

LAPORAN HASIL PENELITIAN
OPTIMASI INDUKSI DAN PROLIFERASI KALUS KUNCI PEPET
(*KAEMPFERIA ANGUSTIFOLIA* LINN.) MELALUI KULTUR
MERISTEM DAN MODIFIKASI MEDIA MS



DWI ANDREAS SANTOSA
WILHELMUS TERANG ARGASANJAYA

DEPARTEMEN ILMU TANAH DAN SUMBERDAYA LAHAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

2026

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian : Optimasi Induksi Dan Proliferasi Kalus Kunci Pepet (*Kaempferia
Angustifolia* Linn.) Melalui Kultur Meristem dan Modifikasi Media MS

Peneliti : Dwi Andreas Santosa, Wilhelmus Terang Arga Sanjaya

Afiliasi : Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan

Diketahui,
Ketua Departemen
Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan



Dr. Ir. R.A. Dyah Tjahyandari S, M.Apl.Sc
NIP 196606221991032001

ABSTRAK

Kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Linn.) merupakan tanaman obat potensial yang memerlukan dukungan teknologi kultur jaringan untuk penyediaan bahan tanam dan pengembangan produksi biomassa sel secara berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan memperoleh formulasi media dan metode eksplan yang lebih efektif untuk induksi serta proliferasi kalus kunci pepet secara *in vitro*. Penelitian dilakukan melalui optimasi media Murashige and Skoog (MS) dengan kombinasi 2,4-D, kinetin, IBA, BAP, NAA, Plant Preservative Mixture (PPM), serta penambahan kasein hidrolisat, glutamin, dan beberapa asam amino. Hasil awal menggunakan eksplan umbi menunjukkan tingkat kontaminasi tinggi, yaitu 45-75%, dengan persentase pembentukan kalus rendah, yaitu 5,5-17,4%. Penambahan PPM mampu menekan kontaminasi hingga sekitar 40-45%, tetapi belum menghasilkan induksi kalus yang optimal. Penggunaan kultur meristem memberikan hasil lebih baik, dengan kontaminasi 10-20% dan pembentukan kalus hingga 60% pada media MS yang ditambah 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, dan 1 mL/L PPM. Pada tahap proliferasi, media MS dengan 1 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik, yaitu mencapai 11 mm pada 35 hari setelah tanam. Penambahan kasein hidrolisat 500 mg/L dan glutamin 100 mg/L dapat mendukung pembentukan kalus hingga 55%, sedangkan asam amino lain tidak menunjukkan peningkatan yang konsisten. Hasil ini menunjukkan bahwa kultur meristem dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin merupakan pendekatan potensial untuk pengembangan sistem kultur jaringan kunci pepet.

Kata kunci: 2,4-D, Embriogenesis somatic, Kinetin, Kultur meristem, *Zingiberaceae*

I. PENDAHULUAN

Kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Linn.) merupakan salah satu tanaman obat dari famili *Zingiberaceae* yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan bioaktif. Secara fitokimia, rimpang *K. angustifolia* dilaporkan mengandung berbagai senyawa bernilai, antara lain turunan diterpena, cyclohexane diepoxide, chalcone, zeylenol, beta-sitosterol, serta glikosidanya, dan beberapa senyawa tersebut menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap lini sel tertentu (Tang et al. 2014). Kajian lain juga menegaskan bahwa *K. angustifolia* merupakan tanaman aromatik dan etnomedisin yang masih kurang dimanfaatkan, tetapi memiliki potensi farmasi, antioksidan, dan antimikroba (Haque dan Ghosh 2018; Chakraborty et al. 2022; Saensouk et al. 2023). Pemanfaatan tanaman obat secara berkelanjutan memerlukan dukungan teknologi perbanyakan dan produksi biomassa yang stabil, terutama pada spesies dengan ketersediaan bahan tanam terbatas dan bergantung pada musim. Kultur jaringan tanaman menjadi salah satu pendekatan yang relevan karena memungkinkan perbanyakan bahan tanam secara terkendali, produksi bahan tanaman yang lebih seragam, serta pengembangan biomassa sel untuk analisis atau produksi metabolit sekunder secara *in vitro*.

