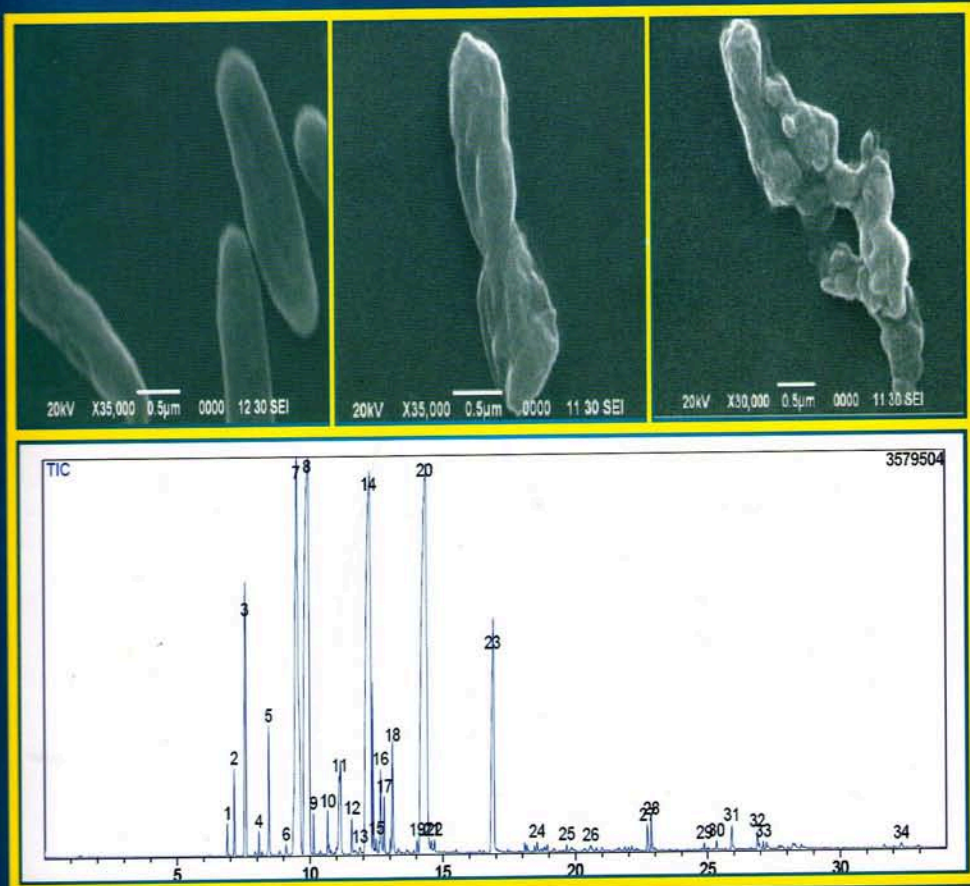


# Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional



Diterbitkan Oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

**Berita Biologi** merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

### **Surat Keputusan Ketua LIPI**

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

### **Dewan Pengurus**

#### **Pemimpin Redaksi**

B Paul Naiola

#### **Anggota Redaksi**

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan  
Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

#### **Desain dan Komputerisasi**

Muhamad Ruslan, Yosman

#### **Distribusi**

Budiarjo

#### **Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum**

(berlangganan dan surat-menyurat)

Enok, Ruswenti

Pusat Penelitian Biologi - LIPI  
Kompleks Cibinong Science Centre (CSC-LIPI)  
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,  
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia  
Telepon (021) 8765066 - 8765067  
Faksimili (0251) 8765063  
Email: herbogor@indo.net.id  
[ksama\\_p2biologi\(@,vahoo.com](mailto:ksama_p2biologi(@,vahoo.com)

Keterangan foto/ gambar cover depan: *Perbandingan tingkat kerusakan dinding sel Escherichia coli yang diperlakukan dengan minyak atsiri temu kunci (Kaempferia pandurata), dan kromatogramnya yang dihasilkan dengan GC-MS sesuai makalah di halaman 1 (Foto: koleksi Universitas Sriwijaya/ Institut Pertanian Bogor - Miksusanti).*



**LIPI**

# **Berita Biologi**

**Jurnal Ilmiah Nasional**

**ISSN 0126-1754**

Volume 9, Nomor 1, April 2008

Terakreditasi

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

### Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
  - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik dan sebagainya).
  - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agro bioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri. *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.  
*Abstrak* dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, ditulis miring, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan*.
8. Pola penyiapan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto; pencantuman Lampiran seperlunya.  
Gambar dan foto: harus bermutu tinggi, gambar pada kertas kalkir (bila manual) dengan tinta cina, berukuran kartu pos; foto berwarna, sebutkan programnya bila dibuat dengan komputer.
9. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee secara elektronik. Jika memungkinkan, kirim juga filenya melalui alamat elektronik (E-mail) Berita Biologi: herbogor@indo.net.id dan [ksama\\_p2biologi\(3\),yahoo.com](mailto:ksama_p2biologi(3),yahoo.com)
10. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, presiding atau sumber lainnya secara lengkap, jangan disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
  - a. Jurnal  
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
  - b. Buku  
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
  - c. Presiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya  
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Am, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Littay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
  - d. Makalah sebagai bagian dari buku  
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. Dalam: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Kirimkan makalah serta copy file dalam CD (lihat butir 9) ke Redaksi. Sertakan alamat Penulis yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang mudah dan cepat dihubungi dan alamat elektroniknya.

