

## Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi Kalus Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Rita Elfianis<sup>\*</sup>, Rohmat Firdaus, Oksana, Nida Wafiqah Nabila M. Solin

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan,  
Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau 28293

<sup>\*</sup>E-mail korespondensi: rita.elfianis@uin-suska.ac.id

### ABSTRACT

*Gambier is generally propagated both generatively and vegetatively. However, these methods require a long time and often result in non uniform quality. Tissue culture is an alternative technique that can improve gambier quality within a relatively shorter period through callus induction. This Study aimed to determine the best concentrations of NAA, BAP, and their combination for inducing callus. This research was conducted at the Reproduction and Breeding Laboratory of Sultan Syarif Kasim Riau State Islamic University. This study employed an experimental method using a factorial Randomized Block Design (RBD). The first factor was the concentration of NAA (0 mg/L, 0.25 mg/L, 0.5 mg/L, 0.75 mg/L, 1 mg/L), while the second factor was the concentration of BAP (0 mg/L, 0.75 mg/L, 1.5 mg/L, 2.25 mg/L). In total, 20 treatment combinations were arranged in five replications. The observed parameters includes time to callus initiation, percentage of callus formation, callus texture, and callus color. The results showed that NAA at 0.5 mg/L was the best concentration for gambier callus induction, while BAP at 1.5 mg/L was also optimal for the purpose. The combination of 0.5 mg/L NAA and 1.5 mg/L BAP was the best treatment, accelerating callus initiation to 15.1 days after planting (DAP), with 50% yellowish-white callus and 60% friable texture.*

**Keywords:** auxin; callus induction; cytokinin; gambier.

### PENDAHULUAN

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) merupakan tanaman perdu termasuk famili *Rubiaceae* yang menjadi salah satu komoditi andalan dalam bidang pertanian karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi, yaitu dari ekstrak (getah) daun dan ranting yang mengandung asam *catechu tannat* (tanin), *catechin*, *pyrocatecol*, *flouresin*, lilin, *fixed oil*. Daun gambir terkandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tepenoid, saponin dan fenolik (Dhalimi, 2006; Isromarina dkk., 2019). Gambir umumnya dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam industri farmasi, industri kosmetik, industri batik, industri cat, industri

penyemak kulit, biopestisida, hormon pertumbuhan, pigmen, dan sebagai campuran bahan pelengkap makanan. Gambir merupakan salah satu tanaman tropis yang banyak ditemukan di daratan tinggi pulau Sumatera, antara lain Provinsi Sumatera Barat, Sumatera Utara, dan Riau. Gambir memiliki beberapa tipe yaitu tipe Cubadak, Riau, Udang, dan gambir khas Pakpak Bharat (Lidar dkk., 2018).

Menurut Kementerian Koordinator Bidang Perekonomian Republik Indonesia (2021) Indonesia sebagai pemasok utama gambir dunia sebanyak 80%. Tanaman gambir di Sumatera Utara tumbuh dengan baik di Kabupaten Pakpak Bharat sehingga menjadi mata pencarian utama masyarakat di daerah ini. Menurut data (BPS, 2021) produksi gambir di Kabupaten Pakpak Bharat pada tahun 2019 sebanyak 1.107 ton, tahun 2020 sebanyak 1.128 ton, dan tahun 2021 sebanyak 1.206 ton. Menurut Direktorat Jendral Kekayaan Intelektual Kementerian Hukum dan HAM RI (2024) karakteristik utama gambir Pakpak Bharat yang tinggi kandungan katekin (71,88 -88,23%) dan tanin (79,27 -85,39%).

Tanaman gambir diperbanyak umumnya secara generatif, tetapi untuk perkebunan komersial bibit dari biji cenderung tidak memuaskan. Perbanyak gambir dengan benih menyebabkan genotipe bercampur (tidak seragam) karena tanaman gambir menyerbuk silang dan mengalami segregasi yang tinggi sehingga terjadi dalam satu pohon induk benih gambir menghasilkan beberapa genotipe gambir (Fitriawati, 2020). Variasi bibit yang dihasilkan dengan biji juga mempengaruhi kandungan zat bioaktif yang dihasilkan (Fadhilah dkk., 2015).

Perbanyak gambir secara vegetatif juga dapat dilakukan dengan cara stek dan perundukan. Menurut Munggar dkk. (2022), cara stek pada pohon induk memberikan tingkat keberhasilan yang rendah, sekitar 15-40%. Selain itu, sulit diangkut, mudah rusak, dan sensitif terhadap kekeringan. Sedangkan perbanyak dengan cara perundukan memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi (80%), namun sulit untuk dipindahkan dari tanaman induk ke pot sebab akar yang terbentuk sedikit.

Perbanyak (mikropropagasi) dengan teknik kultur jaringan merupakan salah satu solusi yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah dalam produksi metabolit sekunder gambir. Teknik yang lazim digunakan untuk mendapatkan sumber senyawa metabolit sekunder yaitu melalui kultur kalus. Kultur kalus merupakan langkah awal dalam menentukan produksi bahan metabolit sekunder. Perkembangan eksplan menjadi kalus dipengaruhi oleh media yang digunakan, jenis dan sumber eksplan, serta zat pengatur tumbuh dan konsentrasi yang digunakan (Utomo, 2023).

