

PERBANYAKAN *IN VITRO* KELADI TIKUS (*Typhonium flagelliforme* (Lodd) Bl.), TANAMAN YANG BERPOTENSI SEBAGAI OBAT KANKER

[*In vitro* Propagation of Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd) Bl., A Potential Plant for Cancer Medication)]

Maria Imelda

Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI
Jl. Raya Bogor Km. 46 (P.O. Box 422 Bogor), Cibinong, Bogor

ABSTRACT

Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd) Bl.) of the Araceae generally grows wild in the open or in slightly shaded areas. The active compounds of the plant have not yet been known, however its potential for cancer medication has been reported by several media. Since the plant is being heavily removed in their habitat, research for adoption of *in vitro* technique for production of their planting materials is needed. Lateral shoots of a 2-cm tuber, were sterilized with 30% sodium hypochlorite for 15 minutes. After several rinses with sterile distilled water, the shoots were cultured on a solid Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with BAP (0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg/l) in combination with IBA (0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg/l). All cultures were incubated at 26 °C under fluorescent lights of 16 hours/day. Rooting of shoots was induced on MS medium without growth regulators and the plantlets were established in a potting medium of sand, compost and soil (1:1:1). The results showed that the highest rate of shoot proliferation and growth was on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BAP and 0.25 mg/l IBA. Using this medium, a sixteen-fold increase in shoot multiplication can be achieved with survival rate of 95%.

Kata kunci/ key words: Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd) Bl.), perbanyakan *in-vitro/in-vitro* propagation, zat pengatur tumbuh/growth regulator, BAP, IBA.

PENDAHULUAN

Keladi tikus (*T. flagelliforme* (Lodd) Bl.) adalah tanaman semak yang termasuk ke dalam suku Araceae yang tersebar luas di India, Cina, Jepang, sampai ke Australia. Di Indonesia jenis ini tidak dibudidayakan, umumnya tumbuh merumpun di tempat terbuka atau yang sedikit terlindung di tepi jalan, padang atau di pekarangan, pada ketinggian 1-300 m dpl (Backer and Bakhuizen van den Brink Jr, 1968). Nama keladi tikus mungkin diberikan karena bunganya memiliki spatha yang berujung panjang dan runcing mirip ekor tikus.

Secara tradisional tanaman ini sering digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit kulit. Namun, sejak tahun 2000 keladi tikus dipopulerkan oleh berbagai media sebagai *tanaman ajaib* yang menurut informasi mampu menghambat perkembangan sel kanker di rahim, paru-paru, lever, ginjal dan lain-lain. Banyak dilaporkan bahwa ekstrak segar dari seluruh bagian tanaman yang diminum langsung merupakan ramuan yang mujarab untuk mengurangi efek kemoterapi seperti tidak nafsu makan, rambut rontok, kerusakan kulit ataupun mual-mual (Teo and Ch'ing, 2000).

Sebenarnya bahan aktif yang terkandung dalam keladi tikus ini belum diketahui (sedang diteliti di Puslit Bioteknologi - LIPI) namun makin segar ekstrak yang diminum, kemampuan medikatifnya semakin efektif. Di Malaysia, selain dimakan segar, serbuk kering tanaman ini telah diperjualbelikan dalam bentuk pil, kapsul atau teh bubuk untuk memudahkan pengirimannya ke tempat-tempat yang jauh.

Perbanyakan tanaman ini secara alami dilakukan dengan dua cara yaitu secara generatif melalui bijinya dan secara vegetatif dengan umbinya. Dalam rangka mengantisipasi meningkatnya eksploitasi tanaman ini dari alam secara besar-besaran, perlu dikembangkan suatu teknik perbanyakan yang dapat membiakkan tanaman secara cepat, dalam jumlah tak terbatas, bersifat sama dengan induknya dan berkesinambungan. Dengan demikian ketersediaan tanaman yang mungkin diperlukan dalam jumlah besar ini, tidak merupakan kendala.

