

PENGARUH BA DAN THIDIAZURON TERHADAP INISIASI DAN MULTIPLIKASI TUNAS TAPAK DARA

Yelnititis¹, Nurliani Bermawie dan Dedi Surachman

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

ABSTRAK

Tapak dara (*Catharanthus rosea* L.) G.Don termasuk salah satu tanaman hias berkhasiat obat. Untuk meningkatkan kadar bahan aktif melalui kultur *in vitro* diperlukan bahan tanaman aseptik dalam botol kultur. Perbanyak tanaman secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan Balitro, Bogor. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah batang dengan nodus tunggal yang diambil dari lapang. Media dasar Murashige dan Skoog (MS) yang diberi sukrosa 30 g/l, vitamin B dan agar 8 g/l dijadikan media tumbuh. Percobaan terdiri dari 2 tahap yang berurutan. Tahap I merupakan percobaan pendahuluan, dan tahap II multiplikasi tunas. Pada tahap I batang satu buku ditanam pada media MS + BA (0,1; 0,3 dan 0,5 mg/l) yang bertujuan untuk mengetahui kisaran BA yang dibutuhkan untuk induksi tunas. Tunas hasil percobaan pendahuluan diperbanyak pada media terbaik tahap I untuk dijadikan sebagai eksplan untuk percobaan II. Pada tahap II konsentrasi BA ditingkatkan dan ditambah dengan thidiazuron. Perlakuan yang diuji adalah BA (0,5; 1,0; 2,0 dan 3,0 mg/l) dan dikombinasikan dengan thidiazuron 0,1 mg/l. Percobaan disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 kali ulangan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perlakuan BA 0,5 mg/l merupakan media terbaik untuk induksi tunas dengan biakan berwarna hijau, segar dan kuat. Pada tahap multiplikasi rata-rata jumlah tunas,

jumlah daun dan laju pertumbuhan, paling cepat diperoleh dari perlakuan BA 0,5 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l berturut-turut yaitu 9,29, 36 dan 3,63 cm. Dari perlakuan yang sama juga dihasilkan biakan dengan penampilan yang terbaik dengan daun hijau, segar dan batang tegar.

Kata kunci : *Catharanthus rosea*, *in vitro*, perbanyakan

The effect of BA and Thidiazuron on shoot initiation and multiplication of Catharanthus rosea

ABSTRACT

Tapak dara (Catharanthus rosea L.) is one of ornamental plants having medicinal properties. To initiate crop improvement through tissue culture it is necessary to provide aseptic plant materials. Plant multiplication through in vitro culture has been conducted at Plant Genetic Resource and Breeding Laboratory in Research Institute for Spice and Medicinal Crops Bogor. Single node explants from Cimanggu experimental garden were used the explants were planted on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 30 g/l sucrose, vitamins of B group and 8 g/l agar. The experiment was divided in two stages. The first stage is preliminary experiment and the second stage is shoot multiplication. For the first stage, single node stems were cultured on MS medium supplemented with BA (0.1, 0.3 and 0.5 mg/l) to find the right concentration of BA for shoot initiation. The result from the first

¹ Alamat sekarang : Puslitbang Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta

stage is used as explant for the second stage. For the second stage BA concentration was increased to become 0.5, 1.0, 2.0 and 3.0 mg/l and supplemented with 0.1 mg/l thidiazuron. The experiment was designed randomized Complete (CRD) with 10 replications. The result showed that the treatment of BA 0.5 mg/l was the best medium for shoot initiation with green, fresh and vigorous culture. Treatment with BA 0.5 mg/l + thidiazuron 0.1 mg/l gave the fastest growth with average number of shoots, leaves and height were 9.29, 36 and 3.63 cm respectively. The best performance of cultures with green, fresh leaves and vigorous stem were obtained from the same medium.

Key words : *Catharanthus rosea*, *in vitro*, multiplication.

PENDAHULUAN

Tapak dara (*Catharanthus rosea* L.) G.Don termasuk salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Mulai dari akar, batang, daun dan biji dapat dihasilkan lebih dari 70 macam alkaloid (Rosita *et al.*, 1993 dan Wijayakusuma, 1994) diantaranya vinblastine dan vincristine yang berkhasiat sebagai obat kanker karena bersifat antineoplastik (Herseyani, 1988) dan vindolin yang terdapat pada daun berfungsi sebagai obat diabetes/kencing manis (Suseno, 1991).

