ISSN 1410 4695

# JDP

# JURNAL DINAMIKA PENDIDIKAN

Diterbitkan oleh:
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Kristen Indonesia

| JDP JURNAL DINAMIKA PENDIDIKAN | Volume 5 | Nomor 3 | Hal. 103-161 | Jakarta November 2012 | ISSN 1410 4695 |
|---|---|---|---|---|---|

# PERTUMBUHAN KULTUR KALUS DAN AKAR ADVENTIF TANAMAN KUMIS KUCING (Orthosiphon stamineus Benth.)

**Marina Silalahi**

*E-mail: marina_biouki@yahoo.com*

***ABSTRACT***

*A study on the growth of plant callus cultures 'cat whisker' kumis kucing (Orthosiphon stamineus Benth). Young leaf explants of plants O. stamineus cultured on Murashige-Skoog medium with concentrations of plant growth regulators kinetin 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 ppm and NAA 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 ppm. The results showed that the initiation of callus initiated on day 7 to day 12. When callus initiation peling fast for 7 days contained in the provision granting NAA 7.5 and 10.0 ppm, while the longest time during the 12-day provision contained in NAA 2.5 ppm. Growth is determined from the callus fresh weight and dry weight of callus. Highest callus fresh weight of 2870 ± 176 mg and dry weight of callus peak of (572 + 21 mg) are contained in the addition of kinetin at 0.75 ppm and 7.5 ppm NAA.*

***Keyword** : Orthosiphon stamineus; NAA; callus*

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat terus meningkat. Sampai saat ini, sebagian besar bahan baku tanaman obat masih dipanen dari alam (Lestari dan Mariska, 1997). Sintesis senyawa obat secara alami belum mencukupi kebutuhan masyarakat karena produksinya masih sangat rendah. Oleh karena itu dibutuhkan suatu metode untuk meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder tanaman yang berfungsi sebagai senyawa obat (Wardani et al., 2004).

Salah satu jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan adalah kumis kucing. Kumis kucing (Orthosiphon stamineus Benth. sinonim O. aristatus (Bl.) Miq. termasuk famili tumbuhan Lamiaceae. Tumbuhan kumis kucing (gambar 1) merupakan tumbuhan semak, tumbuh tegak, tinggi 1-2 m, batang segi empat agak beralur, bunga berupa tandan yang keluar di ujung cabang berwarna ungu pucat atau putih, benang sari lebih panjang dari tabung bunga (de Padua, 1999 & Dalimartha, 2003).

Daun kumis kucing telah terdaftar dalam Materia Medica Indonesia Jilid I yang digunakan sebagai diuretik. Daun dari O. stamineus merupakan bahan baku yang digunakan dalam jamu untuk mengobati penyakit hipertensi dan diabetes (Riswan et al.,1991& Esai 1995), anti inflamatori, anti alergi dan juga anti kanker (Matsubara & Bohgaki, 1999), demam, sipilis gangguan menstruasi dan influensa (Akowuah et al., 2004). Khasiat daun O.stamineus berhubungan dengan senyawa bioaktifnya. Senyawa bioaktif yang terdapat pada daun O.stamineus adalah sinestesin (Angraeni & Triantoro 1992), terpenoid, senyawa fenol (Achmad et al., 2009), asam betulinat, asam rosmarinat (Hossain et al., 2006).

Senyawa sinensetin (Angraeni & Triantoro 1992) dan diterpenoid (Achmad et al., 2009) merupakan senyawa yang paling stabil pada O.stamineus. Kadar sinensetin tertinggi terdapat pada daun tua pada tanaman berbunga ungu sebesar 0,3% sedangkan pada tanaman berbunga putih hanya ditemukan sebesar 0,09% (Angraeni & Triantoro 1992). Senyawa sinestesin yang dikandung oleh tumbuhan kumis kucing sering dijadikan sebagai patokan untuk menentukan mutu simplisianya.

Gambar 1. Gambar tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth).

Purwandari (2001) menyatakan bahwa rata-rata 54 ton simplisia kumis kucing diperdagangkan setiap tahun namun ± 60% dari total produksi di panen langsung dari alam. Pemanenan langsung dari alam berimplikasi pada jaminan kualitas yang kurang dipertanggungjawabkan. Hal tesbut disebabkan kandungan metabolit sekunder tumbuhan sangat dipengaruhi oleh lingkungan diantaranya curah hujan dan kadar mineral tanah. Untuk mengatasi kendala tersebut sudah mulai dilakukan budidaya O. stamineus namun pengembangan sangat dibatasi oleh ketersediaan lahan.

