

KULTUR JARINGAN KUNIR PUTIH (*Kaempferia rotunda* L.)

Djadja Siti Hazar Hoesen

Balitbang Botani Puslitbang Biologi-LIPI

## ABSTRACT

Shoot cultures of *Kaempferia rotunda* L. were established from rhizome segment. In the 1st experimen these explants were planted on Gamborg/B5 medium that supplemented with BA concentrations were (0, 0.5, 1 and 2) mg/l and/or kinetine were (0, 2 and 4) mg/l. In 2nd experiment these explants planted in Murashige and Skoog medium (MS). This medium supplemented with BA concentrations (0, 2 and 4) mg/l and/or NAA (0 and 1) mg/l. The result in the 1st experiment showed that the best proliferated shoots was from the culture that supplemented with BA 1 mg/l and kinetine 4 mg/l, while in the 2nd experiment the best proliferated shoots was from the culture that supplemented with BA 4 mg/l and NAA 1 mg/l.

These shoots were then subcultured on MS liquid medium supplemented with BA (5 mg/l) and MS agar medium was supplemented with BA (2 mg/l) + 2iP (0.5 mg/l) + thidiazuron (0.01 mg/l) + NAA (0.5 mg/l). The cultures could induce the shoots number and produce the morphological plantlets for acclimatization, and acclimatization succeeded on soil and compost mixed medium in ratio 1:1.

Katakunci: Zingiberaceae, *Kaemnferia rotunda*, kultur jaringan, Murashige and Skoog/MS, Gamborg/B5.

## PENDAHULUAN

*Kaempferia rotunda* L merupakan tumbuhan yang termasuk ke dalam suku temu-temuan (Zingiberaceae), seperti umumnya sebagian besar tumbuhan suku Zingiberaceae rimpangnya merupakan salah satu campuran dari ramuan obat tradisional khususnya di Jawa. Rimpang dari *Kaempferia rotunda* ini biasa digunakan dengan campuran rimpang jahe, lada dan gula jawa untuk mengobati beberapa penyakit antara lain sakit perut, gondongan, obat luka, gangguan tenggorokan, dan muntah-muntah (Sastrapradja, 1977). Tumbuhan ini berkhasiat sebagai obat yang diminum ataupun obat luar. Pemanfaatan rimpang tumbuhan ini sebagai obat, pernah dilaporkan dimanfaatkan oleh orang Austria, Denmark, Prancis, Spanyol, Swedia dan Venezuela (Quisumbing, 1951). Selain berkhasiat obat, rimpang *K. rotunda* ini dapat pula digunakan sebagai bahan kosmetika dan daunnya dapat pula digunakan sebagai obat balur serta sebagai bahan penyedap masakan terutama oleh masyarakat Jawa. *K. rotunda* mempunyai umbi yang terletak di ujung-ujung rimpangnya, umbi-umbi ini diduga dapat digunakan sebagai obat penenang. Yang paling penting dari tumbuhan ini adalah

kandungan minyak atsiri cineol yang berasal dari umbi dan rimpangnya yang beraroma menyerupai kamfer dan bernilai ekonomi tinggi (Quisumbing, 1951; Sastrapradja, 1977). Dewasa ini rimpang dan tumbuhan ini jarang sekali tersedia di pasaran terutama di luar daerah Solo seperti halnya di daerah Jabotabek. Di Solo tempat dimana material penelitian ini didapat mempunyai nama daerah kunci pepet atau kunir putih, di daerah lain dinamai ardong. Tumbuhan ini mempunyai daun yang berbentuk jorong, di bagian atas daun berbelang coklat, bunganya berwarna putih dan berbau harum (Backer and van den Brink, 1968) morfologinya indah sehingga berpotensi pula sebagai tanaman hias dalam pot. Di Filipina pada awalnya tumbuhan ini diintroduksi sebagai tanaman hias, begitu pula dengan beberapa varietasnya yang berperawakan indah seperti yang terdapat di kebun koleksi Bapak G. Hambali (Utami, 1997).

