

## PERBANYAKAN IN-VITRO *Gynurapseudo-china* (L.) DC. (Compositae) [In-vitro Proliferation of *Gynura pseudo-china* (L.) DC. (Compositae)]

Djadja Siti Hazar Hoesen

Laboratorium Treub, Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Jl. Ir. H. Juanda 18 Bogor

### ABSTRACT

*Gynura pseudo-china* (L.) DC./umbi dewa (Asteraceae/Compositae), is a species that produce tuber, the whole parts of plant especially the tuber is used as medicine. Extract of the whole plants of "umbi dewa" contains iridoids, terpenyl coumarins, spirostanol steroids, pyrrolizidines, purines, pyrimidines and chromanes, which has inhibit glucose cerum effect. Industrial usage of the plant requires continuous supply of materials which in turn necessitate its cultivation and planting materials. Planting materials can be produced efficiently by micropropagation technique. This objective of the study was to evaluate the culture respond to the plant growth regulator (PGR) treatments. The experiment was designed with completely randomized designed (CRD) and micropropagation result indicated that proliferation of shoots were optimum in the growth medium supplemented with N6-Benzyladenine (BA) 2 mg/l and adenine sulphate 15 mg/l, BA 4 mg/l and adenine sulphate 10 mg/l in combination. Inclusions chlorocholine chloride/chlormequat (CCC) and higher sucrose had positively effect on proliferation microtuber in growth medium supplemented with BA 2mg/l without adenine sulphate. Acclimatization stage and planted to the soil were successful, almost whole (95-96%) plants were survive.

**Kata kunci:** Compositae/Asteraceae, *Gynura pseudo-china*, proliferasi tunas, proliferasi umbi mikro, adenine sulphate, BA (N6-Benzyladenine), CCC (chlorocholine chloride/chlormequat).

### PENDAHULUAN

Sejumlah jenis dari marga *Gynura*, suku Compositae telah dipercaya masyarakat terutama di daerah Asia (ASEAN, termasuk Indonesia) berkhasiat untuk mengobati sejumlah penyakit sejak lama. Jenis-jenis (17 jenis dari 19 jenis) dari marga tersebut merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara. Salah satu jenisnya adalah *Gynura pseudo-china* (L.) DC. dalam bahasa Jawa disebut dengan nama tigel kio, tetapi sekarang dikenal dengan nama daun dewa atau umbi dewa. Keberadaannya di Indonesia diketahui sejak berpuluh tahun yang lampau sebagai tumbuhan pot di rumah-rumah masyarakat beretnis Cina di daerah sekitar Jakarta; mereka menyebutnya dengan nama *samsit*, *tan sit* atau *coan tin sit* (Davies, 1985; Teik Ng and Yap, 2003).

*G. pseudo-china* merupakan terna yang tingginya dapat mencapai 75 cm, akarnya berbentuk umbi, daun bertangkai pendek/berdaun duduk bentuknya tidak beraturan, berbentuk sudip-lonjong, kedua permukaan daunnya berbulu tipis atau agak berlokos. Bunganya berbentuk bonggol, berwarna kuning dengan tangkai karangan bunga yang panjangnya 45 cm. Tumbuhan ini dapat berbunga

sepanjang tahun. Bagian akarnya berumbi dengan bentuk umbi yang tidak beraturan. Tumbuhan tersebut, oleh masyarakat dipercaya dan diyakini berkhasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit, baik sebagai obat luar dan obat yang dimakan/diminum (oral). Hampir seluruh bagian tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengobatan, terutama daun dan umbinya.

Hasil analisa dari ekstrak seluruh bagian tanaman *Gynura* menunjukkan adanya senyawa kimia *iridoids*, *terpenyl coumarins*, *spirostanol steroids*, *pyrrolizidines*, *purines*, *pyrimidines* dan *chromanones*. Ekstrak alkohol bagian daunnya berhasil menekan serum glukose pada tikus penelitian yang diinduksi menderita penyakit diabetes. Senyawa *3,5-di-O-caffeoylquinic acid* dan *4,5 di-O-caffeoylquinic acid* yang berhasil diisolasi, mempunyai aktifitas antivirus penyakit herpes simplex virus type I dan type II secara in-vitro. Dari ekstrak metanol bagian akar tumbuhan *Gynura* yang tumbuh endemik di Taiwan menunjukkan adanya aktifitas agregasi *antiplatelet*. Sementara ekstrak air dari tumbuhan tersebut menunjukkan adanya aktifitas hipotensif yang sangat nyata pada tikus objek penelitian.

Daunnya yang telah ditumbuk dapat digunakan sebagai obat (luar) untuk mengobati jerawat dan bisul (Burkill, 1935), daun dimakan untuk mengobati gangguan haid dan lendirnya diyakini dapat mengobati radang tenggorokan, *tonsilitis* (amandel) dan lukabakar (Perry, 1980; Anonim, 1995). Bagian umbi dari tumbuhan tersebut digunakan untuk mengatasi siklus menstruasi yang tidak teratur/melancarkan peredaran darah, mengurangi memar, mengurangi rasa nyeri, mengobati kanker payudara, mengobati noktah biru atau benjolan akibat kena benturan atau pukulan, disentteri, obat demam dan mengatasi pendarahan berlebihan pada saat menstruasi (haemorrhage/styptic) (Burkill, 1935; Perry, 1980; Heyne, 1987; Anonim, 1995; TeikNgandYap, 2003).

