

PENGARUH KOMBINASI 2,4-D DAN KINETIN TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS TANAMAN NILAM

Deliah Seswita

Balai penelitian Tanaman Obat dan aromatik

ABSTRAK

Tanaman nilam (*Pogestemon cablin* Benth) termasuk famili Labiatae, yang banyak tumbuh di daerah tropis. Tanaman ini sebagai penghasil minyak atsiri yang dikenal dengan nama "Patchouli". Melihat prospek yang cukup baik tersebut, salah satu upaya yang sedang dikembangkan saat ini adalah mendapatkan senyawa metabolit sekunder melalui bioteknologi kultur jaringan. Di negara maju seperti Amerika, Jepang dan Eropa senyawa metabolit sekunder telah banyak diproduksi dalam skala industri, diantaranya untuk industri obat dan kosmetik. Metabolit sekunder dapat dihasilkan dari kultur kalus dan kultur suspensi sel. Penelitian dilakukan untuk menghasilkan kalus dari tanaman nilam di laboratorium kultur jaringan Kelti Plasma Nutfah dan Pemulian Balitro Bogor. Dengan tujuan memperoleh komposisi media kultur yang terbaik dari kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (0,1 : 0,4 : 0,7 : dan 1.0) mg/l dengan kinetin (0,0; 0,2 dan 0,5) mg/l. Rancangan perlakuan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 4 ulangan. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan kalus secara visual, warna dan bobot basah kalus. Hasil menunjukkan bahwa pada semua medium perlakuan ada peningkatan bobot basah, struktur kalus friable dan cenderung bewarna putih. Dari ke 12 kombinasi perlakuan yang diuji, media yang mengandung 2,4-D 0,1 mg/l yang dikombinasikan dengan kinetin 0,5 mg/l menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik.

Kata kunci : *Pogestemo cablin* Benth, induk kalus, *in vitro*, metabolit sekunder

PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogestemon cablin* Benth) merupakan salah satu tanaman aromatika penghasil minyak yang mendatangkan devisa terbesar diantara tanaman aromatika yang lainnya. Minyak nilam banyak digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan parfum, kosmetik, antiseptik dan insektisida yang diperoleh dari daun dan ranting nilam dengan cara penyulingan. Keunggulan minyak nilam di dalam industri parfum yaitu sifat fiksatif yang dapat mengikat minyak lainnya sehingga harumnya tahan lama dan sampai saat ini belum dapat dibuat secara sintetik (Ibnusantosa, 2000).

Indonesia merupakan pemasok minyak nilam terbesar di pasaran dunia dengan kontribusi 60 %, ekspor minyak nilam pada tahun 2003 mencapai 127 ton dengan nilai US\$ 19,25 juta. Hampir seluruh pertanian nilam di Indonesia merupakan pertanian rakyat yang melibatkan 32,324 kepala keluarga petani (Ditjen bun, 2004).

Tanaman nilam yang banyak dibudidayakan untuk tujuan produksi minyak adalah nilam aceh (*Pogestemon cablin* Benth) karena kadar minyaknya tinggi > 2,5 % (Nuryani dan Hadipoentyanti, 1994), serta kualitas minyaknya memenuhi standar mutu perdagangan yang dicirikan dengan kadar patchouli alkohol yang tinggi (Guenther, 1952).

Dalam perkembangannya minyak nilam Indonesia harus bersaing dengan minyak nilam dari negara-negara pengeksport lainnya, terutama dari segi

mutunya. Oleh karena itu untuk meningkatkan daya saing minyak atsiri kita dalam perdagangan dunia, selain usaha untuk meningkatkan jumlah produksi juga perlu didukung oleh usaha perbaikan mutu. Sehingga minyak nilam sebagai salah satu komoditi ekspor Indonesia betul-betul dapat lebih diandalkan sebagai sumber devisa negara.

Melihat prospek yang cukup baik tersebut, salah satu upaya yang sedang dikembangkan saat ini untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder adalah melalui bioteknologi kultur jaringan. Berdasarkan data ternyata teknologi ini telah berhasil digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder tanpa harus diambil dari pertanaman di lapang. Dalam aplikasinya di negara maju seperti Amerika, Jepang dan Eropa senyawa metabolit sekunder telah banyak diproduksi dalam skala industri, diantaranya untuk industri obat dan kosmetik. Metabolit sekunder dapat dihasilkan dari kultur kalus dan kultur suspensi sel.