Tumbuhan ini biasa diperbanyak dengan rimpang atau dapat pula dengan bijinya, namun biji dari tumbuhan ini jarang sekali didapat, kemungkinan karena lingkungan di Indonesia terutama suhu dapat menghambat terbentuknya biji tersebut. Dewasa ini sedikit sekali masyarakat yang mem-

budidayakan tumbuhan ini, biasanya tumbuh liar di hutan jati atau semak-semak.

Apabila dikaji dari manfaatnya *K. rotunda* ini sangat berpotensi sebagai bahan industri obat dan minyak atsiri yang bernilai ekonomi tinggi, oleh karena itu dirasakan penting akan ketersediaan material bahan bakunya secara masal untuk skala industri. Sementara ini teknik in-vitro merupakan cara perbanyakan yang lebih menjanjikan untuk memenuhi ketersediaan bahan bakunya. Teknik kultur jaringan telah berhasil digunakan pada perbanyakan jenis lain dari suku Zingiberaceae, seperti pada beberapa varitas tanaman jahe (Ikeda and Tanabe, 1989; Hoesen dan Poerba, 1993; Imelda, 1994); dan kencur (*Kaempferia galanga*) yaitu tumbuhan yang satu marga dengan *K. rotunda* ini (Hoesen, 1996; Mariska et al., 1996).

Dengan mengamati potensi dari tumbuhan ini sebagai bahan dasar industri obat dan kosmetika serta potensinya sebagai tanaman hias, dengan ditunjang oleh keberhasilan akan teknik perbanyakan secara massal pada jenis Zingiberaceae lainnya, maka menarik pula untuk dicoba cara perbanyakan *K. rotunda* secara in-vitro.

Pada tulisan ini dilaporkan hasil pengujian respon kultur tunas *Kaempferia rotunda* L, yang meliputi pengujian tingkat konsentrasi BA dan kinetin pada medium dasar Gamborg/B5 dan pengujian tingkat konsentrasi BA pada medium dasar MS, serta pengaruhnya terhadap pembentukan dan perkembangan tunasnya. Dengan mengetahui respon kultur jaringannya, maka aplikasi dari teknik in-vitro ini untuk tujuan perbanyakan dalam skala besar dapat dimantapkan.

**BAHAN DAN METODA**

Bahan eksplan yang digunakan pada percobaan ini berupa mata/tunas dari rimpang *K. rotunda* yang berukuran 0.6-0.8 cm. Sebelum dikulturkan bahan eksplan tersebut disterilkan dahulu pada larutan chlorox 20-30% (bahan aktif natrium hipoklorit 5.25%) selama 20-30 menit serta dibilas air suling steril 3-4 kali. Selanjutnya bahan eksplan tersebut dipotong hingga berukuran 0.4-0.5 cm. kemudian dikulturkan pada media yang telah disediakan.

Garam makro yang digunakan

Medium dasar formulasi Gamborg (mg/l)		Medium dasar farmulasi MS (mg/J)	
KNO <sub>3</sub>	2500	1900	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	134	(NH <sub>4</sub> )NO <sub>3</sub>	1650
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	150	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	250		370
		CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	440

Garam mikro yang digunakan

MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	13,2	22,3
ZnSCVHjiO	2	8,6
KJ	0,75	0,83
HgBO <sub>3</sub>	3	6,2
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
CoOl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25

(George and Sherington, 1984)

Medium dasar yang digunakan adalah formulasi garam anorganik Gamborg (George and Sherington, 1984) sebagai percobaan I dan medium dasar formulasi Murashige & Skoog (Murashige and Skoog, 1962) sebagai percobaan II. Kedua macam medium dasar tersebut masing-masing diberi tambahan 0.4 mg/l tiamin HCl, 100 mg/l mio-inositol, 0.5 mg/l piridoksin HCl, 0.5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin; 2 000 mg/l gula pasir dan 2 000 mg/l phyta gel serta zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Keasaman medium diatur dengan menggunakan pH meter hingga mencapai nilai pH 5,7±0,1. Agar dilarutkan dengan cara dipanaskan bersama-sama dengan larutan media.

