



## Multiplikasi Tunas pada Eksplan Rimpang Kunyit Hitam (*Kaempferia parviflora*) dengan Penambahan Hormon BAP

### Shoot Multiplication on Black Turmeric (*Kaempferia parviflora*) Rhizome Explants With the Addition of BAP Hormone

Didik Pudji Restanto<sup>1,3\*</sup>, Fairuz Luthfi Hanifah<sup>2</sup>, Mohammad Candra Prayoga<sup>3</sup>, Fauziatuz Zahro<sup>3</sup>, dan Mohammad Nur Khozin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jl Kalimantan No. 37, Jember, Jawa Timur, Indonesia 68121

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jl Kalimantan No. 37, Jember, Jawa Timur, Indonesia 68121

<sup>3</sup>Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jl Kalimantan No. 37, Jember, Jawa Timur, Indonesia 68121

Email: [restanto.lemlit@unej.ac.id](mailto:restanto.lemlit@unej.ac.id)

\*Penulis Korespondensi

#### Abstract

Black Turmeric (*Kaempferia parviflora*) is a purple-black rhizome plant which has many uses as a traditional medicinal ingredient. Conventional propagation of black turmeric seeds is not possible for large-scale cultivation, because it takes a long time and is inefficient. The low supply of quality planting material and the problem of low germination are the basis for efforts to develop black turmeric *in vitro*. Propagation of black turmeric through shoot multiplication can accelerate efficient seed production. This study aims to determine the effect of administering various concentrations of the BAP hormone on the multiplication of black turmeric. The research design used CRD with a BAP hormone concentration factor consisting of 5 concentration levels including BAP 0 mg/L (P0), BAP 2 mg/L (P1), BAP 4 mg/L (P2), BAP 6 mg/L (P3), and BAP 8 mg/L (P4). Based on the research results, it shows that the 2 mg/L BAP treatment showed the best results with the fastest shoot maturity, namely 8.3 days after planting, the highest number of shoots, namely 5.8 shoots, the highest shoot average reaching 4.8 cm, and the number of leaves The most is 8.3 strands. BAP treatment of 2 mg/L produced a shoot and root percentage of 100%.

**Keywords:** BAP, Black turmeric (*Kaempferia parviflora*), shoot multiplication, MS (Murashige and Skoog), Rhizome

#### Abstrak

Kunyit Hitam (*Kaempferia parviflora*) adalah tanaman rimpang berwarna ungu kehitaman yang banyak manfaat sebagai bahan obat tradisional. Perbanyakan bibit kunyit hitam secara konvensional tidak memungkinkan untuk budidaya skala besar, dikarenakan membutuhkan waktu yang cukup lama dan tidak efisien. Rendahnya pasokan bahan tanaman berkualitas dan masalah perkecambahan yang rendah menjadi dasar dalam upaya pengembangan kunyit hitam secara *in vitro*. Perbanyakan kunyit hitam melalui multiplikasi tunas dapat mempercepat produksi bibit yang efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP terhadap multiplikasi kunyit hitam. Rancangan penelitian menggunakan RAL dengan faktor konsentrasi hormon BAP yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi antara lain BAP 0 mg/L (P0), BAP 2 mg/L (P1), BAP 4 mg/L (P2), BAP 6 mg/L (P3), dan BAP 8 mg/L (P4). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, perlakuan BAP 2 mg/L memperlihatkan hasil terbaik dengan kedinian tunas tercepat yaitu 8,3 hari setelah tanam, jumlah tunas terbanyak yaitu 5,8 tunas, rata-rata tunas tertinggi mencapai 4,8 cm, dan jumlah daun terbanyak yaitu 8,3 helai. Perlakuan BAP 2 mg/L menghasilkan persentase tunas dan akar 100%.

**Kata kunci:** BAP, Kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*), Multiplikasi tunas, MS (Murashige and Skoog), Rimpang

Disubmit : 15 Januari 2024 ; Direvisi : 2 Juli 2024 ; Diterima : 3 Oktober 2024



## Pendahuluan

Kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*) adalah tanaman rimpang berwarna ungu kehitaman, yang banyak dimanfaatkan sebagai obat (Elshamy et al., 2019). Kunyit hitam memiliki banyak kandungan senyawa berupa flavonoid, steroid, fenol, methoxyflavonoids, alkaloid, asam amino, terpenoid isopimarane, phenyl-heptanoids, dan tetrahydropyrano-phenolic yang dapat digunakan dalam farmakologi untuk bidang kesehatan (Pakkirisamy et al., 2017). Kunyit hitam sebagai tanaman herbal digunakan dalam pengobatan tradisional dikarenakan biaya yang murah, mudah dijangkau, dan rendah dalam risiko kesehatan atau efek samping yang ditimbulkan (Letsyo et al., 2017). Kunyit hitam memiliki banyak manfaat sehingga produksinya perlu ditingkatkan. Permasalahan pada kunyit hitam yaitu daya kecambah pada rimpang yang rendah disebabkan oleh dormansi. Untuk memenuhi kebutuhan bibit, bahan tanaman yang bebas kuman dan tanaman memiliki sifat-sifat yang sama dengan tanaman induk dibutuhkan dalam jumlah besar. Perbanyak kunyit hitam secara konvensional tidak memungkinkan untuk budidaya skala besar, dikarenakan membutuhkan waktu yang cukup lama untuk menghasilkan rimpang sebagai bahan tanam dalam memenuhi permintaan pasar terkait bahan baku obat (Park et al., 2021). Kemampuan regenerasi tanaman kunyit hitam berada dalam jangka waktu yang cukup lama sekitar 11-12 bulan dan periode dormansi rimpang sekitar 2-3 bulan (Karim et al., 2014). Permasalahan lain yang dialami dalam proses budidaya tanaman yaitu rimpang yang mudah busuk yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* dan penyakit simpul akar yang disebabkan oleh nematoda *Meloidogyne* spp. sehingga akar akan memiliki tonjolan atau pembengkakan seperti simpul. Pembengkakan ini mencegah pergerakan air dan nutrisi ke bagian tanaman lainnya yang dapat mengakibatkan pertumbuhan tanaman terhambat (Zulfa, 2012).