Tanaman ini sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat. Pengembangan tanaman unggul yang memiliki kadar bahan aktif tinggi sangat penting. Salah satu alternatif untuk meningkatkan bahan aktif antara lain vincristin atau vinblastin adalah melalui kultur *in vitro*. Untuk keperluan tersebut dibutuhkan penyediaan bahan tanaman yang steril dalam botol. Untuk meningkatkan kadar bahan aktif diantaranya dapat dilakukan melalui

kultur kalus dan kultur sel. Keberhasilan terhadap upaya peningkatan kadar bahan aktif melalui kultur kalus tergantung kepada tersedianya bahan tanaman steril. Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknik alternatif yang dapat digunakan untuk mendapatkan bahan tanaman dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif singkat. Tahap pertama dalam kultur jaringan adalah pengadaan bahan tanaman aseptik dalam botol sehingga perlu dilakukan perbanyakan bahan tanaman secara *in vitro*.

Tingkat keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor yang antara lain eksplan tanaman yang digunakan, lingkungan tumbuh, media dan komposisinya. Zat pengatur tumbuh termasuk salah satu faktor penentu dalam keberhasilan kultur jaringan. Keseimbangan zat pengatur tumbuh yang diberikan akan menentukan arah perkembangan dari eksplan yang dikulturkan. BA termasuk golongan sitokinin yang sering digunakan untuk proliferasi tunas karena lebih efektif dari sitokinin yang lain seperti kinetin dan adenin sulfat (Ront dan Das, 1993). Selain itu penggunaan senyawa organik lain dapat juga meningkatkan keberhasilan kultur. Thidiazuron merupakan suatu senyawa yang mempunyai pengaruh seperti sitokinin pada jaringan tanaman yang dikulturkan (Kerns dan Meyer, 1986 dan Mok *et al.*, 1982). Senyawa ini dapat menginduksi pembentukan tunas adventif pada tanaman *Ixia flexuosa* (Meyer dan van Staden, 1988) dan dapat meningkatkan kualitas dari

biakan yang dihasilkan (Nielsen *et al.*, 1995).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media yang terbaik untuk usaha perbanyak tunas secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODA

Penelitian dilakukan di Laboratorium Plasma Nutfah dan Pemuliaan Balitro Bogor dari bulan Mei 1997 sampai bulan November 1997.

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan pada penelitian ini adalah batang satu buku yang berasal dari lapangan. Eksplan dicuci dengan sabun, kemudian direndam dalam larutan dithane selama 7 menit. Sterilisasi dilakukan secara berurutan di dalam laminar air flow dengan menggunakan alkohol, HgCl₂, clorox lalu dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Terakhir eksplan ditanam ke dalam media tumbuh. Sebagai media dasar digunakan media Murashige dan Skoog (MS) yang ditambah dengan sukrosa sebanyak 30 g/l, vitamin group B dan agar sebagai pematat sebanyak 8 g/l dan sebagai perlakuan ditambahkan zat pengatur tumbuh. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap.

Percobaan tahap pertama bertujuan untuk mengetahui kisaran konsentrasi BA yang digunakan. Eksplan yang digunakan berupa batang satu buku ditanam ke dalam media tumbuh dengan perlakuan BA (0,1; 0,3 dan 0,5 mg/l). Pengamatan dilakukan terhadap persentase tumbuh dan keadaan biakan secara visual.

Masing-masing perlakuan diulang 10 kali. Selanjutnya hasil percobaan tahap pertama diperbanyak pada media terbaik tahap I kemudian digunakan sebagai eksplan untuk percobaan tahap II yang bertujuan untuk mendapatkan media terbaik untuk perbanyak dengan meningkatkan konsentrasi BA (0,5; 1,0; 2,0 dan 3,0 mg/l) dan dikombinasikan dengan thidiazuron 0,1 mg/l. Parameter yang diamati adalah jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tanaman dan keadaan biakan secara visual.

Penelitian disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 kali ulangan untuk semua perlakuan dari kedua tahap percobaan, satu ulangan terdiri atas satu botol dengan satu eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan BA ke dalam media tumbuh dapat menginduksi tunas dari eksplan yang ditumbuhkan. Gunawan (1987) menyatakan bahwa BA merupakan sitokinin yang banyak digunakan untuk induksi dan multiplikasi tunas adventif pada banyak tanaman. Perlakuan BA 0,5 mg/l merupakan media terbaik untuk induksi tunas. Rata-rata induksi tunas dari perlakuan ini terlihat 7 hari setelah dikulturkan sedangkan dari perlakuan BA dengan konsentrasi yang lebih rendah (0,1 dan 0,3 mg/l) induksi tunas terlihat setelah 17 dan 14 hari setelah dikulturkan. Menurut Gunawan (1987) jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan menentukan

arah dan keberhasilan tumbuh dari jaringan yang dikulturkan.