Berita Biologi menyampaikan terima kasih  
kepada para Mitra Bestari/Penilai (Referee) nomor ini  
9(1)-April 2008

- Prof. Dr. Adek Zamrud Adnan (Farmasi, FMIPA-Universitas Andalas)*  
*Dr. Andria Agusta (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Dr. B Paul Naiola (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Drs. Edy Mirmanto, MSc (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Dr. Erdy Santoso (Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam*  
*Departemen Kehutanan)*  
*Dr. Hah Sutrisno (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Dr. Herman Daryono (Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam*  
*Departemen Kehutanan)*  
*Dr. Iwan Saskiawan (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Ir. Maria Imelda, MSc (Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI)*  
*Dra. Nunuk Widhyastuti, MSi (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Dr. Nuril Hidayati (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)*  
*Dr. Nyoman Mantik Astawa (Departemen Virologi FKH -Universitas Udayana)*

## DAFTAR ISI

**MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)**

<b>KERUSAKAN DINDING SEL <i>Escherichia coli</i> K1.1 OLEH MINYAK ATSIRI TEMU KUNCI (<i>Kaempferia pandurata</i>)</b> [Cell Wall Disruption of <i>Escherichia coli</i> K1.1 by Temu Kunci ( <i>Kaempferia pandurata</i> ) Essential Oil] <i>Miksusanti, Betty Sri Laksmi Jennie, Bambang Ponco dan Gatot Trimulyadi</i> .....	<b>1</b>
<b>KERAGAMAN AKTINOMISETES KEPULAUAN WAIGEO, KABUPATEN RAJA AMPAT, PAPUA DAN POTENSINYA SEBAGAI PENDEGRADASI SELULOSA DAN PELARUT FOSFAT</b> [Actinomycetes Diversity in Waigeo Island, Raja Ampat Regency, Papua and Their Potentials as Cellulose Degradation and Phosphate Solubilization] <i>ArifNurkanto</i> .....	<b>9</b>
<b>POTENSI IKAN MUJAIR (<i>Sarotherodon mossambica</i>) SEBAGAI BIOAKUMULATOR PENCEMARAN PESTISIDA PADA LINGKUNGAN PERTANIAN</b> [The Potential of Mujair Fish ( <i>Sarotherodon mossambica</i> ) as Bioaccumulator of Pesticides Contamination in Agricultural Land] <i>Yulvian Sani dan Indraningsih</i> .....	<b>19</b>
<b>PEMBUATAN STARTER UNTUK EKSTRAKSI MINYAK KELAPA MURNI MENGGUNAKAN MIKROBA AMILOLITIK</b> [Preparation of Starter for Extracting Virgin Coconut Oil by Using Amylolytic Microbes] <i>ElidarNaiola</i> .....	<b>31</b>
<b>RETRANSFORMATION AND EXPRESSION OF RECOMBINANT VIRAL PROTEIN OF JEMBRANA SU AND Tat (JSU AND JTat) IN pGEX SYSTEM</b> [Retransformasi dan Ekspresi Protein Virus Rekombinan JSU dan JTat Penyakit Jembrana dalam Sistem pGex] <i>Endang T Margawati, Andi Utama and Indriawati</i> .....	<b>39</b>
<b>POPULASI POHON JENIS DIPTEROCARPACEAE DI TIGA TIPE HUTAN PAMAH KALIMANTAN</b> [Tree Population of Dipterocarpaceae Species in Three Vegetation Types of Lowland Forests Kalimantan] <i>Herwint Simbolon</i> .....	<b>45</b>
<b>DAUR PATOLOGIS TEGAKAN HUTAN TANAMAN <i>Acacia mangium</i> Willd.</b> [Pathological Rotation of <i>Acacia mangium</i> Willd. Forest Stand] <i>Simon Taka Nuhamara, Soetrisno Hadi, Endang Suhendang, Maggy T Suhartono, Wasrin Syafii dan Achmad</i> .....	<b>59</b>
<b>KEANEKARAGAMAN FLORA CAGAR ALAM NUSA BARONG, JEMBER - JAWA TIMUR</b> [Floral Diversity of Nusa Barong Nature Reserve, Jember - East Java] <i>Tukirin Partomihardjo dan Ismail</i> .....	<b>67</b>
<b>KARAKTERISASI 17 FAMILI IKAN NILA (<i>Oreochromis niloticus</i>) GENERASI KE TIGA (G-3) BERDASARKAN METODE TRUSS MORFOMETRIKS</b> [Characterization of 17 Families of Nile tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) Third Generation (G-3) Based on Truss Morphometrics] <i>Nuryadi, Otong Zenal Arifin, Rudhy Gustiano dan Mulyasari</i> .....	<b>81</b>

<b>INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS PULAI PANDAK (<i>Rauwolfia serpentina</i> L.)</b> [Callus Induction and Shoot Regeneration of Pulai pandak ( <i>Rauwolfia serpentina</i> L.)] <i>Rossa Yunita dan Endang Gati Lestari</i> .....	<b>91</b>
<b>POTENSI ANTIBAKTERIA EKSTRAK DAN FRAKSI LIBO (<i>Piper mnlatum</i> Bl.)</b> [Antibacterial Potential of Extract and Fraction of Libo ( <i>Piper mnlatum</i> Bl.)] <i>Sumarnie H Priyono</i> .....	<b>99</b>
<b>TOLERANSI SENGON BUTO (<i>Enterolobium cyclocarpum</i> Griseb) YANG DITANAM</b> <b>PADA MEDIA LIMBAH TAILING TERCEMAR SIANIDA DENGAN PERLAKUAN PUPUK</b> [Tolerance of Sengon buto ( <i>Enterolobium cyclocarpum</i> Griseb) Grown on Cyanide Contaminated Tailing Media with Fertilizer Application] <i>Fauzia Syarif</i> .....	<b>105</b>
<b><u>KOMUNIKASI PENDEK</u></b>	
<b>MENGESTIMASI NILAI KERUSAKAN TUMBUHAN INANG AKIBAT PEMARASITAN</b> <b>BENALU</b> [Estimating the Destruction of Host Plant caused by Mistletoe Parasitizing] <i>Sunaryo</i> .....	<b>111</b>