Rendahnya pasokan bahan tanam berkualitas dan masalah perkecambahan yang rendah menjadi dasar dalam upaya pengembangan kunyit hitam secara *in vitro*. Perbanyak secara *in vitro* melalui multiplikasi tunas pada tanaman dapat

mempercepat perbanyak bibit dalam skala besar dalam kurun waktu yang singkat (Shukla et al., 2007). Keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* dan arah pertumbuhannya dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi hormons. Hormon dapat mempengaruhi proses biologis tanaman seperti menstimulasi pertumbuhan akar, tunas, daun, ataupun bagian lain (Rostami & Azhdarpoor, 2019). Sitokinin adalah hormon yang paling umum digunakan untuk menginduksi tunas dalam teknik perbanyak secara *in vitro*. Sitokinin berfungsi dalam menstimulasi pembelahan sel dan memfasilitasi induksi tunas serta proses multiplikasi eksplan. Hormon BAP (*6-Benzylaminopurine*) tergolong hormon sitokinin yang berfungsi dalam pembelahan sel di daerah meristem, proliferasi sel dan perpanjangan pucuk (Raihana et al., 2011). Menurut Al-Jalihawi et al. (2023), ZPT BAP memiliki keunggulan dibandingkan dengan ZPT TDZ pada multiplikasi tunas Citrumelo. Multiplikasi tunas dengan perlakuan BAP 2 mg/L memiliki hasil yang tidak berbeda nyata dengan TDZ 0.2 mg/L yaitu 4.33 tunas/eksplan dan 4.66 tunas/eksplan. Namun, pada analisis kandungan nitrogen, potassium, dan protein, perlakuan BAP 2 mg/L memiliki hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan TDZ 0.2 mg/L yaitu dengan hasil berturut-turut 1.77%, 1.94%, 1.38%. Untuk mencapai keberhasilan dalam multiplikasi, tanaman memerlukan konsentrasi yang tepat. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan pengaruh hormon BAP 2 mg/L berpengaruh terhadap multiplikasi tanaman kencur yang menghasilkan daya multiplikasi kencur yang baik dengan jumlah tunas sebanyak 2 tunas dengan tinggi sekitar 4 cm (Samanhudi et al., 2021). Pemberian BAP sebanyak 1.5 mg/L pada tanaman kunyit putih menghasilkan tunas sebanyak 3 tunas/eksplan dan rata-rata panjang tunas sebesar 3 cm (Yulizar et al., 2014). Menurut Labrooy et al., (2020) multiplikasi tunas tanaman kunyit hitam pada media MS dengan penambahan BAP 9 mg/L mendapatkan hasil 22.4 tunas per eksplan, jumlah akar 17.8 per eksplan, dan sekitar 29.27 helai daun per eksplan. Berdasarkan studi literatur tersebut, hormon BAP berpotensi meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan multiplikasi tunas tanaman kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*) secara *in*

*vitro*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP terhadap multiplikasi tanaman kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*).

## Metode Penelitian

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2022 sampai Januari 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan penelitian antara lain *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), pinset, *scalpel*, timbangan analitik, autoklaf, oven, *magnetic stirrer*, *petri dish*, pH meter, dan mikropipet. Bahan-bahan yang digunakan penelitian antara lain eksplan rimpang kunyit hitam (*Kaempferia parviflora*), media kultur *Murashige and Skoog* (MS), hormon BAP, gel agar-agar, aquadest, sodium hipoklorit, fungisida, bakterisida, sukrosa, HCl, NaOH, dan alkohol 70%.

### Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan faktor tunggal berupa konsentrasi hormon BAP yang ditambahkan ke dalam media kultur dengan 5 taraf perlakuan antara lain BAP 0 mg/L (P0), BAP 2 mg/L (P1), BAP 4 mg/L (P2), BAP 6 mg/L (P3), dan BAP 8 mg/L (P4). Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 ulangan, sehingga terdapat 20 unit percobaan.

### Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi pembuatan media kultur dimulai dengan mempersiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan. Selanjutnya menimbang larutan stok bahan media MS, sukrosa, gel agar-agar dan aquades. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai homogen. Larutan tersebut selanjutnya dikondisikan pada pH 5.8-6.0 dengan cara menambahkan NaOH apabila pH terlalu rendah ataupun menambahkan HCl apabila pH larutan terlalu tinggi. Selanjutnya ditambahkan hormon BAP ke dalam larutan sesuai perlakuan multiplikasi tanaman.

Selanjutnya sterilisasi media kultur sampai mendidih dan menuangkan kedalam botol kultur dengan takaran sekitar 25 ml tiap botolnya. Media kultur dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 90 menit pada suhu 121°C (Wulandari et al., 2022).

Tanaman kunyit hitam yang akan digunakan untuk bahan tanam atau eksplan dipindahkan ke media tanam pasir steril dan disimpan di dalam *greenhouse*. Tanaman kunyit hitam diperlakukan penyemprotan fungisida dan bakterisida untuk menjaga supaya tanaman bebas dari penyakit dan mempermudah sterilisasi. Eksplan yang digunakan yaitu bagian rimpang yang muda. Sterilisasi eksplan diawali dengan membersihkan eksplan dengan air mengalir. Dilanjutkan dengan perendaman dalam bakterisida dan fungisida masing masing selama 15 menit sebelum dimasukkan kedalam *Laminar Air Flow*. Selanjutnya dilakukan sterilisasi didalam *Laminar Air Flow* dengan menempatkan eksplan pada botol steril. Eksplan tersebut selanjutnya digojok dalam alkohol 70% selama 5 menit dan *sodium hypochlorite* 20% selama 8 menit untuk mencegah kontaminasi yang diakibatkan oleh jamur maupun bakteri. Selanjutnya eksplan dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali. Eksplan selanjutnya dipindahkan ke *petri dish* dan dikelupas bagian permukaannya. Eksplan dipotong dengan ukuran sekitar 1 cm. Eksplan ditanam ke dalam media kultur perlakuan. Hasil inokulasi disimpan pada ruang inkubasi dengan kondisi penyinaran lampu LED selama 10 jam/hari dan kondisi suhu ruangan 24°C (Wulandari et al., 2022).