Dari percobaan tahap ini dihasilkan tunas dengan persentase tumbuh yang rendah. Persentase tumbuh tertinggi yaitu 30 % diperoleh dari perlakuan BA 05 mg/l (Tabel 1). Hasil yang sama dengan penelitian Corchete *et al.* (1993) menunjukkan persentase maximum eksplan yang membentuk tunas diperoleh dari perlakuan BA 0,5 mg/l pada tanaman *Ulmus pumila*. Rendahnya persentase tumbuh dari eksplan batang satu buku tanaman tapak dara dapat disebabkan karena konsentrasi BA yang digunakan masih terlalu rendah, sehingga masih dapat ditingkatkan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Perlakuan BA 0,5 mg/l menghasilkan biakan dengan daun hijau, segar dan tegar.

hanya mampu memperlihatkan pemanjangan. Percobaan ini merupakan percobaan pendahuluan dengan tujuan untuk mengetahui kisaran konsentrasi BA yang terbaik untuk induksi tunas sehingga diperoleh biakan steril. Untuk meningkatkan daya multiplikasi dilakukan peningkatan konsentrasi BA dan penambahan thidiazuron ke dalam media tumbuh.

Hasil analisa statistik percobaan multiplikasi jumlah rata-rata tunas terbanyak diperoleh dari perlakuan BA 0,5 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l yaitu 9,29 yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lain (Tabel 2). Penambahan thidiazuron 0,1 mg/l pada media yang telah mengandung BA 0,5 mg/l ternyata dapat lebih meningkatkan laju pembelahan sel. Massa sel yang embrionik selanjutnya melakukan

Tabel 1. Persentase tumbuh, waktu inisiasi tunas dan penampilan biakan tapak dara pada media yang mengandung BA.

Table 1. Growth percentage, initiation and performance of culture on media containing BA

Media tumbuh <i>Growth medium</i> (mg/l)	% tumbuh <i>Growth (%)</i>	Inisiasi tunas (HST) <i>Shoot initiation (DAC)</i>	Penampilan biakan <i>Culture performance</i>
BA 0,1	10	17	Tinggi, kurus, hijau <i>Tall, slender, green</i>
BA 0,3	10	14	Sedang, hijau <i>Medium, green</i>
BA 0,5	30	7	Sedang, hijau, segar, tegar <i>Medium, green, fresh and vigorous</i>

Disamping itu, tunas yang berasal dari BA 0.5 mg/l yang mampu membentuk tunas ganda. Diduga penambahan BA dengan konsentrasi tersebut merupakan keseimbangan auksin endogen dan sitokinin yang cocok untuk mendorong terbentuknya tunas ganda. Pada perlakuan BA 0,1 dan 0,3 mg/l tunas yang terbentuk

polarisasi membentuk bakal meristem yang akan tumbuh menjadi tunas ganda/adventif. Menurut Nielsen *et al.* (1995) media yang mengandung dua jenis sitokinin yang berbeda dapat meningkatkan jumlah tunas yang dihasilkan dibanding dengan tunas yang dihasilkan dengan hanya menggunakan satu jenis sitokinin. Hasil

yang sama dari penelitian Kerns dan Meyer (1986), Sudarsono dan Goldy (1991) dan Yelnititis (1996) menunjukkan interaksi BA dengan thidiazuron dapat meningkatkan proliferasi tunas pada tanaman *Acer x freemanii*, pada tanaman *Vitis rotundifolia* Michx. dan tanaman daun ki encok (*Plumbago zeylanica*).

disebabkan adanya sinergisme antara BA dan thidiazuron dalam pembentukan tunas ganda. Hasil yang sama didapatkan oleh Corchete *et al.*, (1993) pada tanaman *Ulmus pumila* sebaliknya Rout dan Das (1993) pada tanaman *Madhuca longifolia* menunjukkan peningkatan konsentrasi

Tabel 2. Jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi biakan umur 5 minggu.
Table 2. Number of shoots, leaves and shoot height 5 weeks after culture

