



**PERTUMBUHAN KALUS DAUN DEWA [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]
DENGAN KOMBINASI 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID DAN KINETIN
SECARA INVITRO**

***IN VITRO GROWTH OF GOD LEAF CALLUS [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] MERR.]
WITH A COMBINATION OF 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID AND KINETIN***

✉ **Samkhatin Khanayah, Noor Aini Habibah, Sumadi**

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang,
Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Mei 2012
Disetujui September 2012
Dipublikasikan September
2012

Keywords:

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; callus induction; gynura procumbens; invitro; kinetin

Abstrak

Tanaman daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] berguna untuk menurunkan kadar kolesterol darah, mengobati diabetes, tumor, dan sebagai obat anti kanker. Daun dewa mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, dan minyak atsiri. Oleh karena itu, perlu adanya kultur in vitro yang diharapkan mampu meningkatkan jumlah metabolit sekunder, maka perlu dilakukan penelitian tentang induksi kalus dengan penambahan kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid dan kinetin yang tepat dapat digunakan untuk menginduksi kalus daun dewa. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji pengaruh konsentrasi 2,4-D dan Kinetin serta interaksi keduanya terhadap induksi kalus daun dewa. Analisis menggunakan anava dua arah dan uji lanjut Duncan. Parameter yang diamati adalah parameter persentase eksplan yang hidup, persentase berkalus, berat basah, kering kalus, serta tekstur dan warna kalus. Dari Uji Jarak Berganda Duncan diperoleh hasil tertinggi pada konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid 0.5 ppm dan konsentrasi kinetin 1 ppm sebesar 33.33% pada parameter persentase berkalus.

Abstract

*Daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] plant can be used to lower the blood cholesterol levels, to treat diabetes and tumors, and may be used as an anti-cancer drug. Daun dewa plant produces of secondary metabolites such as flavonoids, saponins, and essential oils. An in vitro culture is a necessity to increase the quantity of secondary metabolites using callus induction with the addition of a combination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and kinetin to induce daun dewa callus. The research will examine the influence of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and Kinetin in various concentrations and their interaction on callus induction of daun dewa. Data were analyzed using advanced two-way anova and Duncan test. The test showed that the highest yeield was obtained from the combination of 0.5 ppm 2,4-D and 1 ppm kinetin, where 33.33% of plants had callus.*

© 2012 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

FMIPA UNNES Gd D6 Lt 1 Jln. Raya Sekaran- Gunungpati- Semarang 50229
Telp./Fax. (024) 8508033; E-mail:samkhatin@yahoo.com

ISSN 2085-191X

PENDAHULUAN

Tanaman daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] merupakan salah satu tanaman obat yang digolongkan sebagai herba. Tanaman daun dewa adalah tanaman asli dari Birma dan Cina, di sana biasanya dimakan sebagai sayuran sehat. Selain mengandung cukup serat juga berguna untuk menurunkan kadar kolesterol darah, mengobati diabetes, tumor, dan sebagai obat anti kanker.

Pemakaian tanaman obat sebagai bahan baku jamu atau pengobatan tradisional semakin meningkat akhir-akhir ini. Hal ini selaras dengan adanya kecenderungan masyarakat pada pengobatan dengan memanfaatkan bahan alam, khasiat suatu tanaman berasal dari senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Daun dewa mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, dan minyak atsiri (Lestari *et al.*, 2001).

Kalus adalah suatu metode kultur jaringan yang berpotensi tinggi dalam menyediakan metabolit sekunder. Kandungan metabolit sekunder dapat ditingkatkan produksinya, salah satunya dengan menggunakan tehnik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai sarana penghasil senyawa metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses-proses biokimia yang terjadi pada tubuh tanaman secara utuh, sedang proses-proses tersebut juga terjadi pada kultur *in vitro*.