Laporan ini terdiri dari dua percobaan yang menggunakan medium dasar yang berbeda, yaitu :

Perlakuan percobaan I meliputi :

- Bo (medium dasar Gamborg) sebagai kontrol I
- B1 (medium dasar Gamborg + 0,5 mg/l BA)
- B2 (medium dasar Gamborg + 1 mg/l BA)
- B3 (medium dasar Gamborg + 2 mg/l BA)
- B4 (medium dasar Gamborg + 0,5 mg/l BA + 2 mg/l kinetin)
- B5 (medium dasar Gamborg + 1 mg/l BA + 2 mg/l kinetin)
- B6 (medium dasar Gamborg + 4 mg/l kinetin)

B7 (medium dasar Gamborg + 0,5 mg/l BA + 4 mg/l kinetin)

B8 (medium dasar Gamborg + 1 mg/l BA + 4 mg/l kinetin)

Perlakuan percobaan II meliputi:

Mo (medium dasar MS) sebagai kontrol II

M1 (medium dasar MS + 2 mg/l BA)

M2 (medium dasar MS + 4 mg/l BA)

M3 (medium dasar MS + 1 mg/l NAA)

M4 (medium dasar MS + 2 mg/l BA + 1 mg/l NAA)

M5 (medium dasar MS + 4 mg/l BA + 1 mg/l NAA)

Kedua percobaan di atas memakai rancangan acak kelompok yang masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Setelah kultur berumur 12 minggu dilakukan penghitungan dengan mengukur 4 macam peubah yaitu jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar dan panjang tunas. Dari nilai rata-rata peubah yang diamati dihitung galat bakunya.

Kultur disimpan dalam ruangan yang bersuhu 27-28 °C dan penyinaran dengan lampu TL 40 watt selama 12 jam/hari. Pengamatan awal untuk melihat perkembangan kultur dilakukan mingguan sampai kultur berumur 8 minggu dan selanjutnya pengamatan dilakukan setiap 4 minggu.

Pemindahan kultur pada medium dasar tanpa zat pengatur tumbuh sebelum subkultur dilakukan pada percobaan I dan II dengan maksud untuk mengurangi/menetralkan dari pengaruh perlakuan sebelumnya dan untuk melihat respon kultur terhadap perlakuan media subkultur selanjutnya.

Subkultur pertama dilakukan setelah pemindahan pada medium dasar selama 4 minggu, kemudian kultur yang relatif seragam disubkultur pada medium dasar MS yang ditambah BA 5 mg/l tanpa agar dan tanpa dikocok dengan shaker, tetapi medium yang diisikan pada botol volumenya relatif tidak terlalu tinggi dan ukuran eksplan diatur sehingga tidak terendam. Cara ini dicoba sebagai salah satu alternatif untuk menghemat dana (pembelian agar) dan waktu pembuatan media. Dua belas minggu kemudian dilakukan subkultur ke dua pada medium dasar MS + BA (2 mg/l) + 2,IP (0.5 mg/l) + thidiazuron (0.01 mg/l) + NAA (0.5 mg/l) yang ditambah agar.

Aklimatisasi dilakukan di ruang terlindung dari matahari langsung pada medium tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1

## HASIL

Pada pengamatan hari ke 10 hingga ke 14 setelah tanam tampak sebagian besar kultur mengalami pembengkakan dan berwarna hijau, tetapi ada juga yang terkontaminasi mikroorganisma yang jumlahnya sekitar 5%. Pengamatan secara visual pada kedua percobaan tersebut terlihat bahwa pertumbuhan dan perkembangan kultur yang baik dipengaruhi oleh kehadiran zat pengatur tumbuh dalam media; hal ini terlihat pada penampilan kultur yang tampak hijau dan telah memperlihatkan adanya inisiasi tunas terutama pada kultur yang diberi tambahan sitokinin, sedangkan pada kultur yang mediumnya mengandung auksin pembentukan awal akar telah tampak.

Dari hasil pengamatan pada kultur yang berumur 12 minggu dilakukan penghitungan rata-rata jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar dan panjang tunas dan dari nilai rata-rata tersebut dihitung nilai galat bakunya (Tabel 1 dan Tabel 2).