Induksi kalus merupakan tahap awal penting dalam pengembangan kultur jaringan. Kalus dapat digunakan sebagai bahan untuk regenerasi tanaman, perbanyakan *in vitro*, kultur suspensi sel, maupun produksi metabolit sekunder. Keberhasilan induksi kalus sangat dipengaruhi oleh jenis eksplan, kondisi fisiologis bahan tanam, metode sterilisasi, serta komposisi media, terutama zat pengatur tumbuh. Kombinasi auksin dan sitokinin, seperti 2,4-D dan kinetin, banyak digunakan untuk merangsang pembelahan sel dan pembentukan kalus. Pada tanaman *Zingiberaceae*, respons kultur jaringan sering bersifat spesifik terhadap spesies dan jenis eksplan. Sebagai contoh, kultur meristem jahe dapat menghasilkan bahan tanam bebas patogen dan mendukung mikropropagasi, sedangkan embriogenesis somatik dari meristem jahe dilaporkan memerlukan kombinasi 2,4-D, BA, glutamin, serta pengaturan sukrosa tertentu (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Rostiana dan Syahid 2008). Oleh karena itu, optimasi media pada kunci pepet perlu dilakukan secara spesifik dan tidak dapat langsung mengadopsi satu formulasi dari spesies lain.

Pada kunci pepet, kendala utama dalam kultur jaringan adalah tingginya kontaminasi eksplan. Eksplan yang berasal dari umbi atau rimpang bawah tanah berpotensi membawa mikroorganisme permukaan maupun endofit. Hal ini sejalan dengan laporan pada tanaman

Zingiberaceae lain, termasuk jahe, bahwa perbanyakannya vegetatif melalui rimpang dapat membawa risiko penyebaran patogen sehingga kultur meristem dan kultur *in vitro* menjadi pendekatan penting untuk memperoleh bahan tanam yang lebih sehat (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Rostiana dan Syahid 2008). Sterilisasi yang terlalu ringan menyebabkan kontaminasi tinggi, sedangkan sterilisasi yang terlalu kuat dapat merusak jaringan dan menurunkan viabilitas eksplan. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan yang tidak hanya memperbaiki sterilisasi, tetapi juga mempertimbangkan jenis eksplan yang digunakan.

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi formulasi media MS dan metode eksplan untuk meningkatkan induksi serta proliferasi kalus kunci pepet. Secara khusus, penelitian ini menguji kombinasi zat pengatur tumbuh, penggunaan PPM, teknik kultur meristem, serta penambahan kasein hidrolisat, glutamin, dan beberapa asam amino terhadap pembentukan dan perkembangan kalus.

II. BAHAN DAN METODE

1. Bahan tanaman dan kondisi kultur

Bahan tanaman yang digunakan adalah umbi kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Linn.). Eksplan awal berupa potongan jaringan umbi berukuran sekitar 0,4-0,7 mm. Pada tahap berikutnya, digunakan eksplan meristem pucuk sebagai alternatif untuk mengurangi kontaminasi. Pemilihan meristem didasarkan pada pertimbangan bahwa jaringan meristem berukuran kecil dan aktif membelah sering digunakan untuk menghasilkan kultur yang lebih bersih serta lebih seragam pada tanaman rimpang *Zingiberaceae* (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Rostiana dan Syahid 2008). Kultur dilakukan pada media dasar Murashige and Skoog (MS) dengan penambahan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan.