Produksi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik genetis maupun kondisi lingkungan kultur. Adanya perbedaan kondisi lingkungan pertumbuhan antara kultur *in vitro* dan tumbuhan asalnya, memungkinkan suatu kultur jaringan tanaman mempunyai kandungan metabolit sekunder yang berbeda dengan tanaman asal. Berdasarkan hasil penelitian Hardianto *et al.* (2004) tentang penambahan NAA dengan konsentrasi 2 ml/l pada pertumbuhan kalus daun dewa, tidak memberikan pengaruh nyata terhadap baik pada berat basah, berat kering, laju pertumbuhan dan kandungan flavonoidnya.

Namun demikian, keberhasilan peningkatan kadar saponin secara *in vitro* dilaporkan oleh Wulandari *et al.* (2004), bahwa penambahan 1,5 ppm 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan 1,5 ppm kinetin dalam media adalah merupakan konsentrasi optimum untuk meningkatkan kadar saponin kalus *Talinum paniculatum* secara *in vitro*.

Eksplan yang dipilih pada penelitian ini adalah daun karena umumnya untuk tujuan mendapatkan kalus, eksplan daun lebih menguntungkan dari pada penggunaan eksplan batang. Dalam teknik kultur jaringan, hasil yang didapat akan lebih baik bila ke dalam media yang akan ditanami ditambahkan pula zat pengatur tumbuh. Induksi kalus memerlukan pasokan zat pengatur tumbuh secara eksogen yaitu auksin dan sitokinin yang dapat digunakan secara tunggal ataupun kombinasi keduanya.

Zat pengatur tumbuh sintetik perlu ditambahkan karena zat pengatur tumbuh terbentuk secara alami seringkali tidak mencukupi pertumbuhan jaringan eksplan. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan untuk induksi kalus adalah auksin dan sitokinin. Kadar auksin yang lebih tinggi dari sitokinin memacu pertumbuhan akar, kadar auksin yang lebih rendah dibanding sitokinin memacu pertumbuhan tunas, sementara kadar keduanya dengan konsentrasi yang seimbang akan mengarahkan eksplan pada pembentukan kalus.

Menurut Rahayu *et al.* (2003), penambahan 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm pada media MS (*Murrashig Skoog*) dapat memacu pembentukan kalus *Acalypha indica*. Penelitian Fitrianti (2006), menunjukkan perlakuan dengan pemberian 2,4-D dan kinetin dengan konsentrasi 0,1 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1,0 ppm, 5 ppm dapat menginduksi pembentukan kalus sambiloto. Induksi kalus manggis (*Garcinia mangostana* L) melalui kultur *in vitro* menghasilkan kalus tertinggi pada komposisi media dengan 2 ppm 2,4-D + 2 ppm kinetin. Menurut Farid (2003), penggunaan BAP konsentrasi 0; 0,5; 1,0; 1,5 dan 2 ppm yang dikombinasikan dengan 2,4 D konsentrasi 0; 0,25; 5,0; 0,75 ppm pada induksi Tebu (*Saccharum officinarum* L) secara *in vitro*, menghasilkan induksi

terbaik pada konsentrasi BAP 2 ppm dan 2,4-D 0,25 ppm.

Penelitian tentang metabolit sekunder daun dewa dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* belum banyak dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan komposisi kombinasi 2,4-D dan kinetin yang tepat untuk menginduksi kalus daun dewa. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D dan Kinetin serta interaksinya terhadap induksi kalus daun dewa, dan untuk menentukan konsentrasi yang paling optimal dalam menginduksi daun dewa.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Bahan dalam penelitian adalah tanaman daun dewa pada bagian daun ketiga sampai kelima dari pucuk, yang diperoleh dari Bandungan. Percobaan dilakukan dengan rancangan acak lengkap dua faktorial yang terdiri dari dua jenis hormon yaitu 2,4-D dan kinetin, masing-masing dengan lima taraf konsentrasi yaitu 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2 ppm. Setiap kombinasi perlakuan dibuat ulangan 3 kali. Analisis data menggunakan variansi dua arah dan uji lanjut Duncan. Parameter yang diamati adalah persentase hidup eksplan, persentase berkalus, berat basah kalus, berat kering kalus, dan tekstur serta warna kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil induksi kalus eksplan daun dewa dalam berbagai taraf perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dengan terlihat pada Tabel 1.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penggunaan berbagai level konsentrasi 2,4-D, kinetin dan kombinasi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap persentase hidup kalus, berat basah dan kering kalus, namun berpengaruh nyata terhadap persentase berkalus pada taraf 1%. Tidak ada satupun formula zat pengatur tumbuh (ZPT) yang terbaik dalam setiap penggu-

