1 dan 2).

Menurut Juarna (2016) eksplan daun lebih rentan terhadap munculnya kontaminasi dibanding organ tumbuhan yang lain. Widiastoety (2001) dalam Andriani (2021) bahwa kontaminasi pada eksplan yang ditanam dapat terjadi karena infeksi secara eksternal maupun internal. Kontaminasi eksternal akan muncul dua sampai tiga hari setelah tanam, sedangkan kontaminasi secara internal akan terjadi setelah empat hari setelah tanam. Pada penelitian ini rata-rata tumbuh jamur tiga hari setelah tanam.

Kontaminasi merupakan faktor pembatas dalam perbanyak tanaman secara kultur jaringan. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (baik internal maupun eksternal), organisme kecil yang masuk ke dalam media, botol kultur atau alat-alat yang kurang steril, lingkungan kerja dan ruang kultur yang kurang steril (spora di udara). Mikroorganisme dapat masuk pada saat proses penanaman maupun pemeliharaan. Kontaminasi pada kultur jaringan lebih didominasi dari jenis jamur dibandingkan mikroba lain (Wati et al 2020). Kontaminasi jamur diduga karena eksplan masih mengandung jamur meskipun sudah disterilkan. Kontaminasi yang terjadi dalam proses kultur jaringan dapat dikurangi dengan melakukan sterilisasi alat yang lebih baik (Amien, 2017).

Pemilihan jenis bahan sterilisasi juga merupakan faktor penting dalam keberhasilan kultur jaringan nilam. Pengambilan sampel tanaman juga berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur kontaminan internal/kontaminan yang berasal dari dalam jaringan tanaman (endofit). Pengambilan sumber eksplan juga mempengaruhi tingkat pertumbuhan jamur kontaminan internal karena isolasi jamur endofit lebih tinggi dijumpai pada tanaman yang tumbuh ekosistem alami (Andriani, 2021). Menurut Taji et al. (2006) menyatakan bahwa pemberian pra-perlakuan atau penanganan tanaman induk dapat sangat mengurangi investasi dari mikroorganisme sehingga eksplan yang berasal dari tanaman sehat dan kuat memiliki peluang keberhasilan kultur yang lebih besar daripada eksplan yang berasal dari tanaman sakit dan lemah.

## **PENUTUP**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pada penanaman eksplan daun nilam yang pertama diperoleh sebanyak 70 unit perlakuan dan penanaman yang kedua diperoleh sebanyak 68 unit perlakuan mengalami kontaminasi yang didominasi oleh jamur. Pada setiap perlakuan kultur jaringan tanaman nilam jamur kontaminan yang

tumbuh didominasi jamur dengan warna putih dan membentuk benang-benang halus serta menyebar hingga menutupi permukaan eksplan dan media tanam. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (baik internal maupun eksternal), organisme kecil yang masuk ke dalam media, botol kultur atau alat-alat yang kurang steril, lingkungan kerja dan ruang kultur yang kurang steril (spora di udara). Kontaminasi yang terjadi dalam proses kultur jaringan dapat dikurangi dengan melakukan sterilisasi alat yang lebih baik.

## REFERENSI

- Amien, S., dan Kinanti D. K. 2017. Paclobutrazol Meningkatkan Kandungan Klorofil Plantlet Nilam Kultivar Sidikalang dan Tapaktuan *In Vitro*. *Jurnal Agrin*. Vol. 21 (1): 71-83
- Andriani, D., dan Pebra H., 2021. Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq). *Agro Bali: Agricultural Journal*. Vol. 4 (2): 192-199.
- Aryantha, I.N., D.P. Lestari., N.P.D. Pangesti. 2004. Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang tanah Pada Kondisi Hidroponik. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 9 (2) : 43 -46.
- Daniel, A. 2012. Prospek Bertanam Nilam. Direktorat Jendral Perkebunan. 2016. Nilam (Patchouli). Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce dan R. L. Mitchell. 1985. Fisiologi Tanaman Budidaya. Universitas Indonesia, Jakarta. 428 P.
- George, E.F. dan P.O. Sherrington. 1984. *Plant Propagation By Tissue Culture. Hand and Directory of Commercial Laboratories*. New York: Exergetics Ltd.
- Hatta, M., Mardhiah H., dan Ulfa I. 2008. Pengaruh IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam (*Pogestemon cablin* Benth) *In Vitro*. *Jurnal Floratek*. Vol. 3: 56- 60.
- Juarna K. S 2016. Contamination explant *Centella asiatica* (L.) Urban (Pegagan) In Vitro culture through comparison of two sterilization methods. *Jurnal ProLife*. Vol. 3 (2): 119-128
- Katuuk. J.R.P. 1989. *Tekmk Kultur faringan Dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta: Departemen P dan K.
- Mayura, E. 2020. Pengaruh Berbagai Komposisi Media terhadap Induksi Tunas Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Seminar Nasional Virtual*. IPPTP Laing Solok Sumatera Barat.
- Pierik, L.R.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Dordrecht Netherlands: Martmus Nij'hoff Publisher.

- Sugiharto, B., Triastuti R., dan Mukhiissul F. 2007. Propagasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *In Vitro* dengan Kombinasi Sitokinin dan Auksin 2,4 D. *Jurnal MIPA*. Vol 17 (1): 39-47.
- Taji, A.M., Dodd, W.A., dan Williams, R. 2006. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Edisi Ke-tiga. Terjemah: Zulkarnain.
- Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. diterjemahkan oleh Koensoemardiyah. Wayne New Jersey: Avery Publishing Group Inc.
- Wati, T., Astarini. I. A, Pharmawati. M, and Hendriyani. E. 2020. Propagation Of *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka Using Tissue Culture Technique. *Journal of Biological Sciences*. Vol. 7 (1): 112-122. DOI: 10.24843/metamorfofa.2020.v07.i01.p1 5
- Wattimena, G. A., Gunawan, L. W., Mattjik, N. A., Syamsudin, E., Wiendi, N. M. A., & Ernawati, A., 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Zuyasna. 2009. Teknik Perbanyakkan Nilam dengan Kultur Jaringan. *Jurnal Agrista*. Vol. 13 (2): 64-68.