Eksplan disterilisasi menggunakan kombinasi fungisida, natrium hipoklorit, dan HgCl₂. Durasi sterilisasi diuji hingga 30 menit, disertai pengocokan pada sebagian waktu perendaman untuk meningkatkan kontak bahan sterilan dengan permukaan eksplan. Penggunaan bahan sterilan kuat pada eksplan rimpang pernah dilaporkan dalam kultur jahe dan *K. angustifolia*, tetapi penerapannya harus diseimbangkan dengan viabilitas jaringan karena kerusakan eksplan dapat menurunkan respons kultur (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Haque dan Ghosh 2018). Pada beberapa perlakuan, PPM ditambahkan ke dalam media dengan konsentrasi 1 mL/L untuk membantu menekan kontaminasi selama fase awal kultur.

2. Optimasi media induksi kalus dari eksplan umbi

Tahap awal dilakukan dengan menanam eksplan umbi pada media MS yang mengandung kombinasi 2,4-D, kinetin, IBA, dan BAP. Perlakuan meliputi 2,4-D pada konsentrasi 3-5 mg/L, kinetin 0,5 mg/L, IBA 2-4 mg/L, dan BAP 0,5-1,0 mg/L. Pengamatan dilakukan terhadap persentase pembentukan kalus dan tingkat kontaminasi pada 68 hari setelah tanam.

3. Kultur meristem dan induksi tunas

Kultur meristem dilakukan dengan mengisolasi meristem pucuk dan menanamnya pada media MS yang ditambahkan PPM 1 mL/L. Perlakuan untuk induksi kalus menggunakan kombinasi 2,4-D dan kinetin, sedangkan perlakuan untuk induksi tunas menggunakan kombinasi NAA dan BAP. Parameter yang diamati adalah persentase kontaminasi, pembentukan kalus, dan pembentukan tunas.

4. Proliferasi kalus

Kalus yang diperoleh dari kultur meristem diuji pada media MS dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin. Konsentrasi 2,4-D yang diuji adalah 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/L, masing-masing dikombinasikan dengan kinetin 0,1 atau 0,2 mg/L. Pertumbuhan kalus diamati pada 7, 14, 21, 28, dan 35 hari setelah tanam berdasarkan perkembangan ukuran kalus.

5. Penambahan kasein hidrolisat, glutamin, dan asam amino

Pengujian sumber nitrogen organik dilakukan dengan menambahkan kasein hidrolisat dan glutamin pada media MS yang mengandung 2,4-D dan kinetin. Pada tahap lanjutan, media juga ditambahkan glisin, arginin, asparagin, prolin, atau alanin masing-masing 100 mg/L. Kasein hidrolisat digunakan pada konsentrasi 500 mg/L dan glutamin 100 mg/L. Parameter yang diamati adalah persentase pembentukan kalus dan kontaminasi.

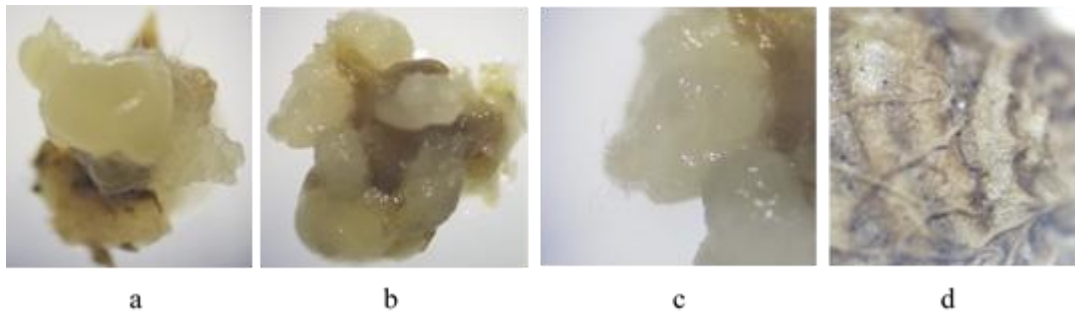
6. Analisis data

Data disajikan secara deskriptif berdasarkan persentase pembentukan kalus, persentase kontaminasi, dan perkembangan ukuran kalus. Formulasi media terbaik ditentukan berdasarkan kombinasi antara tingginya pembentukan kalus, rendahnya kontaminasi, dan kemampuan mendukung proliferasi kalus.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Induksi kalus dari eksplan umbi masih terkendala kontaminasi