## INDUKSIKALUS DAN REGENERASI TUNAS PULAI PANDAK (*Rauwolfia serpentina* L.)

### [Callus Induction and Shoot regeneration of Pulai pandak {*Rauwolfia serpentina* L.}]

Rossa Yunita<sup>✉</sup> dan Endang Gati Lestari  
Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi  
dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen)  
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian  
Jin. TentaraPelajar No 3A, Bogor 16111

#### ABSTRACT

*In vitro* culture can be applied for producing new genotype which is tolerant to biotic and abiotic or to increase secondary metabolic content. To obtain the optimum result of variety improvement, regeneration system should firstly be found out. It is sufficiently difficult to regenerate pulai pandak (*Rauwolfia serpentina* L.). Hence, with this system, the improvement of *R. serpentina* with secondary metabolic content higher than the other. The mother stock of *R. serpentina* used in this experiment, belongs to the collection of BB-Biogen. Calli were produced from leaves and internodes which is cultured at medium MS contain 2,4-D (0, 1, 3, 5, 7 mg/l) combined with caseine hydrolysate 3 mg/l. Regeneration medium was MS contain BA (0,5, 1 mg/l) combined with zeatin (0, 0,1 and 0,5 mg/l) and root formation used was three kinds of auxin (IBA, IAA and NAA). The result showed that inter nodels was better than leaves to callus induction. In this experiment, MS + 2,4-D 1 mg/l + CH 3 mg/l was the best medium to induce calli, while medium MS + BA 1 mg/l + Zeatin 0,5 mg/l + maltosa 3% to regenerate and MS + IBA 1mg/l for root induction.

Kata kunci: Induksi kalus, regenerasi, pulai pandak, *Rauwolfia serpentina*.

#### PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai sumberdaya alam hayati yang beraneka ragam termasuk di dalamnya tumbuhan obat. Tumbuhan obat merupakan sumber daya alam yang mempunyai nilai ekonomi sangat tinggi (Zuhud 1989). Alrasyid (1991) (dalam Zuhud *et al*, 1994) menyatakan bahwa Indonesia memiliki kurang lebih 9606 spesies tumbuhan obat antara lain pulai pandak (*Rauwolfia serpentina* L.).

Akar tanaman *R. Serpentina* mengandung bahan obat dari golongan alkaloid indol monoterpenoid seperti reserpin, ajmalin, ajmalisin dan serpentin yang dapat digunakan sebagai obat antihipertensi (Sudiarto *etal*, 1985; Cocolas, 1991; Roja dan Heble, 1996).

Metabolit sekunder terbanyak yang dihasilkan adalah reserpin (Cocolas, 1991). Selain akar, daun dan batang dari tanaman *R. serpentina* juga mengandung alkaloid indol, namun konsentrasinya lebih rendah dibandingkan bagian akar (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Permintaan *R. serpentina* dalam bentuk akar yang telah dikeringkan cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Permintaan rata-rata dari tahun 1984 hingga 1990 sebesar 1579, 86 kg pertahun dengan penambahan sebanyak 409,07 kg per tahun (Sandra

dan Kemala 1994).

Selama ini simplisia *R. serpentina* yang diperoleh langsung dari alam (hutan), karena permintaan yang terus meningkat dan cukup tinggi mengakibatkan pemanenan yang berlebihan, sehingga mengancam kelestarian tumbuhan di habitatnya (Zuhud *et al*, 1994). Penyebab lain dari kelangkaan *R. serpentina* adalah penyebarannya terbatas, sulit diperbanyak secara konvensional dan pemanfaatan akarnya sebagai bahan obat sehingga setelah dipanen seluruh tanaman mati (Sandra dan Kemala, 1994). Untuk menjaga kelestarian dan memenuhi kebutuhan, tumbuhan ini harus dibudidayakan. Untuk itu diperlukan bibit unggul yang berkualitas dan tersedia sepanjang waktu.

Kultur jaringan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan akan bibit tanaman. Kelebihan dari metoda ini adalah bibit tersedia sepanjang waktu, faktor lingkungan tumbuh kultur dapat diatur dan dikendalikan, tidak membutuhkan area penanaman yang luas, serta bibit dihasilkan lebih seragam. Selain dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman, tehnik kultur jaringan juga



dimanfaatkan untuk perbaikan sifat genetik tanaman secara non-konvensional. Penggunaan teknik kultur jaringan dengan tujuan untuk memperbanyak tanaman maupun perbaikan sifat genetik secara non-konvensional, untuk perbaikan genetik diperlukan perubahan dalam tingkat sel, kalus yang embriogenik dapat menghasilkan "somatic embryos" (Mariska *et al.*, 1989).