Teknik kultur jaringan atau teknik *in-vitro* yang sudah berhasil diterapkan pada berbagai tanaman hortikultura/pertanian, tanaman kehutanan dan perkebunan perlu juga dikembangkan bagi tanaman ini. Dalam tulisan ini, perbanyakan *in-vitro* keladi tikus

dilakukan dengan meneliti pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan IBA terhadap daya multiplikasi tunasnya.

BAHAN DAN METODA

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah umbi keladi tikus yang panjangnya kurang lebih 2 cm. Umbi tersebut dibersihkan dari sisa-sisa tanah dengan air mengalir lalu dicelupkan dalam alkohol 80% dan disterilkan dalam larutan klorox atau sodium hipoklorit 30% dan 20% masing-masing selama 15 menit. Selanjutnya umbi dibilas beberapa kali dengan akuades steril untuk membersihkan sisa klorox. Pekerjaan terakhir ini dilakukan dalam *laminar air flow cabinet*. Mata tunas umbi yang suci hama penyakit ini diambil sebesar $\pm 1 \text{ cm}^3$, kemudian ditumbuhkan pada media yang telah disediakan.

Media tumbuh

Media yang digunakan adalah media padat dengan komposisi Murashige and Skoog (MS) (1962) yang mengandung sukrosa 30% dan agar gelrite 2,5 gram/liter. Keasaman media diatur sampai mencapai pH 5,8 dengan penambahan larutan KOH dan HCl. Selanjutnya media tersebut diautoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Untuk menginduksi multiplikasi tunasnya ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA sedangkan pengakaran tunas tersebut dilakukan pada media serupa tetapi tanpa pemberian zat pengatur tumbuh.

Perlakuan

Kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi 0,25; 0,50; 0,75 dan 1,0 mg/l serta IBA dengan konsentrasi serupa yaitu 0,25; 0,50; 0,75 dan 1,0 mg/l, yang ditambahkan ke dalam media, merupakan perlakuan untuk menginduksi penggandaan tunasnya. Jadi seluruhnya ada 16 perlakuan dengan 3 ulangan. Semua kultur tersebut diinkubasikan dalam ruang yang suhunya $\pm 26^\circ\text{C}$ dengan pencahayaan lampu TL 40 Watt 16 jam/hari. Subkultur ke media MS tanpa zat pengatur tumbuh dilakukan sambil memisah-misahkan tunas satu persatu.

Aklimatisasi

Planlet yang sudah cukup besar dan berakar baik dapat dikeluarkan dari tabung. Daun-daun tuanya dibuang dan akarnya dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan sisa-sisa agar yang masih melekat, kemudian dikeringkan dengan kertas tisu lalu ditaburi Rootone F secukupnya.

Selanjutnya planlet ditanam dalam polibag yang telah disiapkan berisi media campuran pasir, kompos dan tanah (1:1:1) mengingat secara alami tanaman ini umumnya tumbuh pada tanah berpasir. Setiap polibag itu diberi sungkup plastik yang telah dilubangi dengan pelubang kertas (*verporator*) kemudian ditempatkan di dalam kamar kaca. Dalam waktu 7-10 hari daun baru akan muncul, artinya sungkup sudah boleh dibuka dan polibagnya dapat ditempatkan di pembibitan yang suhunya lebih tinggi dan kelembabannya lebih rendah. Setelah lebih kurang 2 bulan di persemaian, bibit siap untuk ditanam di lapangan.