Kultur jaringan dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk memperoleh metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses-proses biokimia yang terjadi pada tubuh tanaman secara utuh, dan proses tersebut juga terjadi pada kultur in vitro (Wardani et al., 2004 & Mantel & Smith, 1983). Bila dibandingkan dengan metode konvensional kultur jaringan memiliki kelebihan antara lain: tidak tergantung pada lingkungan, produksinya dapat diatur (Kiong Ling et al., 2009), tidak tergantung pada iklim, hama (Wiendi et al., 1992) dan juga dapat meningkatkan mutu tanaman (Irawati, 2010).

Produksi metabolit sekunder melalui kultur in vitro dapat dilakukan melalui berbagai cara antara lain melaui kultur kalus atau melalui kultur sel (Mantel et al.,1985 & Wardani et al., 2004) dan kultur akar adventif (Kiong Ling et al., 2009). Kalus adalah kumpulan massa sel yang belum terdifrensiasi. Akar adventif adalah akar yang muncul dari bagian tumbuhan yang berbeda (Esau, 1977) atau bukan dari koleoriza (Barlow, 1986).

Bebarapa peneliti mengemukakan bahwa kultur kalus dan akar adventif dapat menghasilkan metabolit sekunder seperti yang dihasilkan oleh tumbuhan utuh. Kultur kalus Catharanthus roseus menghasilkan senyawa katharanthin (Pandiangan, 2006) dan ajmalisin (Fitriani, 1998 & Mukarlina et al., 2006). Talinum paniculatum Gaertn. mampu menghasilkan saponin pada medium murashige ang skoog yang ditambahkan 2,4-D dan kinetin (Wardani et al., 2004). Wiendi et al. (1992) menyatakan bahwa produksi metabolit pada kultur in vitro kadang-kadang tergantung pada tingkat difrensiasi sel atau jaringan yang dikultur seperti akar adventif.

Pertumbuhan kalus dan produksi metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh. Morris (1986) menyatakan bahwa pada kultur kalus C.roseus penurunan kadar 2,4-D mengakibatkan peningkatan produksi alkaloid sedangkan penambahan 2,4-D menghambat biosintesis alkaloid. Pada kultur akar pule pandak (Rauvolfia serpentine L.) pemberian konsentrasi indole-butyric acid (IBA) yang berbeda tidak mempengaruhi jumlah akar yang terbentuk (Palestina 2008). Metabolit sekunder yang biasanya terakumulasi pada organ tertentu pada umumnya akan diproduksi dengan kandungan yang lebih tinggi bila menggunakan kultur organ tertentu tersebut (Verpoorte, 1991).Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus berakar pada tanaman kumis kucing (O. stamineus Benth.).

## METODOLOGI

### Bahan Tanaman

Sumber tanaman sebagai sumber eksplan digunakan daun tanaman Orthosiphon stamineus Benth. berbunga ungu dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor.

### Seterilisasi eksplan

Untuk sterilisasi eksplan modifikasi dari Martin et a.l (2007). Daun tanaman dibersihkan dibawah O. stamineus air mengalir selama 10 menit. Permukaan daun disterilisasi dengan alkohol 70% selama 30 detik. Kemudian eksplan dipindahkan ke dalam 3% sodium hipoklorida dengan 3 tetes tween 20 selama 10 menit. Kemudian dicuci dengan akuades steril sebanyak 4 kali. Selanjutnya tanaman dipotong-potong sebesar 1 x 1 cm dan tanaman siap untuk diinokulasi.

### Media

Media yang digunakan untuk penanaman adalah media Murashige and Skoog (MS) dengan penambahan zat pengatur tumbuh kinetin dengan konsentrasi 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 ppm dan NAA dengan konsentrasi 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 ppm. Sumber karbon digunakan sukrosa 3% dan agar 0,8%, pH diatur sekitar 5,8 dengan mengunakan 0,1 N HCl atau 0,1 N NaOH. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 15 psi selama 20 menit.

Penanaman (okulasi) dilakukan didalam laminar air flow dengan cara memasukkan potongan eksplan dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm sebanyak 2-3 buah ke dalam botol kultur. Subkultur dilakukan setiap 4 minggu sekali dengan cara memindahkan ke media segar yang komposisinya sama, subkultur dilakukan sebanyak 2 kali.