Penggunaan eksplan umbi pada tahap awal menunjukkan tingkat kontaminasi yang tinggi. Meskipun durasi sterilisasi telah ditingkatkan, kontaminasi tetap berada pada kisaran 45-75%. Persentase pembentukan kalus juga masih rendah, yaitu 5,5-17,4%. Hasil terbaik pada tahap ini diperoleh pada media MS dengan 2 mg/L IBA dan 0,5 mg/L BAP, yaitu pembentukan kalus sebesar 17,4% dengan kontaminasi 45%.



Gambar 1. Penampakan kalus kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Linn.). (Perbesaran 10 kali) (a) penampakan kalus dengan kontaminasi; (b) penampakan kalus tanpa kontaminasi; (c) kontaminasi jamur; (d) penampakan fungi pada umbi kunci pepet.

Rendahnya keberhasilan induksi kalus dari eksplan umbi kemungkinan disebabkan oleh dua faktor utama. Pertama, eksplan umbi secara alami berasosiasi dengan mikroorganisme, termasuk mikroorganisme endofit, sehingga kontaminasi sulit dihilangkan melalui sterilisasi permukaan. Kedua, peningkatan durasi atau konsentrasi bahan sterilan dapat merusak jaringan eksplan sehingga kemampuan pembentukan kalus menurun. Pola ini konsisten dengan karakter tanaman rimpang *Zingiberaceae* yang umumnya diperbanyak secara vegetatif dan berisiko membawa patogen dari bahan tanam bawah tanah (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Haque dan Ghosh 2018). Kondisi ini menunjukkan bahwa eksplan umbi bukan sumber eksplan paling ideal untuk kultur kunci pepet apabila tujuan utamanya adalah menghasilkan kalus secara efisien dan bersih.

Tabel 1. Pembentukan kalus dan kontaminasi pada media MS dengan kombinasi zat pengatur tumbuh dari eksplan umbi

Perlakuan	Formulasi media	Kalus (%)	Kontaminasi (%)
I	3 mg/L 2,4-D	7,8 ± 0,01	55
II	3 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L kinetin	7,5 ± 0,20	55
III	5 mg/L 2,4-D	6,2 ± 0,40	55
IV	5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L kinetin	6,2 ± 0,30	55
V	2 mg/L IBA	9,07 ± 0,02	50
VI	3 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	12,5 ± 0,03	75
VII	3 mg/L 2,4-D + 1,0 mg/L BAP	11,4 ± 0,12	55
VIII	5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	9,5 ± 0,09	55
IX	5 mg/L 2,4-D + 1,0 mg/L BAP	8,0 ± 0,15	60
X	2 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP	17,4 ± 0,06	45
XI	2 mg/L IBA + 1,0 mg/L BAP	5,5 ± 0,03	75
XII	3 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP	7,0 ± 0,06	55
XIII	3 mg/L IBA + 1,0 mg/L BAP	9,3 ± 0,08	50
XIV	4 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP	8,3 ± 0,10	55
XV	4 mg/L IBA + 1,0 mg/L BAP	10,0 ± 0,20	55

2. Penambahan PPM menurunkan kontaminasi tetapi belum optimal

Penambahan PPM 1 mL/L ke dalam media mampu menekan kontaminasi hingga sekitar 40-45% pada beberapa perlakuan. Media MS dengan 2 mg/L IBA, 0,5 mg/L BAP, dan 1 mL/L PPM menghasilkan pembentukan kalus 16,7% dengan kontaminasi 40%. Media MS dengan 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, dan 1 mL/L PPM menghasilkan pembentukan kalus 16,5% dengan kontaminasi 45%. Meskipun terjadi perbaikan, tingkat kontaminasi tersebut masih terlalu tinggi untuk mendukung produksi kalus secara efisien.