Parameter pengamatan penelitian antara lain kedinian munculnya tunas yang diamati dengan menghitung jumlah hari lama respon eksplan untuk membentuk tunas. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya tonjolan berupa calon-calon tunas pada bagian potongan eksplan. Jumlah tunas yang tumbuh dari eksplan yang ditanam adalah bentuk keberhasilan dalam multiplikasi tunas. Banyaknya tunas yang terbentuk berbanding lurus dengan keberhasilan proses multiplikasi. Jumlah tunas dihitung pada minggu terakhir pengamatan dengan menghitung tunas yang tumbuh dari total keseluruhan eksplan yang telah ditanam. Tingginya tunas diukur menggunakan penggaris pada akhir

pengamatan untuk mengetahui pertumbuhan tanaman. Tinggi tunas sebagai indikasi unsur hara yang dapat diserap oleh eksplan tanaman pada media kultur. Persentase tunas yang terbentuk dihitung berdasarkan rumus: jumlah eksplan yang membentuk tunas dibagi dengan total eksplan selanjutnya dikali 100%. Jumlah daun yang telah terbentuk dan berwarna hijau dihitung pada pengamatan minggu terakhir. Presentase terbentuknya akar dapat dihitung berdasarkan rumus: jumlah eksplan yang membentuk akar dibagi dengan total eksplan selanjutnya dikali 100%.

### Analisis Data

Analisis data menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA) dan apabila dalam uji ANOVA menunjukkan hasil yang berbeda nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf kepercayaan 95%. Analisis data dilakukan menggunakan SPSS.

## Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 1), penambahan hormon BAP berpengaruh berbeda sangat nyata terhadap multiplikasi tunas kunyit hitam pada variabel kedinian tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun. Semakin rendah konsentrasi hormon BAP yang diberikan menunjukkan semakin bagus pertumbuhan kunyit hitam dan semakin tinggi konsentrasi BAP menunjukkan pertumbuhan kunyit hitam yang terhambat. Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan P1 (BAP 2 mg/L) memberikan hasil yang terbaik pada semua variabel pertumbuhan yaitu kedinian muncul tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan pertumbuhan akar. Menurut Rustikawati et al., (2021) induksi BAP dengan konsentrasi tinggi pada rimpang *Curcuma* atau temu putih akan menghambat pertumbuhan tunas. Konsentrasi sitokinin yang tinggi akan

menghambat pemanjangan sel sehingga pembentukan tunas akan lebih sedikit dibandingkan dengan tunas yang diinduksi BAP dengan konsentrasi rendah. Menurut Street et al. (2016), sitokinin meregulasi pembelahan sel dan diferensiasi yang dapat menghambat pemanjangan sel. Proses penghambatan pemanjangan sel juga disebabkan oleh senyawa AHK, AHP, dan ARR type-B yang membawa AUX1 berada ditransportasikan pada bagian samping akar sehingga dapat menghambat pemanjangan sel pada bagian sel embrionik. Menurut Kurepa and Smalle (2022), hal ini juga berkaitan dengan mekanisme kerja sitokinin dan auksin yang berlawanan. Menurut Ogunyale, et al., (2014) penambahan BAP atau sitokinin, dapat menginisiasi pertumbuhan tunas lewat pembelahan sel, berbeda dengan auksin yang cenderung menginisiasi pertumbuhan kalus atau akar melewati pemanjangan sel.

Perbanyak kunyit hitam melalui multiplikasi tunas terbukti mampu menghasilkan bibit kunyit hitam yang efektif. Berdasarkan hasil F-hitung (Tabel 1), semua parameter pengamatan menunjukkan pengaruh yang signifikan atau berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa, kultur jaringan merupakan metode yang dapat digunakan untuk perbanyak tanaman secara cepat, massal dan bebas patogen. Beberapa tanaman obat diperbanyak melalui kultur jaringan untuk mempelajari kandungan bioaktif seperti pada tanaman genus *Kempferia* (Singh et al., 2023).

### Kedinian Tunas

Respon kedinian munculnya tunas setiap perlakuan berbeda-beda. Semakin cepat memunculkan tunas maka respon eksplan semakin baik terhadap konsentrasi hormon yang diberikan. Hormon BAP berpengaruh sangat nyata terhadap kedinian munculnya tunas. Rata-rata kedinian tunas sebagai berikut.

**Tabel 1.** Hasil F-hitung pada Variabel Pengamatan Multiplikasi Kunyit Hitam

No	Variabel pengamatan	Nilai F-hitung	
		F-hitung	F-tabel 5%
1.	Kedinian tunas	489,33**	3,06
2.	Jumlah tunas	39,29**	3,06
3.	Tinggi Tunas	18,52**	3,06
4.	Jumlah daun	97,04**	3,06

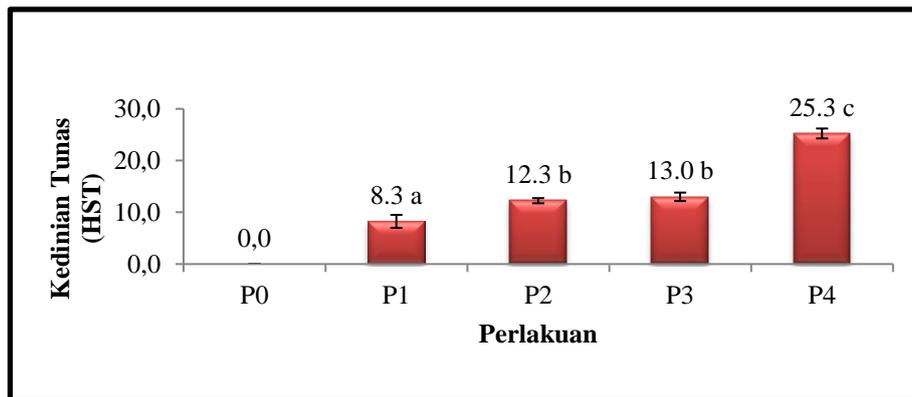
Keterangan: \*\*= berbeda sangat nyata (Nilai F-hitung > F tabel 5% dan 1%)