Pengamatan

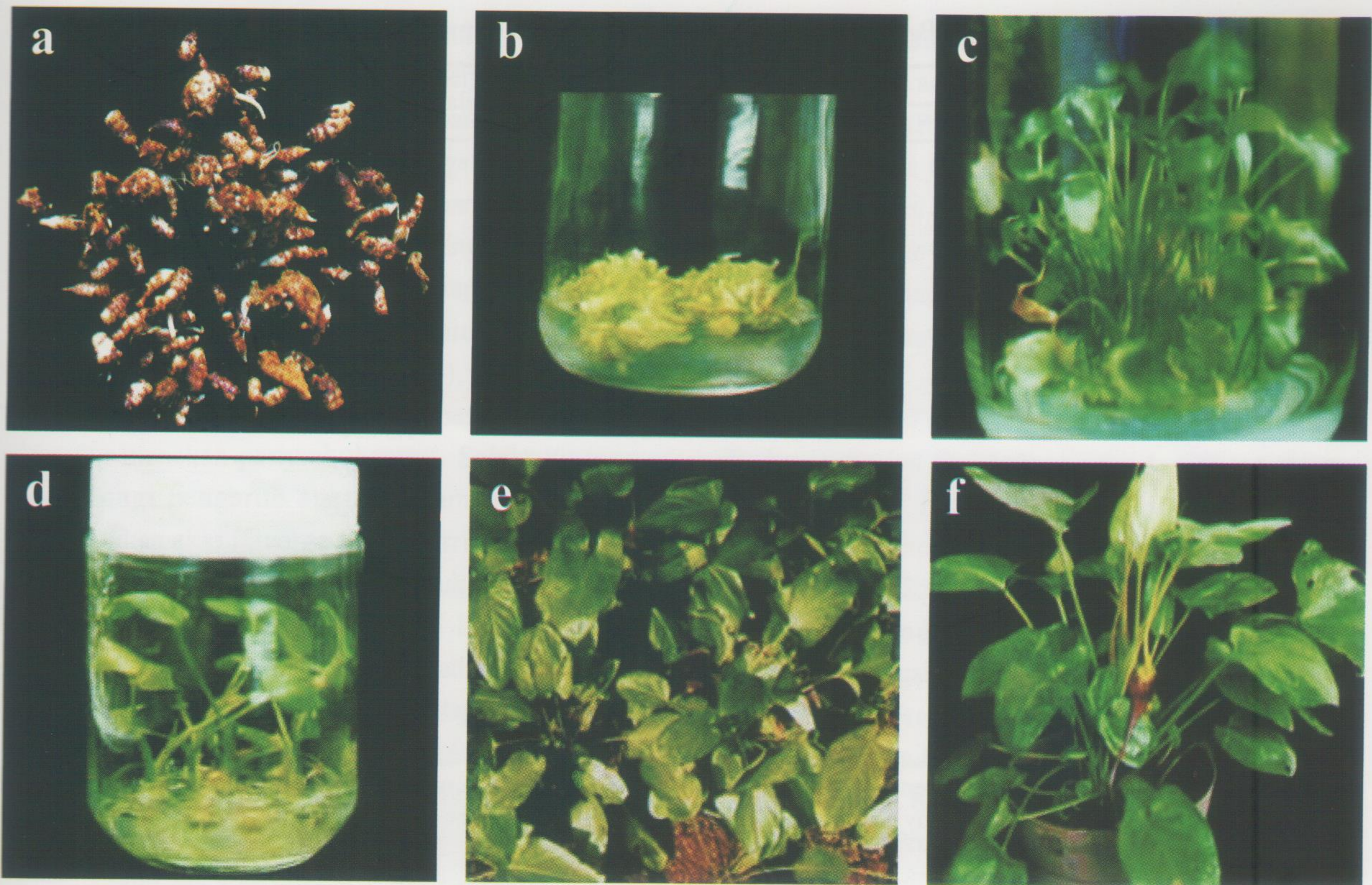
Pengamatan dilakukan terhadap perkembangan kultur yang tumbuh, jumlah tunas *in-vitro* normal, waktu yang diperlukan bagi penggandaan tunas, pembentukan akar, proses aklimatisasi serta jumlah planlet hidup setelah aklimatisasi. Pengamatan dilakukan setiap minggu masing-masing sampai umur 8 minggu pada kultur *in-vitro* dan di kamar kaca/pembibitan.

Data multiplikasi tunas yang diperoleh, dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

HASIL

Inisiasi kultur

Mata tunas umbi yang ditumbuhkan dalam media MS yang mengandung berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan IBA, tampak mulai menghiu dan tumbuh menjadi tunas dalam waktu 4-6 hari (Gambar 1). Selain tunas kalus juga terbentuk pada media yang kadar auksin (IBA)-nya agak tinggi, yaitu lebih dari 0,5 mg/l.