### **Pengaruh perlakuan penambahan BA dan kinetin terhadap kultur dalam medium formulasi Gamborg (B5)**

Hasil pengamatan pada kultur yang berumur 12 minggu tampak bahwa dari seluruh kultur yang mendapat perlakuan penambahan sitokinin BA dan kinetin baik secara tunggal ataupun dikombinasikan memberikan respon yang positif, hal ini ditunjukkan dengan adanya pembentukan tunasnya yang relatif lebih baik apabila dibandingkan dengan kontrol. Penambahan BA secara tunggal sampai konsentrasi 1 mg/l masih menunjukkan adanya peningkatan dalam nilai rata-rata tunasnya walaupun tidak nyata. Demikian pula pada kultur yang diberi perlakuan penambahan kinetin secara tunggal tampak jumlah rata-rata tunasnya cenderung meningkat apabila dibandingkan dengan kontrol, dan konsentrasi kinetin sampai 4 mg/l masih memperlihatkan adanya peningkatan rata-rata jumlah tunasnya.

Penambahan kombinasi BA (0.5 dan 1) mg/l dan kinetin (2 dan 4) mg/l ke dalam medium dasar Gamborg dapat mendorong pembentukan

tunasnya; hal ini ditunjukkan oleh adanya peningkatan jumlah rata-rata tunasnya yang semakin tinggi seiring dengan meningkatnya konsentrasi sitokinin (BA dan kinetin) yang ditambahkan. Apabila dibandingkan dengan kontrol perbedaannya nyata sekali, bahkan penambahan BA 1 mg/l dan kinetin 4 mg/l menghasilkan nilai rata-rata tunasnya yang paling tinggi yaitu 6,6 sedangkan kontrolnya 1. Tetapi ukuran morfologi individu tunasnya lebih kecil bila dibandingkan dengan kontrol.

Sebagian kultur dapat menghasilkan planlet (tunas berdaun mekar yang berakar) yaitu pada kultur yang diberi penambahan BA (0,5 mg/l) yang dikombinasikan dengan kinetin (2 dan 4) mg/l, tetapi morfologi individu planletnya kurang proporsional untuk dipindahkan pada medium tanah (aklimatisasi), karena jumlah tunasnya berkisar 3-4, daun yang terbentuk masih kuncup dan jumlahnya juga hanya 1; serta tingginya hanya

mencapai 14 cm; jadi individu tunas tersebut masih terlalu kecil dan dikhawatirkan belum kuat untuk ditanam dalam medium tanah. Sehingga perlu dipindahkan terlebih dahulu pada media untuk merangsang perakaran yaitu media yang ditambah NAA 1 mg/l.

**Pengaruh perlakuan penambahan BA dan NAA terhadap kultur dalam medium formulasi MS**

Setelah kultur berumur 12 minggu pada percobaan II, tampak bahwa penambahan BA (2; 4) mg/l tanpa NAA dapat mendorong pembentukan tunasnya, dan nilai rata-rata tunasnya meningkat dengan nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Penambahan BA sampai konsentrasi 4 mg/l menghasilkan nilai rata-rata tunasnya yang masih meningkat.

Tabel 1. Perlakuan penambahan BA dan kinetin pada medium dasar Gamborg terhadap pembentukan tunas dan pertumbuhan kultur jaringan *K. rotunda* L. pada umur kultur 12 minggu

Ho. Media	Perlakuan (mg/l) BA Kin.	Rataan jumlah tunas	Rataan jumlah daun	Rataan jumlah akar	Rataan panjang tunas (cm)
Bo	0 0	1,0±0,00	0,0±0,0	0,0±0,0	1,6±0,09
B1	0,5 0	1,2±0,05	0,0±0,0	0,0±0,0	1,8±0,08
B2	1 0	1,4±0,06	0,6±0,05	10,8±0,6*	4,9±0,12 *
B3	0 2	1,2±0,05	0,0±0,0	0,0±0,0	0,72±0,04
B4	0,5 2	3,4±0,18	1,2±0,04	2,0±0,1	1,28±0,05
B5	1 2	4,4±0,15	1,0±0,0	0,0±0,0	1,66±0,04
B6	0 4	1,6±0,06	0,2±0,04	0,0±0,0	1,04±0,06
B7	0,5 4	4,2±0,05	2,0±0,07 *	8,2±0,2	3,72±0,09
B8	1 4	6,6±0,55 *	0,0±0,0	4,6±0,2	1,54±0,07