Bila metode yang dipilih adalah kultur kalus, maka sebagai tahap awal yang penting adalah usaha untuk memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Pada umumnya kalus yang diharapkan adalah berwarna putih dengan struktur friable (rapuh), sehingga sel tetap melakukan pembelahan. Penelitian bertujuan untuk memperoleh komposisi media kultur yang terbaik untuk menghasilkan kalus dari tanaman nilam.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah kalus yang berasal dari potongan daun aseptik berasal dari tanaman nilam Tapak Tuan berumur 3 bulan. Media Murashige dan Skoog (MS), vitamin dari group B, sukrosa dan dipadatkan dengan agar serta zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 4 ulangan, masing-masing ulangan 10 botol. Parameter yang diamati yaitu pertumbuhan kalus secara visual, warna kalus, struktur kalus yang terbentuk kompak atau friable (rapuh), bobot basah dan bobot kering kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Warna dan struktur kalus

Hasil pengamatan terlihat bahwa kalus yang ditanam melakukan pertumbuhan yang ditunjukkan dengan pertambahan besar kalus yang berbeda setiap minggunya.

Selain pertumbuhan juga terjadi perubahan warna yaitu coklat tua, coklat muda dan putih. Hal ini mungkin disebabkan pengaruh konsentrasi dan interaksi antara zat-zat pengatur tumbuh yang ada dalam media. Hal yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Mariska dan Sukmadjaya, 1989. Terdapat perbedaan warna kalus pada penggunaan 2,4-D dengan konsentrasi 1-4 mg/l yang dikombinasikan dengan 0,5 mg/l BAP atau 0,5 mg/l kinetin, memberikan warna putih kehijauan, sedangkan 2,4-D 0,5 mg/l kalusnya berwarna putih kecoklatan. Selain itu diduga konsentrasi 2,4 -D 0,5 mg/l itu terlalu tinggi untuk memacu

pertumbuhan kalus nilam. Pada Tabel 1, terlihat warna kalus dari minggu I sampai Minggu ke VIII terlihat adanya perubahan, semakin lama kalus terlihat pertumbuhannya dengan adanya kalus menjadi putih pada minggu ke 8 setiap perlakuan.

Tabel 1. Pengaruh berbagai macam perlakuan medium terhadap warna dan struktur kalus sampai minggu ke 8