Gambar 1. Perbanyakan *in-vitro* keladi tikus: a. Umbi keladi tikus hasil kultur jaringan sebagai sumber eksplan, b. Bakal tunas *in-vitro* dalam media multiplikasi, c. Tunas majemuk keladi tikus dalam media pengakaran, d. Planlet keladi tikus yang telah berakar, e. Bibit keladi tikus yang telah diaklimatisasikan (umur 2 bulan), f. Tanaman keladi tikus yang sedang berbunga.

Multiplikasi dan pengakaran tunas *in-vitro*

Multiplikasi tunas *in-vitro* terjadi pada berbagai kombinasi perlakuan, dalam waktu 2-6 minggu. Umumnya terdapat 2 macam tunas yaitu tunas normal yang tumbuh dan bertambah tinggi serta tunas abnormal yang mengganda terus ke samping tetapi tidak bertambah tinggi. Tunas yang abnormal tersebut sulit ditentukan jumlahnya sehingga dalam penghitungan dianggap tidak ada atau 0 (Tabel 1).

Pada semua kadar BAP, tunas paling banyak dihasilkan pada kadar IBA terendah yaitu 0,25 mg/l, kecuali pada perlakuan 15 yang tunas terbanyaknya diperoleh pada konsentrasi IBA 1 mg/l. Pada kadar BAP 0,25 mg/l, makin tinggi IBA yang ditambahkan, jumlah rata-rata tunas yang diperoleh semakin rendah, bahkan pada kadar IBA 1 mg/l (4 kali kadar BAP) tidak ada tunas normal yang terbentuk. Perlakuan 2 (BAP 0,5 dan IBA 0,25 mg/l) adalah perlakuan yang menghasilkan rata-rata tunas terbanyak, namun tidak berbeda nyata dengan

perlakuan 1, 3, 4, 5, 11, 14, 15 dan 16 (Tabel 1). Perbedaan yang nyata terjadi antar perlakuan tersebut dengan perlakuan 6, 7, 8, 9, 10, 12 dan 13. Jumlah tunas tampak meningkat dengan pesat sampai umur 4 minggu, namun setelah itu penambahannya menjadi sangat sedikit (Gambar 2).

Sebagian tunas *in-vitro* sudah membentuk akar pada media multiplikasi, namun jumlah akar yang cukup banyak (3 atau lebih) dan berkualitas baik dihasilkan setelah tunas dipindahkan ke media pengakaran yang tidak mengandung zat pengatur tumbuh selama 2-3 minggu.