### Uji Statistik

Uji statistik yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan Kinetin terhadap pertumbuhan kalus O. stamineus adalah statistika deskriptif.

## PEMBAHASAN

### Induksi Kalus O. stamineus

Eksplan daun O. stamineus yang ditanam pada media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan kinetin 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 ppm dan NAA 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 ppm mampu mengiduksi kalus dan kalus berakar. Pembentukan kalus diawali dengan adanya induksi pada bagian tepi daun yang bekas luka. Inisiasi kalus tanaman dimulai O. Stamineus pada hari ke-7 hingga hari ke-12 setelah tanam. Respon awal eksplan terhadap media dimulai dengan makin membesarnya jaringan eksplan dan terbentuknya jaringan baru dibagian tepi eksplan. Perbesaran eksplan terjadi karena adanya proliferasi jaringan sebagi respon terhadap zat pengatur tumbuh yang (Ling Kiong et al., 2009). Wardani et al., (2004) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh akan meransang pembelahan sel untuk membentuk jaringan baru melalui pengaturan reaksi enzimatik.

Inisiasi kalus tercepat terdapat pada saat pemberian kinetin 7,5 dan 10,0 ppm NAA salam 7 hari. Pembentukan kalus paling lambat terjadi pada saat pemberian NAA 2,5 ppm NAA yaitu selama 12 hari. Sedangkan pemberian NAA 5,0 ppm inisiasi kalus bervariasi yaitu antara 8-10 hari tergantung pada jumlah kinetin yang digunakan. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh Syahid dan Hernani (2004) yang menyatakan bahwa mulai hari ke-7 sampai ke-9. Kemampuan eksplan membentuk kalus sangat dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen yang digunakan, semakin tinggi konsentrasi kinetin dan NAA yang digunakan maka respon eksplan membentuk kalus semakin cepat. Hal yang berbeda dinyatakan oleh Palestina (2008) bahwa pada kultur akar pada R. serpentina bahwa konsentras IBA tidak mempengaruhi pembentukan akar. Inisiasi kalus dimulai pada jaringan yang mengalami luka, hal tersebut berhubungan dengan sejumlah faktor yang antara lain adalah respon sel tumbuhan terhadap pelukaan, tersedianya oksigen yang lebih besar dan nutrien yang cukup (Yeoman dan Aitchison, 1973) dan zat pengatur tumbuh (wardani et al., 2004).

Pada penambahan 2,5 ppm NAA dengan penambahan kinetin yang bervariasi semua kultur membentuk kalus berakar. Hal yang berbeda terjadi pada saat pemberian 5,0 ppm NAA pada saat pemberian kinetin pada konsetrasi yang lebih rendah yaitu 0,25 dan 0,5 ppm terbentuk kalus berakar sedangkan pada pemberian konsentrasi kinetin yang lebih tinggi maka cenderung membentuk kalus saja. Akar pada kultur kalus mulai muncul pada minggu ketiga yang muncul dari bagian tepi celah-celah dari kalus. Akar yang terbentuk berupa rambut-rambut akar yang halus dan jumlahnya relative sedikit 3-9 akar. Jumlah akar yang terbentuk dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan. Jumlah akar yang terbanyak sebanyak 9 buah terdapat pada pemberian NAA 2,5 ppm dan kinetin 0,25 ppm.

Setelah terbentuk akar pertumbuhan akar relative lambat. Pada awal pembentukan akar akar berwarna putih, kemudian berubah menjadi coklat. Setelah dilakukan subkultur pertumbuhan akar terhambat dan cenderung terjadi dedifrensiasi menjadi kalus kembali. Hal ini diduga karena adanya perubahan hormone yang terdapat pada kalus. Kandungan hormone pada tanaman dipengaruhi oleh hormon eksogen dan endogen. Pada konsentrasi auksin dan sitokin yang relative seimbang maka akan terbentuk kalus. Penambahan zat pengatur tumbuh eksogen mengakibatkan perubahan kandungan hormone tanaman secara keseluruhan (George and Sherington 1984). Gunawan (1987) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media akan menentukan arah pertumbuhan dari jaringan yang ditumbuhkan.