Kepercayaan dan keyakinan masyarakat terhadap khasiat umbi dewa dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit yang telah disebutkan di atas, mendorong meningkatnya permintaan akan komoditi tersebut, sedangkan ketersediaannya di pasar dan pengusaha tumbuhan obat sangat terbatas sehingga harga menjadi relatif tinggi. Harga umbi dewa di pengusaha tumbuhan obat di daerah Bogor, untuk umbi segar/basah Rp. 35.000/kg, umbi kering Rp. 70.000 - Rp.80.000/kg dan dalam bentuk bubuk mencapai harga Rp.100.000,-. Setiap 7 bulan lahan yang ditanami tumbuhan umbi dewa dapat memperoleh pendapatan kotor Rp. 8.750.000/1000 m<sup>2</sup> (Anonim, 2004<sup>a</sup>).

Hasil survey etnofarmaka menunjukkan bahwa 80-85 % dari bahan baku obat tradisional pada industri jamu nasional masih diambil masyarakat dari hutan tanpa usaha pembaharuan yang memadai melalui tindakan budidaya (Anonim, 2004<sup>b</sup>). Hasil pengamatan di lapangan mengindikasikan bahwa sejumlah jenis tumbuhan rempah dan obat, sekarang ini mengalami pelangkaan dan terjadi erosi genetika, karena bahan tersebut sebagian diambil dari alam tanpa melalui usaha budidaya yang intensif dan berkesinambungan (Anonim, 2004<sup>c</sup>).

Perbanyak umbi dewa biasa dilakukan dengan umbi utuh atau potongan umbi yang mempunyai mata tunas. Walaupun bunganya dapat ditemui sepanjang tahun, tetapi pembentukan biji

sangat sukar, hal ini diduga karena adanya inkompatibilitas antara bunga jantan dan bunga betinanya, *self incompatible* atau karena penyebab lainnya yang perlu penelitian lebih lanjut. Budidaya secara konvensional mendapat kendala, karena di lapangan tumbuhan ini sering kali rusak oleh hama ulat yang menyerang daun dan umbinya dalam waktu yang relatif singkat. Pengendalian hama dan penyakit dengan menggunakan pestisida khususnya terhadap tumbuhan obat tidak dianjurkan, sementara pestisida alami yang cocok masih belum diketahui.

Umbi dewa (*Gynura pseudo-china*) yang telah dipercaya masyarakat dan bermanfaat untuk mengobati sejumlah penyakit, serta mempunyai prospek yang cerah untuk industri farmasi dan kosmetika, memerlukan cara budidaya yang cepat, massal, berkesinambungan. Hal yang terpenting adalah untuk mencegah dari erosi genetika yang akan mengancam tumbuhan tersebut apabila tidak diupayakan cara budidayanya yang tepat, karena selama ini tumbuhan tersebut diambil langsung dari alam. Teknik budidaya in-vitro telah berhasil menyediakan bahan tanaman yang cepat, massal dan berkesinambungan pada sejumlah jenis tumbuhan, termasuk tumbuhan obat seperti sambungnyawa (*G. procumbens*) yang satu marga dengan umbi dewa (Hoesen, 2001).

Pembentukan umbi dengan teknik in-vitro telah berhasil pada sejumlah jenis tumbuhan berumbi antara lain kentang dan *Helianthus tuberosus* (Puspitaningtyas dan Wattimena, 1992; Gamburg *et al*, 1999). Umbi yang dihasilkan secara in-vitro tersebut selain terjamin kebersihan dan kesehatannya juga mempunyai keuntungan lain yaitu dapat menyediakan bibit secara berkala dalam jangka waktu tertentu tanpa mengalami kondisi dorman dan tanpa mengalami kebusukan seperti halnya apabila disimpan di luar botol (Narayanawamy, 1994).

Informasi ilmiah dari tumbuhan umbi dewa tersebut belum banyak terungkap terutama tentang kandungan senyawa aktif dan aspek budidaya lainnya. Untuk melengkapi informasi ilmiah yang menyeluruh tentang tumbuhan umbi dewa tersebut, cara budidaya in-vitro merupakan suatu alternatif yang menjanjikan dalam menyediakan bahan baku industri farmasi dan kosmetika, tanpa mengganggu sumberdaya hayati

alami. Percobaan tersebut bertujuan untuk mempelajari pembentukan tunas, umbi dan penyimpanan/pemeliharaan secara in-vitro dengan cara mengevaluasi pengaruh perlakuan berbagai jenis ZPT terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur umbi dawa.

## BAHAN DAN METODA

### Tahap Inisiasi

Bahan eksplan yang digunakan pada percobaan ini berupa tunas dari umbi yang berukuran panjang 0,5-1 cm (terdiri dari 1-2 node) yang disterilkan pada larutan chlorox 10-20 % (bahan aktif natrium hipoklorit 5,25%) selama 20 menit, serta dibilas dengan air suling steril sebanyak 3-4 kali. Selanjutnya bahan eksplan tersebut kemudian dikulturkan pada media formulasi garam anorganik MS (1962) yang diberi tambahan 0,4 mg/l tiamin HCl; 100 mg/l mio-inositol, 0,5 mg/l piridoksin HCl; 0,5 mg/l asam nikotinat; 2 mg/l glisin, 30000 mg/l sukrosa teknis (gula pasir) dan 2000 mg/l phytigel serta zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Keasaman medium diukur dengan nilai pH 5,62-5,65. Komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan ke dalam medium untuk inisiasi adalah:

1. Medium dasar MS (Murashige and Skoog, 1962)
2. Medium dasar MS + BA 2 mg/l.

Pada tahap inisiasi dipelajari cara sterilisasi yang paling efektif dengan hasil yang optimal. Kultur yang bersih, sehat dan bebas dari mikroorganisma yang mengkontaminasi, digunakan untuk percobaan selanjutnya.