Penambahan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dan sitokinin pada media kultur merupakan faktor penting dalam menyuplai nutrisi dan untuk mengarahkan pertumbuhan eksplan. Berdasarkan penelitian Hassan dkk. (2012) adanya pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP regenerasi tanaman secara *in vitro* dari *Paderia foetida* L. (Famili *Rubiaceae*) melalui kultur kalus dengan pemberian 1,5 mg/L BAP dan 0,5

mg/L NAA dalam waktu tiga minggu dengan persentase hidup eksplan sebesar 88,2%. Hasil penelitian Velayutham dkk. (2019) menunjukkan bahwa pemberian NAA pada induksi kalus *Oldenlandia umbellata* L. (famili *Rubiaceae*) dengan konsentrasi 1 mg/L dan 2 mg/L memberikan respon kalus 100% dan 94% dan berkalus hijau kompak. Hasil penelitian (Aguilar-Camacho dkk., 2023) menunjukkan dapat menginduksi kalus fariable dan berwarna hijau krem. Hasil penelitian Mok & Ho (2019) menunjukkan pemberian 0,8 mg/L BAP pada *Neolamarckia cadamba* (famili *Rubiaceae*) dapat menginduksi kalus dengan berwarna hijau keputihan dan kompak. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan konsentrasi BAP dan NAA serta kombinasi yang optimal terhadap induksi kalus gambir.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi dan Pemuliaan, Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau pada bulan Mei sampai Oktober 2024. Bahan yang digunakan adalah daun pertama sampai ke-tiga dari pucuk gambir asal Pakpak Bharat, media MS, NAA, BAP, NaOH, HCl, aquadest, agar, sukrosa, alkohol 70%, NaOCl, fungisida Dithane M-45 80WP, bakterisida Agrept 20WP, tween 80, zoralin dan spritus. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, *hot plate*, *laminar air flow*, timbangan analitik, plastik bening, aluminium foil, tisu, *petridish*, gunting, karet gelang, kertas label, lampu bunsen, *hand spayer*, alat tulis, gelas ukur, *magnetic stirer*, dan kamera.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi NAA (A) yang terdiri dari A0 : 0 mg/L, A1 : 0,25 mg/L, A2 : 0,5 mg/L, A3 : 0,75 mg/L, A4 : 1 mg/L. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP (B) yang terdiri dari B0 : 0 mg/L, B1 : 0,75 mg/L, B2 : 1,5 mg/L, B3: 2,25 mg/L. Sehingga terdapat 20 kombinasi perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari 5 kelompok, sehingga terdapat 100 unit percobaan. Masing-masing unit percobaan terdiri dari 2 ekplan, sehingga terdapat 200 unit percobaan.

Tahapan pelaksanaan penelitian yaitu sterilisasi alat, pembuatan media kultur, sterilisasi eksplan, penanaman eksplan, pemeliharaan, dan pengamatan. Semua alat botol-botol kultur, *scapel*, pinset dan alat lainnya dicuci bersih kemudian direndam selama 24 jam dalam larutan NaOCl 20% lalu dicuci bersih dengan air setelah itu dikeringkan dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 45 menit. Alat-alat yang telah disterilisasi disimpan di ruangan steril. Pembuatan media kultur dengan mempersiapkan semua alat dan bahan yang dibutuhkan untuk membuat media. Kemudian larutan media kultur dibuat dengan komposisi 1 liter aquades, gula pasir 30 g/l, media MS 4,44 g/l, agar-agar 6,5 g/l, dan ZPT BAP dan NAA. Kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer* dilanjutkan dengan *hot plate* hingga mendidih. Ketika telah homogen, pH larutan media diukur dengan kisaran pH 5,6

sampai 5,8. Penanaman Eksplan dilakukan dengan cara memotong daun muda yang sudah disterilkan dengan menggunakan gunting dan pinset kedalam *petridish*. Kemudian hasil potongan gambir ditanam 1 eksplan pada setiap botol kultur.

Parameter pengamatan yaitu hari muncul kalus, persentase eksplan berkalus, warna kalus, dan tekstur kalus. Data dianalisis menggunakan Analisis of Variance (ANOVA). Jika terdapat perbedaan nyata, pengujian dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) pada taraf 5% menggunakan program SAS versi 9.1.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hari Muncul Kalus (HST)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi antara pemberian NAA dan BAP memberikan pengaruh yang sangat nyata pada hari muncul kalus. Rata-rata hari muncul kalus dengan pemberian NAA dan BAP dapat dilihat pada Tabel 1. Pengamatan induksi kalus eksplan daun gambir dengan penambahan NAA dan BAP pada konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1.