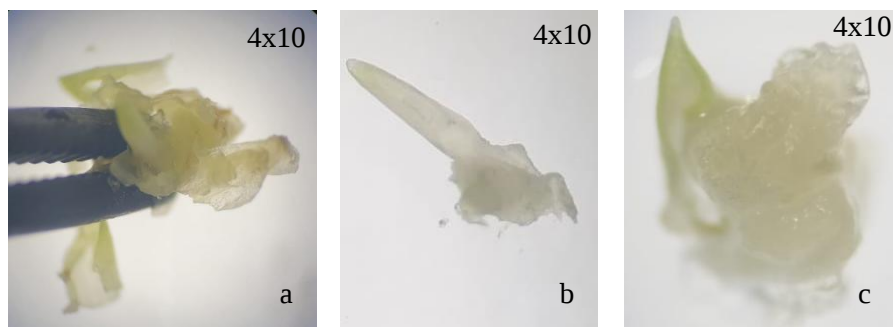
Tabel 2. Pengaruh penambahan PPM terhadap pembentukan kalus dan kontaminasi

Formulasi media	Kalus (%)	Kontaminasi tanpa PPM (%)	Kontaminasi dengan PPM (%)
3 mg/L 2,4-D + 1 mL/L PPM	8,1 ± 0,01	55	50
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 1 mL/L PPM	16,5 ± 0,20	-	45
3 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	13,2 ± 0,40	55	45
3 mg/L 2,4-D + 1,0 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	12,2 ± 0,30	55	45
2 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	16,7 ± 0,02	50	40
4 mg/L IBA + 2 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	12,5 ± 0,03	75	45

3. Kultur meristem meningkatkan pembentukan kalus dan menekan kontaminasi

Penggunaan kultur meristem memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan eksplan umbi. Tingkat kontaminasi turun menjadi 10-20%, sedangkan pembentukan kalus meningkat hingga 60%. Media MS dengan 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, dan 1 mL/L PPM menghasilkan

pembentukan kalus tertinggi, yaitu 60%, dengan kontaminasi 10%. Hasil ini mendukung pemanfaatan meristem sebagai sumber eksplan yang lebih tepat untuk tanaman rimpang. Pada jahe, kultur meristem juga dilaporkan efektif untuk mikropropagasi dan pengembangan bahan tanam sehat, sedangkan embriogenesis somatik dari meristem dapat menghasilkan kalus embriogenik dengan penggunaan 2,4-D dan sitokinin tertentu (Bhagyalakshmi dan Singh 1988; Rostiana dan Syahid 2008).

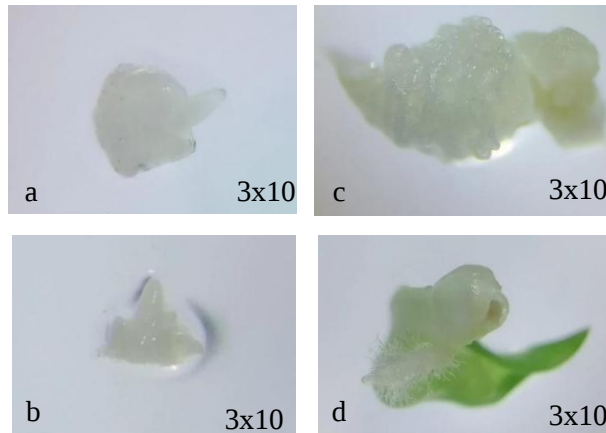


Gambar 2. Tahapan Kultur Meristem Kunci Pepet. (a) Isolasi meristem; (b) jaringan meristem pucuk (hari ke-0); (c) pertumbuhan kalus kunci pepet (hari ke-14).