naanya untuk dapat terjadi pembelahan sel dan pertumbuhan kalus yang baik secara *in vitro*. Jadi untuk dapat menginduksi pembentukan kalus daun dewa yang baik, kinetin harus digunakan dengan ZPT lain seperti auksin dan GA. Menurut Wattimena (1992) penggunaan ZPT dengan kisaran antara 1-10 ppm merupakan konsentrasi yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro*. Rata-rata persentase berkalus dari eksplan daun dewa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata persentase berkalus pada perlakuan 2,4 D dan kinetin

Taraf konsentrasi	Perlakuan	
	2,4 D	Kinetin
0	11,11 ^b	6,67 ^b
0,5	11,11 ^b	6,67 ^b
1,0	17,78 ^a	15,55 ^a
1,5	15,55 ^{ab}	19,99 ^a
2,0	15,55 ^{ab}	22,22 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 1%.

Hasil uji Duncan (Tabel 2) menunjukkan bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4 D menghasilkan % berkalus tertinggi pada level konsentrasi 1 ppm, sedangkan konsentrasi kinetin yang menghasilkan % tertinggi terdapat pada level 2 ppm. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil dari Puspitasari dan Soegihardjo (2002) yang sebelumnya berhasil menginduksi kalus dari eksplan daun *Vitex trifolia* dengan pemberian 2,4-D dan Kinetin. Tabel 3 memperlihatkan rata-rata persentase berkalus pada interaksi kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin.

Keragaman Morfologi Kalus

Interaksi antara konsentrasi 2,4-D dengan kinetin berpengaruh terhadap induksi kalus daun dewa. Persentase berkalus terbaik pada perlakuan interaksi konsentrasi 2,4-D 1 ppm dan kinetin 1 ppm. Morfologi eksplan

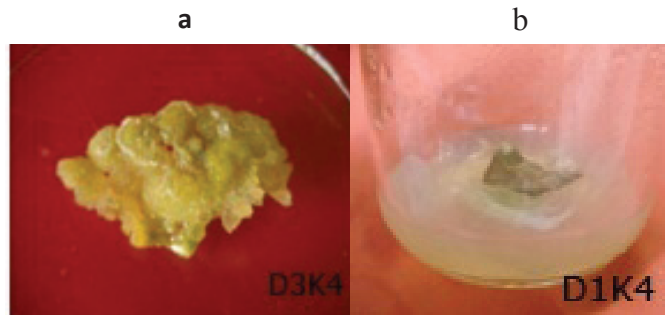
Tabel 2. Respon eksplan daun dewa dalam berbagai konsentrasi kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin