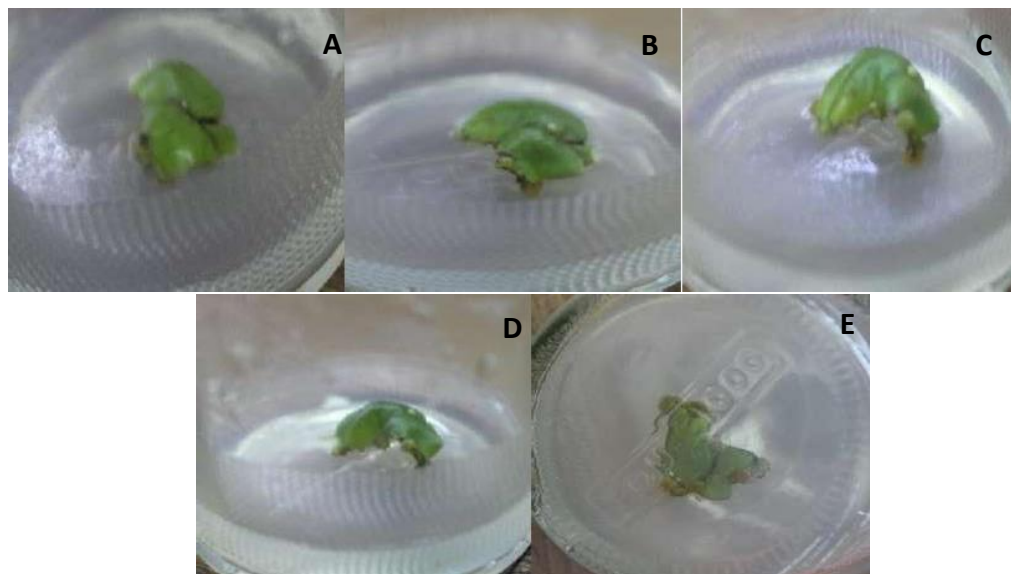
Tabel 1. menunjukkan bahwa rata-rata hari muncul kalus dengan pemberian NAA dan BAP yaitu 15,1-28,1 HST. Waktu muncul kalus tercepat pada perlakuan 0,5 mg/L NAA dan 1,5 mg/L BAP yaitu rata-rata 15,1 HST yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,25 mg/L NAA dan 2,25 mg/L BAP yakni 15,7 HST namun berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena kombinasi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang diberikan pada media kultur. Kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat dapat mempercepat dalam menginduksi sel-sel dalam eksplan untuk membelah secara terus menerus sehingga kalus terbentuk lebih cepat daripada diberikan secara tunggal maupun kontrol (Nuha, 2022). Penelitian ini sejalan dengan penelitian Umrotin (2018) bahwa waktu muncul kalus delima hitam dengan konsentrasi 0,5 mg/L NAA + 1 mg/L BAP adalah 15 HST. Sejalan dengan penelitian Hassan dkk. (2012) pada tanaman *Paderia foetida* L. (Famili *Rubiaceae*) dengan kombinasi 0,5-2.0 mg/L BAP dan 0,1-0,5 mg/L NAA dapat membentuk kalus pada 15 HST.

Tabel 1. Hari Muncul Kalus (HST) Eksplan Gambir Pakpak Bharat

NAA (mg/L)	BAP (mg/L)			
	0	0,75	1,5	2,25
0	28,10 <sup>a</sup>	18,80 <sup>defgh</sup>	16,20 <sup>hi</sup>	16,90 <sup>ghi</sup>
0,25	17,90 <sup>efghi</sup>	22,20 <sup>c</sup>	20,60 <sup>cde</sup>	15,70 <sup>i</sup>
0,5	19,20 <sup>defg</sup>	19,80 <sup>cdef</sup>	15,10 <sup>i</sup>	20,50 <sup>c</sup>
0,75	21,40 <sup>cd</sup>	25,40 <sup>b</sup>	17,90 <sup>e</sup>	17,20 <sup>f</sup>
1	18,70 <sup>d</sup>	21,50 <sup>cd</sup>	17,10 <sup>f</sup>	19,50 <sup>c</sup>

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf  $p < 0,05$

Pada perlakuan kontrol pada penelitian ini dapat memunculkan kalus di 28,1 HST, perlakuan kontrol tersebut sejalan dengan penelitian Utomo (2023) pada eksplan daun gambir bahwa media kontrol berhasil membentuk kalus pada 24,76 HST. Pada 15 HST beberapa perlakuan mulai terjadi pembengkakan masa sel dan akhirnya menjadi gumpalan kalus terutama pada daerah pelukaan. Hal ini diduga merupakan respon eksplan menutup luka dengan membentuk jaringan baru.



Gambar 1. Eksplan Berkalus A) 14 HST, B) 28 HST, C) 42 HST, D) 56 HST, E) Tampak bawah

Pembentukan kalus diawali dengan adanya pembengkakan pada bekas irisan di permukaan eksplan, kemudian diikuti dengan munculnya kalus berwarna putih dengan butiran-butiran halus. Sejalan dengan pernyataan Afyiah et al. (2022) pertumbuhan kalus ditandai dengan adanya perkembangan dan terdapat jaringan berwarna putih kehijauan pada permukaan eksplan. Terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsangan luka yang menyebabkan keseimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir keluar sehingga mulai terbentuknya kalus (Wahyuni dkk., 2020). Menurut Muspiah dkk. (2023) terbentuknya kalus pada eksplan disebabkan sel-sel yang kontak dengan media terdorong menjadi meristematis yang aktif membelah namun tidak terdiferensiasi. Pertumbuhan terbaik ditandai dengan munculnya gumpalan sel dan paling banyak yang tampak pada media dengan perlakuan 0,5 mg/L NAA dan 1,5 mg/L BAP. Menurut Sukmawati dkk. (2023) salah satu jenis auksin sintetik (NAA) dapat membantu pembelahan sel, pemanjangan sel, dan diferensiasi sel. BAP mempunyai sifat mudah ditranslokasikan, aktif merangsang pertumbuhan kalus, dan aktif dalam meregenerasi kalus maupun tunas (Nuha, 2022).

Perpaduan kedua kombinasi ZPT ini jika dilihat dari kalus yang terbentuk dapat dikatakan masih merupakan konsentrasi perbandingan yang standar untuk pembentukan kalus meskipun konsentrasi BAP lebih tinggi. Jika perbandingan NAA lebih tinggi dari BAP

maka pertumbuhan akan mengarah pada pembentuk kalus. Namun, dalam penelitian ini, sitokinin dapat mendorong pertumbuhan kalus lebih tinggi yang berbeda dengan pernyataan Afiyah et al. (2022) bahwa konsentrasi auksin lebih tinggi dari sitokinin mendorong eksplan membentuk kalus, tetapi apabila konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin maka akan mendorong eksplan membentuk tunas.