Warna media Mg/l	Warna (%)						Struktur (%)
	Minggu						
	I		IV		VIII		
2,4-D 0,1	Coklat tua 80 Coklat muda 20	Coklat tua 10 0	Coklat tua 80 Coklat muda 15 Putih 5	Coklat tua 80 Coklat muda 100 Putih 5	Coklat tua 80 Coklat muda 100 Putih 5	Friable 100	
2,4-D 0,4	Coklat tua 100	Coklat tua 80 Coklat muda 15 Putih 5	Coklat tua 50 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30 Putih 10	Coklat tua 50 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30 Putih 10	Coklat tua 50 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30 Putih 10	Friable 100	
2,4-D 0,7	Coklat tua 90 Coklat muda 10	Coklat tua 70 Coklat muda 30	Coklat tua 60 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30	Coklat tua 60 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30	Coklat tua 60 Coklat tua putih 10 Coklat muda 30	Friable 100	
2,4-D 1,0	Coklat tua 80 Coklat muda 20	Coklat tua 70 Coklat tua putih 15 Coklat muda 15	Coklat tua 50 Coklat tua putih 35 Coklat muda 15	Coklat tua 50 Coklat tua putih 35 Coklat muda 15	Coklat tua 50 Coklat tua putih 35 Coklat muda 15	Friable 100	
2,4-D 0,1 + Kineti 0,2	Coklat tua 100	Coklat tua 10 0	Coklat tua 50 Coklat muda 50	Coklat tua 50 Coklat muda 50	Coklat tua 50 Coklat muda 50	Friable 100	
2,4-D 0,1 + Kinetin 0,2	Coklat tua 40 Coklat muda 60	Coklat tua 40 Coklat tua putih 10 Coklat mud 50	Coklat tua 40 Coklat tua putih 10 Coklat muda 50	Coklat tua 40 Coklat tua putih 10 Coklat muda 50	Coklat tua 40 Coklat tua putih 10 Coklat muda 50	Friable 100	
2,4-D 0,1 + Kinetin 0,2	Coklat tua 70 Coklat muda 20 Putih 10	Coklat tua 30 Coklat tua putih 20 Coklat muda 30 Coklat muda putih 20	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 20 Putih 30	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 20 Putih 30	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 20 Putih 30	Friable 100	
2,4-D 0,1 + Kinetin 0,2	Coklat tua 90 Putih 10	Coklat tua 50 Coklat tua putih 20 Coklat muda 10 putih 20	Coklat tua 30 Coklat tua putih 30 Coklat muda 10 Putih 30	Coklat tua 30 Coklat tua putih 30 Coklat muda 10 Putih 30	Coklat tua 30 Coklat tua putih 30 Coklat muda 10 Putih 30	Friable 100	
2,4-D 0,1 + Kineti 0,5	Coklat tua 70 Coklat 15 Putih 15	Coklat tua 30 Coklat 20 Putih 50	Coklat tua 15 Coklat tua putih 5 Coklat muda 10 Putih 70	Coklat tua 15 Coklat tua putih 5 Coklat muda 10 Putih 70	Coklat tua 15 Coklat tua putih 5 Coklat muda 10 Putih 70	Friable 100	
2,4-D 0,4 + Kinetin 0,5	Coklat tua 60 Coklat muda 40	Coklat tua 60 Coklat tua putih 10 Coklat mud 30	Coklat tua 20 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Coklat mudaputih 30	Coklat tua 20 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Coklat mudaputih 30	Coklat tua 20 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Coklat mudaputih 30	Friable 100	
2,4-D 0,7 + Kinetin 0,5	Coklat tua 50 Coklat muda 50	Coklat tua 50 Coklat tua putih 40 Coklat muda 5 Coklat muda putih 5	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Putih 40	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Putih 40	Coklat tua 10 Coklat tua putih 40 Coklat muda 10 Putih 40	Friable 100	
2,4-D 1,0 + Kinetin 0,5	Coklat tua 70 Coklat muda 30	Coklat tua 70 Coklat muda 20 puuih 10	Coklat tua 50 Coklat tua putih 20 Coklat muda 30	Coklat tua 50 Coklat tua putih 20 Coklat muda 30	Coklat tua 50 Coklat tua putih 20 Coklat muda 30	Friable 100	

Menurut Schenk dan Hildebrandt (1971) menyatakan warna putih pada kalus terutama yang berstruktur friable, menunjukkan adanya peningkatan pembelahan sel yang terus menerus.

Pada penelitian ini warna coklat pada minggu 1 diduga karena oksidasi fenol yang dapat menghambat pertumbuhan kalus. Penambahan zat pengatur tumbuh kinetin pada media yang telah mengandung 2,4-D dapat memacu pembelahan sel, karena pada kombinasi itu kalus yang bewarna putih lebih banyak dari pada perlakuan 2,4 -D tunggal. Murashige dan Skoog (1971) menyatakan bahwa dengan penambahan sitokinin kedalam media yang sudah mengandung auksin menjadikan pertumbuhan yang lebih baik.

Kalus nilam yang diberi perlakuan kombinasi 2,4-D 0,1 mg/l + kinetin 0,5 mg/l sampai minggu ke 8 persentase kultur kalusnya yang bewarna putih terbanyak dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Sedang kalus banyak bewarna coklat adalah pada media tunggal yaitu media 2,4-D 0,1 mg/l, diduga dengan konsentrasi rendah belum memadai untuk pembelahan sel kalus nilam.

Semua kalus friable, ini yang diharapkan, karena kalus memungkinkan tetap melakukan pembelahan, sebaliknya apa bila kalusnya kompak maka kalus tersebut akan mengarah pertumbuhan membentuk organ.