Berdasarkan Gambar 1, perlakuan terbaik diperoleh dari perlakuan konsentrasi hormon BAP 2 mg/L (P1) yang mampu memunculkan tunas dalam waktu yang cepat yaitu 8,3 hari setelah tanam. Perlakuan konsentrasi BAP 8 mg/L (P4) menunjukkan waktu munculnya tunas terlama yaitu 25,3 hari setelah tanam. Perlakuan BAP 4 mg/L (P2) dan BAP 6 mg/L (P3) menunjukkan hasil berbeda tidak nyata terhadap lama respon eksplan membentuk tunas. Perlakuan kontrol tanpa pemberian hormon BAP tidak menunjukkan respon eksplan membentuk tunas. Penambahan hormon BAP yang optimal diperlukan untuk eksplan berregenerasi dan tumbuh dengan baik. Perlakuan BAP 2 mg/L menghasilkan kemunculan tunas paling cepat diantara semua perlakuan. Pemberian BAP 2 mg/L dinilai paling tepat dalam multiplikasi

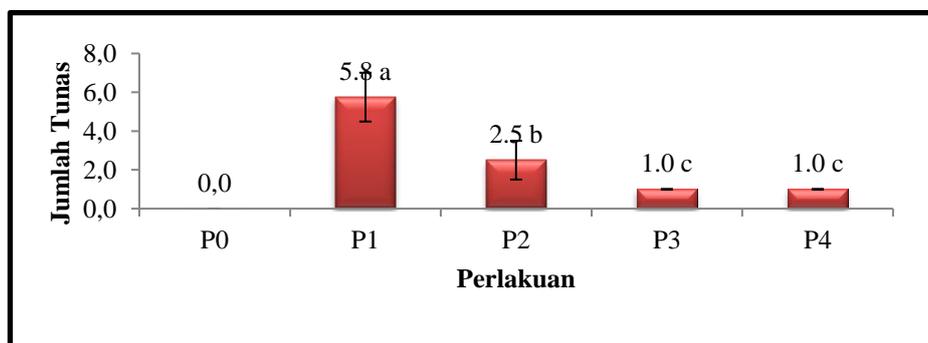
tunas *K. parviflora* dibandingkan dengan BAP dengan konsentrasi lainnya yang lebih tinggi (Gambar 1). Menurut Rustikawati *et al.*, (2021), pemberian BAP atau sitokinin dengan konsentrasi tinggi akan cenderung menghambat pembentukan tunas. Hal ini disebabkan adanya efek penghambatan BAP terhadap kemunculan tunas. Semakin tinggi pemberian BAP dapat menghambat pertumbuhan tunas.

### Jumlah Tunas

Kemunculan tunas pada eksplan menjadi indikator penting dalam multiplikasi tunas. Hormon BAP berpengaruh sangat nyata terhadap banyaknya jumlah tunas yang terbentuk. Rata-rata jumlah tunas sebagai berikut (Gambar 2).



**Gambar 1.** Rata-rata kediniian munculnya tunas dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi tunas kunyit hitam



**Gambar 2.** Rata-rata jumlah tunas dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi tunas kunyit hitam

Berdasarkan Gambar 2, perlakuan terbaik diperoleh dari perlakuan konsentrasi hormon BAP 2 mg/L (P1) yang mampu menghasilkan tunas yang lebih banyak yaitu 5,8 buah tunas. Perlakuan konsentrasi BAP 0 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, dan 8 mg/L menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan BAP 2 mg/L. Konsentrasi BAP yang tinggi menyebabkan toksisitas pada eksplan sehingga jumlah tunas yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan BAP 2 mg/L. Menurut George *et al.* (2008), penggunaan sitokinin dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kegagalan pertumbuhan tunas atau sedikitnya produksi tunas. Sitokinin memiliki kemampuan untuk menghilangkan dominansi tunas apikal. Hal ini terjadi karena sitokinin berperan besar untuk regulasi pembelahan sel dan diferensiasi bukan pemanjangan sel pada sel-sel embrionik. Menurut George *et al.* (2008), konsentrasi sitokinin yang tinggi juga dapat menyebabkan tunas yang terbentuk sangat pendek bahkan pada waktu *rooting* (fase pertumbuhan akar) dan subkultur. Kegagalan multiplikasi tunas akibat tingginya konsentrasi sitokinin juga dapat ditandai dengan tunas apikal yang semakin memanjang tetapi eksplan tidak mampu menghasilkan tunas aksilar atau tunas adventif. Konsentrasi sitokinin yang tinggi lebih cocok digunakan pada induksi umbi mikro seperti umbi kentang dibandingkan dengan multiplikasi tunas. Penambahan konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat meningkatkan produksi senyawa SAM (*S-adenosyl-methionine*). Peningkatan senyawa ini berhubungan erat dengan produksi etilen yang lebih dibutuhkan pada induksi umbi dibandingkan dengan multiplikasi tunas. Adapun produksi SAM yang tinggi juga berdampak pada pembentukan susunan daun tanaman, sehingga eksplan akan lebih fokus pada pembentukan susunan daun dibandingkan dengan produksi tunas baru. Perlakuan kontrol tidak menunjukkan pertumbuhan tunas yang terbentuk. Menurut Kafindra *et al.*, (2015), penambahan BAP 2 mg/L memberikan hasil paling baik pada variabel jumlah tunas *K.*

*parviflora* dibandingkan dengan konsentrasi BAP yang lebih tinggi yaitu 4 mg/L. Jumlah tunas tersebut juga cenderung stabil dari awal perlakuan sampai dengan 8 minggu setelah perlakuan.