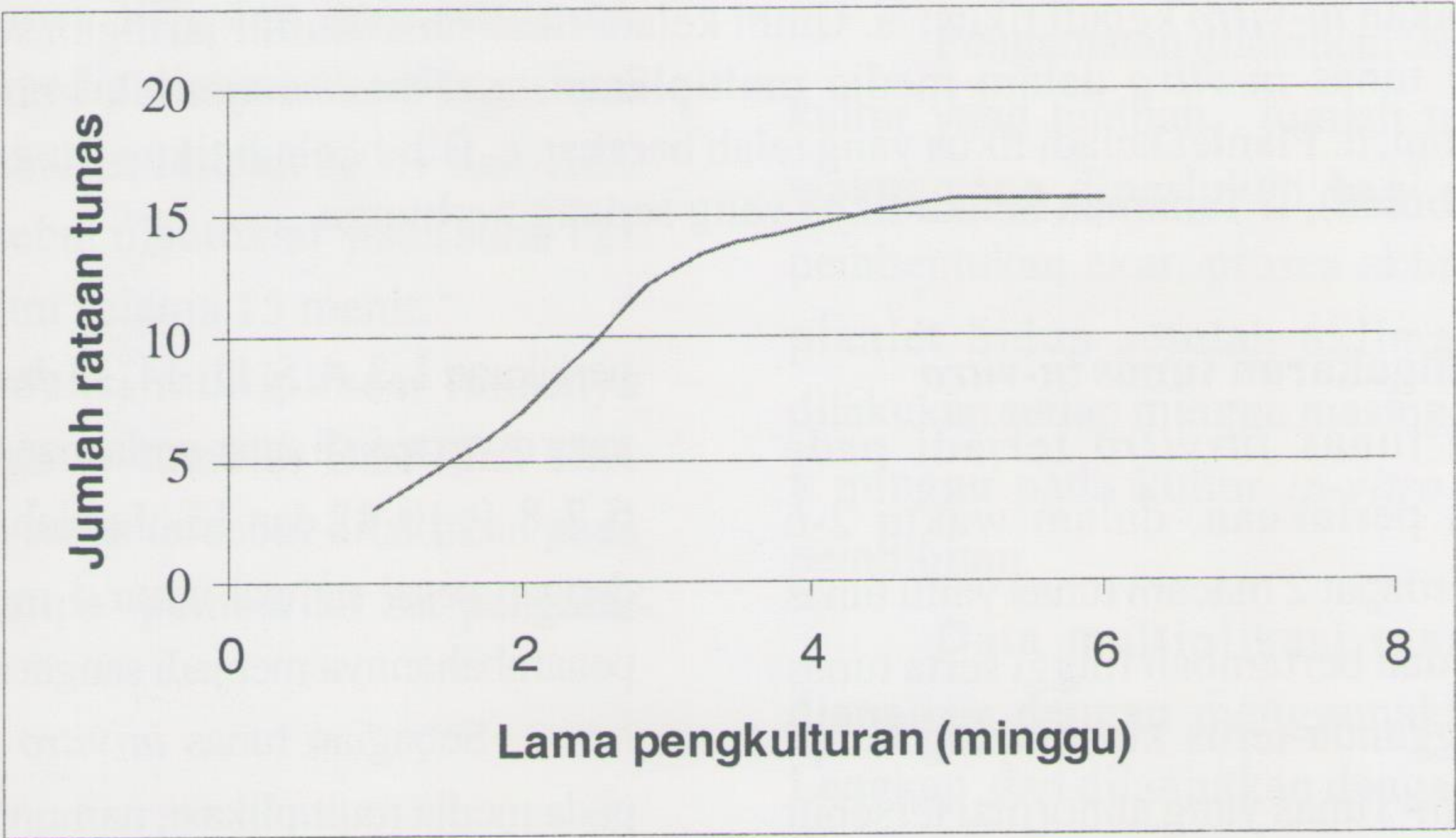
Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan proses penyesuaian planlet dari kondisi *in-vitro* yang aseptik serta terkontrol kelembaban maupun suhunya ke kondisi *ex vitro* (luar) yang sulit dikontrol. Hasil aklimatisasi menunjukkan bahwa dari 200 planlet yang diaklimatisasikan, 95 % berhasil hidup. Seluruh proses perbanyakan *in-vitro* keladi tikus itu dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Pengaruh hormon BAP dan IBA terhadap jumlah rataaun tunas keladi tikus umur 6 minggu.

Perlakuan no.	Kadar hormon (mg/l)		Jumlah rataaun tunas
	BAP	IBA	
1	0.25	0,25	14,0 de
2	0,50	0,25	15,5 e
3	0,75	0,25	10,5 bcde
4	1,00	0,25	12,0 cde
5	0,25	0,50	7,0 abcde
6	0,50	0,50	0,0 a
7	0,75	0,50	3,0 abcd
8	1	0,50	1,5 abc
9	0,25	0,75	1,5 abc
10	0,50	0,75	2,0 abcd
11	0,75	0,75	6,0 abcde
12	1,00	0,75	3,0 abcd
13	0,25	1,00	0,0 a
14	0,50	1,00	9,0 bcde
15	0,75	1,00	13,0 de
16	1,00	1,00	10,5 bcde

Keterangan: Angka dengan huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.



Gambar 2. Multiplikasi tunas *in vitro* keladi tikus selama 6 minggu pada media MS + 0,5 mg/l BAP + 0,25 mg/l IBA.