Pada perlakuan induksi tunas, media MS dengan 1 mg/L NAA, 0,2 mg/L BAP, dan 1 mL/L PPM menghasilkan pembentukan tunas tertinggi, yaitu 70%, dengan kontaminasi 10%. Hasil ini penting karena tunas *in vitro* dapat menjadi sumber eksplan yang lebih bersih untuk tahap induksi kalus berikutnya. Laporan mikropropagasi *K. angustifolia* menunjukkan bahwa kombinasi sitokinin dan auksin pada media MS dapat mendukung pembentukan tunas dan perakaran, misalnya kombinasi BAP, kinetin, dan NAA pada kultur tunas mikro (Haque dan Ghosh 2018; Saensouk et al. 2023). Dengan demikian, kultur meristem dapat diposisikan sebagai strategi awal untuk menghasilkan bahan eksplan internal yang lebih seragam dan rendah kontaminasi.

Tabel 3. Pembentukan kalus dan tunas menggunakan teknik kultur meristem

Formulasi media	Kontaminasi (%)	Kalus (%)	Tunas (%)
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 1 mL/L PPM	10	60	-
2 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	20	30	-
1 mg/L NAA + 1 mL/L PPM	20	-	20
2 mg/L NAA + 1 mL/L PPM	10	-	40
1 mg/L NAA + 0,1 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	10	-	60
2 mg/L NAA + 0,1 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	20	-	40
1 mg/L NAA + 0,2 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	10	-	70
2 mg/L NAA + 0,2 mg/L BAP + 1 mL/L PPM	20	-	30



Gambar 2. Perkembangan kalus dan tunas kunci pepet (54 HST). meristem pucuk (a) 3 mg/L 2,4 D + 0,1 mg/L Kinetin, dan (b) 1 mg/L NAA + 0,2 mg/L BAP. Pembentukan kalus pada media 3 mg/L 2,4 D + 0,1 mg/L Kinetin (c), pembentukan tunas pada media 1 mg/L NAA + 0,2 mg/L BAP (d).

4. Media 1 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin mendukung proliferasi kalus terbaik

Kalus hasil kultur meristem selanjutnya diuji pada media MS dengan kombinasi 2,4-D dan kinetin. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa media MS dengan 1 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik, yaitu mencapai sekitar 11 mm pada 35 hari setelah tanam. Media MS dengan 3 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin menghasilkan ukuran kalus sekitar 8 mm pada waktu yang sama. Temuan ini sejalan dengan prinsip umum kultur jaringan bahwa kebutuhan zat pengatur tumbuh pada fase induksi dan fase proliferasi tidak selalu sama, serta perlu dioptimasi berdasarkan fase perkembangan kultur (George et al. 2008). Pada *Zingiberaceae*, penggunaan 2,4-D terbukti penting untuk induksi kalus atau embriogenesis, tetapi konsentrasi dan kombinasinya perlu disesuaikan dengan spesies dan tujuan kultur (Rostiana dan Syahid 2008).

Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D yang lebih tinggi tidak selalu meningkatkan proliferasi kalus kunci pepet. Pada tahap induksi, 3 mg/L 2,4-D dapat memicu pembentukan kalus yang baik, tetapi pada tahap proliferasi, konsentrasi lebih rendah yaitu 1 mg/L tampak lebih sesuai untuk mendukung pertumbuhan kalus. Dengan demikian, tahapan induksi dan proliferasi sebaiknya dibedakan dalam sistem kultur kunci pepet.