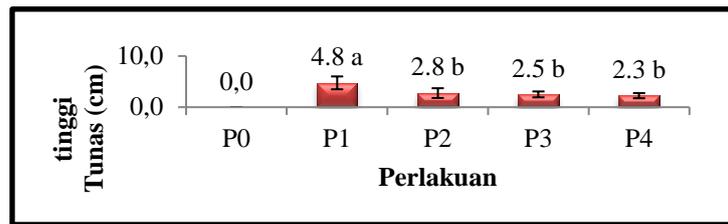
### Tinggi Tunas

Pembelahan sel yang diinduksi oleh hormon BAP menyebabkan tunas tumbuh dengan baik. Hormon BAP yang diberikan pada tanaman memiliki pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tinggi tunas. Rata-rata tinggi tunas sebagai berikut (Gambar 3).

Berdasarkan Gambar 3, perlakuan terbaik diperoleh dari perlakuan konsentrasi hormon BAP 2 mg/L dengan tinggi tunas paling baik yaitu 4,8 cm. Dilaporkan dari Sjahril *et al.* (2016), pada multiplikasi tunas *Chrysanthemum* dengan perlakuan BAP 1.0 mg/L memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan BAP 2.0 mg/L dengan rata-rata tinggi tunas yaitu 1.5 cm dan 0.0 cm. Pemberian sitokinin yang tinggi mengakibatkan tunas aksilar gagal terbentuk sehingga membuat pertumbuhan tunas terhambat. Hal ini disebabkan oleh sitokinin berperan penting terhadap penghambatan pertumbuhan pada bagian pucuk tanaman. Hal ini disebabkan sitokinin bekerja dengan cara mempercepat transisi dari proses elongasi menuju diferensiasi. Pemberian konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat mengakibatkan terhambatnya proses elongasi eksplan (Liu *et al.*, 2022). Masing-masing perlakuan P2, P3, dan P4 memiliki perbedaan yang tidak signifikan pada variabel tinggi tunas. Hal tersebut ditunjukkan dengan notasi yang sama. Perlakuan konsentrasi BAP 8 mg/L menunjukkan tinggi tunas terpendek yaitu 2.3 cm.

### Persentase Tunas

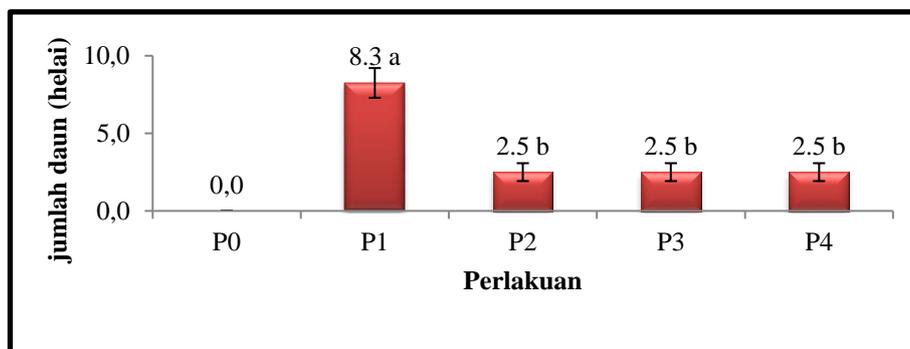
Nilai persentase tunas menunjukkan besarnya eksplan merespon dari konsentrasi hormon BAP yang diberikan untuk membentuk tunas. Rata-rata persentase tunas pada multiplikasi kunyit hitam sebagai berikut (Tabel 2).



Gambar 3. Rata-rata tinggi tunas dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi tunas kunyit hitam

Tabel 2. Rata-rata persentase tunas dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi kunyit hitam

Perlakuan	P0	P1	P2	P3	P4
Persentase	0%	100%	100%	100%	100%



Gambar 4. Rata-rata jumlah daun dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi tunas kunyit hitam

Pemberian hormon BAP pada konsentrasi 2 mg/L (P1), 4 mg/L (P2), 6 mg/L (P3), dan 8 mg/L (P4) menghasilkan persentase tunas 100%. Sedangkan pada perlakuan P0 atau kontrol tanpa penambahan hormon BAP menghasilkan persentase tunas 0%, hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol semua ulangan menunjukkan respon eksplan tidak menunjukkan respon pertumbuhan dan mengalami *browning* atau berubah menjadi kuning kecoklatan. Menurut Peng *et al.*, (2023), pada eksplan rimpang *Cymbidium* pertumbuhan tunas dan *browning* dapat dipengaruhi beberapa faktor yaitu genotip, cahaya, dan ZPT yang ditambahkan pada media kultur. Permasalahan *browning* tidak hanya pada beberapa faktor tersebut, tetapi ada faktor penyebab lain seperti jenis eksplan yang digunakan, konsentrasi garam, asam amino, konsentrasi dan tipe gula, pH, dan jenis media yang digunakan. Menurut Widhiastuty *et al.*, (2023), perlakuan 1.3 mg/L BAP dapat mengurangi presentase *browning* sebanyak 17% pada eksplan *Tectona grandis*. Hal ini disebabkan tidak terbentuknya fenolik saat pelukaan eksplan. BAP akan merangsang

pembentukan dan peluasan sel dan mempengaruhi pertumbuhan tunas.

Induksi tunas tanpa penambahan BAP mengakibatkan eksplan mengalami *browning*. Hal ini sejalan dengan penelitian Aprilia *et al.*, (2022), kalus yang diinduksi dalam media MS + 0 mg/L BAP juga mengalami *browning* pada tanaman tomat. Kalus menunjukkan warna kuning kecoklatan sama dengan tunas yang diinduksi dengan perlakuan P0 (0 mg/L BAP). Dilaporkan oleh Alagarsamy *et al.*, (2018), *browning* terjadi karena diproduksi senyawa fenolik pada saat pelukaan jaringan eksplan. *Browning* dapat mengakibatkan kematian jaringan, sehingga eksplan tidak mampu memunculkan tunas. BAP yang ditambahkan pada media multiplikasi tunas akan menginisiasi pembentukan tunas dengan pembelahan sel sehingga kemungkinan jaringan memproduksi fenol akan semakin kecil.

#### Jumlah Daun

Induksi hormon BAP tidak hanya berpengaruh pada kemunculan tunas tetapi juga pada variabel jumlah daun. Hormon BAP yang diberikan pada tanaman memiliki

pengaruh nyata terhadap pertambahan jumlah daun. Rata-rata jumlah daun sebagai berikut (Gambar 4).