Kombinasi perlakuan	% hidup	% berkalus	Berat basah kalus(g)	Berat kering kalus(g)
D0K0	0,00	0,00	0,00	0,00
D0K1	22,22	22,22	0,40	0,04
D0K2	0,00	0,00	0,00	0,00
D0K3	11,11	11,11	0,28	0,02
D0K4	22,22	11,11	0,57	0,07
Rata-rata	11,11	8,89	0,25	0,03
D1K0	11,11	11,11	0,02	0,01
D1K1	0,00	0,00	0,00	0,00
D1K2	33,33	33,33	0,54	0,06
D1K3	11,11	11,11	0,28	0,02
D1K4	0,00	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	11,11	11,11	0,17	0,02
D2K0	0,00	0,00	0,00	0,00
D2K1	22,22	11,11	0,19	0,03
D2K2	33,33	33,33	0,63	0,06
D2K3	11,11	11,11	0,22	0,02
D2K4	22,22	22,22	0,43	0,05
Rata-rata	17,78	15,56	0,29	0,03
D3K0	22,22	22,22	0,74	0,07
D3K1	0,00	0,00	0,00	0,00
D3K2	0,00	0,00	0,00	0,00
D3K3	22,22	22,22	0,39	0,03
D3K4	33,33	33,33	0,40	0,05
Rata-rata	15,56	15,56	0,31	0,03
D4K0	0,00	0,00	0,00	0,00
D4K1	0,00	0,00	0,00	0,00
D4K2	33,33	33,33	0,87	0,06
D4K3	22,22	22,22	0,51	0,05
D4K4	22,22	22,22	0,61	0,04
Rata-rata	15,56	15,56	0,40	0,03

Tabel 3. Rata-rata % berkalus hasil interaksi dua perlakuan

Level 2,4 D	Level Kinetin (K)				
	0	0,5	1,0	1,5	2,0
0	0,00 ^{bc}	22,22 ^{ab}	0,00 ^{bc}	11,11 ^b	22,22 ^{ab}
0,5	11,11 ^b	0,00 ^{bc}	33,33 ^a	11,11 ^b	0,00 ^{bc}
1,0	0,00 ^{bc}	11,11 ^b	33,33 ^a	11,11 ^b	33,33 ^a
1,5	22,22 ^{ab}	0,00 ^{bc}	0,00 ^{bc}	22,22 ^{ab}	33,33 ^a
2,0	0,00 ^{bc}	0,00 ^{bc}	33,33 ^a	22,22 ^{ab}	22,22 ^{ab}

Ket : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 1%.



Gambar 1. Kalus yang terbentuk : (a) kalus yang kompak dan (b) kalus yang remah.

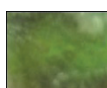


Gambar 2. Keragaman kalus pada berbagai taraf kombinasi perlakuan

Tabel 4. Tekstur dan warna kalus

Kombinasi taraf perlakuan	Tekstur kalus	Warna kalus
D2K2	Remah	Putih kehijauan
D1K2	Kompak	Kuning
D2K4	Kompak	Kuning
D3K4	Kompak	Kuning
D4K2	Remah	Kuning kehijauan
D0K1	Kompak	Hijau
D0K4	Remah	Putih kehijauan
D3K0	Remah	Putih kehijauan
D3K3	Remah	Putih
D4K3	Kompak	Putih kehijauan
D4K4	Remah	Putih
D0K3	Kompak	Kuning kehijauan
D1K0	Remah	Putih kehijauan
D1K3	Remah	Kuning kehijauan
D2K1	Kompak	Kuning kecoklatan
D2K3	Remah	Putih
D0K0	-	-
D0K2	-	-
D1K1	-	-
D1K4	-	-
D2K0	-	-
D3K1	-	-
D3K2	-	-
D4K0	-	-
D4K1	-	-

Keterangan: - = tidak tumbuh kalus



= Hijau/kompak



= Kuning kehijauan/remah



= Putih/remah



= Putih kehijauan/remah



= Kuning/kompak

yang berkalus dan tidak berkalus dapat dilihat pada Gambar 1, keragaman morfologi hasil perlakuan tercantum pada Gambar 2, sedangkan tekstur dan warna kalus yang dihasilkan dalam penelitian ini menunjukkan kondisi seperti pada Tabel 4.