5. Kasein hidrolisat dan glutamin dapat mendukung pembentukan kalus

Pengujian penambahan kasein hidrolisat dan glutamin pada eksplan umbi belum memberikan hasil optimal karena kontaminasi masih tinggi, yaitu 75-88%. Namun, ketika

perlakuan dilakukan menggunakan teknik kultur meristem, pembentukan kalus meningkat. Media MS dengan 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, 500 mg/L kasein hidrolisat, dan 100 mg/L glutamin menghasilkan pembentukan kalus 55% dengan kontaminasi 20%. Media dengan 1 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, 500 mg/L kasein hidrolisat, dan 100 mg/L glutamin menghasilkan pembentukan kalus 45% dengan kontaminasi 10%. Peran glutamin sebagai sumber nitrogen organik juga dilaporkan pada embriogenesis somatik jahe, ketika penambahan 100 mg/L glutamin bersama 2,4-D dan BA mendukung pembentukan kalus embriogenik (Rostiana dan Syahid 2008). Dengan demikian, hasil pada kunci pepet menunjukkan kecenderungan yang relevan, meskipun efektivitasnya tetap bergantung pada jenis eksplan dan pengendalian kontaminasi.

Penambahan asam amino lain seperti glisin, arginin, asparagin, prolin, dan alanin tidak meningkatkan pembentukan kalus secara konsisten. Beberapa eksplan pada media dengan asam amino menunjukkan gejala menguning dan pertumbuhan lebih lambat. Hal ini menunjukkan bahwa respons kunci pepet terhadap sumber nitrogen organik bersifat spesifik. Kasein hidrolisat dan glutamin dapat dipertimbangkan sebagai komponen tambahan, tetapi penggunaannya perlu diuji lebih lanjut terhadap peningkatan biomassa kalus dan kandungan metabolit sekunder.

Tabel 4. Pengaruh kasein hidrolisat dan glutamin pada eksplan umbi

Formulasi media	Kalus (%)	Kontaminasi (%)
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 500 mg/L kasein	6,7	75
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 1000 mg/L kasein	5,8	80
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 500 mg/L kasein + 100 mg/L glutamin	12,4	81
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 500 mg/L kasein + 200 mg/L glutamin	8,5	88
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 200 mg/L glutamin	6,5	76
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L glutamin	5,9	82

6. Implikasi untuk pengembangan kultur jaringan kunci pepet

Berdasarkan seluruh tahapan percobaan, sistem kultur jaringan kunci pepet perlu dimulai dari pemilihan eksplan yang tepat. Eksplan umbi dapat digunakan, tetapi memiliki risiko kontaminasi tinggi sehingga kurang efisien untuk produksi kalus. Kultur meristem lebih sesuai sebagai tahap awal karena mampu menurunkan kontaminasi dan meningkatkan pembentukan kalus. Selanjutnya, kalus yang berhasil terbentuk dapat diperbanyak pada media proliferasi dengan konsentrasi 2,4-D lebih rendah. Hasil ini juga memperkuat pentingnya pengembangan kultur *in vitro* *K. angustifolia* karena spesies ini memiliki nilai farmakologis dan fitokimia,

namun ketersediaan bahan tanam dari rimpang relatif lambat dan berisiko membawa patogen (Tang et al. 2014; Haque dan Ghosh 2018; Chakraborty et al. 2022; Saensouk et al. 2023).

Tabel 5. Pembentukan kalus pada kultur meristem dengan penambahan kasein hidrolisat, glutamin, dan asam amino

Formulasi media	Kalus (%)	Kontaminasi (%)
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 500 mg/L kasein + 100 mg/L glutamin	50	10
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L glisin	45	15
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L arginin	40	15
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L asparagin	35	10
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L prolin	35	10
1 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L alanin	45	10
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 500 mg/L kasein + 100 mg/L glutamin	55	20
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L glisin	45	10
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L arginin	45	15
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L asparagin	40	15
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L prolin	45	20
3 mg/L 2,4-D + 0,1 mg/L kinetin + 100 mg/L alanin	40	10

Secara praktis, media MS dengan 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, dan 1 mL/L PPM dapat digunakan untuk induksi awal kalus dari meristem. Setelah kalus terbentuk, media MS dengan 1 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin lebih direkomendasikan untuk proliferasi. Penambahan kasein hidrolisat dan glutamin dapat diuji lebih lanjut sebagai komponen pendukung, terutama apabila tujuan penelitian diarahkan pada peningkatan biomassa kalus dan produksi metabolit sekunder. Arah tersebut relevan karena beberapa penelitian melaporkan bahwa tanaman hasil kultur *in vitro* *K. angustifolia* tetap dapat dimanfaatkan untuk kajian fitokimia, antioksidan, dan aktivitas antimikroba, sehingga sistem kalus yang stabil berpotensi menjadi dasar untuk pengembangan kultur sel atau produksi biomassa bioaktif (Chakraborty et al. 2022; Saensouk et al. 2023).