Kombinasi yang paling lama muncul kalusnya yakni 0,75 mg/L NAA + 0,75 mg/L BAP yakni 25,4 HST, meskipun kombinasi yang digunakan seimbang, namun belum mampu mempercepat waktu induksi kalus. Hal ini diduga karena perbandingan auksin dan sitokinin endogen di dalam jaringan eksplan daun gambir tidak seimbang, sehingga pemberian perlakuan ZPT eksogen dalam konsentrasi tertentu dapat menyebabkan rasio auksin dan sitokinin seimbang. Keseimbangan konsentrasi juga dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan (Muspiah dkk., 2023). Pembentukan kalus juga bergantung pada jenis eksplan yang digunakan, komposisi media kultur, dan kandungan hormon endogen pada eksplan (Wahyuni dkk., 2020). Menurut Sukanto dkk. (2017) jika konsentrasi terlalu rendah maka tidak mampu menginduksi kalus, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan dan jika konsentrasi yang diberikan tidak seimbang maka interaksi kedua zat pengatur tumbuh tidak cocok untuk merangsang pembentukan kalus. Konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi dapat menghambat pembentukan kalus akibat ketidakseimbangan hormon endogen dan eksogen (George dkk., 2008).

### **Persentase Eksplan Berkalus (%)**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan NAA dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan berkalus, serta tidak terdapat interaksi antara perlakuan NAA dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus. Hal ini diduga karena kombinasi NAA dan BAP belum menunjukkan pengaruh terhadap kemampuan induksi kalus secara kuantitatif, namun mempengaruhi dinamika fisiologis jaringan yang terlihat pada kecepatan pembentukan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan hormon lebih berperan dalam mempercepat respon dediferensiasi sel. Hal ini sejalan dengan penelitian Carbajal & Milla-Lewis (2025) yang menunjukkan bahwa kombinasi hormon yang seimbang meningkatkan dediferensiasi jaringan dan pertumbuhan awal kalus, sementara perubahan konsentrasi sitokinin tertentu tidak selalu menghasilkan perbedaan yang nyata pada persentase induksi kalus. Rata-rata eksplan berkalus dengan pemberian perlakuan NAA dan BAP dapat dilihat Tabel 2.

Pada Tabel 2. dapat dilihat bahwa pada rata-rata eksplan berkalus dengan pemberian NAA yaitu 62,5-72,5 % kalus dan rata-rata eksplan berkalus dengan perlakuan BAP yaitu 62-72 % kalus.

Tabel 2. Persentase Eksplan Berkalus Eksplan Gambir Pakpak Bharat (%)

Perlakuan	Persentase Eksplan Berkalus (%)
NAA (mg/L)	
Kontrol	65,00
0,25	72,50
0,50	70,00
0,75	62,50
1,00	70,00
BAP (mg/L)	
Kontrol	62,00
0,75	68,00
1,50	70,00
2,25	72,00

Eksplan berkalus tertinggi terdapat pada BAP 2,25 mg/L yaitu 72% namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Lailani & Kuswandi (2023) bahwa perlakuan terbaik pada induksi kalus porang dengan 2 mg/L BAP. BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang aktif terhadap pertumbuhan dan proliferasi kalus. Umrotin (2018) menyatakan bahwa BAP merupakan salah satu jenis sitokinin sintetik yang daya rangsangannya lebih lama sehingga tidak mudah dirombak oleh adanya enzim dalam tanaman. BAP memiliki struktur yang mirip dengan kinetin dan aktif dalam pertumbuhan maupun proliferasi kalus, sehingga BAP merupakan jenis sitokinin yang paling aktif.

### Warna Kalus

Hasil analisis warna kalus secara visual dengan berbagai taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP menghasilkan beberapa variasi warna kalus, seperti pada gambar 2. Hasil induksi kalus eksplan daun gambir asal Pakpak Bharat dengan penambahan ZPT NAA dan BAP pada konsentrasi yang berbeda, menghasilkan warna kalus yang berbeda, yaitu putih kehijauan, putih kekuningan, dan putih kecoklatan. Hal ini sejalan dengan penelitian induksi kalus gambir oleh Utomo (2023) menghasilkan warna kalus seperti putih kekuningan dan putih kehijauan.



Gambar 2. A) Putih Kehijauan, B) Putih Kekuningan, C) Putih Kecoklatan

Pada tabel 3. Menunjukkan bahwa perlakuan kontrol menghasilkan 40% kalus putih kehijauan dan pada perlakuan NAA secara tunggal menghasilkan warna putih kehijauan, putih kekuningan, dan putih kecoklatan. Penelitian induksi kalus stevia oleh (Buana, 2018) dengan pemberian 2 mg/L NAA secara tunggal memperoleh kalus berwarna hijau. Penelitian induksi kalus oleh Jannah & Nurhidayah (2024) pada tanaman *Sansevieria downsii* dengan penambahan ZPT NAA 1 mg/L dan BAP 0 mg/L menghasilkan kalus berwarna kuning. Perbedaan warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan jaringan yang berbeda, di mana warna hijau mengindikasikan adanya klorofil dalam jaringan, dan semakin hijau warna kalus maka semakin tinggi kandungan klorofil (Faramayuda dkk., 2022). Menurut Ramadhan & Habibah (2023) warna kehijauan dipengaruhi oleh pembentukan klorofil dari perlakuan Cahaya dan degradasi klorofil dan sitokinin.