### Tahap Perbanyakkan

Kultur yang bebas dari kontaminan dan berhasil membentuk tunas, kemudian disubkultur (subkultur pertama). Eksplan tersebut terdiri dari 1-2 node (berukuran panjang 0,5 cm), ditanam ke dalam media yang diberi penambahan ZPT sebagai perlakuan dengan tujuan untuk membentuk tunas ganda dan mempercepat pertumbuhan. Komposisi media untuk subkultur pertama adalah sebagai berikut:

- M<sub>r</sub>. Medium dasar MS tanpa ZPT (kontrol)
- M<sub>2</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 5 mg/l
- M<sub>3</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 10 mg/l
- M<sub>4</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 15 mg/l
- M<sub>5</sub>. Medium dasar MS + BA 2 mg/l

M<sub>6</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 5 mg/l + BA 2 mg/l

M<sub>7</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 10 mg/l + BA 2 mg/l

M<sub>8</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 15 mg/l + BA 2 mg/l

Subkultur kedua dilakukan 8 minggu setelah subkultur pertama dengan perlakuan penambahan konsentrasi BA dengan komposisi medium sebagai berikut:

S<sub>r</sub> Medium dasar MS tanpa ZPT (kontrol)

S<sub>2</sub>. Medium dasar MS + BA 4 mg/l

S<sub>3</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 5 mg/l + BA 4 mg/l

S<sub>4</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 10 mg/l + BA 4 mg/l

S<sub>5</sub>. Medium dasar MS + adenin sulfat 15 mg/l + BA 4 mg/l

Tahap perbanyakkan ini berlangsung hingga 8 minggu dari saat subkultur kedua, kemudian dihitung rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dan dihitung nilai galat bakunya.

Tunas dari hasil subkultur kedua dipindahkan ke dalam media cair MS yang ditambah BA 2 mg/l dan NAA 0.5 mg/l atau tanpa NAA, maksud pemindahan tersebut adalah untuk pelipatgandaan tunas, pembentukan planlet (tunas berakar), mengefisienkan waktu, tenaga dan untuk menghemat phytigel yang harganya relatif mahal.

### Tahap Pembentukan Umbi Mikro

Sebelum mendapat perlakuan untuk merangsang pembentukan umbi secara in vitro, kultur tersebut dipindahkan ke dalam media MS tanpa ZPT. Setelah 4 minggu dari saat pemindahan ke dalam media kontrol (MS tanpa ZPT), kemudian kultur dipindahkan ke dalam medium untuk merangsang pembentukan umbi mikro yaitu medium dasar MS yang diberi tambahan BA 2 mg/l, chlorocholine chloride/chlormequat (CCC), sukrosa teknis (gula pasir). Kombinasi perlakuan sebagai berikut:

1. MS + BA 2 mg/l + CCC 500 mg/l + gula pasir 30000 mg/l + phytigel 2000 mg/l
2. MS + BA 2 mg/l + CCC 1000 mg/l + gula pasir 60000 mg/l + phytigel 2000 mg/l

3. MS + BA 2 mg/l + CCC 500 mg/l + gula pasir 30000 mg/l + phytigel 2000 mg/l
4. MS + BA 2 mg/l + CCC 1000 mg/l + gula pasir 60000 mg/l + phytigel 2000 mg/l
5. MS + gula pasir 3000 mg/l + phytigel 2000 mg/l (kontrol)

#### Penyimpanan Kultur

Pemeliharaan kultur dilakukan sebagai usaha untuk mempersiapkan tanaman atau bibit untuk keperluan budidaya atau sebagai usaha pencegahan dari menjadi langkanya jenis tersebut, karena pemeliharaan plasma nutfah secara in-vitro menjadi sangat penting apabila di lapangan tidak tersedia. Tumbuhan umbi dewa tersebut di lapangan sangat sering diserang oleh hama terutama ulat. Tahap penyimpanan/pemeliharaan kultur ini, juga dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam media dengan hara makro dan mikro minimal. Teknik yang dilakukan adalah dengan metode pertumbuhan minimal/memperlambat pertumbuhan. Pada tahap ini eksplan ditanam dalam medium dasar MS, MS setengah konsentrasi dan V\* konsentrasi hara makro dan mikro, tanpa zat pengatur tumbuh, sehingga waktu subkultur bisa diperpanjang.

Seluruh kultur disimpan dalam ruangan yang bersuhu 25 °C dengan penerangan lampu TL 40 watt selama 12 jam. Pada tahap perbanyakan, parameter yang diamati untuk mengevaluasi pertumbuhan kultur adalah jumlah tunas. Sedangkan peubah jumlah tunas, jumlah akar, tinggi tunas, jumlah umbi dan diameter umbi diukur sebagai parameter untuk mengevaluasi pertumbuhan, perkembangan kultur dan pembentukan umbi mikro. Penghitungan tersebut dilakukan pada kultur yang berumur 12 minggu dari saat pemindahan.

Tahapan percobaan perbanyakan dan pengujian mikro dirancang dengan rancangan acak lengkap, ulangan 10 kali dan dari nilai rata-rata seluruh parameter dihitung nilai galat bakunya yang selanjutnya dianalisa dengan uji kontras SAS.

#### Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan apabila tunas berakar telah mempunyai morfologi yang proporsional, yaitu tinggi 10-12 cm, jumlah daun 5-6, jumlah akar lebih dari 16. Tanaman tersebut kemudian dikeluarkan dari

lingkungan in-vitro ke luar botol yaitu ke dalam pot/kantong plastik yang telah berisi media pasir campur tanah dengan perbandingan 1:1, disungkup plastik transparan untuk menjaga kelembaban, penyiraman dilakukan sangat hati-hati agar tanaman tidak terlalu basah karena akan menyebabkan pembusukan terhadap tanaman. Tanaman disimpan di tempat yang tidak mendapat sinar matahari langsung, selama 4 minggu, atau dalam bedengan-bedengan di tempat yang ternaungi.