Munculnya kalus ditandai dengan membengkaknya eksplan dan munculnya bercak-bercak putih. Bagian eksplan yang membentuk kalus, menurut Suryowinoto (1996) disebabkan karena sel-sel yang kontak dengan media terdorong untuk menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka. Sel-sel yang meristematik menjadi lebih cepat membelah dan membesar bila berada pada lingkungan yang sesuai dan kebutuhan nutrisi yang tercukupi. Sel-sel pada eksplan daun dimungkinkan dapat mengalami pembelahan dan pembentangan jika ditanam pada media MS dengan penambahan auksin dan sitokinin yang tepat.

Pada kombinasi taraf perlakuan yang tidak dapat menginduksi kalus hampir semuanya eksplan pada awal inkubasi terlihat membengkak dan melengkung. Hal ini mengindikasikan eksplan mulai menyerap hara dan ZPT yang terdapat dalam media, namun akhirnya respon terhenti yang berakhir dengan matinya eksplan.

Terhentinya respon tersebut dimungkinkan karena tiga faktor, konsentrasi 2,4-D dan Kinetin yang terlampau kecil sehingga tidak mampu memacu induksi kalus, atau konsentrasi 2,4-D dan Kinetin yang terlalu tinggi yang justru bersifat toksik bagi eksplan yang akhirnya menyebabkan eksplan mati, atau perbandingan konsentrasi yang tidak seimbang antara antara 2,4-D dan Kinetin sehingga interaksi keduanya tidak cocok bagi eksplan untuk merangsang pembentukan kalus. Kematian eksplan yang dimulai dari pencoklatan menandakan sel-sel eksplan tidak mampu bertahan hidup karena dua kemungkinan, yakni kadar ZPT terlalu rendah sehingga tidak mampu memicu induksi kalus atau dimungkinkan kadar ZPT terlalu tinggi sehingga justru bersifat racun bagi tanaman.

SIMPULAN

Penambahan 2,4- *Dichlorophenoxyacetic acid* dan Kinetin pada medium *Murrashig Skoog* mempengaruhi persentase eksplan berkalus, tetapi tidak berpengaruh terhadap persentase hidup eksplan, berat basah dan kering kalus pada induksi kalus daun dewa. Persentase berkalus terbaik pada perlakuan 2,4 D dihasilkan pada level konsentrasi 2,4 D 1 ppm sebesar 17,78%, dan konsentrasi kinetin level 2 ppm sebesar 22,22%. Pengaruh interaksi terbaik dicapai pada kombinasi 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 1 ppm sebesar 33,33%.

DAFTAR PUSTAKA

- Farid, M. B. (2003). Perbanyakkan tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *in vitro* pada berbagai konsentrasi IBA dan BA. *Jurnal Sains & Teknologi*, 3(3), 103-109.
- Fitrianti, A. (2006). *Efek asam 2,4-D dan kinetin pada medium Murrashig Skoog dalam induksi kalus Sambiloto dengan eksplan potongan daun*. Skripsi. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Hardiyanto, A., Solichatun & Mudyantini, W. (2004). Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]. *Jurnal Biofarmasi*, 2(2), 69-74.
- Lestari, E. G. & Purnamaningsih, R. (2001). Mikropropagasi Daun Dewa (*Gynura pseudochina*) melalui tunas adventif. *Biosmart*, 2(3), 18-22.
- Puspitasari, A. & Soegihardjo, C. J. (2002). Optimasi Media Penumbuh Kalus sebagai langkah awal upaya budidaya In-Vitro tanaman *Vitex Trifolia* L. *Majalah Farmasi Indonesia*, 13(1), 21-25.
- Rahayu, B., Solichatun & Anggarwulan, E. (2003). Pengaruh Asam 2,4-D terhadap Pembentukan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha Indica* L. *Biofarmasi*, 1(1), 1-6.
- Suryowinoto, M. (1996). *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.

Wattimena, G. A. (1992). *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.

Wulandari, S., Syafii, W. & Yossilia. (2004). Respon eksplan daun tanaman jeruk

manis (*Citrus sinensis* L.) Secara in vitro akibat pemberian NAA dan BA. *Jurnal Biogenesis*, (1), 21-25.