Tabel 3. Persentase Warna Kalus (%)

NAA	Warna Kalus	BAP			
		0 mg/L	0,75 mg/L	1,5 mg/L	2,25 mg/L
0 mg/L	Putih Kehijauan	40	50	20	70
	Putih Kekuningan	20	0	30	10
	Putih Kecoklatan	0	10	10	0
0,25 mg/L	Putih Kehijauan	0	50	30	50
	Putih Kekuningan	60	10	10	0
	Putih Kecoklatan	10	10	40	10
0,5 mg/L	Putih Kehijauan	0	50	10	40
	Putih Kekuningan	60	10	50	10
	Putih Kecoklatan	10	10	0	20
0,75 mg/L	Putih Kehijauan	10	60	50	50
	Putih Kekuningan	40	0	0	10
	Putih Kecoklatan	10	0	20	0
1 mg/L	Putih Kehijauan	10	20	40	50
	Putih Kekuningan	40	40	20	20
	Putih Kecoklatan	10	10	10	20

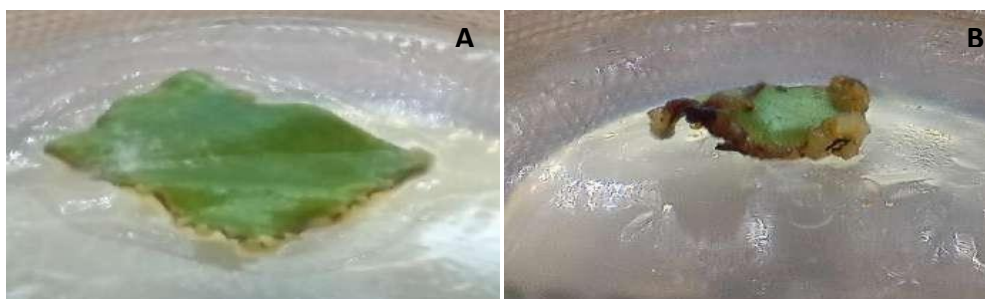
Pada penelitian ini penambahan NAA 0,5 mg/L dan BAP 1,5 mg/L mengindikasikan warna kalus putih kekuningan 50%. Perubahan warna kalus putih kekuningan merupakan warna kalus yang baik karena menunjukkan sel kalus masih aktif (Muna dkk., 2022), serta mengandung kloroplas yang tinggi (Silvina dkk., 2021). Umumnya senyawa metabolit sekunder mulai terbentuk pada awal fase stasioner, dimana jumlah dan ukuran sel konstan stabil. Namun pada beberapa tanaman, produksi metabolit sekunder bisa juga terjadi di fase pertengahan sampai fase akhir eksponensial. Menurut Purnamaningsih & Ashrina (2011) warna kalus kekuningan menunjukkan bahwa kalus tersebut diduga juga mengandung klorofil dan menunjukkan adanya trikoma glandular yang merupakan tempat terakumulasinya metabolit skunder, sehingga pada fase eksponensial masih dimungkinkan terjadinya aktivitas sintesis matabolit skunder. Jika sebaliknya terjadi perubahan warna kalus menjadi kecoklatan/

*browning*, kemungkinan besar pertumbuhan dan perkembangan kalus tersebut telah memasuki fase stasioner (penuaan).

Auksin dapat merangsang pembelahan sel dan pembentukan kalus, namun akumulasi senyawa fenolik akibat stres jaringan dapat menyebabkan kalus mengalami pencoklatan melalui proses oksidasi (Jones & Saxena, 2013). Pemberian sitokinin dapat mempengaruhi pembelahan sel, dan sintesis klorofil, yang awalnya membuat kalus berwarna hijau kuning. Namun, seiring bertambahnya umur kalus dan adanya stres, seperti cekaman oksidatif, terjadi akumulasi senyawa fenolik yang teroksidasi sehingga menyebabkan pencoklatan. Perubahan ini terkait dengan akumulasi klorofil dan sintesis senyawa fenolik, yang dapat menunjukkan stres atau penuaan pada sel (Rismayanti & Nafi'ah, 2021). Warna kalus kecoklatan memiliki ciri adanya penuaan sel pada kalus. Semakin gelap (coklat) warna kalus menandakan bahwa menurunnya pertumbuhan suatu kalus (Nuha, 2022). Selain itu, semakin bertambahnya umur sel juga berkontribusi pada perubahan warna pada kalus. Menurut Rismayanti & Nafi'ah (2021) bahwa hilangnya regenerasi kalus ditandai dengan perubahan morfologi kalus yang semakin longgar, warna kalus yang berubah dari kuning menjadi kuning kecoklatan dan menjadi coklat.

### **Tekstur kalus**

Hasil analisis deskriptif parameter tekstur kalus dengan berbagai taraf konsentrasi ZPT NAA dan BAP menghasilkan beberapa tekstur kalus seperti pada Gambar 3. Tekstur kalus yang terbentuk dari eksplan daun gambir dengan penambahan ZPT NAA dan BAP pada konsentrasi yang berbeda memiliki tekstur yang beragam dapat dilihat pada Gambar 4. Adapun tekstur kalus yang dihasilkan yaitu tekstur remah dan tekstur kompak. Sejalan dengan penelitian induksi kalus gambir varietas cubadak oleh (Kasiyanto, 2025) menghasilkan tekstur kalus remah dan kompak. Pada tabel 4. menunjukkan persentase tekstur kalus gambir dengan penambahan NAA dan BAP.



Gambar 3. A) Kalus Remah, B) Kalus Kompak

Tabel 4. menunjukkan bahwa rata-rata tekstur kalus remah dengan pemberian ZPT NAA dan BAP yaitu 0-60% kalus. Jumlah rata-rata tekstur kalus remah terbanyak terdapat pada interaksi NAA 0,5 mg/L dan BAP 1,5 mg/L yaitu 60%. Sejalan dengan penelitian

Purnamaningsih & Ashrina (2011) pada induksi kalus *Artemesia annua* L dengan penambahan NAA 0,5 mg/L dan BAP 1 mg/L menghasilkan tekstur kalus remah. Penelitian Igbiosa dkk. (2024) pada tanaman *Dennettia tripetala* dengan kombinasi NAA 0,5 mg/L dan BAP 1 mg/L menghasilkan tekstur kalus remah.