## HASIL

### Tahap Inisiasi

Pada minggu pertamateramati bahwa 19-20% kultur terkontaminasi, kultur yang bebas dari kontaminan masih tampak hijau dan menunjukkan adanya pertumbuhan/membesar. Saat itu seluruh kultur dalam media yang ditambah BA 2 mg/l tampak telah membentuk bakal tunas atau awal pertumbuhan tunas sudah terjadi. Kultur yang bebas dari kontaminan tersebut, selanjutnya berhasil membentuk tunas dalam selang waktu 2-4 minggu dari saat tanam. Kultur dalam media yang mengandung BA 2 mg/l berhasil membentuk sejumlah tunas dengan jumlah rata-rata 5-8 tunas. Sementara pada kultur dalam medium tanpa ZPT sebagian besar (90%-95%) kultur belum berhasil membentuk tunas. Tetapi 4-6 minggu kemudian (8 minggu dari saat tanam), tampak kultur dalam medium tanpa ZPT tersebut berhasil membentuk tunas dengan jumlah rata-rata 1-4. ZPT mempunyai efektifitas yang baik terhadap pembentukan tunas kultur.

Setelah 4 minggu dari saat tanam (in vitro), tahap inisiasi tersebut berhasil dengan baik karena seluruh kultur yang bebas dari kontaminan berhasil membentuk tunas, dengan demikian sejumlah besar kultur dapat dipindahkan (subkultur) ke dalam media yang sudah diberi perlakuan sesuai dengan rancangan, sebagai tahap percobaan selanjutnya.

### Tahap Perbanyakan

Penambahan sitokinin BA pada tahap multiplikasi tunas yaitu setelah subkultur pertama, baik secara tunggal BA (2 mg/l) atau dikombinasikan dengan adenin sulfat (5, 10 dan 15) mg/l menunjukkan respon yang baik terhadap pembentukan tunas kultur

*Gynura pseudo-china*. Respon positif tersebut ditunjukkan oleh hasil penghitungan nilai rata-rata jumlah tunasnya yang terus meningkat dengan sangat nyata, seiring dengan penambahan konsentrasi sitokinin (BA dan adenin sulfat) yang ditambahkan (Tabel 1, Gambar 1). Nilai rata-rata tunas pada media yang ditambah adenine sulfat (5,10 dan 15) mg/l saja tanpa BA, walaupun berbeda nyata bila dibandingkan dengan control, tetapi rata-rata jumlahnya masih lebih rendah apabila dibandingkan dengan perlakuan kombinasi dengan BA 2 mg/l, atau perlakuan BA (2 mg/l) tanpa adenine sulfat.

Penambahan BA 4 mg/l yang dikombinasikan dengan adenin sulfat 10 mg/l setelah 8 minggu dari saat subkultur kedua, menghasilkan jumlah rata-rata tunas yang tertinggi (47-48). Pada eksplan hasil subkultur kedua dalam media dengan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari media pada subkultur pertama, berakibat menurunkan rata-rata jumlah tunas. Penurunan tersebut terjadi pada kultur yang diberi penambahan kombinasi BA 4 mg/l dan adenin sulfat 15 mg/l, yaitu hanya membentuk rata-rata 24 tunas. Kultur dalam media tersebut selain membentuk tunas, berhasil pula membentuk akar 15-20 (Tabel 2, Gambar 2). Pada kultur yang membentuk tunas dengan jumlah yang lebih banyak, secara visual teramati mempunyai ukuran tunas yang lebih kecil (Foto 3). Tampak bahwa pada tahap perbanyakan tersebut terdapat konsentrasi

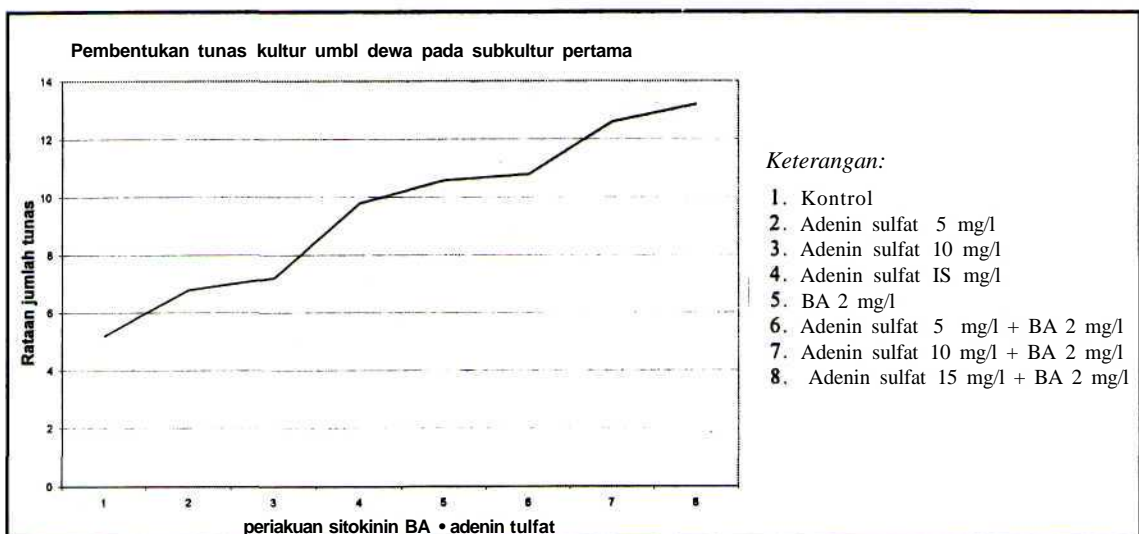
ZPT yang meningkatkan pembentukan tunas dan pertumbuhan kultur secara optimal, kemudian menurunkan pertumbuhan kultur secara nyata (Gambar 1 dan 2).

