

Induksi kalus daun binahong (*Anredera cordifolia* L.) dalam upaya pengembangan tanaman obat tradisional

(Callus induction of binahong leaves (*Anredera cordifolia* L.) for the development of traditional medicinal plant)

Lili Sugiyarto* dan Paramita Cahyaningrum Kuswandi**

Juridik Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta (UNY),
Kampus Karangmalang, Sleman, DI Yogyakarta 55281

tel. 081331946350*, faks. (0274) 548203 dan e-mail: liloels@gmail.com*, paramita@uny.ac.id**

diterima 2 Desember 2013, disetujui 3 Februari 2014

Abstrak

Salah satu tanaman yang memiliki prospek yang cukup bagus dalam proses pengembangan dan budidayanya sebagai tanaman obat adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* L.). Metabolit sekunder telah banyak digunakan sebagai zat warna, pewarna makanan, dan obat-obatan. Induksi kalus melalui metode kultur jaringan digunakan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang kadarnya lebih tinggi daripada diambil langsung dari tanamannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menginduksi kalus daun binahong pada beberapa variasi konsentrasi ZPT pada media MS (*Murashige and Skoog*). Metode yang digunakan dengan perbanyakkan kalus dengan sumber eksplan daun binahong dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Eksplan daun ditanam pada media MS yang mengandung konsentrasi 2,4 D berbeda (1;2;3ppm), 0,5ppm IBA+0,5ppm BAP; 0,5ppm IBA+1,0 ppm BAP ; 1,0 ppm IBA+0,5 ppm BAP, masing-masing 15 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan penambahan 2,4-D (konsentrasi 1 dan 2 ppm) mampu menginduksi kalus daun binahong pada hari ke-3 dan ke-5 setelah tanam (hst), kontrol pada hari ke-10 sedangkan perlakuan kombinasi di atas 10 hst. Pada media 2,4-D (1 dan 2 ppm), kalus yang dihasilkan berwarna putih bening, kompak dan berair, media 2,4-D 3 ppm kalusnya berwarna putih dan remah, sedangkan kalus yang terbentuk pada media kombinasi IBA dan BAP berwarna hijau dan kompak. Rerata diameter tertinggi selama 8 minggu pada media 2,4-D 1 ppm mencapai 2,07 cm, diikuti 3 ppm dan 2 ppm sekitar 1,8 cm, sedangkan pada media kombinasi diameter kalus kurang dari 0,3 cm. Persentase terbentuknya kalus tertinggi pada media 2,4-D 1ppm dan kombinasi 0,5ppm IBA + 0,5 ppm BAP yaitu 100%, sedangkan terendah pada kontrol yaitu 20%. Pertumbuhan kalus optimal pada minggu ke-3 untuk semua perlakuan, sedangkan memasuki minggu ke-4 eksplan yang muncul kalus mengalami penurunan dan ada yang stagnan (tetap). Hasil analisis ANOVA persentase eksplan yang muncul kalus pada beberapa media perlakuan yang digunakan pada penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Kata kunci: induksi, daun binahong, kalus, zpt

Abstract

A plant that has a good prospect in the development and cultivation as medicinal plant is binahong (*Anredera cordifolia* L.). Secondary metabolites have been used as coloring substance, food coloring, and medicine. Callus induction using tissue culture has been used to produce secondary metabolite with a higher concentration than obtained directly from the plant. The aim of this research was to induce callus from the leaf of Binahong using various concentrations of Plant Growth Hormones in MS media. The method used in the propagation of callus used the leaf explant of binahong with Completely Randomized Design (CRD). The leaf explants were planted on MS media with different 2,4-D concentrations (1;2;3 ppm), 0,5ppm IBA+0,5ppm BAP; 0,5ppm IBA+1,0 ppm BAP; and 1,0 ppm IBA+0,5 ppm BAP, each with 15 repetitions. The result showed that the addition of 2,4-D (1 and 2 ppm) was able to induce callus from Binahong leaves on 3 and 5 days after planting, and also 10 days after planting in the controlled and combination treatment. In the 2,4-D media (1 and 2 pm), the callus produced were watery white and compact, while in the 3 ppm 2,4-D media the callus were white and friable. In the media with a combination of BAP and INA the callus were green and compact. The highest average diameter of the