Berdasarkan Gambar 4, perlakuan terbaik diperoleh dari perlakuan konsentrasi hormon BAP 2 mg/L (P1) mampu menghasilkan jumlah daun terbanyak dengan rata-rata jumlah daun yaitu 8,35 buah daun. Kandungan sitokinin yang terlalu rendah atau terlalu tinggi pada meristem akan menyebabkan pensinyalan WUS terganggu hingga berakibat gagalnya pembentukan primordia daun (Wu et al., 2021). Kegagalan pembentukan daun dapat disebabkan oleh turunnya ekspresi WUS pada sel-sel meristem pucuk. WUSCHEL merupakan faktor transkripsi *homedomain* yang diproduksi sebagai transduksi sinyal pada jaringan OC (*organizing center*) di meristem pucuk (Wu et al., 2021). Perlakuan BAP 4 mg/L, 6 mg/L, dan 8 mg/L menunjukkan hasil yang tidak nyata terhadap perlakuan BAP 2 mg/L. Menurut Kafindra et al (2015), pemberian BAP 2 mg/L memiliki hasil yang baik pada variabel jumlah daun dibandingkan dengan pemberian BAP 0 mg/L dan 4 mg/L.

Pola pertumbuhan hasil dari semua variabel menunjukkan peningkatan pada saat diberi BAP 2 mg/L dan mengalami penurunan pada perlakuan BAP 4, 6, 8 mg/L secara signifikan (Gambar 3 dan 5). Variabel tinggi tunas dan jumlah daun memiliki korelasi erat

terhadap pola diurnal dalam pertumbuhannya. Hal ini sama dengan yang dilaporkan oleh Khairudin et al., (2020), bahwasanya pertambahan tinggi tunas akan diikuti juga dengan pertambahan jumlah daun yang diakibatkan oleh regulasi BAP atau sitokinin. Menurut Lian et al., (2023), penambahan BAP pada tanaman kedelai dapat meningkatkan laju fotosintesis, ekspresi gen sintesis klorofil (CHLI, CHLD, dan CHLH) dan kadar klorofil daun. Penambahan BAP juga berpengaruh pada konduktansi stomata dan transpirasi. Secara tidak langsung penambahan BAP akan mengakibatkan naiknya laju asimilasi karbon dan efisiensi penggunaan air pada tanaman.

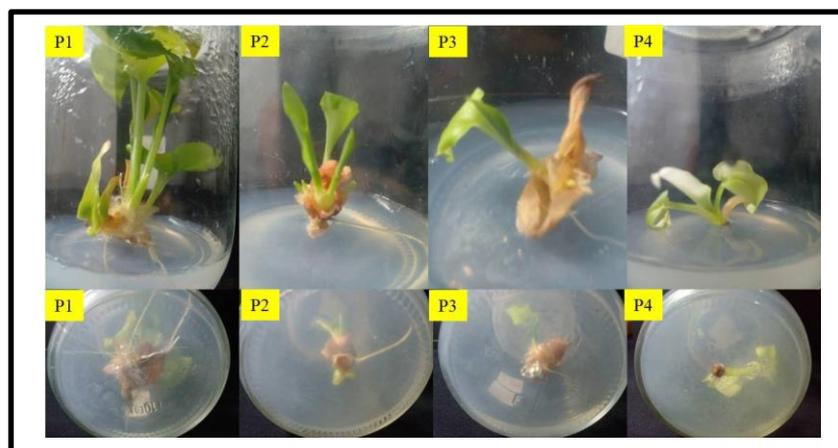
### Persentase Akar

Nilai persentase akar menunjukkan besarnya tanaman merespon dari konsentrasi hormon BAP yang diberikan untuk membentuk sistem perakaran. Rata-rata persentase akar pada multiplikasi kunyit hitam sebagai berikut (Tabel 3).

Berdasarkan Tabel 3, pada perlakuan P1 (BAP 2 mg/L), P2 (BAP 4 mg/L), dan P3 (BAP 6 mg/L), mampu menghasilkan sistem perakaran 100%. Perlakuan P0 (kontrol) menunjukkan persentase 0% karena eksplan *browning*. Perlakuan P4 (BAP 8 mg/L) menunjukkan persentase akar 0% seperti pada Gambar 5.

**Tabel 3.** Rata-rata persentase akar dengan perlakuan konsentrasi BAP pada multiplikasi tunas kunyit hitam

Perlakuan	P0	P1	P2	P3	P4
Persentase	0%	100%	100%	100%	0%



**Gambar 5.** Pertumbuhan tunas dan akar pada multiplikasi kunyit hitam pada semua perlakuan: BAP 2 mg/L (P1), BAP 4 mg/L (P2), BAP 6 mg/L (P3), dan BAP 8 mg/L (P4)

Terlihat pada Gambar 5, perlakuan BAP 2 mg/L (P1) menghasilkan pertumbuhan yang baik dengan tunas terbanyak, daun terbanyak, dan sistem perakaran terbaik. Hal ini disebabkan perlakuan BAP 2 mg/L memiliki kandungan sitokinin yang mencukupi bagi eksplan untuk menghasilkan tunas terbanyak dengan sistem perakaran terbaik. Sistem perakaran yang baik ditandai dengan banyaknya cabang akar dan rambut akar yang terbentuk (Zhiyong *et al.*, 2022). Pemberian sitokinin tinggi akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan tunas (Azizan and Risda, 2017). Menurut Wu *et al.* (2021) terdapat gen KNOX yang mensintesis sitokinin dan menjaga kadar sitokinin agar tetap tinggi dan stabil pada meristem pucuk. Sitokinin berperan penting dalam meregulasi ekspresi WUS melalui sinyal transduksi dan faktor transkripsi yang berperan penting pada pembelahan sel di OC. Menurut George *et al.* (2008), sitokinin berperan penting dalam regulasi pembentukan senyawa SAM. Menurut Yamoune *et al.* (2024), sitokinin memiliki peran penting dalam meregulasi produksi etilen pada pertumbuhan akar. Hal ini dibuktikan dengan peran sitokinin dalam produksi SAM. sitokinin juga memiliki peran penting dalam elongasi akar dan perkembangan ukuran meristem apikal akar. sitokinin meregulasi pembentukan *Isopentenyltransferase* (IPT). Aktivitas IPT yang tinggi akan menyebabkan pemendekan akar dan ukuran meristem akar tidak mampu berkembang. Perlakuan BAP 4 mg/L (P2) menunjukkan pertumbuhan tunas dan sistem perakaran yang baik. Beberapa daun tampak masih menggulung. Perlakuan BAP 6 mg/L (P3) terlihat jumlah tunas dan sistem perakaran yang sedikit. Perlakuan BAP 8 mg/L (P4) mampu menghasilkan tunas dan daun, akan tetapi pada perlakuan P4 belum mampu memunculkan sistem perakaran. Menurut penelitian sebelumnya, seperti yang dilaporkan oleh Kafindra *et al.*, (2015), penambahan BAP 2 mg/L dapat menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak sebanyak 24 buah akar dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/L dan 4 mg/L yang hanya menghasilkan 12 buah akar dan 18 buah akar.