Tabel 2. Pengaruh perlakuan BA dan NAA pada medium dasar MS terhadap pembentukan tunas dan pertumbuhan kultur jaringan *K. rotunda* L. pada umur kultur 12 minggu

NO. Media	Perlakuan (mg/l) BANAA	Rataan jumlah tunas	Rataan Jumlah daun	Rataan jumlah akar	Rataan pafjtang tunas, (cm)
Mo	0 0	1,2±0,045	5,0±0,1	4,6±0,1	9,6±0,18
M1	2 0	2,4±0,055	6,6±0,05	11,0±0,2	9,4±0,11
M2	4 0	4,6±0,055	6,6±0,18	7,4±0,3	9,2±0,24
M3	0 1	1,6±0,055	6,8±0,1	24,6±0,5*	9,1±0,14
M4	2 1	6,6±0,055	6,6±0,2	25,4±0,9	10,4±0,1*
M5	4 1	7,8±0,05*	6,2±0,1	16,8±0,16	9,5±0,3

Keterangan: rata-rata ±galat baku

\* terbaik/beda nyata

### **Pengaruh perlakuan penambahan BA dan NAA terhadap kultur dalam medium formulasi MS**

Setelah kultur berumur 12 minggu pada percobaan II, tampak bahwa penambahan BA (2; 4) mg/l tanpa NAA dapat mendorong pembentukan tunasnya, dan nilai rataan tunasnya meningkat dengan nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Penambahan BA sampai konsentrasi 4 mg/l menghasilkan nilai rataan tunasnya yang masih meningkat.

Secara umum dari pertumbuhan dan perkembangan kultur yang diberi perlakuan penambahan BA (2 dan 4) mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 1 mg/l menunjukkan adanya respon yang baik, hal ini dapat dilihat dari nilai rataan tunasnya yang meningkat bila dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan BA atau NAA secara tunggal. Selain itu seluruh kultur dari percobaan II menghasilkan tunas yang berakar (plantlet) dari percobaan nilai rataan tunas yang tertinggi dihasilkan oleh kultur yang diberi penambahan BA 4 mg/l yang dikombinasikan dengan NAA 1 mg/l. Hanya individu tunas (plantlet) yang telah cukup besar yang dipindahkan pada medium tanah untuk diaklimatisasikan, yaitu yang panjang tunasnya 9-10 cm, berdaun mekar 6-7 dan jumlah akar 24-25. Plantlet tersebut adalah tunas yang berasal dari kultur dalam media yang ditambah kombinasi antara BA 2 mg/l dan NAA 1 mg/l serta MS tanpa BA yang ditambah NAA 1 mg/l, Plantlet/tunas yang lainnya perlu dipindahkan ke dalam media untuk merangsang perakaran yaitu medium MS yang ditambah NAA 1 mg/l.

### **Pembentukan dan Perkembangan Tunas Kultur Pada Percobaan I dan II**

Dari hasil pengamatan pada percobaan I dan II dengan umur kultur yang sama yaitu 12 minggu pada formulasi medium dasar yang berbeda, tampak bahwa perlakuan penambahan BA (0.5 dan 1) mg/l pada percobaan I dan BA (2 dan 4) mg/l pada percobaan II cenderung meningkatkan nilai rataan tunasnya dan nilai rataan ini semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi BA yang ditambahkan. Apabila dilihat dari rataan jumlah tunas dari kultur dalam medium dasar saja (tanpa zat pengatur tumbuh yaitu pada Bo dan