callus after 8 weeks in the 1 ppm 2,4-D media reached 2.07 cm followed by the 2 ppm and 3 ppm 2,4-D media producing a diameter of 1.8 cm. In the combination media (BAP and IBA), the callus diameter was less than 0.3 cm. The highest percentage of callus formed was in the media MS+1 ppm 2,4-D and a combination of MS +0,5ppm IBA+0,5ppm BAP that reached 100%. The lowest was found in the control (MS) which reached only 20%. The optimum growth of callus was at 3 weeks and after that it declined or stayed stagnant. The result of the analysis of variance (ANOVA) showed that there was no significant difference in the media used in this research.

Key words: induction, binahong leaf, callus, plant growth

Pendahuluan

Binahong (*Anredera cordifolia* L.) merupakan tanaman obat yang potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Di negara Eropa maupun Amerika tanaman ini cukup dikenal, tetapi para ahli belum tertarik untuk meneliti tanaman ini lebih mendalam, padahal berbagi khasiat sebagai obat telah diketahui. Bagian dari tanaman binahong hampir semuanya dapat dimanfaatkan, mulai dari batang, akar, bunga, dan daun, akan tetapi bagian yang banyak digunakan sebagai bahan obat herbal adalah bagian daun [1].

Teknik *in vitro* atau kultur jaringan merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk induksi kalus daun binahong untuk menghasilkan metabolit sekunder. Berdasarkan tekstur dan komposisi sel, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan kalus meremah. Kalus dengan tekstur kompak akan menghasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan kalus dengan tekstur meremah. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari kultur kalus biasanya lebih banyak jenisnya, karena seringkali timbul zat-zat alkaloid atau senyawa-senyawa lain yang sangat berguna untuk pengobatan [2]. Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi kalus daun binahong pada media MS dengan beberapa variasi konsentrasi ZPT. Keberhasilan dari kalus yang terbentuk akan digunakan sebagai sumber eksplan pada penelitian selanjutnya yaitu kultur kalus pada kultur media cair.

Kajian Pustaka

Binahong (*Anredera cordifolia* L.) merupakan tanaman obat yang berpotensi mengatasi berbagai jenis penyakit. Di negara Eropa maupun Amerika tanaman ini cukup dikenal, tetapi para ahli belum tertarik untuk meneliti

tanaman ini lebih mendalam, padahal berbagi khasiat sebagai obat telah diketahui. Bagian dari tanaman binahong hampir semuanya dapat dimanfaatkan, mulai dari batang, akar, bunga, dan daun, akan tetapi bagian yang banyak digunakan sebagai bahan obat herbal adalah bagian daun [1].

Karakteristik pada setiap kalus berbeda-beda, terdapat kalus dengan tekstur lembut (*soft*), dan remah (*friable*), keras dan kompak [3]. Karakteristik kalus sendiri tergantung pada komposisi media pengkulturan, khususnya zat pengatur tumbuh, dan jenis eksplan. Sehingga dari induksi kalus yang dilakukan melalui kultur jaringan inilah nantinya akan didapatkan metabolit sekunder.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. Bahan yang digunakan adalah daun binahong dan media MS (*Murashige and Skoog*). Pembentukan kalus akan ditumbuhkan pada media MS yang mengandung 2,4 D dengan konsentrasi berbeda (1;2;3ppm), 0,5ppm IBA+0,5ppm BAP; 0,5ppm IBA+1,0 ppm BAP ; 1,0 ppm IBA+0,5 ppm BAP, masing-masing 15 ulangan. Sebelum ditanam, terlebih dahulu daun binahong disterilisasi dengan mencuci bersih menggunakan larutan detergen selama 15 menit. Kemudian dibilas hingga bersih menggunakan air mengalir, dan kemudian dimasukkan kedalam erlemmeyer sebelum dimasukkan ke dalam LAF. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan menggunakan alkohol 70%, kemudian dilanjutkan dengan larutan *clorox* 10%. Kemudian eksplan dibilas menggunakan *aquadest* steril sebanyak 3 kali. Data diambil seminggu sekali selama 4 minggu. Variabel-variabel yang diamati adalah : waktu inisiasi

kalus, morfologi kalus, diameter kalus, persentase terbentuknya kalus.