Tabel 1. Inisiasi kalus *O.stamineus* (hari) dengan berbagai konsentrasi NAA dan kinetin (ppm)

| NAA / Kinetin | 2,5 | 5,0 | 7,5 | 10,0 |
|---|---|---|---|---|
| 0,25 | Kalus berakar | Kalus berakar | Kalus berakar | Kalus |

| | (12 hari) | (9 hari) | (8 hari) | (7 hari) |
|---|---|---|---|---|
| 0,5 | Kalus berakar (12 hari) | Kalus berakar (9 hari) | Kalus (7 hari) | Kalus (7 hari) |
| 0,75 | Kalus berakar (10 hari) | Kalus (8 hari) | Kalus (7 hari) | Kalus (7 hari) |
| 1,0 | Kalus berakar (10 hari) | Kalus (8 hari) | Kalus (7 hari) | Kalus (7 hari) |

Kalus yang terbentuk mempunyai struktur kalus kompak dan berwarna putih kehijauan dan kemudian berubah warna menjadi coklat muda. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh Syahid dan Hernani (2004) menyatakan bahwa kalus kultur O. stamineus yang dikultur pada medium MS akan membentuk kultur kalus meremah pada bagian atas dan agak kompak pada bagianpermukaan bawah. Perbedaan ini diduga karena perbedaan zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu 2,4 diklorofenoksi asetat (2,4-D). Penggunaan 2,4-D cenderung ekan membentuk kalus meremah dan pertumbuhan cepat hal ini telah dibuktikan oleh Sinurat (2007) dan Fitriani (1998) pada tanaman C. roseus penambahan 2,4-D akan membentuk kalus yang meremah berwarna putih, sedangkan penambahan NAA akan membentuk kalus kompak berwarna coklat.

Perbedaan struktur kalus berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada kalus. Syahid dan Hernani (2001) menyatakan bahwa pada kultur kalus O. Aristaus pada penambahan 2,4-D mengakibatkan kalus meremah dengan kandungan sinestesin yang rendah sedangkan pada penambahan 2,4-D dan BAP secara bersamaan akan membentuk kalus relatif lebih kompak dengan kandungan sinestesin yang lebih tinggi. Zao et al., (2001) menyatakan bahwa struktur kalus C. roseus berhubungan dengan kemampuannya mensintesis indol alkaloid. Kalus kompak C. roseus menghasilkan indole alkaloid lebih tinggi sebesar 1,9 - 2,4 kali dibandingkan dengan kalus meremah (Zao et al., 2001). Hal yang sama ditunjukkan oleh Morris (1986), yaitu bahwa kultur kalus C. roseus yang dipelihara pada medium Zenk akan membentuk kalus kompak, berwarna coklat dengan kandungan ajmalisin yang tinggi.

Struktur kalus yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain media, dan zat pengatur tumbuh. Fitriani (1998) kalus yang ditanaman pada medium Zenk dengan penamabahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP akan membentuk kalus kompak dan berwarna coklat. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh Sinurat (2007) menyatakan C. Roseus yang ditanaman pada medium MS dengan penambahan 2,4-D akan membentuk kalus yang berwana putih dan meremah dan pertumbuhannya relatif capat. Pada hari ke-21 kalus mulai terjadi perubahan warna menjadi coklat, hal tersebut diduga karena adanya senyawa fenolik yang dihasilkan oleh tanaman maupun adanya cekaman yang dialami oleh tanaman. Senyawa fenolik ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tanaman. Kecepatan eksplan membentuk kalus juga dipengaruhi oleh konsentrasi, jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan dan jenis eksplan yang digunakan. Kiong Ling et al., (2009) menyatakan bahwa daun sangat cocok digunakan sebagai eksplan untuk membentuk kultur akar adventif. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang terbaik untuk inisiasi kalus adalah pada saat pemberian kinetin 0,75 ppm dan NAA 7,5 ppm. Hal yang berbeda ditujukkan Fitriani (1998) yang menemukan bahwa konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan kalus C. Roseus adalah 2,5 $\mu$M NAA dan 10 $\mu$M BAP. Perbedaan ini diduga karena adanya perbedaan eksplan, media dan zat pengatur tumbuh yang digunakan. Way-leng & Laikeng (2004) kalus dapat di induksi dari tangkai daun, daun dan batang O. stamineus sedangkan eksplan yang berasal dari akar tidak bisa membentuk kalus.

Setelah terbentuk kalus, diikuti dengan munculnya bulu akar dibagian atas dan dicelah-celas kalus yang sudah terbentuk. Pembentukan bulu akar pada diikuti dengan pembentukan akar adventif pada 18 hari setelah tanam. Jumlah akar adventif yang terbentuk meningkat sejalan dengan makin meningkatnya konsentrasi kinetin dan NAA yang digunakan. Fitriani (1998), menyatakan bahwa pemberian auksin dan sitokinin relatif seimbang maka akan terbentuk kalus.