Perbanyak vegetatif melalui teknik kultur jaringan pada tanaman *R. serpentina* telah dilakukan dengan eksplan dari mata tunas (Seswita *et al.*, 1993 dan Roy *et al.*, 1995). Untuk eksplan yang berasal dari daun maupun batang belum banyak dilaporkan. Pembentukan tunas melalui kultur jaringan merupakan metoda yang potensial untuk memperbanyak tanaman secara mikro (Jones, 1983). Pada perbanyak vegetatif tersebut maka tunas atau akar adventif dapat dihasilkan pada jaringan yang secara normal tidak akan menghasilkan tunas (Thorpe, 1980 dalam Throper dan Patel, 1994). Pada tanaman inggu, tunas adventif didapatkan dari jaringan batang menggunakan media dasar MS + 2,4-D 0,3 mg/l + BA 1,5 mg/l, pada eksplan kalus dapat diperoleh tunas pada media dasar MS + 2,4-D 0,1 mg/l + BA 0,3 mg/l.

Regenerasi tunas dari eksplan kalus merupakan proses yang kompleks, banyak faktor yang mempengaruhi antara lain genotipe tanaman, keseimbangan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin baik yang terdapat diluar maupun didalam sel serta kondisi fisiologi kalus. Kalus yang masih segar mempunyai respon yang lebih baik dibandingkan kalus yang telah di subkultur berkali-kali atau mengalami periode kultur yang panjang dan telah mengalami perlakuan radiasi atau seleksi (Ogawa, 2000).

Faktor lain yang berpengaruh dalam proliferasi dan regenerasi tunas adalah perbandingan antara senyawa  $\text{NH}_4^+$  dan  $\text{NO}_3^-$  di dalam media, kandungan asam amino serta tekanan osmotik (Zhu *et al.*, 1996), namun banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh sangat berperan dalam menentukan arah morfogenesis. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk pembentukan tunas adventif terjadi efek sinergisme antara sitokinin dan auksin sehingga perkembangan eksplan pada pembentukan kalus dan pembentukan tunas menjadi

lebih baik (Petersen, 1994; Trigiano & Gray, 2005). Keuntungan pembentukan tunas melalui fase kalus adalah dapat diperoleh bahan tanaman dalam jumlah banyak dari bahan tanaman yang jumlahnya terbatas.

Pada penelitian ini dilakukan penginduksian dan regenerasi tunas dari kalus tanaman *R. serpentina* (L) melalui pemberian zat pengatur tumbuh Benzil Adenin (BA) yang ditumbuhkan pada media MS. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan komposisi media yang terbaik untuk induksi kalus dan regenerasi tunas dari kalus serta induksi pengakaran.

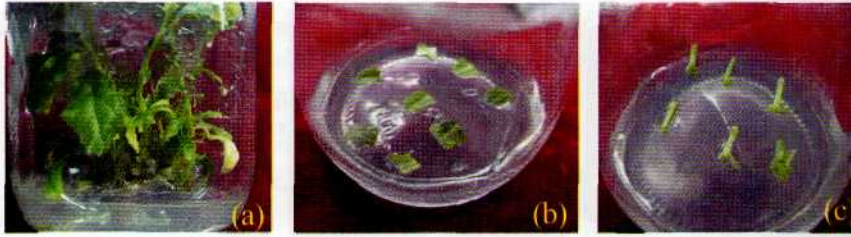
## BAHATAN METODA

Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Juli 2006 di laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah biakan *in vitro* *R. Serpentina* L., koleksi BB-Biogen.

Biakan *in vitro* *R. serpentina* (L.) di subkultur pada media dasar MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BA 0,1 mg/l untuk penyediaan eksplan. Media dasar yang digunakan adalah MS (Murashige and Skoog, 1962) dilengkapi dengan sukrosa 3% (w/v), serta dibuat padat dengan menambahkan agar 0,2% (phytagel/gelrite). Selanjutnya pH media dibuat 5,8 dengan menambahkan 1 N NaOH atau 1N HCl selanjutnya media di otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Biakan yang telah ditanam pada media perlakuan di letakkan dalam ruang kultur dengan suhu  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  dibawah pencahayaan menggunakan lampu TL dengan intensitas penyinaran sebesar 1.000 lux selama 16 jam/hari.

Setelah biakan berumur 2 bulan dan mencapai tinggi  $\pm 5$  cm dan menghasilkan daun yang memiliki ukuran yang memadai sebagai eksplan (Foto 1), maka biakan siap dijadikan eksplan untuk menginduksi kalus. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan untuk induksi kalus adalah daun dan batang. Daun dipotong segi empat dengan ukuran  $\pm 0,7\text{cm} \times 0,7$  cm (Foto 2a) dan batang yang digunakan ialah internodul panjang 0,7 cm dan bagian nodul dibuang (Foto 2b).

Penelitian terdiri atas tiga kegiatan yaitu (1) induksi kalus (2) regenerasi tunas dan (3) pengakaran. Untuk induksi kalus menggunakan media dasar MS



**Foto 1.** (a) biakan *R. serpentina in vitro* yang digunakan sebagai eksplan untuk induksi kalus, (b) daun dan (c) batang.

yang diperkaya dengan ZPT 2,4-D (1,3,5 dan 7 mg/l) dan kasein hidrolisat (CH) 0 dan 3 g/l. Setelah kalus terbentuk, dipindahkan pada media regenerasi. Media untuk regenerasi adalah media dasar MS yang diperkaya dengan BAP (0,1 0,5 dan 1 mg/l) yang dikombinasikan dengan zeatin (Zea) (0,1 dan 0,5 mg/l) dan diperkaya dengan maltosa 3%, setiap perlakuan terdiri atas 5 ulangan.