Tabel 1. Pengaruh perlakuan penambahan BA dan adenin sulfat terhadap pembentukan tunas *G. pseudo-china* pada subkultur pertama.

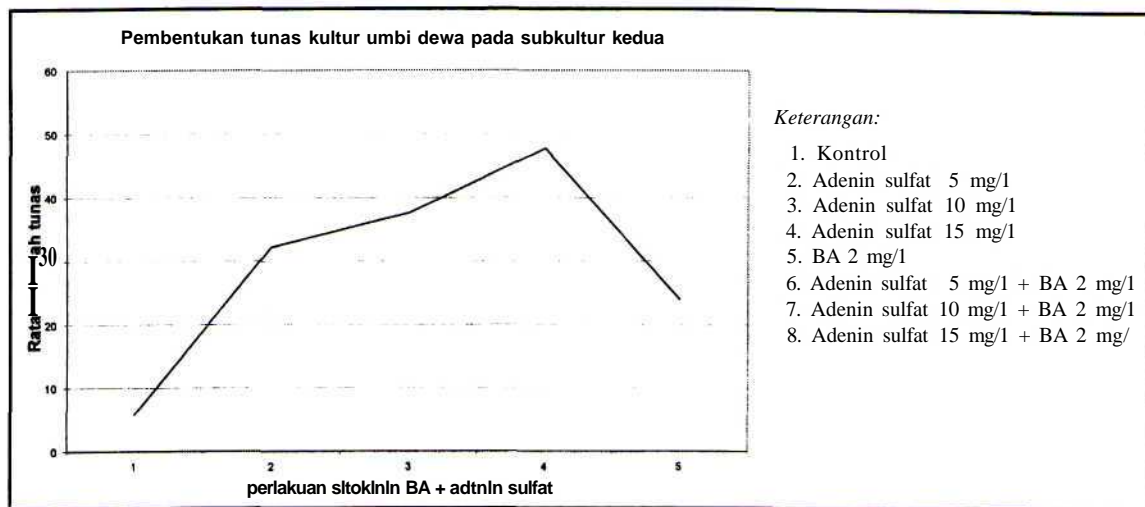
Adenin sulfat (mg/l)	BA	Rataan jumlah tunas $\pm$ galat baku
0	0	5,2 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
5	0	6,8 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
10	0	7,2 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>
15	0	9,8 $\pm$ 0,1T
0	2	10,6 $\pm$ 0,22 <sup>cd</sup>
5	2	10,8 $\pm$ 0,08 <sup>td</sup>
10	2	12,6 $\pm$ 0,22 <sup>d</sup>
15	2	13,2 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>

Keterangan: Angka-angka yang bertanda huruf sama dalam satu kolom menunjukkan hasil yang tidak beda nyata pada uji Kontras SAS nilai  $p < 1\%$

Media agar untuk pembentukan tunas yang tertinggi (47-48) yaitu media dasar yang ditambah BA 4 mg/l dan adenine sulfat 10 mg/l (Tabel 2), dicoba juga tanpa agar (media cair) menghasilkan rata-rata sedikit lebih tinggi yaitu 60-61, setelah 4-6 minggu dari saat pemindahan.



Gambar 1. Penambahan ZPT (Adenin sulfat dan BA) terhadap pertumbuhan kultur.



**Gambar 2.** Pengaruh penambahan ZPT terhadap pertumbuhan tunas kultur pada subkultur.

**Tabel 2.** Pengaruh perlakuan penambahan BA dan adenin sulfat terhadap pembentukan tunas *G. pseudo-china* pada subkultur ke dua.

Adenin sulfat (mg/l)	BA	Rataan jumlah tunas ± galat baku
0	0	5,8 ± 0,14a
0	4	32,2 ± 0,56c
5	4	37,6 ± 0,18c
10	4	47,8 ± 0,66d
15	4	24,0 ± 0,10b <sup>g&gt;</sup>

Keterangan: ""akar (15-20).

Angka-angka yang bertanda huruf sama dalam satu kolom menunjukkan hasil yang tidak beda nyata pada uji Kontras SAS nilai p <1%.

**Pembentukan Umbi Mikro**

Pada minggu pertama pengamatan, kultur pada media yang diberi perlakuan CCC dan sukrosa tinggi tampak membentuk tunas, tetapi ukuran tunas tersebut lebih kecil bila dibandingkan dengan kontrol. Sementara batangnya membengkak/mengembung dan membentuk massa yang padat. Umbi mikro dapat terbentuk pada kultur dalam media yang diberi tambahan kombinasi BA (2 mg/l), CCC (500-1.000) mg/l dan gulapisir/sukrosa teknis (30.000-60.000) mg/l. Kultur dalam media yang ditambah BA (2 mg/l), CCC (500 mg/l) dan gula pasir (30.000 mg/l) tidak seluruhnya dapat membentuk umbi mikro yaitu hanya 40% dari sejumlah kultur. Media yang lebih baik untuk pembentukan umbi mikro dihasilkan oleh kultur dalam media yang diberi perlakuan ZPT dan konsentrasi sukrosa

teknis 60.000 mg/l. Pembentukan umbi mikro tersebut persentasenya lebih tinggi yaitu 90%-95% dari sejumlah kultur yang dibuat (50 botol untuk setiap perlakuan) dan rata-rata jumlah umbi tertinggi diperoleh pula pada kultur tersebut (BA 2 mg/l, CCC 500 mg/l dan sukrosa teknis 60.000 mg/l) (Tabel 3, Fotor 3,5 dan 6).