Pada awal pembentukan kalus laju pertumbuhan kalus lambat, dan semakin cepat sejalan bertambahnya ukuran kalus yang terbentuk. Pertumbuhan kalus yang lambat diduga disebabkan adanya penumpukan senyawa fenolik yang dihasilkan oleh kalus sebagai reaksi adaptasi terhadap lingkungan. Senyawa fenolik ter-

lihat dari adanya perubahan warna kalus yang menjadi coklat. Santoso dan Nursandi (2001) menyatakan bahwa penghambatan pertumbuhan dan pencoklatan pada kalus disebabkan oleh adanya senyawa fenolik yang terjadi karena adanya cekaman.

Untuk merangsang pertumbuhan kalus yang lebih baik dilakukan subkultur dengan memindahkan kultur ke medium yang sama serta melepaskan sisa eksplan yang tidak menjadi kalus. Setelah dilakukan subkultur pertumbuhan lebih cepat dan pencoklatan mulai berkurang. Hal ini memperlihatkan bahwa sel-sel sudah dapat beradaptasi terhadap lingkungan (Mantel & Smith, 1983).

**Hubungan penambahan zat pengatur tumbuh dengan pembentukan kalus berakar O.stamineus**

Penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin pada semua konsentrasi mampu membentuk kalus dan kalus berakar, namun jumlah akar yang terbentuk bervariasi jumlahnya. Jumlah akar yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh konsentrasi kinetin dan NAA yang digunakan. Sebelum terbentuk akar pada kultur didahului dengan terbentuknya kalus. Morfogenesis melalui kutur jaringan terdapat dua dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung tergantung zat pengatur tumbuh yang digunakan (Palestina, 2008 & Santoso & Nursandi (2004). Secara langsung apabila dari ekslplan langsung terbentuk organ, secara tidak langsung apabila pembentukan organ didahului pembentukan kalus. Pada kultur yang sumber eksplan daun pada umumya terjadi morfogenesis secara tidak langsung (Aprianita, 1999; Mukarlina et al., 2006 & Kiong Ling et al., 2009).

Difrensiasi kalus membentuk akar dimulai pada hari ke-16 sampai hari ke-22. Akar yang terbentuk berupa rambut-rambut akar yang halus berwarna putih, bentuk seperti ini sering disebut dengan kultur kalus berakar. Akar yang terbentuk disebut juga sebagai akar adventif.) Akar adventif adalah akar yang muncul dari bagian tumbuhan yang berbeda dari tempat biasa seperti dari batang atau daun (Esau, 1977) atau bukan dari koleoriza (Barlow, 1986). Setelah terbentuk rambut-rambut akar diikuti dengan pembentukan akar yang lebih besar dan strukturnya lebih kuat. Penambahan zat pengatur tumbuh pada medium kuntur akan mengiduksi sintesis protein yang selanjutnya akan mempengaruhi pembelahan dan metabolisme sel dengan mengatur reaksi enzimatik yang mempengaruhi oraganogenesis dan produksi metabolit sekunder (Wardani et al., 2004).

Pada kultur jaringan kalus akan terbentuk pada saat konsentrasi sitokinin dan auksin yang terdapat pada tanaman seimbang, dan apabila konsentrasi auksin secara keseluruhan (eksogen dan endogen) lebih tinggi daripada sitokinin maka kalus akan berdifrensiasi membentuk akar (Santoso & Nursandi 2001). Akar muncul dari bagian celah-celah kalus dan munculnya secara berangsur sejalan dengan makin bertambahnya usia kultur. Hal yang berbeda terjadi pada kultur pule pandak (Rauvolfia serpentine L.), pemberian konsentrasi indole-butyric acid (IBA) yang berbeda tidak mempengaruhi jumlah akar yang terbentuk (Palestina, 2008). Perbedan tersebut diduga karena perbedaan zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Jumlah akar adventif yang terbentuk sebanyak 2-8 akar. Makin tinggi konsentrasi kinetin (dari 0,25-0,75 ppm) yang digunakan maka jumlah akar yang terbentuk makin banyak, namun pada pemberian konsentrasi yang makin tinggi (1,0 ppm) pembentukan akar terhambat. Jumlah akar terbanyak (8 akar) terdapat pada saat pemberian kinetin sebesar 0,75 ppm dan terendah (2 akar) pada saat konsentrasi kinetn 1,0 ppm. Penurunan jumlah akar karena konsentrasi kinetin sudah melewati ambang batas optimum sehingga menghambat organogenesis pembentukan akar.