Mo), terlihat bahwa pengaruh formulasi medium dasar MS (Mo) terhadap pembentukan dan pertumbuhan tunas tampak relatif lebih kuat bila dibandingkan dengan medium dasar formulasi Gamborg (Bo); hal ini terlihat dari nilai rataan tunas pada percobaan I yaitu 1 (satu) yang mengindikasikan bahwa kultur tidak dapat membentuk tunas ganda, sedangkan pada percobaan II nilai rataan tunas 1,2 tampak sebagian berhasil membentuk tunas ganda. Selain itu apabila dilihat dari morfologi individu tunas pada kontrol I (Bo) panjang tunas rata-rata 1-2 cm, sedangkan pada kontrol II (Mo) panjang tunas dapat mencapai 9-10 cm. Begitu pula dengan pembentukan daun dan akarnya, di mana pada Bo daun dan akar belum/tidak terbentuk sedangkan pada Mo daun yang mekar rata-rata 5 dan akar berjumlah 4-5.

### **Pembentukan dan Perkembangan Tunas Hasil Subkultur**

Hasil pengamatan setelah 12 minggu dari saat subkultur pertama, terlihat bahwa penambahan BA 5 mg/l dalam media cair MS dapat mendorong pembentukan dan pertumbuhan tunas kultur *K. rotunda* dengan nilai rataan tunas yang terbentuk 5-6, rataan daun 3-4, rataan jumlah akar 3-5 dan rataan tinggi tanaman 6-7 cm; di lain pihak nilai rataan dalam medium cair MS tanpa BA (kontrol) adalah sebagai berikut: jumlah tunas 1-2, jumlah daun 3-4, jumlah akar 2 dan tinggi tanaman 3-4 cm.

Demikian pula dengan hasil pengamatan pada 12 minggu kemudian dari saat subkultur ke dua mengindikasikan bahwa perlakuan penambahan kombinasi sitokinin antara BA 2 mg/l, 2iP (0,5) mg/l; thidiazuron (0.01) mg/l dan NAA (0.5) mg/l tampak mendorong pembentukan dan perkembangan tunasnya yaitu dengan rataan sebagai berikut: jumlah tunas 14-15 yang meningkat nyata bila dibandingkan dengan kontrol; jumlah daun 3-4, jumlah akar 9-10 dan panjang tunas 8-9 cm. Sedangkan subkultur pada media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (kontrol) adalah jumlah tunas 1-2, jumlah daun 1-2, jumlah akar 7-8 dan panjang tunas 3-4 cm.

Plantlets yang dipindahkan pada media tanah campur kompos dengan perbandingan 1:1, 70-80% bertahan hidup pada saat diaklimatisasikan.

## PEMBAHASAN

Pembentukan dan pertumbuhan tunas pada kultur tanaman dari suku Zingiberaceae telah diketahui dipengaruhi oleh keberadaan sitokinin dalam medium; hal ini teramati pula pada kultur tanaman *K. rotunda* (percobaan I dan II) yang ditunjukkan oleh nilai rata-ran jumlah tunas yang diamati lebih tinggi dari kontrol (Bo dan Mo). Penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin BA dan kinetin dilaporkan dapat menginduksi pembentukan tunas pada kultur jahe gajah baik pada media padat ataupun media cair (Imelda, 1992). Hal yang serupa terjadi pula pada pembentukan tunas kultur jahe merah dan kultur jahe klon lainnya (Hoesen dan Poerba, 1992; Ikeda and Tanabe, 1989). Respon positif dari penambahan sitokinin terhadap pembentukan dan pertumbuhan tunas dari jenis lainnya dalam marga *Kaempferia* pernah dilaporkan, yaitu pada kultur tanaman kencur (*Kaempferia galanga* L.) dan teramati bahwa penambahan sitokinin dapat menginduksi pembentukan tunasnya secara nyata (Hoesen, 1996; Mariska, *et al.* 1996).