Perlakuan Treatment (mg/l)	Jumlah tunas Number of shoot	Jumlah daun Number of leaves	Tinggi biakan Shoot height
BA 0,5	5,57 b	29,14 abc	3,01 b
BA 1,0	5,14 b	32,57 ab	2,74 b
BA 2,0	3,85 b	22,29 bc	1,68 d
BA 3,0	3,57 b	20,57 c	1,55 d
BA 0,5 + thi 0,1	9,29 a	36,00 a	3,63 a
BA 1,0 + thi 0,1	5,29 b	22,43 bc	2,47 bc
BA 2,0 + thi 0,1	5,57 b	22,71 bc	2,54 bc
BA 3,0 + thi 0,1	4,57 b	20,14 c	2,05 cd
KK (%)	37,08	38,30	21,05

- Thi = thidiazuron

Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5 % uji DMRT

Numbers followed by the same letters in each coloumn are not significantly different at 5% DMRT

Selanjutnya van Nieuwkerk *et al.* (1986) menyatakan bahwa thidiazuron dapat meningkatkan proliferasi tunas pada tanaman apel. Walaupun tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan tetapi peningkatan konsentrasi BA dari 0.5 mg/l sampai 3.0 mg/l dengan penambahan atau tanpa thidiazuron lebih bersifat menurunkan jumlah tunas tetapi tunas yang diperoleh dari perlakuan BA kombinasi dengan thidiazuron cenderung lebih banyak dibanding jika hanya menggunakan BA. Hal ini

BA menurunkan daya multiplikasi tunas.

Dari Tabel 2 juga dapat dilihat bahwa perlakuan BA 0,5 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l menghasilkan jumlah daun paling banyak yaitu 36, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan BA 0,5 mg/l dan BA 1 mg/l dengan jumlah tunas daun masing-masing 29,14 dan 32,57. Peningkatan jumlah daun berkaitan dengan peningkatan jumlah tunas yang diperoleh. Penggunaan konsentrasi BA lebih dari 0,5 mg/l sampai 3 mg/l

ditambah dengan thidiazuron 0,1 mg/l ternyata menurunkan jumlah daun. Diduga selain jumlah tunas, tinggi biakan juga berpengaruh terhadap jumlah daun yang diperoleh karena dari satu ruas dihasilkan 2 lembar daun. Sama halnya dengan jumlah daun perlakuan dengan penambahan BA 0,5 mg/l + thidiazuron 0,1 mg/l juga memperlihatkan laju pertumbuhan paling cepat dengan tinggi 3,63 cm yang berbeda nyata dengan perlakuan lain (Tabel 2). Penggunaan thidiazuron 0,1 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 0,5 mg/l dapat lebih memacu pertumbuhan memanjang dari tunas yang dihasilkan. Menurut Chalupa (1987) dalam Nielsen *et al.* (1995) pertumbuhan jaringan tanaman pada *Tilia cordata* Mill, *Sorbus aucuparia* L. dan *Robinia pseudoacacia* L. pada media yang mengandung BA dan thidiazuron menghasilkan tunas aksilar yang lebih panjang dari pertumbuhan pada media yang hanya mengandung BA saja. Hasil yang berbeda dengan penelitian van Nieuwkerk (1986) dan Nielsen *et al.* (1995) bahwa interaksi BA dengan thidiazuron menghasilkan tunas yang lebih pendek pada tanaman apel dan *Miscanthus X ogiformis* "Giganteus". Hal ini menunjukkan bahwa setiap jenis tanaman memperlihatkan respon yang berbeda terhadap perlakuan sitolimin yang diberikan. Ini sangat tergantung kepada kandungan sitolimin endrogen dan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang dikandungnya.

Penampakan biakan pada perlakuan BA konsentrasi rendah memperlihatkan biakan dengan batang yang kurus, tinggi dan daun yang lebar dan hijau. Semakin tinggi konsentrasi BA yang digunakan diikuti oleh semakin pendeknya biakan yang diperoleh. BA termasuk sitokinin dengan daya aktif yang kuat yang dapat membantu pembelahan sel ke arah samping sehingga biakan yang dihasilkan lebih pendek dan gemuk (Tabel 3).

Perlakuan penambahan thidiazuron pada media yang telah mengandung BA dapat lebih meningkatkan laju pertumbuhan ke arah pemanjangan sel sehingga biakan yang dihasilkan lebih tinggi dari perlakuan yang hanya menggunakan BA. Penggunaan BA kombinasi dengan thidiazuron mempunyai hubungan sinergisme dalam pertumbuhan jaringan yang ditumbuhkan. Hal yang sama dengan penelitian Nielsen *et al.* (1995) menunjukkan kombinasi BA dan thidiazuron dapat meningkatkan kualitas tunas yang dihasilkan. Sedangkan daun yang dihasilkan pada perlakuan BA konsentrasi tinggi dengan thidiazuron lebih kecil dan hijau. Hasil yang sama diperoleh dari penelitian Yelnitis (1996) pada tanaman daun ki encok.