Parameter yang diamati untuk induksi kalus adalah persentase eksplan berkalus, diameter kalus, warna kalus serta visual kalus. Pada tahap regenerasi pengamatan dilakukan pada persentase kalus menghasilkan tunas, jumlah serta tinggi tunas, dan penampakan visualnya.

Tunas dengan tinggi  $\pm 3$  cm dipindahkan ke media perakaran. Media perakaran merupakan media dasar MS yang diperkaya dengan ZPT auksin (IBA, IAA dan NAA) pada konsentrasi 0; 0,5; 1,0; 1,5 dan 2 mg/l setiap perlakuan terdiri atas 5 ulangan. Peubah yang diamati adalah persentase eksplan membentuk akar dan jumlah akar yang terbentuk, pada umur 8 minggu setelah masa tanam.

## HASIL

### Induksi Kalus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua eksplan batang yang ditumbuhkan pada media dasar MS yang diperkaya dengan 2,4-D maupun 2,4-D + CH (kasein hidrolisat) dapat membentuk kalus, begitu juga dengan eksplan yang berasal dari daun yang ditumbuhkan pada media MS yang diperkaya dengan 2,4-D. Eksplan daun yang ditumbuhkan pada media dasar MS + 2,4-D + CH 3g/l tidak semua membentuk kalus (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CH tidak memberikan respon yang baik untuk pembentukan kalus pada eksplan daun.

**Tabel 1.** Pengaruh formulasi media dan jenis eksplan terhadap persentase pembentukan kalus

Perlakuan		Jenis eksplan	
2,4-D (mg/l)	CH (g/l)	Daun (%)	Batang (%)
0	0	0	0
1	0	100	100
3	0	100	100
5	0	100	100
7	0	100	100
0	3	0	0
1	3	0	100
3	3	87,5	100
5	3	25	100
7	3	12,5	100

Keterangan: CH - Kasein hidrolisat

Eksplan batang yang di tumbuhkan pada media yang mengandung CH memiliki diameter yang lebih besar dari pada eksplan yang ditumbuhkan pada media yang tidak diperkaya dengan CH (Tabel 2). Selain ukurannya lebih besar, kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan dan strukturnya lebih remah (Gambar 2) sedangkan kalus yang ditumbuhkan pada medium tanpa CH kalusnya berwarna putih terang dan berstruktur lebih kompak.

**Tabel 2.** Pengaruh 2,4-D, kasein hidrolisat dan jenis eksplan terhadap diameter kalus pada minggu ke -7 setelah tanam

Perlakuan		Jenis eksplan	
2,4-D (mg/l)	CH (g/l)	Daun (0,7 x 0,7 cm)	Batang
0	0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
1	0	0,5 $\pm$ 0,17	0,5 $\pm$ 0,46
3	0	0,6 $\pm$ 0,19	2,0 $\pm$ 0,81
5	0	0,85 $\pm$ 0,12	1,5 $\pm$ 0,41
7	0	1,0 $\pm$ 0,11	0,5 $\pm$ 0,40
0	3	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
1	3	0,0 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,81
3	3	0,75 $\pm$ 0,28	2,0 $\pm$ 0,81
5	3	1,0 $\pm$ 0,41	2,0 $\pm$ 1,15
7	3	0,25 $\pm$ 0,91	1,0 $\pm$ 0,91



**Foto 2.** (a) Kalus asal eksplan batang pada media MS + 2,4-D 1 mg/l  
(b) Kalus dari eksplan batang, (c) Kalus dari eksplan daun

Tabel 2 menunjukkan bahwa eksplan batang yang ditumbuhkan pada media MS yang mengandung 2,4-D semakin tinggi maka kalus yang dihasilkan lebih kecil diameternya. Penambahan 2,4-D 3 mg/l menghasilkan kalus dengan diameter rata-rata 2 cm sedangkan pada 2,4-D 1 mg/l menghasilkan kalus dengan ukuran lebih besar yaitu rata-rata 3 cm. Penambahan CH pada media yang mengandung 2,4-D 5 mg/l dan 7mg/l mampu menghasilkan kalus lebih besar dibandingkan pada media tanpa CH yaitu 1,5 cm menjadi 2 dan 0,5 cm menjadi 1,0 cm. Peningkatan kandungan 2,4-D untuk eksplan batang cenderung menurunkan diameter kalus. Penelitian ini menunjukkan bahwa media yang optimum untuk induksi kalus dari eksplan batang adalah media dasar MS + 2,4-D 1 mg/l + CH3g/l(Foto2a).

Kalus dari eksplan batang (Foto 2b) secara visual lebih embrionik dibandingkan eksplan daun. Kalus embrionik mempunyai ciri berwarna putih berstruktur globular, sedangkan kalus yang berasal dari eksplan daun nampak kompak, berwarna hijau dan tidak embrionik, dengan demikian kalus yang diregenerasikan adalah kalus yang berasal dari eksplan batang.

**Regenerasi tunas**

Kemampuan kalus beregenerasi dapat meningkat seiring dengan meningkatnya zat pengatur tumbuh BA dan Zeatin (zea) yang ditambahkan. Tabel 3. menunjukkan adanya peningkatan persentase regenerasi tunas dari kalus yang ditumbuhkan pada media yang mengandung BA 1 mg/l yaitu 100% sedangkan pada media yang mengandung BA 0,5 kalus yang beregenerasi hanya 50%.