**Tahap Penyimpanan**

Kultur dipelihara dalam media dasar MS, Vi konsentrasi dan 'A konsentrasi hara makro dan mikro tanpa ZPT. Eksplan dalam medium MS dengan konsentrasi normal, setelah 4 minggu dari saat pemindahan berhasil membentuk tunas (rata-rata 1-2), berdaun (1 -2), sementara eksplan dalam 'A MS dan Vi MS pada saat yang sama belum membentuk tunas. Tetapi eksplan menunjukkan adanya pertumbuhan dan eksplan masih tetap hijau. Setelah 8 minggu dari waktu pemindahan dalam medium MS, eksplan berdaun 5-6, membentuk akar 6-12, tinggi 10-12 cm. Planlet mempunyai morfologi yang proporsional, kemudian dikeluarkan dari botol untuk diaklimatisasikan (Foto 4). Setelah 30 minggu dari saat pemindahan, eksplan dalam media Vi MS telah mempunyai sejumlah daun (5-6), tunas 1-2, sedangkan eksplan dalam medium 'A MS mempunyai 1 tunas, daun 1 -2 dan akar 6-10. Setelah lebih dari 36 minggu tampak kultur telah kekurangan makanan. Cara ini dapat diaplikasikan untuk menunda subkultur sampai 30 minggu dan mempunyai respon yang normal setelah masa penyimpanan tersebut.



### Aklimatisasi dan penanaman di lapangan

Tanaman lengkap dengan morfologi yang proporsional (Foto 4), dipindahkan ke lingkungan ex-vitro ke dalam media pasir : tanah = 1 : 1. Tanaman yang sudah dipindahkan tersebut ditutup dengan plastik transparan untuk menjaga kelembaban dan ditempatkan di lingkungan yang tidak kena sinar

matahari langsung. Setelah 4-8 minggu tanaman, 90-95 % tanaman bertahan hidup dan siap dipindahkan ke lapangan/lahan terbuka. Selama masa 'bibit-dewasa' mendapat kendala yang serius yaitu adanya serangan hama ulat (Foto 7 dan 8). Setelah 8-10 bulan tanaman berbunga dan umbi siap dipanen setelah 8-10 bulan dari saat penanaman (Foto 9,10 dan 11).

**Tabel 3.** Pengaruh perlakuan penambahan BA, sukrosa dan CCC terhadap pembentukan umbi dan perkembangan tunas kultur *G. pseudo-china*.

CCC	BA (mg/l)	Sukrosa	Rataan jumlah. Tunas $\pm$ galat baku	Rataan jumlah. akar $\pm$ galat baku	Rataan jumlah. umbi $\pm$ galat baku	Rataan tinggi tunas (cm) $\pm$ galat baku
500	2	30,000	26,50 $\pm$ 0,59 <sup>bc</sup>	3,50 $\pm$ 0,22 <sup>aei</sup>	2,00 $\pm$ 0,09 <sup>ii</sup>	11,95 $\pm$ 0,43 <sup>c</sup>
500	2	60,000	26,25 $\pm$ 0,43 <sup>bc</sup>	2,75 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	2,50 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	4,45 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>
1,000	2	30,000	58,25 $\pm$ 1,82 <sup>C</sup>	2,50 $\pm$ 0,14 <sup>ii</sup>	2,00 $\pm$ 0,12 <sup>ii</sup>	17,00 $\pm$ 0,28 <sup>d</sup>
1,000	2	60,000	19,75 $\pm$ 0,66 <sup>b</sup>	5,00 $\pm$ 0,59 <sup>b</sup>	1,75 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	5,48 $\pm$ 0,55 <sup>b</sup>
0	0	30,000	6,00 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	8,50 $\pm$ 0,28 <sup>o</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	11,18 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
(Kontrol)						



Foto 1, 2 dan 3. Pembentukan tunas pada tahap inisiasi dan perbanyakan dalam media padat dan cair.  
Foto 4. Planlet (tunas berakar) yang siap dikeluarkan dari botol untuk diaklimatisasikan.



Foto 5 dan 6. Pembentukan umbi mikro.



Foto 7 dan 8. Serangan hama ulat.  
Foto 9,10, dan 11. Pertumbuhan tanaman dan umbi di lapangan.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh penambahan ZPT terhadap pembentukan tunas pada Tahap Inisiasi

Terjadinya kontaminasi mikroorganisma di dalam kultur dengan persentase yang relatif tinggi, disebabkan karena umbi sebagai bahan eksplan dan sumber eksplan utama, secara endogen/*endogenous* telah terkontaminasi mikroorganisma tanah, mengingat umbi tersebut berhubungan langsung dengan tanah. Zat sterilant yang digunakan dalam tahapan sterilisasi tersebut belum optimal mengendalikan mikroorganisma yang masih terkandung di dalam umbi tersebut. Tunas majemuk yang berhasil terbentuk pada kultur dalam media yang mengandung BA 2 mg/1, menunjukkan bahwa ZPT sitokinin secara langsung ataupun tidak langsung, efektif untuk mendorong proses inisiasi tunas (George, 1996). Pada kultur *Corylus avellana*, dilaporkan bahwa 5 mg/1 BA yang ditambahkan ke dalam medium berhasil mendorong pembentukan tunas secara optimal pada eksplan yang masih *juvenile* (Messeguer dan Mele, 1987 sitasi George, 1996).