Nilai rata-ran jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar dan panjang tunas pada tunas dari kultur dalam medium Mo tampak relatif lebih tinggi bila dibandingkan dengan kultur dalam medium Bo, hal ini diduga karena pengaruh dari konsentrasi hara pada medium dasar formulasi MS lebih tinggi (terutama hara makro) bila dibandingkan dengan konsentrasi hara makro pada formulasi medium dasar Gamborg, karena dalam kultur jaringan selain zat pengatur tumbuh, yang menentukan keberhasilan kultur secara *in-vitro* antara lain adalah garam-garam mineral makro dan mikro yang terdapat dalam media dasar. Dari beberapa penelitian ditemukan bahwa nitrogen/bentuk senyawa nitrogen dan rasio antara ammonium dengan nitrat dapat mempengaruhi terjadinya diferensiasi, pertumbuhan dan perkembangan eksplan atau pembentukan organnya. Konsentrasi ammonium merupakan hal yang menentukan dalam pembentukan tunas *in-vitro*, yaitu dalam konsentrasi yang tinggi dapat meningkatkan sintesa sitokinin (Preece, 1995) dan keadaan ini teramati pula pada kultur tanaman kentang (Lillo, 1989 dalam Preece, 1995). Selain itu pembentukan organ-organ baru ini dipengaruhi pula oleh faktor dari sumber eksplannya, auksin dan atau

sitokinin baik yang ada dalam medium atau secara endogen (dalam jaringan tanaman). Dari individu tunas yang terbentuk pada kultur *K. rotunda*, juga teramati bahwa kultur dalam formulasi medium dasar MS yang konsentrasi ammonium dan unsur makro lainnya lebih tinggi dari formulasi Gamborg, menghasilkan nilai rata-ran jumlah tunas dan panjang tunas yang lebih tinggi pula.

Pada subkultur pertama didapatkan hasil bahwa setelah 12 minggu dari saat subkultur, pemakaian medium cair yang ditambah BA 5 mg/l selain dapat menginduksi pembentukan tunas. Cara ini mempunyai keuntungan tersendiri yaitu di samping menghemat dana untuk pembelian agar, juga menghemat waktu karena tidak usah melarutkan agar yang biasanya memakan waktu setengah jam. Walaupun nilai rata-ran jumlah tunas dalam medium kultur yang ditambah BA 5 mg/l lebih tinggi dari nilai rata-ran tunas semainya (pada percobaan II) yang ditambah BA 4 mg/l, tetapi individu tunasnya relatif lebih kecil. Kemungkinan karena terhambatnya aktifitas auksin endogen yang disebabkan oleh adanya penambahan BA (sitokinin), sehingga proses pemanjangan menjadi terhambat (Wareing and Phillips, 1981). Selain itu diduga karena keterbatasan hara yang tersedia dalam botol kultur sehingga perkembangan tunasnya terganggu.

Thidiazuron adalah senyawa yang mempunyai daya aktif seperti sitokinin, dan thidiazuron ini telah diketahui dapat menstimulir proliferasi kultur beberapa jenis tanaman berkayu, tanaman apel, *Praximus americanus* L., *Plumbago zeylanica* (van Niewkerk *et al.*, 1986; Pierik, 1987; Bates *et al.*, 1992; Yelnititis, 1996), keadaan ini juga teramati pada subkultur *K. rotunda*, di mana penambahan thidiazuron yang dikombinasikan dengan sitokinin dan auksin pada subkultur ke dua dapat meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan tunas.

Tunas berakar (planlet) terbentuk pada kultur dalam medium dasar MS yang diberi tambahan NAA 1 mg/l baik secara tunggal atau dikombinasikan dengan BA 2 mg/l. Keadaan ini sesuai dengan pernyataan Skoog and Miller (1957) yang menyatakan bahwa dalam proses morfogenesis, auksin cenderung mendorong pembentukan kalus atau akar,

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari percobaan di atas dapat disimpulkan bahwa penambahan sitokinin ke dalam kedua macam medium dasar MS dan Gamborg, serta dalam medium subkultur tampak dapat menginduksi pembentukan tunas. Tetapi medium dasar MS cenderung membentuk individu tunasnya yang lebih baik bila dibandingkan dengan medium dasar Gamborg.