Data bobot persentase eksplan yang muncul kalus dianalisis varian pada menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) jika ada perbedaan antar perlakuan.

Tabel 1. Beberapa konsentrasi ZPT (perlakuan) yang digunakan.

No	Perlakuan	Jumlah eksplan
1	MS	15
2	MS+1 ppm 2,4 D	15
3	MS+2 ppm 2,4 D	15
4	MS+3 ppm 2,4 D	15
5	MS+0,5 ppm IBA+0,5 ppm BAP	15
6	MS+0,5 ppm IBA+1,0 ppm BAP	15
7	MS+1,0 ppm IBA+0,5 ppm BAP	15
Total		105

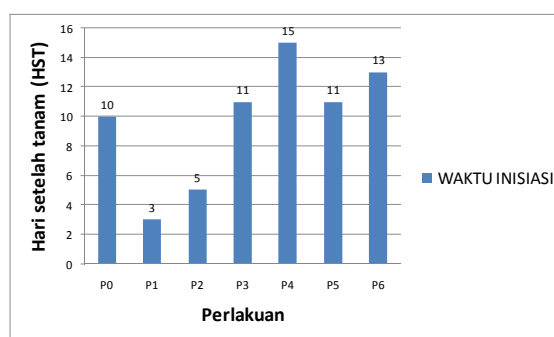
Penelitian telah dilakukan di kebun percobaan dan laboratorium kultur jaringan, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. Bahan yang digunakan adalah biji durian varietas local. Perkecambahan biji dilakukan di kebun percobaan dengan menanam biji di polibag berisi media tanah dan kompos. Untuk perkecambahan biji diperlukan polibag ukuran sedang, media tanam (kompos dan tanah) serta peralatan bercocok tanam. Setelah tunas mulai muncul, nodia dan daun dipindah ke media MS yang mengandung sitokinin BAP. Untuk sterilisasi digunakan bahan-bahan berupa detergen, bakterisida, fungisida, aquades, alkohol 70%, larutan *Clorox* (bayclin) 10%, dan tissue. Aluminium foil dan kertas payung juga digunakan dalam sterilisasi alat-alat. Media yang digunakan adalah MS + 2 ppm BAP dan MS + 4 ppm BAP untuk induksi tunas dari nodia, sedangkan untuk induksi kalus pada daun digunakan media MS dengan tambahan 2,4-D (0,4 ppm, 1ppm, dan 1,5ppm). Dalam perlakuan *in vitro*, dibutuhkan alat-alat berupa botol-botol media dan tutup tahan panas atau *aluminium foil*. Selain itu juga akan digunakan pinset, lampu Bunsen, scalpel, petridish, beaker, *magnetic stirrer*, autoklaf,

timbangan digital, label, dan almari *Laminair air flow* (LAF).

Hasil dan Diskusi

Waktu munculnya kalus

Munculnya kalus pada media 2,4-D 1 ppm adalah 3 hari setelah tanam (hst), diikuti 2,4-D 2ppm 5 hst dan 2,4D 3ppm, sedangkan kalus pada media kontrol muncul pada 10 hst dan media kombinasi IBA dan BAP setelah 10 hst (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik hubungan medium perlakuan dengan hari muncul kalus (hst). Keterangan gambar: Po: MS (kontrol), P1: MS+1ppm 2,4-D, P2: MS+2ppm 2,4-D, P3: MS+3ppm 2,4-D, P4: MS+0,5ppm IBA+0,5ppmBAP, P5: MS+0,5ppmIBA+1ppm BAP, P6: MS+1ppmIBA+0,5ppmBAP.

Penambahan 2,4-D dalam media kultur akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid [4]. Hal serupa juga disampaikan oleh [5], yang menyatakan bahwa 2,4-D dapat menyebabkan elongasi sel, pembengkakan jaringan dan pembentukan kalus. Munculnya kalus pada media 2,4-D 1 ppm adalah 3 hari setelah tanam (hst), diikuti 2,4-D 2ppm 5 hst dan 2,4D 3ppm, sedangkan kalus pada media kontrol muncul pada 10 hst dan media kombinasi IBA dan BAP setelah 10 hst. Senyawa 2,4-D merupakan salah satu jenis auksin yang sangat efektif untuk menginduksi pembentukan kalus seperti yang terjadi pada induksi kalus daun binahong ini. Walaupun auksin yang berperan utama, terkadang sitokinin juga diperlukan untuk proliferasi kalus, namun pada penelitian ini, 2,4-D

yang lebih efektif untuk menginduksi kalus lebih cepat.