### Pengaruh penambahan ZPT terhadap pembentukan dan perkembangan tunas pada Tahap Perbanyak

Tunas majemuk berhasil terbentuk pada kultur, terutama pada kultur dalam media yang mengandung sitokinin (BA). Efek positif dari sitokinin terhadap pertumbuhan tunas kultur pada sejumlah jenis tumbuhan dan tanaman telah dilaporkan oleh sejumlah peneliti, antara lain mendorong proliferasi tunas aksilar dan menghambat dominansi apical pada tumbuhan berdaun lebar. Pembentukan tunas kultur tumbuhan yang bermarga sama dengan tumbuhan ini seperti *Gynura sarmientosa*, sangat dipengaruhi oleh kehadiran sitokinin (BA, 2*i*P, kinetin) dalam media (George, 1996). Keadaan yang hampir sama terjadi pula pada kultur *Gynura procumbens*, penambahan BA dan thidiazuron sangat berpengaruh nyata terhadap pembentukan tunas kultur tumbuhan sambungnyawa tersebut (Hoesen, 2001).

Jumlah rataan tunas yang terbentuk meningkat secara nyata, seiring dengan semakin tingginya konsentrasi sitokinin (BA 2 mg/1 yang dikombinasikan dengan adenine sulfat 5 mg/1; 10 mg/1 dan 15 mg/1), hal ini menunjukkan adanya kisaran konsentrasi sitokinin yang meningkatkan/menstimulir pertumbuhan dan perkembangan kultur umbi dewa secara optimal (Tabel 1).

Perlakuan BA 2 mg/1 tanpa adenine sulfat, menghasilkan rataan jumlah tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan adenine sulfat tanpa B A, dalam hal ini menunjukkan bahwa BA efektifitasnya lebih kuat dibandingkan dengan adenine sulfat. Tetapi adenine sulfat mempunyai efek sinergis apabila dikombinasikan dengan BA (2 mg/1). Efek positif tersebut teramati pula pada kultur jaringan sejumlah varitas dan kultivarpisang (Hoesen, 1990; 1992).

Pada subkultur ke dua, konsentrasi BA ditingkatkan menjadi 4 mg/1, sementara adenine sulfat kisarannya sama dengan subkultur pertama (5,10 dan 15 mg/1). Setelah 6-8 minggu, teramati bahwa ada konsentrasi sitokinin yang mendorong pembentukan tunas dan ada konsentrasi yang menurunkan pembentukan tunas secara nyata (Tabel 2). Keadaan yang hampir serupa terjadi pada kultur *Crinum* sp. (Hoesen, 2003).

Akar berhasil terbentuk pada kultur yang ditumbuhkan dalam media tanpa ZPT (kontrol), kejadian ini diduga karena adanya efektifitas hormon endogen dalam hal ini kemungkinan auksin, yang dapat mendorong pembentukan akar.

### Pengaruh penambahan ZPT terhadap Pembentukan Umbi Mikro

Umbi mikro dapat terbentuk pada kultur dalam media yang diberi tambahan kombinasi BA (2 mg/1), CCC (500-1.000) mg/1 dan sukrosa teknis/gula pasir (30.000-60.000) mg/1, pada kultur dalam media yang ditambah B A (2 mg/1), CCC (500 mg/1) dan gula pasir (30.000 mg/1) tidak seluruhnya dapat membentuk umbi mikro, tetapi hanya 40 % kultur. Pada kultur yang diberi perlakuan CCC 1000 mg/1 dan sukrosa 60.000 mg/1, 90%-95% dapat membentuk sejumlah umbi. Kejadian tersebut menunjukkan bahwa sukrosa (gula pasir) dapat meningkatkan persentase eksplan yang berumbi, walaupun peranan sukrosa tidak mendorong pembentukan umbi mikro, tetapi menurut hasil penelitian pada pembentukan umbi mikro kentang, 6% sukrosa dapat menghasilkan umbi mikro secara optimal. Konsentrasi 6% (60.000 mg/1) sukrosa, optimum untuk pembentukan umbi mikro (George, 1996). Jumlah rataan umbi yang tertinggi terbentuk dalam medium yang diberi tambahan BA (2 mg/1), CCC (500 mg/1) dan gula pasir (60.000 mg/1) walaupun perbedaannya



tidak nyata bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 3.)- Keadaan tersebut sesuai dengan pendapat Palmer & Smith (1977) yang menyatakan, bahwa pengumbian in-vitro dapat didorong oleh perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin, zat retardan (penghambat tumbuh) pada percobaan ini digunakan CCC. *Chlorocholine chloride* (CCC) berperan sebagai anti giberelin (GA), di mana giberelin merupakan zat pengatur tumbuh yang menghambat pengumbian walaupun dalam konsentrasi yang sangat kecil (Palmer & Smith, 1970). Biosintesa GA dihambat oleh retardan, padahal GA berfungsi dalam pemanjangan batang, dengan demikian pemanjangan batang menjadi terhambat dan energi untuk pemanjangan batang yang tidak terpakai digunakan untuk inisiasi umbi (Wattimena, 1983 sitasi Puspitaningtyas, 1992). Sitokinin tidak berperan langsung dalam pembentukan umbi in-vitro, tetapi dalam kejadian ini sitokinin mendorong pertumbuhan umbi (Sattelmacker dan Marschner, 1978).

#### Penyimpanan Kultur

Kultur tumbuhan umbi dewa dalam media dasar MS (Murashige, 1962) dengan konsentrasi normal, 4-8 minggu harus disubkultur/dipindahkan ke dalam media yang baru karena nutrisi dalam media dan ukuran tanaman dalam botol sudah tidak memenuhi syarat untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Tetapi pada media MS yang dikurangi takarannya hingga V\* nya dengan penambahan sukrosa konsentrasi lebih tinggi dari konsentrasi normal (40.000 mg/l) mampu mempertahankan/menghambat pertumbuhan kultur dengan pertumbuhan minimal (minimal growth). Sukrosa dengan konsentrasi yang relatif tinggi, dapat berfungsi sebagai osmotikum.