Penambahan BA sampai 5 mg/l pada medium MS masih meningkatkan pembentukan tunas hasil subkultur *Kaempferia rotunda* pada medium cair tanpa dikocok. Begitu pula dengan penambahan thidiazuron yang dikombinasikan dengan sitokinin dan auksin yang berhasil menginduksi pembentukan dan pertumbuhan tunas dengan nyata. Apabila teknik in-vitro ini telah dapat dikuasai, maka tidak menutup kemungkinan aplikasi perbanyakannya akan memenuhi ketersediaan bibit secara masal sehingga untuk penyediaan bahan dasar industri obat dapat terpenuhi.

Untuk percobaan selanjutnya disarankan bahwa untuk perbanyak cepat yang langsung menghasilkan planlets adalah medium MS + BA (2 dan 4) mg/l + NAA 1 mg/l, sedangkan medium untuk subkultur kedua macam medium subkultur di atas dapat diaplikasikan, tetapi secara ekonomis medium subkultur MS + BA 5 mg/l tanpa agar relatif lebih sesuai, hanya konsekuensinya pemindahan hams lebih sering dilakukan mengingat cara ini tidak dapat menggunakan medium yang volumenya besar untuk menghindari terendamnya eksplan. Apabila menggunakan medium MS yang diberi tambahan kombinasi antara sitokinin, auksin dan thidiazuron, biaya produksinya relatif lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Backer CA and van Den Brink RCB. 1968.** Flora of Java Vol III Groningen The Netherlands.
- Bates S. Preece JE. Navarette NE. Van Samberk JW and Gaffney GR. 1992.** Thidiazuron stimulates organogenesis and somatic embryogenesis in white ash (*Fraxinus americana* L) *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 31 : 21-29.
- Gerorge EF and Sherington PD. 1984.** Plant propagation by tissue culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories.
- Hoesen DSH dan Poerba YS. 1993.** Perbanyak tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* Rose. var. *Roebra*) dengan teknik kultur jaringan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi* : 324-328. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi - LIPI.
- Hoesen DSH. 1996.** Pembentukan tunas kencur secara in-vitro. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* vol. 3 no. 2 : 21-23. Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Jakarta.
- Ikeda RL and Tanabe MJ. 1989.** In-vitro subculture application for ginger. *Hort. Science* 24: 142-143.
- Imelda. M. 1993.** Penyediaan bibit jahe gajah dengan teknologi biak jaringan. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi* : 335-340. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi-LIPI.
- Lillo. C. 1989.** Effects of media components and environmental factors on shoot formation from protoplast derived calli of *Solanum tuberosum*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 19: 103-111.
- Murashige. T. & F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum* 15 : 473-497,
- Mariska I, Seswita D dan Gati E. 1996.** Aplikasi kultur jaringan untuk perbanyak klonal tanaman kencur. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, vol. 3 no. 2. : 11-13.
- Pierik RLM. 1987.** In-vitro culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publisher Ordrecht/Boston/Lancaster.
- Preece JE. 1995.** Can nutrients salts partially substitute for olant growth regulators (?). *Plant Tissue Culture and Biotechnology* vol. 1. no. 1 : 26-27.
- Quisumbing E. 1951.** Medicinal Plants of the Philippines. Republic of the Philippines Department of Agriculture and Natural Resources. Manila Bureau Printing.
- Skoog Fand Miller CO. 1957.** Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in-vitro. *Symposium society Experimental Biology* 15 : 118-137.
- Sastrapradja S. 1977.** Ubi-ubian. Proyek Sumber Daya Ekonomi Lembaga Biologi Nasional-LIPI. Bogor.
- Utami KP. 1997.** Motif-motif eksotik daun kencur hias. *Trubus* No. 334 Tahun XVIII 1 September 1997.
- Van Niewkerk JP. Zimmermann RH and Fordham I. 1986.** Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation in-vitro. *Hort. Science* 21 : 516-518.

**Wareing PF and Philips IDJ. 1981.** Growth differentiation in plants. Pergamon Press New York.

**Yelnitis. 1996.** Pengaruh BA, thidiazuron dan

auksin (IAA & IBA) terhadap multiplikasi tunas dan perakaran in-vitro daun encok. Prosiding Simposium Nasional I Tumbuhan Obat dan Aromatik (APINMAP) : 278-283.