Tabel 4. Persentase Tekstur Kalus (%)

NAA (mg/L)	Tekstur Kalus	BAP (mg/L)			
		0 mg/L	0,75 mg/L	1,5 mg/L	2,25 mg/L
0 mg/L	Remah	60	10	20	20
	Kompak	0	50	40	60
0,25 mg/L	Remah	60	20	30	10
	Kompak	10	50	50	50
0,5 mg/L	Remah	60	40	60	30
	Kompak	0	30	10	40
0,75 mg/L	Remah	60	60	10	10
	Kompak	0	0	60	50
1 mg/L	Remah	60	60	10	30
	Kompak	0	10	60	40

Kalus remah ini bertekstur berupa komponen sel-selnya lunak, tampak tidak padat, serta pemisahan kalusnya terlihat mudah. Terbentuknya kalus yang memiliki tekstur remah di dorong oleh auksin endogen yang dihasilkan dari eksplan dan media tanam yang memiliki kandungan auksin eksogen (Rahmanissa N dkk., 2022). Menurut (Budaya dkk., 2022) menyatakan bahwa kandungan auksin endogen pada tanaman Rubiaceae cukup tinggi. Kalus remah ini terjadi melalui proses pertumbuhan yang mengarah pada pembentuk sel-sel yang berukuran kecil dan berikatan longgar. Kandungan NAA dalam media menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastisitas dinding sel menjadi longgar sehingga air dapat masuk ke dalam dinding sel dengan cara osmosis dan sel mengalami pemanjangan, sehingga kalus mengandung banyak air dan belum mengalami lignifikasi (Muliati dkk., 2017). Kalus yang bertekstur remah memudahkan upaya perbanyak jumlah (massa) kalus melalui kultur suspensi (Rasud & Bustaman, 2020).

Tabel 4. menunjukkan bahwa rata-rata tekstur kalus kompak dengan pemberian ZPT NAA dan BAP yaitu 0-60% kalus. Jumlah rata-rata tekstur kalus kompak terbanyak terdapat pada perlakuan NAA 1 mg/L dan BAP 1,5 mg/L yaitu 60%. Sesuai dengan penelitian Jannah & Nurhidayah (2024) pada tanaman *Sensevieria downsii* dengan perlakuan NAA 1 mg/L dan BAP 1 mg/L menghasilkan tektur kalus kompak. Hal ini disebabkan karena tingginya sitokinin (BAP) dapat mempengaruhi terbentuknya kalus kompak. Hal ini sesuai dengan Muliati dkk. (2017) menyatakan bahwa tekstur kalus kompak merupakan efek dari sitokinin yang tinggi sehingga mempengaruhi potensial air dalam sel.

Kalus kompak memiliki struktur sel yang rapat, padat, dan tidak mudah dipisahkan karena tersusun atas sel-sel kecil dengan ikatan kuat (Julianti et al., 2021). Menurut Junairiah

dkk. (2021) tekstur kalus kompak disebabkan karena adanya sitokinin yang berperan dalam proses transfer unsur hara. Proses ini menimbulkan tekanan turgor yang memungkinkan terjadinya osmosis nutrisi dan air dalam media ke dalam sel menyebabkan terjadinya lignifikasi (dinding sel akan menjadi lebih kaku) serta menghasilkan kalus kompak. Kalus yang menjadi sumber metabolit sekunder yakni kalus kompak, karena memiliki kemampuan akumulasi yang tinggi dibandingkan kalus remah (Dzaroini, 2019). Tekstur kalus kompak memungkinkan penyerapan nutrisi yang lebih efisien dan meningkatkan stabilitas metabolit sekunder. Namun, kalus yang kompak mempunyai tekstur yang sulit dipisahkan dan terlihat padat. Kalus tipe ini cenderung mengalami pembelahan sel yang lambat (Silvina dkk., 2021). Sebaliknya, kalus tekstur remah dikategorikan baik karena mudah dalam memisahkannya menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, selain itu juga dapat meningkatkan aerasi oksigen antar sel (Rasud & Bustaman, 2020). Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu ingin diperoleh lebih cepat dicapai (Syahid dkk., 2010).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa:

1. NAA 0,5 mg/L merupakan konsentrasi terbaik untuk induksi kalus gambir yaitu waktu muncul pada 19,2 HST dengan warna putih kekuningan 60%, dan bertekstur 70% remah.
2. BAP 1,5 mg/L merupakan konsentrasi terbaik untuk induksi kalus gambir yaitu waktu muncul pada 17,50 HST dengan warna putih kekuningan 30%, dan bertekstur 20% remah.
3. Kombinasi NAA 0,5 mg/L dan BAP 1,5 mg/L merupakan konsentrasi terbaik untuk induksi kalus gambir yaitu waktu muncul pada 15,1 HST dengan warna putih kekuningan 50%, dan bertekstur 60% remah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afiyah, N., Surya, M. I., Ismaini, L., Azizah, E., & Saputro, N. (2022). Inisiasi Kalus secara In Vitro dari Daun *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. *Buletin Kebun Raya*, 25(3), 121–130. <https://doi.org/10.55981/bkr.2022.201>
- Aguilar-Camacho, M., Gómez-Sánchez, C. E., Cruz-Mendivil, A., Guerrero-Analco, J. A., Monribot-Villanueva, J. L., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2023). Modeling the growth kinetics of cell suspensions of *Randia echinocarpa* (Rubiaceae) and characterization of their bioactive phenolic compounds. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 155(3), 785–796. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02599-z>
- BPS. (2021). *Luas Tanaman dan Produksi Gambir Tanaman Perkebunan Rakyat menurut Kabupaten/Kota*. Badan Pusat Statistik Provinsi Sumatera Utara. <https://sumut.bps.go.id/id/statistics-table/2/MjEzIzI=/luas-tanaman-dan-produksi-gambir->
- Buana, A. S. (2018). Induksi Kalus *Stevia Rebaudiana* Bertoni M. dengan Pemberian Kombinasi ZPT NAA (Naphtalene asetic acid), 2,4-D (2,4 Diclorophenoxy asetic acid)