Penambahan BAP secara tidak langsung juga dapat menginisiasi pembentukan akar. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Ogunyale

*et al.*, (2014), bahwasanya sitokinin dapat memediasi transport auksin ke seluruh tanaman dan dapat merangsang sintesis auksin endogen pada kultur tanaman tembakau. Berdasarkan penelitian (Yunus *et al.*, 2016), bahwasanya pada *K. rotunda* menghasilkan jumlah akar yang lebih baik saat BAP dikombinasikan dengan IBA. Jumlah akar primer dan sekunder jauh lebih banyak dan berkembang dengan perlakuan hormon IBA.

## Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa, perlakuan konsentrasi BAP 2 mg/L menunjukkan hasil terbaik dengan parameter kedinian tunas tercepat yaitu 8,3 hari setelah tanam, jumlah tunas terbanyak yaitu 5,8 tunas, rata-rata tunas tertinggi mencapai 4,8 cm, dan jumlah daun terbanyak yaitu 8,3 helai. Perlakuan konsentrasi BAP 2 mg/L menunjukkan persentase tunas dan akar 100%. Perlakuan kontrol atau tanpa pemberian hormon BAP menunjukkan eksplan tidak merespon pertumbuhan dan eksplan mengalami *browning* dan mati.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Laboratorium Kultur Jaringan Program Studi Agronomi yang telah mendukung dan memfasilitasi penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Alagarsamy, K., Shamala, L. F., & Wei, S. (2018). Influence of media supplements on inhibition of oxidative browning and bacterial endophytes of *Camellia sinensis* var. *sinensis*. *3 Biotech* 8(8):1–7.
- Al-Jalihawi, W. F. H., Ali, T. J. M., & Nayef, M. N. (2023). Comparative Study between the Growth Regulators Benzyl Adenine (BAP) and Thydizoronate (TDZ) and Nano Iron in the Growth and Multiplication of Citrumelo Shoots in Vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1158(4): 1755 - 1315.

- Aprilia, M., Setiari, N., & Nurchayati, Y. (2022). Callus Development from Potato (*Solanum tuberosum*) Stem at Various Concentrations of Benzylaminopurine. *Biosaintifika* 14(2): 219–225.
- Azizan, M. N. A. B., & Risda. (2017). The Effect of BAP and NAA Treatment on Micropropagation of Cucumis sativus. *International Journal Of Science And Research*, 6(11), 170–176. <https://doi.org/10.21275/ART20177887>
- Elshamy, A. I., Mohamed, T. A., Essa, A. F., Abd-Elgawad, A. M., Alqahtani, A. S., Shahat, A. A., Yoneyama, T., Farrag, A. R. H., Noji, M., El-Seedi, H. R., Umeyama, A., Paré, P. W., & Hegazy, M. E. F. (2019). Recent advances in *Kaempferia* phytochemistry and biological activity: A comprehensive review. In *Nutrients* 11(10)
- George, E., Hall, M., & De Klerk, J. (2008). Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition Volume 1 The Background*. In Springer. Dordrecht. 205-226.
- Kafindra, L., Khumaida, N., & Wahyuning Ardie, S. (2015). Induksi Rimpang Mikro *Kaempferia parviflora* secara In Vitro dengan Penambahan BAP dan Sukrosa. *Jurnal Hortikultura Indonesia* 6(1): 54–63.
- Karim, M. A., Ardie, S. W., & Khumaida, N. (2014). Pematahan Dormansi Rimpang *Kaempferia parviflora* Wall. ExBaker. *Buletin Agrohorti* 2(1) : 104 – 114.
- Khairudin, N. A., Haida, Z., & Hakimian, M. (2020). In Vitro Shoot and Root Induction of *Kaempferia parviflora* (Zingiberaceae) Rhizome Using 6-Benzylaminopurine. *Journal of Tropical Plant Physiology* 12(2): 10.
- Kurepa, J., & Smalle, J. A. (2022). Auxin/Cytokinin Antagonistic Control of the Shoot/Root Growth Ratio and Its Relevance for Adaptation to Drought and Nutrient Deficiency Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4): 1-15. <https://doi.org/10.3390/ijms23041933>
- Labrooy, C., Abdullah, T. L., & Stanslas, J. (2020). Influence of N6-Benzyladenine and Sucrose on In Vitro Direct Regeneration and Microrhizome Induction of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker, An Important Ethnomedicinal Herb of Asia. *Tropical Life Sciences Research* 31(1): 123.
- Letsyo, E., Jerz, G., Winterhalter, P., & Beuerle, T. (2017). Toxic pyrrolizidine alkaloids in herbal medicines commonly used in Ghana. *Journal of Ethnopharmacology* 202(1): 154–161.
- Lian, X., Liu, S., Sikandar, A., Kang, Z., Feng, Y., Jiang, L., & Wang, Y. (2023). The influence of 6-Benzylaminopurine (BAP) on yield responses and photosynthetic physiological indices of soybean. *Kuwait Journal of Science* 50(3): 345–352.
- Liu, S., Strauss, S., Adibi, M., Mosca, G., Yoshida, S., Dello Ioio, R., Runions, A., Andersen, T. G., Grossmann, G., Huijser, P., Smith, R. S., & Tsiantis, M. (2022). Cytokinin promotes growth cessation in the Arabidopsis root. *Current Biology* 32(9): 1974–1985.
- Ogunyale, O. G., Fawibe, O. O., Ajiboye, A. A., & Agboola, D. A. (2014). A Review of Plant Growth Substances: Their Forms, Structures, Synthesis and Functions. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology* 5(4): 152–168.
- Pakkirisamy, M., Kalakandan, S. K., & Ravichandran, K. (2017). Phytochemical screening, GC-MS, FT-IR analysis of methanolic extract of *Curcuma caesia* roxb (*black turmeric*). *Pharmacognosy Journal* 9(6): 952–956.
- Park, H. Y., Kim, K. S., Ak, G., Zengin, G., Cziáky, Z., Jekó, J., Adaikalam, K., Song, K., Kim, D. H., & Sivanesan, I. (2021). Establishment of A Rapid Micropropagation System For *Kaempferia parviflora* wall. Ex baker: Phytochemical analysis of leaf extracts and evaluation of biological activities. *Plants* 10(4): 1-24.
- Peng, M. X., Chen, R. M., Wei, Q., Guo, H. R., Zeng, R. Z., Xie, L., Zhang, Z. S., & Chen, J. (2023). Effects of Genotype, Light, and Plant Growth Regulators on Rhizome Browning, Proliferation, and Sprouting in *Cymbidium*. *HortScience* 58(6): 671–676.
- Raihana, R., Faridah, Q. Z., Julia, A. A., Abdelmageed, A. H. A., & Kadir, M. A.