IV. KESIMPULAN

4.1 Kesimpulan

Teknik kultur meristem lebih efektif dibandingkan penggunaan eksplan umbi secara langsung untuk induksi kalus kunci pepet karena mampu menurunkan kontaminasi dan meningkatkan persentase pembentukan kalus. Media MS dengan 3 mg/L 2,4-D, 0,1 mg/L kinetin, dan 1 mL/L PPM menghasilkan pembentukan kalus hingga 60% pada tahap induksi. Untuk tahap proliferasi, media MS dengan 1 mg/L 2,4-D dan 0,1 mg/L kinetin menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik, yaitu mencapai sekitar 11 mm pada 35 hari setelah tanam. Penambahan kasein hidrolisat 500 mg/L dan glutamin 100 mg/L dapat mendukung pembentukan kalus, sedangkan penambahan asam amino lain tidak memberikan peningkatan yang konsisten. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi kultur meristem, PPM, 2,4-D, dan kinetin merupakan pendekatan potensial untuk pengembangan sistem kultur jaringan kunci pepet.

4.2 Saran

Penelitian lanjutan perlu diarahkan pada peningkatan biomassa kalus, evaluasi stabilitas kalus pada beberapa siklus subkultur, serta analisis kandungan metabolit sekunder pada setiap formulasi media. Selain itu, penggunaan tunas *in vitro* sebagai sumber eksplan perlu diuji lebih lanjut untuk menghasilkan sistem kultur yang lebih bersih, seragam, dan berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Murashige T, Skoog F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.-1399-3054.1962.tb08052.x>
- George EF, Hall MA, Klerk GJD. 2008. Micropropagation: Uses and Methods. In: George EF, Hall MA, Klerk GJD. (eds) *Plant Propagation by Tissue Culture*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_2
- Thorpe TA. 2007. History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*. 37:169-180. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>
- Rout GR, Samantaray S, Das P. 2000. In vitro manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*. 18:91-120. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00026-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00026-9)
- Bhagyalakshmi B, Singh NS. 1988. Meristem culture and micropropagation of a variety of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with a high yield of oleoresin. *Journal of Horticultural Science*. 63(2):321-327. doi:10.1080/14620316.1988.11515865.
- Chakraborty A, Haque SM, Dey D, Mukherjee S, Ghosh B. 2022. Phytogenic silver nanoparticles from tissue-cultured *Kaempferia angustifolia* - an underutilized medicinal herb: a comparative antibacterial study on urinary pathogens. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 20:131. doi:10.1186/s43141-022-00414-4.
- Haque SM, Ghosh B. 2018. Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe - an aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae family. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 21(2):147-153. doi:10.1007/s12892-017-0051-0.
- Rostiana O, Syahid SF. 2008. Somatic embryogenesis from meristem explants of ginger. *BIOTROPIA*. 15(1):12-24.
- Saensouk S, Yaowachai W, Chumroenphat T, Nonthalee S, Saensouk P. 2023. In vitro regeneration, transplantation and phytochemical profiles of *Kaempferia angustifolia* Roscoe. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 51(4):13190. doi:10.15835/nbha51413190.
- Tang SW, Sukari MA, Neoh BK, Yeap YSY, Abdul AB, Kifli N, Ee GCL. 2014. Phytochemicals from *Kaempferia angustifolia* Rosc. and their cytotoxic and antimicrobial activities. *BioMed Research International*. 2014:417674. doi:10.1155/2014/417674.