Tabel 2. Pengaruh berbagai macam perlakuan medium terhadap bobot basah dan bobot kering kalus

Media perlakuan (g/l)	Rata-rata bobot basah (g)	Rata-rata bobot kering (g)	Rata-rata pertambahan berat (g)
2,4 -D 0,1	0,2046	0,0154	0,1045
2,4 -D 0,4	0,1778	0,0130	0,0777
2,4 -D 0,7	0,1583	0,0118	0,0582
2,4 -D 1,0	0,2045	0,0136	0,1044
2,4 - D 0,1 + KIN 0,2	0,1878	0,0133	0,0877
2,4 - D 0,4 + KIN 0,2	0,1974	0,0107	0,0973
2,4 - D 0,7 + KIN 0,2	0,3542	0,0218	0,2541
2,4 - D 1,0 + KIN 0,2	0,2297	0,0165	0,1296
2,4 - D 0,1 + KIN 0,5	0,8171	0,0468	0,7170
2,4 - D 0,4 + KIN 0,5	0,3158	0,0265	0,2157
2,4 - D 0,7 + KIN 0,5	0,4071	0,0265	0,3070
2,4 - D 1,0 + KIN 0,5	0,2601	0,0176	0,1600

Pada Tabel 2 dapat dilihat bobot basah dan kering dari kalus nilam. Pada minggu ke 8 kalus ditimbang untuk mengetahui bobot basah dan keringnya, dari data yang diperoleh bobot yang tertinggi pada kombinasi 2,4-D 0,1 mg/l + kinetin 0,5 mg/l. Hal ini sesuai dengan Tabel 1, dimana pada kalus kombinasi tersebut terdapat kalus warna putih yang terbanyak. Setelah kombinasi tersebut yang memberkan kalus terbaik, maka bobot tinggi lainnya adalah kombinasi 2,4-D pada semua taraf konsentrasi yang dicoba 0,5 mg/l. Pada perlakuan tunggal pada

umumnya memberikan hasil relatif rendah.

Untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder pada kalus, maka tahap awal perlu mendapatkan komposisi media yang dapat menghasilkan kalus sebanyak mungkin. Selain memacu sel zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin dapat pula mempengaruhi kadar senyawa sekunder. Dengan demikian perlakuan zat pengatur tumbuh dapat menghasilkan respon pembentukan metabolit sekunder yang berbeda-beda.

KESIMPULAN

Media yang terbaik untuk pertumbuhan kalus yang bewarna putih dan friable adalah kombinasi dari media MS yang di tambahkan zat pengatur tumbuh 2,4-D 0.1 mg/l + kinetin 0,5 mg/l.

DAFTAR PUSTAKA

- Ditjen Perkebunan, 2004. Nilam (Patchouli). Statistik Perkebunan Indonesia 2003-2006. 19 hal.
- Gati, E dan IKA. 1989. Perkembangan Penelitian Bioteknologi Kultur Jaringan Tanaman Penghasil Minyak Atsiri. Edisi Khusus Littro. V (2) : 19-36
- Guenther, E. 1952. The Essential Oils. D. Van Nostrand CO. Inc. New York and Ed. III : 552-574.
- Ibnusantoro Gatot. 2000. Kemadangan pengembangan minyak atsiri Indonesia. Makalah disampaikan pada seminar "Pengusaha minyak atsiri hutan Indonesia "Fak. Kehutanan IPB. Darmaga, Bogor, 23 Mei 2000, 15 (tidak diterbitkan).
- Mariska, I, dan D. Sukmadjaya. 1989. Perkembangan Penelitian Bioteknologi Kultur Jaringan Tanaman Obat. Edisi Khusus Littro V (2) : 8-9.
- Murashige, T. And Skoog. 1962. A revised medium for rapid and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15 : 473 - 496.
- Nuryani, Y dan E. Hadipoentiyanti. 1994. Koleksi, Konservasi, Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Tanaman Atsiri. *Reviu Hasil dan Penelitian Plasma Nutfah Pertanian*. Bandung Litbang Pertanian, 209 -219.
- Schenk, R. U. and A. C. Hildebrandt. 1971. Medium and techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *can. J. Bot*, 50 : 199 -204.