Hampir semua kalus dapat membenruk spot

berwarna hijau, akan tetapi tidak semua spot hijau tersebut membentuk tunas (Foto 3), bahkan beberapa kalus berubah warna menj adi coklat dan akhirnya mati. Perubahan wana ini terjadi biasanya setelah 15 hari setelah masa tanam.

**Tabel 3.** Pengaruh formulasi media terhadap kemampuan kalus menghasilkan tunas

R\ (nE/I)	Formiasi neda		kalus yang beregenerasi (%)
	Zea(n^1)	IVkalt (%)	
0,5	0	3	50
1	0	3	100
0,5	0,5	3	50
1	0,5	3	100
0,5	0,1	3	50
1	0,1	3	100

Ket: BA = Benzil Adenin  
Zea = zeatin  
Malt = maltosa



**Foto3.** Pembentukan tunas adventif dari eksplan kalus

Tabel 4 menunjukkan bahwa tunas terbanyak dihasilkan dari perlakuan media dasar MS + BA 1 mg/l + Zeatin 0,5 mg/l + maltosa 3% yaitu sebanyak 2,5/ eksplan dengan rerata tinggi 1,6 cm sedangkan jumlah tunas terendah dihasilkan dari biakan pada media BA 1 mg/l + malt 30%. Penambahan Zeatin pada media dasar

**Tabel 4.** Pengaruh formulasi media terhadap pertumbuhan biakan minggu ke-8 setelah tanam

Formulasi media			Rataan jumlah tunas	Rataan tinggi tunas (cm)
BA (mg/l)	Zea (mg/l)	Malt (%)		
0,5	0	3	1,25 ± 0,57	2,00 ± 1,15
1	0	3	0,50 ± 0,95	0,50 ± 0,57
0,5	0,5	3	1,50 ± 0,65	0,25 ± 0,28
1	0,5	3	2,50 ± 0,57	1,60 ± 0,25
0,5	0,1	3	1,50 ± 0,57	0,25 ± 0,28
1	0,1	3	1,75 ± 0,50	0,70 ± 0,16

Ket: BA = Benzil Adenin, Zea = zeatin, Malt = maltosa

cenderung meningkatkan kemampuan kalus dalam membentuk tunas, dari Tabel 4 juga dapat diketahui bahwa jumlah tunas yang mampu diregenerasikan cenderung lebih tinggi dari pada media tanpa zeatin.

### Induksi perakaran

Pengamatan terhadap pembentukan akar menunjukkan bahwa dengan pemberian zat pengatur tumbuh auksin (IBA, IAA dan NAA) pada berbagai tingkat konsentrasi mampu menginduksi pembentukan akar. Pemberian IBA pada konsentrasi 1,0 mg/l mampu menghasilkan akar dalam jumlah besar dan akar yang dihasilkan lebih panjang. Peningkatan konsentrasi IBA hingga 2 mg/l cenderung menurunkan jumlah maupun panjang akar.

Dapat dilihat pada Tabel 5 bahwa semakin tinggi IAA yang diberikan, maka jumlah dan panjang akar semakin meningkat pula. Peningkatan konsentrasi IAA hingga 2 mg/l cenderung meningkatkan jumlah dan panjang akaryaitu 4,00 dan 2,2. Hal yang sama juga terjadi padaperlakuan NAA. Peningkatan konsentrasi NAA hingga 2 mg/l cenderung meningkatkan jumlah akar dan panjang akar yaitu 2,8 dan 1,4, akan tetapi akar yang dihasilkan oleh perlakuan IAA lebih banyak. Tabel 5 menunjukkan bahwa pemberian IBA 1 mg/l mampu menghasilkan akar lebih banyak dari perlakuan lain.

## PEMBAHASAN

### Induksi kalus

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan ZPT golongan auksin yang mempunyai aktifitas paling kuat untuk pembelahan sel. Pada dosis yang tepat, 2,4-D dapat menghasilkan pembelahan sel terus menerus sehingga terbentuk sekumpulan sel yang tidak

**Tabel 5.** Pengaruh ZPT terhadap kemampuan tunas membentuk akar, minggu ke- 8 setelah tanam

ZPT (mg/l)	Rerata Jumlah akar	Rerata Panjang akar (Cm)
<b>IBA</b>		
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,5	1,20 ± 0,45	1,10 ± 0,14
1,0	4,80 ± 0,45	2,60 ± 0,10
1,5	3,40 ± 0,08	2,14 ± 0,08
2,0	2,80 ± 0,54	1,92 ± 0,04
<b>IAA</b>		
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,5	1,80 ± 0,61	1,04 ± 0,21
1,0	2,00 ± 0,69	1,74 ± 0,29
1,5	2,80 ± 1,02	1,86 ± 0,15
2,0	4,00 ± 0,95	2,2 ± 0,06
<b>NAA</b>		
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,5	1,40 ± 0,54	1,13 ± 0,05
1,0	1,60 ± 0,89	1,40 ± 0,17
1,5	1,60 ± 0,55	1,72 ± 0,04
2,0	2,80 ± 0,95	1,94 ± 0,05

berdiferensiasi yang disebut kalus. Kalus yang dihasilkan bersifat embrionik yaitu berbentuk bulatan-bulatan berwarna kekuningan dan mengkilat. Pemberian 2,4-D pada eksplan batang dan beberapa eksplan daun *R. serpentina* pada umumnya mampu menghasilkan kalus yang embrionik, hal ini sejalan dengan hasil penelitian Husni *et al.* (1997) dan Dewi *et al.* (1997) di mana penggunaan media yang mengandung 2,4-D pada tanaman gaharu dan padi dapat menghasilkan kalus yang embrionik.