- dan BAP (Benzil Amino Purin). *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, 1(2), 78–83. <https://doi.org/10.33379/gtech.v1i2.272>
- Budaya, M. S., Mursyanti, E., & Yuda, P. (2022). Transformasi Genetik pada Kalus Embriogenik Tanaman Suku Rubiaceae. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 94–107. <https://doi.org/10.24002/biota.v7i2.5550>
- Carbajal, E. M., & Milla-Lewis, S. R. (2025). Influence of auxin and cytokinin concentrations on callus induction, subculture growth, and somatic embryogenesis for plant regeneration in zoysiagrass (*Zoysia* spp.). *Grass Research*, 6(1). <https://doi.org/10.48130/grares-0025-0034>
- Dhalimi, A. (2006). Permasalahan Gambir (*Uncaria gambir* L.) di Sumatera Barat dan Alternatif Pemecahannya. *Perspektif*, 5(4), 46–59.
- Direktorat Jendral Kekayaan Intelektual Kementerian Hukum dan Ham RI. (2024). *Periksa Gambir Simsim, Tim Ahli Indikasi Geografis Sambangi Kabupaten Pakpak Bharat*. <https://www.dgip.go.id/artikel/detail-artikel-berita/periksa-gambir-simsim-tim-ahli-indikasi-geografis-sambangi-kabupaten-pakpak-bharat?kategori=liputan-hums>
- Dzaroini, R. A. (2019). *Induksi kalus daun Mangkokan (Nothopanax Scutellarium Merr.) menggunakan zat pengatur tumbuh NAA (Naphtalene Acetic Acid) dan BAP (6-Benzyl Amino Purine) melalui teknik In Vitro* [Undergraduate, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/17195/>
- Fadhilah, N., Noli, Z., & Wire, S. (2015). Induksi kalus *Artemisia vulgaris* L. dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid(2,4-D). *Jurnal Biologi UNAND*, 4(2), 216–222. <https://doi.org/10.25077/jbioua.4.4.216-222.2015>
- Faramayuda, F., Irwan, M., & Syam, A. K. (2022). The Growth of Pimpinella Alpina Host Callus at Various Treatments of Plant Growth Regulator Concentrations of NAA, 2,4 D and Its Combination with BAP. *Agric*, 34(2), 171–182. <https://doi.org/10.24246/agric.2022.v34.i2.p171-182>
- Fitriawati. (2020). *Pengaruh Beberapa Konsentrasi Bap Dan Sumber Eksplan Terhadap Induksi Tunas Gambir (Uncaria gambir (Hunter Roxb)* [Skripsi, Universitas Andalas]. (Padang).  
//103.151.89.140%2F%3Fp%3Dshow\_detail%26id%3D152371%26keywords%3D
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G.-J. D. (Ed.). (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture* (3 ed.). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Hassan, A., Roy, C. K., Sultana, R., & Khatun, R. (2012). Callus induction and plant regeneration of *paederia foetida* L., a widely used medicinal vine in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 47(4), 373–378. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v47i4.14066>
- Igbinosa, I. O., Oboho, E. G., Ogedegbe, S. A., & Osakue, R. I. (2024). Evaluation of In-vitro Response of *Dennettia tripetala* (Pepper Fruit) Bak. F. Seedlings as Shoot Explants to a Combination of Plant Growth Regulators. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 28(6), 1885–1889. <https://doi.org/10.4314/jasem.v28i6.29>
- Isromarina, R., Rosa, E., & Rusli, D. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* ATCC 14033. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 4(1). <https://ejournal.stifibp.ac.id/index.php/jibf/article/view/46>
- Jannah, I., & Nurhidayah, T. (2024). Pengaruh Posisi Daun dan Kombinasi BAP dengan NAA Terhadap Perkembangan Eksplan Jaringan Daun *Sansevieria downsii*. *JURNAL AGROTROPIKA*, 23(2), 257–269. <https://doi.org/10.23960/ja.v23i2.8473>
- Jones, A. M. P., & Saxena, P. K. (2013). Inhibition of Phenylpropanoid Biosynthesis in *Artemisia annua* L.: A Novel Approach to Reduce Oxidative Browning in Plant Tissue Culture. *PLOS ONE*, 8(10), e76802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076802>
- Junairiah, J., Wulandari, D. A., Utami, E. S. W., & Zuraidassanaaz, N. I. (2021). Callus induction and secondary metabolite profile from *Elephantopus scaber* L. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(1), 59234. <https://doi.org/10.22146/jtbb.59234>