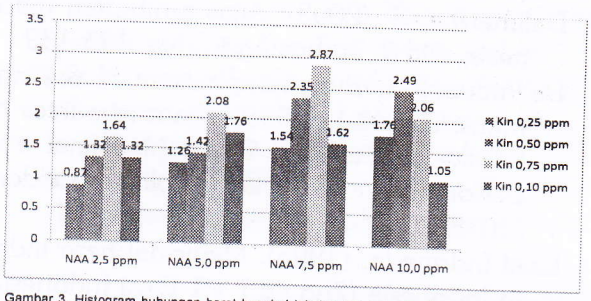
Selain ditentukan oleh konsentrasi kinetin jumlah akar juga dipengaruhi konsentrasi NAA. Pembentukan akar adventif cenderung terhambat pada pemberian NAA dengan konsentrasi yang lebih besar (konsentrasi diatas 2,5 ppm). Hal yang sama juga ditunjukkan Aprianita (1999) bahwa pada C. roseus yang ditanam pada medium Zenk kalus berakar diperoleh dari zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dengan konsentrasi 0,1 $\mu$M BAP dan 10 $\mu$M NAA. Pemberian zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi akan mengakibatkan penghambatan diffrensiasi akar. Krikorian, et al., (1998) dalam Pandiangan (2006) juga

menjelaskan bahwa akar dapat terbentuk dari kalus pada medium yang ditambahkan auksin dengan konsentrasi tinggi dari pada sitokinin. Proses difrensiasi diffresiasi kalus membentuk akar sangat dipengaruhi konsentrasi auksin maupun sitokinin eksogen dan endogen yang terdapat pada tanaman maupun media. Proses diferensiasi juga disebabkan, sel-sel kalus telah mampu menghasilkan sitokininnya sendiri, sehingga penambahan sitokinin eksogen menyebabkan konsentrasi sitokinin dalam kultur akar mencapai supra optimal.Konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi mengakibatkan perkembangan akar terhambat dan menghalangi efek auksin dalam pembentukan akar.

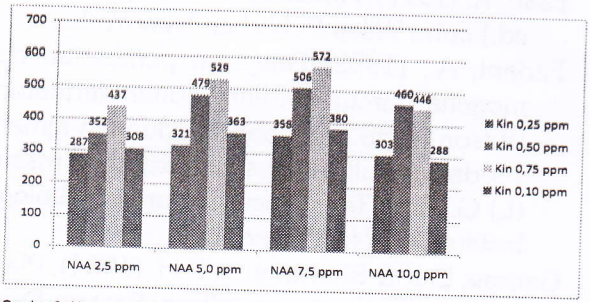
**Pertumbuhan kalus dan akar adventif/kalus berakar O. stamineus**

Pertumbuhan kalus berakar diamati dari penimbangan berat basah dan berat kering kalus berakar O.stamineus (Gambar 3 dan 4). Dari gambar tersebut terlihat bahwa berat basah tertinggi sebesar 3,15 ± 24 mg terdapat pada saat penambahan kinetin 0,75 ppm dan NAA 7,5 ppm dan terendah sebesar 116 ± 13 mg terdapat pada penambahan kinetin 0,25 ppm dan NAA 2,5 ppm. Hal ini memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kinetin (0,25-0,75 ppm) dan NAA (2,5-7,5 ppm) yang diberikan maka pertumbuhan kalus berakar semakin cepat, namun penambahan konsentrasi yang lebih tinggi lagi akan menghambat pertumbuhan. Hal yang hampir sama juga ditemukan oleh Kiong Ling et al., (2009) pada kultur O.stamineus jumlah akar terbanyak saat pemberian 3 mg/L indoleacetic acid (IAA) dan berat kering 0,060 ± 0,018 g dan jumlah akar yang terbentuk cenderung menurun saat konsentrasi IAA dinaikkan. Hal tersebut diduga bahwa zat pengatur tumbuh yang digunakan sudah supraoptimal yang mengakibatkan penghambatan pertumbuhan kalus, tetapi kemampuan untuk berdifrensiasi membentuk akar semakin tinggi.