PEMBAHASAN

Hasil di atas menunjukkan bahwa sebenarnya makin tinggi kadar BAP tunas yang dihasilkan semakin banyak namun tidak semua tunas tersebut normal dan membentuk planlet. Tunas yang abnormal tidak bertambah tinggi, artinya tidak membentuk planlet/bibit. Menurut George and Sherrington (1984) dan Hartmann *et al.* (1990), jumlah tunas yang dihasilkan ditentukan oleh interaksi antara sitokinin dan auksin

yang ditambahkan ke dalam media. Jadi proliferasi dan perpanjangan tunas dapat ditingkatkan dengan mengontrol rasio konsentrasi BAP dan IBA hingga diperoleh jumlah dan kualitas tunas yang optimal.

Sesuai dengan uraian tersebut, Tabel 1 juga menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi sitokinin (BAP) dan auksin (IBA) yang tepat ternyata sangat menentukan daya multiplikasi tunas *in vitro* keladi tikus. Penggandaan tunas yang tinggi umumnya diperoleh pada

rasio sitokinin tinggi dan auksin rendah. Gambar 2 menunjukkan bahwa jumlah tunas meningkat dengan pesat sampai umur 4 minggu, namun pada minggu ke-5 dan ke-6 penambahannya relatif sangat sedikit. Oleh sebab itu sebaiknya proses penggandaan tunas *in-vitro* ini hanya dilakukan sampai umur 4 minggu, setelah itu dapat disubkulturkan ke media pengakaran.

Pengakaran yang baik diperoleh pada media tanpa hormon karena sitokinin (BAP), terutama pada kadar yang tinggi biasanya menghambat pembentukan akar dan menekan pertumbuhannya. Selain itu juga mengurangi pengaruh auksin dalam merangsang pembentukan akar (George and Sherrington, 1984).

Proses aklimatisasi perlu dilakukan pada semua bibit yang dihasilkan dengan teknik kultur jaringan mengingat tanaman *in-vitro* tumbuh pada kondisi yang heterotropik. Tanaman tersebut mendapat energi dari sukrosa yang ada dalam media bukan dari hasil fotosintesis, stomatanya juga belum berfungsi sempurna. Oleh sebab itu tanaman *in-vitro* sangat peka terhadap fluktuasi suhu dan kelembaban di lingkungan luar serta mudah terserang hama/penyakit (Hartmann, 1990; Ziv, 1994). Keberhasilan seluruh teknik perbanyakan *in vitro* bagi tanaman keladi tikus sangat ditentukan pula oleh tingkat keberhasilan proses aklimatisasinya. Dalam penelitian ini selain penyesuaian yang dilakukan secara bertahap, planlet juga dibantu untuk menghasilkan akar baru dengan cara menanam pada media campuran (pasir, kompos dan tanah) yang dibantu pula dengan pemberian Rooton F yang mengandung auksin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil di atas, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

- Media terbaik bagi multiplikasi tunas *in-vitro* keladi tikus adalah media MS yang mengandung 0,5 mg/l BAP dan 0,25 mg/l IBA.
- Pada media tersebut, dari 1 mata tunas umbi dihasilkan 16 tunas dalam waktu 6 minggu.
- Teknik *in-vitro* ini merupakan cara yang efektif dan efisien untuk diterapkan dalam perbanyakan tanaman keladi tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer CA and Bakhuizen van den Brink Jr B.** 1968. Flora of Java Vol.III. Wolters-Noordhoff N.V.-Groningen-The Netherlands. Hlm 125.
- George EF and Sherrington PD.** 1984. Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Eastern Press, Reading, UK. Hlm 284-330.
- Hartmann HT, Kester DE and Davies Jr FT.** 1990. Plant Propagation, Principles and Practices, fifth edition. Prentice-Hall International, Inc., New Jersey. Hlm 459-484.
- Murashige T and Skoog F.** 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol.Plant.* **15** : 473-497.
- Teo CKH and Ch'ing BI.** 1996. Cancer, yet They Live. Eramaps Sdn. Bhd, Malaysia. Hlm. 53-70.
- Ziv M.** 1994. *In vitro* Acclimatization. Dalam: Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture. Aitken-Chistie J, Kozai T and Smith MAL (eds.). Kluwer Academic Publishers Dordrecht. Hlm 493-516.