Pemberian 2,4D 1 mg/l yang diperkaya dengan CH 3 g/l pada eksplan batang menghasilkan kalus yang memiliki diameter yang lebih besar dari pada perlakuan lainnya sedangkan yang berasal dari daun untuk perlakuan ini tidak menghasilkan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa jenis eksplan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan biakan dalam proses kultur jaringan. (Wattimena, 1992).

Penambahan CH pada media yang sudah mengandung auksin 2,4-D dapat meningkatkan pembentukan kalus embrionik (George, 1993). Tabel 2. menunjukkan bahwa eksplan batang yang ditumbuhkan pada media yang mengandung CH memiliki diameter yang lebih besar dan lebih terlihat embrionik (Foto 3 a) dari pada perlakuan tanpa CH. Kasein hidrolisat merupakan asam amino sebagai sumber N organik yang lebih cepat diserap oleh sel/jaringan dari pada N

organik. Selanjutnya George (1993) menyatakan bahwa penambahan asam amino Kasein hidrolisat pada media yang sudah mengandung auksin dapat meningkatkan keberhasilan pembentukan kalus embrionik, karena di dalam kloroplas, asam amino mempunyai peran sebagai prekursor untuk pembentukan asam nukleat dan proses seluler lainnya.

#### Regenerasi Tunas

Beberapa tanda bahwa kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas antara lain terjadinya perubahan warna dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, perubahan warna tersebut merupakan tanda adanya morfogenesis (George, 1993). Pada penelitian ini perubahan warna tersebut terjadi pada hari ke 15 setelah subkultur. menurut Lestari dan Mariska (1997) zat pengatur tumbuh sangat berperan dalam menentukan arah morfogenesis tanaman.

Selain kalus berubah menjadi hijau ada pula kalus yang mengalamipencoklatan dan mati. Beberapa kemungkinan kalus menjadi mati adalah karena kalus tidak segera disubkultur kedalam media yang baru atau terjadi diferensiasi dimana masa sel terus membelah dan tidak terorganisasi. Kemungkinan lain adalah formulasi media belum sesuai, disebabkan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang ada di dalam sel dan di luar sel antara lain sitokinin dengan auksin yang tidak sesuai (Throper and Patel, 1994).

Pemberian BA 1 mg/l pada media regenerasi tunas dari kalus tanpa zeatin maupun dengan penambahan zeatin mampu 100 % menginduksi regenerasi tunas dan kombinasi dengan zeatin 0,5 meregenerasikan tunas lebih banyak dari pada perlakuan lainnya (Tabel 3). BA merupakan zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan untuk induksi multiplikasi tunas. Umumnya tanaman memiliki respon yang lebih baik terhadap BA dibanding terhadap kinetin dan 2-iP sehingga BA lebih efektif untuk produksi tunas *in vitro* pada banyak tanaman (Flick *et al*, 1993)

Pada umumnya kalus yang dibiakkan pada media yang dikombinasikan dengan Zeatin cenderung mampu menghasilkan tunas lebih banyak (Tabel 3) dibandingkan pada media yang tidak mengandung zeatin. Hal yang sama didapatkan pada kalus padi

indika dimana kemampuan regenerasi tunas dari kalus lebih besar bila di biakkan pada media yang mengandung zeatin (Lestari dan Mariska, 2003). Hal ini terjadi karena zeatin merupakan sitokinin alami yang memiliki aktifitas yang lebih besar dari pada jenis sitokinin lainnya (Trigiano dan Gray, 2005).

#### Induksi perakaran

Salah satu peran fisiologis dari auksin adalah pembentukan akar. Pada penelitian ini digunakan tiga macam auksin yaitu IBA, IAA dan NAA. IBA merupakan auksin sintetik yang biasanya dalam kultur jaringan digunakan dalam konsentrasi rendah untuk induksi akar (Watimena, 1992). Tabel 5 menunjukkan bahwa konsentrasi IBA 1 mg/l mampu menginduksi akar dalam jumlah maksimal akan tetapi bila konsentrasinya terus dinaikkan maka pembentukan akar akan terhambat. Hal ini diduga karena auksin endogen di dalam tanaman sudah tinggi, sehingga pemberian auksin konsentrasi lebih tinggi akan menghambat pengakaran.

IAA merupakan auksin alamiah. IAA disintesis dari triptopan di primordia daun, daun muda dan biji yang sedang berkembang. Penggunaan IAA untuk menginduksi akar dalam kultur jaringan biasanya dalam konsentrasi tinggi hal ini dapat dilihat dari Tabel 5, dengan meningkatnya konsentrasi IAA maka semakin besar pula jumlah akar yang terbentuk. Hal serupa juga dijumpai pada penggunaan NAA, makin besar konsentrasi NAA yang diberikan (hingga 2 mg/l), maka jumlah akar yang dihasilkan makin meningkat. NAA merupakan auksin sintetik yang dalam kultur jaringan jarang digunakan untuk tujuan induksi perakaran akan tetapi lebih sering penggunaannya dikombinasikan dengan sitokinin untuk induksi kalus dan regenerasi tunas.