Dalam penelitian ini ditemumukan bahwa peningkatan laju pertumbuhan tidak selalu diikuti dengan kemampuan kalus membentuk akar. Pada saat penambahan NAA dan kinetin semakin tinggi kemampuan untuk membentuk akar semakin tinggi. Hal yang berbeda ditunjukkan Aprianita (1999) bahwa berat kering tertinggi kalus berakar terjadi pada saat pemberian NAA dan BAP pada konsentrasi rendah (0,1$\mu$M) dan terjadi proses dediferensiasi akr menjadi kalus kembali, hal tersebut diduga karena sel-sel akar telah mampu menghasilkan sitokininnya sendiri. Penambahan sitokinin eksogen menyebabkan konsentrasi sitokinin dalam kultur akar mencapai supra optimal. Konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi mengakibatkan perkembangan akar terhambat dan menghalangi efek auksin dalam pembentukan akar. Apabila dalam perkembangan terjadi perubahan rasio sitokinin; auksin menjadi tinggi, maka eksplan yang tadinya lebih membentuk kalus akan berubah proses morfogenesisnya ke arah pembentukan akar (George and Sherrington, 1984)




Gambar 3. Histogram hubungan berat basah (g) kalus dan kalus berakar *O. stamineus* yang ditanaman pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin




Gambar 3. Histogram hubungan berat kering (mg) kalus dan kalus berakar *O. stamineus* yang ditanaman pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin

## ACUAN PUSTAKA

Achmad, S.A., Hakim, E.H., Makmur L., Syah YM., Juliawati L.A. & Mujahidin D. (2009). Ilmu kimia dan kegunaan: Tumbuh-tumbuhan obat Indonesia Jilid 1. Bandung ITB: 253-274.

Akowuah, G.A., Zhari, I,, Norhayati, I., Sadikum, A. & Khamsah, S.M. (2004). Sinensetin, eupatorin, 3'hydroxy-5,6,7',4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of Orthosiphon stamineus from Malaysia. Food Chem. 87:559-566.

Anggraeni dan Triantoro (1992). Kandungan utama daun kumis kucing. Prosiding Forum Komunikasi ilmiah hasil penelitian plasma nutfah dan budidaya tanaman obat. Bogor. P. 165-169

Aprianita, (1999). Pengaruh pemberian homogenat jamur Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp. terhadap kandungan ajmalisin dalam kultur kalus berakar C. roseus (L) G. Don. Tesis Magister, Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.

Barlow, P.W., (1986). Advetitious root of whole plants: Their forms, function, and evolution. In New root formation in plants and cuttings, M.B. Jackson. Dordrecht, Netherlands. Maartinus Nijhoff Publishers.

Dalimartha, S. (2003). Atlas tumbuhan Indonesia, Jlid 2. Trubus Agriwidya: 135-139

De Padua, L.S. Bunyapraphatsara, N. & Lemmens, R.H.M.J. (1999). Plant resources of South-East Asia no 12(1): Medicinal and poison plant 1. Backhuys Publisher, Leiden: 381-392.

Eisai Indonesia. (1995). Medicinal herb index in Indonesia (2nd ed.). PT Eisai Indonesia, Indonesia.

Esau, K. (1977). Anatomy of seeds plants. (2nd ed.) John Wiley Publisher. New York.

Fitriani, A., (1998) Pengaruh pemberian homogenat jamur pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp. terhadap kandungan ajmalisin dalam kultur kalus catharanthus roseus (L) G. Don. Tesis Magister, Jurusan Biologi, Institut Teknologi Bandung.

George, E. F. & Sherrington, P. H. (1984). Plant propagation by tissue culture. Eastern Press Exegetic Ltd., England.

Hossain, M.A., Salehuddin, S.M. & Ismail, Z. (2006). Rosmarinic acid and methyl rosmarinate from Orthosiphon stamineus Benth. J. Bangladesh Acad. Sci. 30:167–172.

Kiong Ling, A.P., Ming Kok, K., Hussein S. & Ling Ong S., (2009). Effects of plant growth regulators on adventitious roots induction from different explants of orthosiphon stamineus. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 3(3): 493-501.

Koroch, A., Juliani, H.R., Kapteyn, J., & Simon, J.E. (2002). In vitro regeneration of Echinacea purpurea from leaf explants. Plant Cell Tiss. Org. 69(1):79-83.

Irawati. ( 2010). Kultur sel untuk memperbaiki bibit Amorphophalus Titanum. Laporan Akhir Program Insentif Peneliti Dan Perkayasa Lipi Tahun 2010 Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor. LIPI. 27 hlm.