Tabel 3. Penampakan visual biakan tapak dara
Table 3. Visual performance of culture

Perlakuan Treatment (mg/l)	Batang Stem	Daun Leaves
BA 0,5	tinggi, kurus <i>tall, slender</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
1,0	sedang, kurus <i>medium, slender</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
2,0	pendek <i>short</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
3,0	pendek <i>short</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
BA 0,5 + thi 0,1	tinggi, tegar <i>tall, vigorous</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
1,0 + thi 0,1	sedang, tegar <i>medium, vigorous</i>	Lebar, hijau <i>Large, green</i>
2,0 + thi 0,1	sedang, tegar <i>medium, vigorous</i>	Kecil, hijau <i>Small green</i>
3,0 + thi 0,1	pendek, gemuk <i>short, big</i>	Kecil, hijau <i>Small, green</i>

KESIMPULAN

Penambahan thidiazuron 0,1 mg/l ke dalam media yang sudah mengandung BA 0,5 mg/l dapat lebih merangsang pembentukan tunas ganda, jumlah daun dan laju pertumbuhan paling cepat dibandingkan dengan perlakuan yang hanya menggunakan BA masing-masing dengan jumlah 9,29, 36 dan 3,63 cm yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Dari perlakuan yang sama juga dihasilkan biakan dengan penampilan yang lebih baik dengan daun yang lebar, hijau, segar dan batang yang tegar.

DAFTAR PUSTAKA

- Chalupa, V. 1987. Effect of benzylaminopurine and thidiazuron on *in vitro* shoot multiplication of *Tilia cordata* Mill., *Sorbus aucuparia* L. and *Robinia pseudoacacia* L. Biol. Plant 29 : 425 - 429.
- Corchete, M.P., J.J. Diez and T. Valle. 1993. Micropropagation of *Ulmus pumila* L. from mature trees. Plant Cell Report 11 : 522 - 524.
- Hersetyani, F. 1988. Tapak doru untuk kanker. Trubus 227.Th. XIX - Oktober. hal. 167.
- Kerns, K.R. and Meyer, Jr. M.M. 1986. Tissue culture propagation of *Acer x freemanii* using thidiazuron to stimulate shoot tip proliferation. Hort. Science 21 : 1209 - 1210.
- Meyer, H.J. and van Staden, J. 1988. *In vitro* multiplication of *Ixia flexuosa*. Hort. Science 23 : 1070 - 1071.

- Mok, M.C., D.W.S. Mok, D.J. Armstrong, K. Shudo, Y. Isogai and T. Okamoto. 1982. Cytokinin activity of N-Phenyl-N'-1,2,3-Thiadiazol-5-Ylurea (Thidiazuron). *Phytochemistry* 21 : 1509 - 1511.
- Nielsen, J.M., J. Hansen and K. Brandt. 1995. Synergism of thidiazuron and benzyladenine in axillary shoot formation depends on sequence of application in *Miscanthus X ogiformis* 'Giganteus'. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 41 : 165 - 170.
- Rout, G.R. and Das, P. 1993. Micropropagation of *Madhuca longifolia* (Koenig) MacBride var. *latifolia* Roxb. *Plant Cell Report* 12 : 513 - 516.
- Rosita, S.M.D., Rostiana, O., Wahid, P. 1993. *Tanaman Obat Keluarga*. Booklet Balitro. Edisi I. 125 hal.
- Sudarsono and R.G. Goldy. 1991. Growth regulator and axillary bud position effects on *in vitro* establishment of *Vitis rotundifolia*. *Hort Science* 26 : 304 - 307.
- Suseno, S. 1991. Daun tapak dara untuk Diabetes. *Trubus* 263 : Th. XXII - Oktober. hal 171.
- Wijayakusuma, H.H.M., Wirian, A.A., Yaputra, T., Dalimartha, S., Wibowo, B. 1994. *Tanaman berkhasiat obat di Indonesia*. Pustaka Kartini. hal. 107 - 109.
- van Nieuwkerk, J.P., Zimmarmen, R.H and Fordham, I. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *Hort Science* 21 : 516 - 518.
- Yelnitis. 1996. Pengaruh BA, thidiazuron dan auksin (IAA dan IBA) terhadap multiplikasi tunas dan perakaran *in vitro* daun ki encok. *Prosiding Simposium Nasional Tumbuhan Obat dan Aromatic*. APINMAP. Bogor. hal. 278 - 283.