#### Aklimatisasi dan penanaman di lapangan

Pada tahap aklimatisasi penting diperhatikan faktor kelembaban di sekitar tanaman terutama dalam media, karena planlet tersebut perlu adaptasi terhadap perubahan lingkungan. Mengingat lingkungan asal (in vitro) yang terkontrol, dengan lingkungan luar (ex vitro) yang sangat berbeda.

Adanya gangguan hama ulat yang menyerang tanaman dan umbinya di rumah kaca dan di lapangan (Foto 7 dan 8) yang sangat merugikan penting untuk

diwaspadai, karena dapat mematikan hampir seluruh tanaman apabila tidak dilakukan pengendalian. Pengendalian yang paling efektif adalah secara manual, karena penggunaan pestisida untuk pengendalian hama terhadap tanaman obat sangat tidak dianjurkan, bahkan harus dihindari.

#### KESIMPULAN DAN SARAN

Teknik perbanyakkan secara in vitro pada tumbuhan umbi dewa telah dikuasai. Perlakuan penambahan sitokinin (BA dan adenin sulfat) ke dalam media dasar berhasil mendorong pembentukan tunas kultur *G. pseudo-china*, bahkan dalam konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan pembentukan tunas secara optimal dengan menghasilkan jumlah tunas tertinggi.

Pembentukan umbi *G. pseudo-china* secara in vitro, dipengaruhi oleh adanya kandungan ZPT retardan (CCC), sitokinin (BA) dan penambahan sukrosa konsentrasi tinggi. Tingkat konsentrasi yang tepat untuk mendorong pengumbian in vitro secara optimal belum diperoleh, karena pembentukan umbi dengan ukuran umbi yang optimal masih dapat ditingkatkan. Perlakuan dengan berbagai jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang lainnya perlu dicobakembali.

Pemeliharaan kultur dengan media pertumbuhan minimal, dapat memperpanjang masa subkultur hingga 36 minggu tanpa menurunkan laju pertumbuhan untuk metode perbanyakkan selanjutnya.

Budidaya in vitro dan ex vitro pada umbi dewa, dapat diaplikasikan untuk mempersiapkan bahan baku industri obat untuk skala besar atau kecil.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995.** *Indek Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia*. PT EISAI Indonesia. Jakarta.
- Anonim, 2004<sup>1</sup>.** Bisnis yang siap menggurita. *Sinar Tani No. 3031*, Edisi 21-27 Januari 2004.
- Anonim, 2004<sup>2</sup>** Sulitnya mendapatkan plasma nutfah unggul. *Sinar Tani No. 3031*, Edisi 21-27 Januari 2004.
- Anonim, 2004<sup>3</sup>.** Teknik-teknik baru di agribisnis tanaman rempah dan obat. *Sinar Tani No. 3031*, Edisi 21-27 Januari 2004.
- Burkill IH. 1935.** *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. Vol. I. Governments of

the Straits Settlements and Federated Malay States by the Crown Agents for The Colonies Millbante London SW.

- George EF. 1996.** *Plant Propagation by Tissue Culture in Practice. Part 1.* Exegetics Limited, Edington, Wilts. England
- Heyne 1987.** *Tumbuhan Berguna Indonesia III.* Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan RI, 1844.
- Hoesen DSH. 1990.** Pemberian zat pengatur tumbuh adenine dan benzylaminopurine pada perbanyakan tanaman pisang (*Musa* spp.) kultivar Ambon, Raja Bulu dan Tanduk secara in vitro. *Prosiding Seminar Biologi Dasar I.* Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor.
- Hoesen DSH. 1992.** Perbanyakan empat varietas pisang *Musa acuminata* Colla secara in vitro. *Prosiding Ekspose II Hasil Litbang Sumberdaya Hayati Puslitbang Biologi-LIPI, Tahun 1991-1992.* Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor.
- Hoesen DSH. 2001.** Perbanyakan dan penyimpanan kultur sambung nyawa *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. dengan teknik in vitro. *Berita Biologi* 5(4), 379-385.
- Hoesen DSH. 2003.** Pertumbuhan dan perkembangan tunas *Crinum* sp. secara in-vitro. *Gakuryoku* IX(1), 154-159.

- Murashige T and Skoog F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15,473-497.
- Meseguer J and Mele E. 1987.** In-vitro propagation of adult material and seedlings of *Corylus avellana*. *Ada. Hort.* 212,499-503.
- Palmer CE and Smith DE. 1969.** Cytokinin and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. *Nature* 221,279-280.
- Puspitaningtyas DM dan Wattimena GA. 1992.** Pembentukan umbi kentang secara in-vitro. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi* Puslitbang Bioteknologi-LIPI, 350-358.
- Sattelmacher B and Marschner H . 1978.** Cytokinin activity in stolon and tubers of *Solanum tuberosum* during the period of tuberization. *Physiology Plantarum* 49, 69-72.
- Teik Ng L and Yap SF. 2003.** *Gynura* Cass. In: *Medicinal and Poisonous Plants* 3. Lemmens RHMJ and Bunyapraphatsara N (Eds.), 231-233. Plant Resources of South East Asia (PROSEA) 12(3). Backhuys Publisher, Leiden.
- Wattimena GA. 1983.** Micropropagation as an alternative technology for potato introduction in Indonesia. *PhD. Thesis.* University of Wisconsin, Madison.