Lestari, E.G., & Mariska. I. (1997). Kultur in vitro sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. Buletin Plasma Nuftah 2 (1): 298-305.

Mantell, S.H. & Smith, H. (1983). Cultural factor that Influences secondary metabolite accumulation in plant cell and tissue. In: Plant biotechnology. Mantell, S.H. and Smith, H. (Eds). Cambrige University Press. New York. p. 75-108.

Martin A.V.R.G., Geetha, V.P.S.P. & Balachandran I, 2007. Low cost alternative for the micropropagation of Centella asiatica, Journal of Plant Sciences 2 (6): p. 592-599.

Matsubara, T., Bohgaki, T. (1999). Antihypertensive actions of methylripariochromene A from Orthosiphon stamineus, an Indonesian tradisional medicinal plant. Biol. Pharm. Bull. 22(10):1083-1088.

Nawi I.H.M. & Samad A. (2012) Successful plant regeneration of Orthosiphon stamineus from petiole. Journal of Medicinal Plants Research 6(26), pp. 4276-4280.

Mukarlina, Esyanti, R.E. & Siregar, A.H. (2006). Pengaruh pemberian elisitor homogenat jamur Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp. terhadap kandungan ajmalisin dalam kultur akar Catharantus roseus (L) G. Don Jurnal Matematika dan Sains 11 (2): 44-49.

Pandiangan, D. (2006). Respon pertumbuhan kalus Catharanthus roseus yang diberi perlakuan triptofan, Biotika 5(2) : 48 – 56

Purwandari, S.S. (2001). Studi serapan tumbuhan obat sebagai bahan baku pada berbagai industri obat tradisional di Indonesia [Tesis]. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Palestine, A.S. (2008). Induksi akar pada biakan tanaman Pule Pandak

(Rauvolfia Serpentine L.) Secara kultur jaringan. Universitas Brawijaya Fakultas Pertanian Jurusan Budidaya Pertanian Malang. Skripsi. 41 hlm.

Olah, N.K., Radu, L. Mogosan, C., Hanganu D. & Gocan, S. (2003). Phytochemical and pharmacological studies on Orthosiphon stamineus Benth. (Lamiaceae) hydroal-

coholic extracts. J Pharm Biomed Anal. 15;33(1):117-23.

Riswan, S. & Sangat, H. M. (1991). "Jamu as a Javanese traditional medicine in Indonesia," The Bioresources-Diversity, Ethnobiology Development and Sustainability International Centenary Conference, Sydney.

Santoso, Untung. & Nursandi F. (2004). Kultur jaringan tanaman. UMM-Press, Malang

Sinurat, N., (2005). Pengaruh pemberian 2,4 diklorofenoksi asetat dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus pada tanaman Catharanthus Roseus (L.)G.Don, Skripsi, Prodi. Pendidikan Biologi. FKIP UKI.

Syahid, S.F. & Hernani (2004). Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan pertumbuhan serta kandungan sinensetin dalam kalus pada tanaman kumis kucing (Orthosiphon stamineus, Jurnal Littri 7 (4): 99-103

Trimulyono, G., Solichatun & Marliana, S.D. (2004). Pertumbuhan kalus dan kandungan minyak atsiri nilam (Pogostemon cablin (Blanco) Bth.) dengan perlakuan asam □- Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin Biofarmasi 2 (1): 9-14

Wardani P.D. , Solichatun & Setyawan, A.D. (2004) Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus Talinum paniculatum Gaertn. pada variasi penambahan asam 2,4-diklorofenoksi asetat (2,4-D) dan kinetin Biofarmasi 2 (1): 35-43.

Wetter, L. R. & Constabel, F. (1991). Metode kultur jaringan. Edisi 2. Institut Teknologi Bandung. Bandung. P. 14-15.

Wai-leng, L. & Lai-Keng, C. (2004). Establishment of orthosiphon stamineus cell suspension culture for cell growth plant cell, tissue and organ cultures 78 (2): 101-106.

Verpoorte, R. & van der Heijden, R. (1991). Plant biotechnology for the production of alkaloids : Present status and prospects, 1991, in Brossi A. (ed), The alkaloid, 40, Academic Press Inc, San Diego, 109-142.

Zhao, J., Zhu, W., Hu, Q., & Guo. Y., (2001). Compact callus cluster suspension cultures of Catharanthus Roseus with enhanced Indole alkoaloid Biosinthesis J. In Vitro cellular & developmental biology plant (37) (1): 68-72.