- (2011). In Vitro Culture Of *Curcuma mangga* From Rhizome Bud. *Journal of Medicinal Plant Research* 5(28): 6418–6422.
- Rostami, S., & Azhdarpoor, A. (2019). The Application of Plant Growth Regulators To Improve Phytoremediation of Contaminated Soils: A review. *Chemosphere* 220: 818–827.
- Rustikawati, R., Herison, C., Inorihah, E., & Dwisari, V. (2021). Effect of BAP (6-Benzyl Aminopurine) on In Vitro Shoot Growth of Curcumas. *AGRITROPICA : Journal of Agricultural Sciences* 4(1): 82–92.
- Samanhudi, Pujiasmanto, B., & Dewi, E. P. (2021). Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) In Vitro. *Agrica Ekstensia* 15(1): 13–20.
- Shukla, S. K., Shukla, S., Koche, V., & Mishra, S. K. (2007). In Vitro Propagation of Tikhur (*Curcuma angustifolia* Roxb.): A Starch Yielding Plant S. *Indian Journal of Biotechnology* 6(4): 274–276.
- Singh, A., Singh, N., Singh, S., Srivastava, R. P., Singh, L., Verma, P. C., Devkota, H. P., Rahman, L. ur, Kumar Rajak, B., Singh, A., & Saxena, G. (2023). The Industrially Important Genus *Kaempferia*: An Ethnopharmacological Review. *Frontiers in Pharmacology* 14(2): 1–18.
- Sjahril, R., Haring, F., Riadi, M., Danial Rahim, M., Sher Khan, R., Amir, A., & R, T. A. (2016). Performance of NAA, 2iP, BAP and TDZ on Callus Multiplication, Shoots Initiation and Growth for Efficient Plant Regeneration System in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.). *International Journal of Agriculture System (IJAS)*. 4(1): 52-61.
- Street, I. H., Mathews, D. E., Yamburkenko, M. V., Sorooshzadeh, A., John, R. T., Swarup, R., Bennett, M. J., Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2016). Cytokinin acts through the auxin influx carrier AUX1 to regulate cell elongation in the root. *Development (Cambridge)*, 143(21): 3982–3993.
- <https://doi.org/10.1242/dev.132035>
- Widhiastuty, N. S., Anwar, S., & Rosyida. (2023). The Effect of PVP (*Polivinil Piroolidon*) and BAP (6- benzylamino purine) on Shoots Induction of Teak Plus Perhutani (*Tectona grandis*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1246(1): 1–12.
- Wu, W., Du, K., Kang, X., & Wei, H. (2021). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. In *Horticulture Research*, 8(118): 1-13.
- Yamoune, A., Zdarska, M., Depaepe, T., Rudolfova, A., Skalak, J., Berendzen, K. W., Mira-Rodado, V., Fitz, M., Pekarova, B., Nicolas Mala, K. L., Tarr, P., Spackova, E., Tomovicova, L., Parizkova, B., Franczyk, A., Kovacova, I., Dolgikh, V., Zemlyanskaya, E., Pernisova, M., Hejatko, J. (2024). Cytokinins regulate spatially specific ethylene production to control root growth in Arabidopsis. *Plant Communications*, 0(0): 1-17.
- Yulizar, D. R., Noli, Z. A., & Idris, M. (2014). Induksi Tunas Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) pada Media MS dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi BAP dan Sukrosa Secara In Vitro. *Journal of Chemical Information and Modeling* 3(4): 310–316.
- Yunus, A., Rahayu, M., Samanhudi, Pujiasmanto, B., & Riswanda, H. J. (2016). Respon Kunir Putih (*Kaempferia rotunda*) terhadap Pemberian IBA dan BAP pada Kultur In Vitro. *Agrosains* 18(2): 44–49.
- Zhiyong, Z., Baomin, F., Chao, S., Xiaoxian, Z., Qingwen, Z., & Bing, Y. (2022). Advances in Root System Architecture: Functionality, Plasticity, and Research Methods. *Journal of Resources and Ecology*, 14(1): 15–24. <https://doi.org/10.5814/j.issn.1674-764x.2023.01.002>
- Zulfa, U. (2012). *Application of Liquid Bio-Fertilizer Reduced The Need of Chemical Fertilizer In Black Galingale (Kaempferia Parviflora) Production [Disertasi Skrips]*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.