- Kasianto, W. (2025). *Induksi Kalus Tanaman Gambir (Uncaria gambir Roxb) Varietas Cubadak dengan Pemberian NAA dan BAP Secara In Vitro* [Skripsi, UIN Sultan Syarif Kasim Riau]. <https://repository.uin-suska.ac.id/86711/>
- Kementerian Koordinator Bidang Perekonomian Republik Indonesia. (2021). *Komoditas Gambir Indonesia Unggul di Mancanegara*. <https://www.ekon.go.id/publikasi/detail/3116/komoditas-gambir-indonesia-unggul-di-mancanegara>
- Lailani, Z. I., & Kuswandi, P. C. (2023). Pengaruh Penambahan BAP terhadap Induksi Kalus Tanaman Porang Secara In Vitro. *Kingdom (The Journal of Biological Studies)*, 9(1), 45–55. <https://doi.org/10.21831/kingdom.v9i1.18481>
- Lidar, S., Mutryarny, E., & Wulantika, T. (2018). Variabilitas Fenotipik Tanaman Gambir di Desa Tanjung, Kecamatan Koto Kampar Hulu Kabupaten Kampar. *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 15(1), 51–56. <https://doi.org/10.31849/jip.v15i1.1490>
- Mok, P.-K., & Ho, W.-S. (2019). Rapid in vitro Propagation and Efficient Acclimatisation Protocols of *Neolamarckia cadamba*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 18(4), 153–163. <https://doi.org/10.3923/ajps.2019.153.163>
- Muliati, M., Nurhidayah, T., & Nurbaiti, N. (2017). Pengaruh NAA, BAP dan Kombinasinya pada Media MS terhadap Perkembangan Eksplan *Sansevieria macrophylla* SECARA In Vitro. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau*, 4(1), 1–13.
- Muna, A., Suharyanto, S., & Sasongko, A. B. (2022). Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. Dengan Variasi Eksplan dan Zat Pengatur Tumbuh. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 14(1), 16–23.
- Munggari, I. P., Kurnia, D., Deawati, Y., & Julaeha, E. (2022). Current Research of Phytochemical, Medicinal and Non-Medicinal Uses of *Uncaria gambir* Roxb.: A Review. *Molecules*, 27(19), 6551. <https://doi.org/10.3390/molecules27196551>
- Muspiah, A., Mulyaningsih, T., & Prasedya, E. S. (2023). Propagation of *Gaharu* Plant *Gyneros Versteegii* Species Provenant Beringin Throught in Vitro Culture. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 133–137. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.4796>
- Nuha, A. A. (2022). *Pengaruh berbagai konsentrasi Naa dan Bap terhadap induksi kalus daun porang (amarphopallus muelleri blume) secara in vitro* [Undergraduate, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/36268/>
- Purnamaningsih, R., & Ashrina, M. (2011). Pengaruh Bap Dan Naa Terhadap Induksi Kalus Dan Kandungan Artemisinin Dari *Artemisia Annu L.* [the Effect of Bap and Naa on Callus Induction and Artemisinin Content of *Artemisia Annu L.*]. *Berita Biologi*, 10(4), 59526. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v10i4.766>
- Rahmanissa N, S., Rahmawati, M., Kesumawati, E., & Kuala, F. P. U. S. (2022). *Induksi Kalus Tanaman Nilam (Pogostemon cablin Benth,) Menggunakan Benzyl Amino Purine dan Naphtalene Acetic Acid Secara In Vitro*. <https://agris.fao.org/search/en/providers/125441/records/67bd9cb97a9727816ad36279>
- Ramadhan, T. R., & Habibah, N. A. (2023). Induksi Kalus dari Eksplan Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L var. Bima Brebes) Dengan Penambahan BAP dan Pikloram. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 46(2), 53–60. <https://doi.org/10.15294/ijmns.v46i2.47250>
- Rasud, Y., & Bustaman, B. (2020). In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzigium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Rismayanti, A. Y., & Nafi'ah, H. H. (2021). Modifikasi Media Pada Induksi Kalus Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Berbuah Kuning. *Jurnal Agro Wiralodra*, 4(2), 42–49. <https://doi.org/10.31943/agrowiralodra.v4i2.60>
- Sukamto, D. S., Maharani, L., & Lestari, I. P. (2017). Perbandingan Konsentrasi ZPT (BAP dan NAA) Pada Media MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Muda Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). *Bionature*, 18(2), 123–128. <https://doi.org/10.35580/bionature.v18i2.6143>

- Sukmawati, F. N., Pamungkas, S. S. T., Tusrianto, T., Laila, A., & Pramudya, Y. (2023). Morphological Characteristic Of Vierul Local Grape (*Vitis* spp.) Cutting Seeds On Podzolic Soil Using Various Concentration Of Auxin Soak. *Agric*, 35(1), 115–132. <https://doi.org/10.24246/agric.2023.v35.i1.p115-132>
- Syahid, S. F., Balai Penelitian Tanaman Obat dan AromatikJl. Tentara Pelajar No. 3, B. 16111, Kristina, N. N., Balai Penelitian Tanaman Obat dan AromatikJl. Tentara Pelajar No. 3, B. 16111, Seswita, D., & Balai Penelitian Tanaman Obat dan AromatikJl. Tentara Pelajar No. 3, B. 16111. (2010). *Pengaruh Komposisi Media Terhadap Pertumbuhan Kalus Dan Kadar Tannin Dari Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) Secara In Vitro*. <https://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/1570>
- Umrotin, E. (2018). *Pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh Naa dan Ba terhadap induksi kalus metabolit delima hitam (Punica granatum L. var.) secara in vitro* [Undergraduate, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/13277/>
- Utomo, A. T. G. (2023). *Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Gambir (Uncaria gambir (Hunter) Roxb.) Secara In Vitro* [Skripsi, Universitas Andalas]. <https://agroteknika.id/index.php/agtk/article/view/263>
- Velayutham, S. S., C, K., & C, B. P. (2019). Rapid and mass multiplication of Oldenlandia umbellata L. from the leaf explants through callus culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 3779–3783.
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39–44. <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>