#### KESIMPULAN

Eksplan terbaik untuk induksi kalus secara *in vitro* adalah batang menggunakan media dasar MS + 2,4-D 1 mg/l + CH<sub>3</sub> g/l. Formulasi media terbaik untuk regenerasi tunas dari eksplan kalus adalah media dasar MS + BA 1 mg/l + zeatin 0,5 mg/l + maltosa 3%. Formulasi media terbaik untuk induksi pengakaran tunas *R. septima* ialah MS + IBA 1 mg/l.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cocolas GH. 1991.** Local anesthetic agent. *In: 9th Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 534-585. JN Deldago and WA Remers (Eds.). IB Lippincott Company, Philadelphia.
- Dewi IS, J Harjosudarmo, RG Birch and RG Dietagen. 1997.** The effect of 2,4-D, NAA and picloram on somatic embryogenesis and Plant regeneration from immature peanut seed. *J. Biotek. Pertanian* **2(1)**, 23-30.
- Flick CE, DA Evans and WR Sharp. 1993.** Organogenesis p 13-81 *In: Handbook of Plant Cell Culture*. DA Evans, WR Sharp, PV Amirato and Y Yamada (Eds.). Collier MacMilan.
- George EF. 1993.** *Plant Propagation by Tissue Culture*. Part 2, 1361. In Practice. Exegetics Lim. England.
- Husni A, I Mariska dan M Kosmiatin. 1997.** Embriogenesis somatik tanaman lada liar. *Makalah dalam simposium Nasional dan Kongres III PERIPI*, Bandung, 24-25 September.
- Jones OP. 1983.** *In vitro* propagation of tree crops. *In: Plant Biotechnology*, 139-162. SH Mantell and H Smith (Eds.). Cambridge University Press. Sydney.
- Lestari EG dan I Mariska. 1997.** Kultur *in vitro* sebagai metodapelestarian tumbuhan obat langka. *Bui. Plasma NutfahII(1)*, 24-25.
- Lestari EG dan I Mariska. 2003.** Pengaruh berbagai formulasi media terhadap regenerasi kalus padi indica. *Prosiding Seminar Hasil Peneliti Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Bogor, 23-24 September. BB-Biogen-Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Lestari EG dan A Husni. 1997.** Regenerasi tunas adventif dari jaringan batang dan kalus pada tanaman inggu. *Prosiding Simposium II Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Bogor, 21-23 Nopember.
- Mariska I, NM Surya dan Tjondronegoro. 1989.** Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus *Solanum laciniatum* Ait dalam kultur *in vitro*. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* **15(1)**, 1-7.
- Petersen KK. 1994.** Callus induction and plant regeneration in *Miscanthus x Ogiformis* Honda 'Gigantius' as influenced by benzyladenin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **49**, 137-140.
- Ogawa T. 2000.** Improvement of cell culture condition for rice. *JARC* **34** (4), 215-223
- Roja G and MR Heble. 1996.** Indole alkaloids in clonal propagules of *Rauwolfia serpentina* Benth. *Ex Kurz. Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **44(2)**, 111-115.
- Roy SK, PK Roy, M Rahman and T Hossain. 1995.** Clonal propagation of *Rauwolfia serpentina* Through *in vitro* culture. *Ada Hort. (ISHS)* **390**, 141-146.
- Sandra E dan S Kemala. 1994.** Tinjauan permintaan tumbuhan obat hutan tropika Indonesia. *Dalam: Pelestarian dan Pemanfaatan Keanekaragaman Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia*, 71-117. EAM Zuhud dan Haryanto (Ed.). Jurusan konservasi Sumber Daya hutan IPB dan LATIN, Bogor.
- Seswita D, I Mariska, dan E Gati. 1993.** Perbanyak tumbuhan langka *Rauwolfia serpentina* melalui teknik kultur *in vitro*. *Bui. Tan. Industri*. 6, 5-10.
- Sudiarto A, S Rusli, F Chairani, H Moko dan NM Januwati. 1985.** Tiga puluh tahun penelitian tanaman obat: *Seri pengembangan* 5. Departemen Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.
- Syamsuhidayat SS dan JR Hutapea. 1991.** *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Throper TA. 1994.** Morphogenesis and regeneration. *In: Plant Cell and Tissue Culture*, 17-36. IK Vasil and TA Throper (Eds.). Kluwer Academic, Dordrecht.
- Throper TA and RR Patel. 1994.** Clonal propagation adventitious buds. *In: Cell Culture and Somatic Cell Genetic of Plant* 1, 49-58. Laboratory Practical and Their Application. Academic Press, London.
- Trigiano RN and D J Gray. 2005.** *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press. London.
- Wattimena GA. 1992.** *Bioteknologi Tanaman I*. IPB. Bogor
- Zuhud EAM. 1989.** Strategi pelestarian dan pemanfaatan keanekaragaman hayati tumbuhan obat Indonesia. *Media Konservasi* **2(11)**, 1-7.
- Zuhud EAM, Ekarelawan dan S Riswan. 1994.** Hutan tropika sebagai sumber keanekaragaman plasma nutfah tumbuhan obat. *Dalam: Pelestarian dan Pemanfaatan Keanekaragaman Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia*. EAM Zuhud dan Haryanto (Ed.). Jurusan konservasi Sumber Daya hutan IPB dan LATIN, Bogor
- Zhu Y, W Ouyang, Y Lie and Z Chen. 1996.** The Effects of 2-ip and 2,4-D on rice calli differentiation. *Plant Growth Regulation* **19**, 19-14.