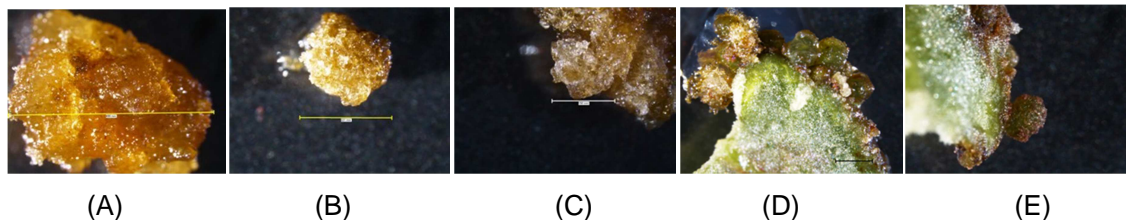
Morfologi kalus (Tipe dan warna)

Tabel 2. Morfologi kalus yang terbentuk.

Media	Tipe kalus	Warna kalus
MS (Kontrol)	kompak	Putih bening,berair
MS + 1 ppm 2,4-D	kompak	Putih bening,berair
MS + 2 ppm 2,4-D	kompak	Putih bening,berair
MS + 3 ppm 2,4-D	remah	Putih
MS + 0,5 ppm IBA + 0,5 ppm BAP	kompak	Hijau
MS + 0,5 ppm IBA + 1 ppp BAP	kompak	Hijau
MS + 1 ppm IBA + 0,5 ppm BAP	kompak	hijau

Pada umur 4 minggu setelah tanam, dengan konsentrasi 2,4-D (1 dan 2 ppm), kalus yang terbentuk berwarna putih bening, berair dan kompak, sedangkan pada konsentrasi 3 ppm kalus yang muncul berwarna putih susu dan remah. Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus yang kompak dan remah. Kalus kompak mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus remah mempunyai tekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak. Perbedaan struktur kalus menimbulkan adanya perbedaan kemampuan memproduksi metabolit sekunder. Menurut Scragg (1994) cit [6], metabolit sekunder akan lebih banyak dihasilkan pada kalus yang dikultur pada kultur cair dibandingkan kultur padat dengan jenis media yang sama. Pada media kombinasi IBA dan BAP, menghasilkan kalus yang kompak dan berwarna hijau. Warna kalus yang hijau disebabkan adanya konsentrasi sitokinin (BAP) dalam media. Sitokinin yang

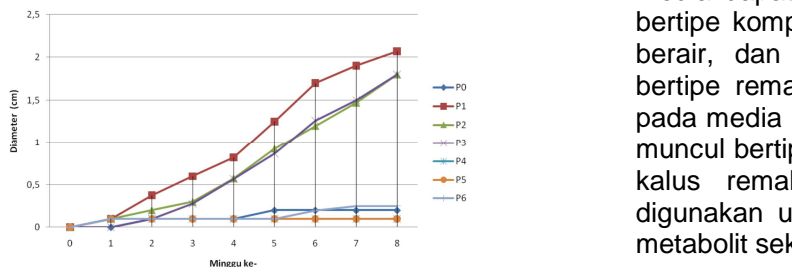
ditambahkan mampu mengaktifkan proses-proses metabolisme dan sintesis protein yang mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil Wattimena (1991) dalam [7]. Penampakan kalus pada media 2,4-D (1 dan 2ppm), awalnya berwarna putih bening hingga minggu ke-4, kemudian memasuki minggu ke-5 warna kalus berubah menjadi coklat muda dan akhirnya kehitaman setelah di subkultur. Hal ini disebabkan adanya metabolisme senyawa fenol yang berlebihan pada jaringan yang mulai terbentuk. Warna kalus yang kecoklatan terdapat pada hampir semua perlakuan yang terbentuk kalus dan sering terangsang akibat sterilisasi eksplan S. Andaryani (2010) dalam [8]. Pada permukaan bawah kalus juga terlihat jaringan yang berair, hal ini karena permukaan bawah langsung bersentuhan dengan media dan berperan sebagai area penyerapan media. Foto kalus pada minggu ke-8 dapat di lihat pada gambar 2.



Gambar 2. Morfologi kalus dengan mikroskop stereo (A). 1 ppm 2,4-D;(B). 2 ppm 2,4-D; (C.) 3 ppm 2,4-D;(D). 1 ppm IBA+0,5 ppm BAP; dan (E). 0,5 ppm IBA+0,5 ppm BAP.

Rerata diameter kalus

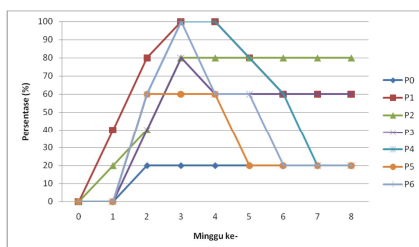
Rerata diameter tertinggi selama 8 minggu pada media 2,4-D 1 ppm mencapai 2,07 cm, diikuti 3 ppm dan 2 ppm sekitar 1,8 cm, sedangkan pada media kombinasi diameter kalus kurang dari 0,3 cm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa 2,4-D sebagai ZPT tunggal mampu menginduksi kalus daun binahong paling banyak dibandingkan yang kombinasi IBA dan BAP. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan, 1 ppm lebih optimal dibandingkan dengan 2 dan 3.



Gambar 3. Grafik rerata diameter kalus selama 8 minggu

Persentase kalus yang muncul

Persentase kalus yang muncul tertinggi pada medium 1 ppm 2,4-D dan kombinasi 0,5 ppm IBA+0,5 ppm BAP yang mencapai 100%, diikuti 2 ppm 2,4-D mencapai 80%, 3 perlakuan media dengan ZPT yang mencapai 60%, dan terakhir kontrol yang hanya 20%. Persentase kalus yang muncul optimal pada minggu ke-3, sedangkan memasuki minggu ke-4 eksplan yang muncul kalus mengalami penurunan dan ada yang stagnan (tetap). Persentase kalus yang rendah pada eksplan daun binahong kebanyakan terkontaminasi oleh bakteri, yang menghambat tumbuhnya kalus, sehingga perlu lebih hati-hati dan meningkatkan kebersihan dan kesterilan bekerja pada waktu di dalam LAF.



Gambar 4. Grafik persentase eksplan yang muncul kalus.

Hasil analisis ANOVA persentase eksplan yang muncul kalus pada beberapa media perlakuan yang digunakan pada penelitian ini juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan

Penambahan 2,4-D (1 dan 2 ppm) dalam media dapat menginduksi kalus daun binahong bertipe kompak dan berwarna putih bening dan berair, dan kalus pada media 2,4-D 3 ppm bertipe remah dan berwarna putih. Sedangkan pada media kombinasi IBA dan BAP, kalus yang muncul bertipe kompak dan berwarna hijau. Tipe kalus remah merupakan kalus yang dapat digunakan untuk kultur sel untuk mendapatkan metabolit sekunder.

Pustaka

- [1] F. Manoi, Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, 15 (1) (2009) pp. 3 – 5.
- [2] D. P. Hendaryono dan A. Wijayani, Teknik Kultur Jaringan, Kanisius, Yogyakarta, 1994.
- [3] E. Thomas dan M. R. Davey, From Single Cell to Plant, Wykehan Publisher Ltd., London, 1975.
- [4] R. Becti, E. Solichatun, dan Anggarwulan, Biofarmasi 1(1) (2003) p. 6.
- [5] R. M. L. Pierik, In Vitro Culture of Higher Plants, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1987, p. 71.
- [6] S. Anas, Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan, Lubuk Agung, Bandung, 2011.
- [7] D. P. Wardani, Solichatun, dan A. D. Setyawan. 2004, Biofarmasi 2(1) (2004) pp. 35-43.
- [8] P. N. Indah dan D. Ermavitalini, Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2 (1) (2013) pp. 2337-3520.

