

PENGARUH 2,4 D DAN GLUKOSA PADA KALUS SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendans*)

Heru Sudrajad, Didik Suharto, Nur Rahmawati Wijaya

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Litbangkes, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

ABSTRACT

Plants sarang semut (*Myrmecodia pendans*) as a cure for cancer. One alternative to get the seeds in a uniform and a short time and get a secondary metabolite is by tissue culture techniques will be conducted plant breeding research efforts sarang semut (*Myrmecodia pendans*) by administering 2.4 D and glucose through tissue culture. This research was conducted considering the need to be developed and cultivated plants sarang semut as a raw material for making drugs. Tissue culture techniques has advantages because it is not affected by the climate with relatively cepat. The research was conducted in laboratory tissue culture Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicine Tawangmangu. Research carried out by adding a growth regulator 2.4 D and 2.4 D glucose concentration of 1, 2, 3 and 4 ppm and the concentration of glucose by respectively 15, 20, 25 and 30 g/l. The results showed the combination of giving 2,4 D 1 and 2 ppm by glucose of 15 to 30 g / l was obtained callus growth better. Treatment of combinations of 2,4 D 2 ppm and glucose 30 g / l give better results on the growth of callus which is more compact and green

Key words: sarang semut, *Myrmecodia pendans*, tissue culture, 2,4 D, glucose

ABSTRAK

Tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans*) berkhasiat sebagai obat kanker. Salah satu alternatif untuk mendapatkan bibit yang seragam dan waktu yang singkat dan mendapatkan metabolit sekunder adalah

dengan teknik kultur jaringan Akan dilakukan penelitian upaya pembibitan tanaman sarang semut dengan pemberian 2,4 D dan glukosa melalui kultur jaringan. Penelitian dilakukan mengingat perlu dikembangkan dan dibudidayakan tanaman sarang semut sebagai bahan baku pembuatan obat. Teknik kultur jaringan memiliki kelebihan karena tidak dipengaruhi oleh iklim dengan waktu produksi relatif cepat. Penelitian dilakukan dilaboratorium kultur jaringan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu. Penelitian dilakukan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan glukosa 2,4 D dengan konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 ppm dan glukosa dengan konsentrasi masing-masing 15, 20, 25 dan 30 g/l. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi pemberian 2,4 D 1 dan 2 ppm dengan glukosa 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus yang lebih baik. Perlakuan kombinasi 2,4 D 2 ppm dan glukosa 30 g/l memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau

Kata kunci: sarang semut, *Myrmecodia pendans*, kultur jaringan, 2,4 D, glukosa

PENDAHULUAN

Peningkatan yang pesat dalam pemakaian obat tradisional akan menyebabkan kebutuhan bahan baku tanaman obat juga semakin meningkat. Bahan baku tanaman obat yang dikuras dari alam untuk memenuhi kebutuhan yang semakin meningkat tanpa memikirkan kelanjutan dari tanaman tersebut akan membawa akibat kelangkaan atau bahkan pemusnahan terhadap beberapa jenis tanaman

obat, apabila tidak diimbangi dengan upaya pembudidayaan dan pelestarian (Rifai, 1979)

Sarang Semut adalah salah satu tumbuhan Epyfit yang umbinya dihuni oleh semut, sehingga disebut sebagai Sarang Semut. Tumbuhan ini ditemukan di pedalaman Wamena Papua pada awal Januari 2005. Menurut ilmuwani ada 26 species sarang semut yang ada. Secara empiris Sarang Semut telah terbukti dapat menyembuhkan beragam penyakit ringan dan berat, seperti kanker dan tumor, asam urat, jantung koroner, wasir, TBC, migrain, rematik dan leukemia

Sarang semut memiliki kandungan zat flavonoid yang berperan sebagai zat antioksidan dari dalam tubuh, sehingga bisa dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit kanker. Adapun kandungan lainnya yang terdapat pada sarang semut adalah polifenol, alfa-tokoferol, tokoferol (vitamin E), kalsium, fosfor, dan magnesium.

Permintaan kebutuhan akan bahan baku obat tradisional yang tinggi menyebabkan penggunaan teknik kultur jaringan semakin menarik. Produksi bibit yang bermutu baik, homogen, dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat sulit dilakukan secara konvensional. Teknologi kultur jaringan yang memproduksi planlet dalam botol-botol kecil dapat mengatasi masalah tersebut (Darwis, 1992). Dengan teknik kultur jaringan, kendala dalam memproduksi bibit dapat diatasi, karena disamping tanaman dapat dihindari dari kemunduran genetik akibat dari kesalahan-kesalahan dalam proses produksi bibit, juga dapat diperbanyak sembarang waktu dengan faktor multiplikasi tinggi (Habir dkk., 1992).

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Dalam media kultur jaringan diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh untuk mendukung pertumbuhan eksplan. Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin (Gunawan, 1987).

Media kultur mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dengan perbandingan yang cocok serta sumber tenaga (umunya digunakan sukrosa). Media juga mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat perangsang pertumbuhan. Penambahan zat pemat (agar) diperlukan supaya terjadi kontak antara jaringan tanaman dengan media dan juga dengan udara. (Wetherell, 1982)

Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan adalah dari golongan auksin (NAA, 2,4 D, IBA, IAA) dan golongan sitokinin (BAP dan Kinetin).. 2,4 D merupakan auksin yang paling kuat daya hambat terhadap morfogenesis. Oleh karena itu 2,4 D sering digunakan untuk menginduksi kalus dan suspensi sel. (Salisbury, 1985).

Pemberian zat pengatur tumbuh dapat mempercepat pertumbuhan dan perkembangan sampai pada dosis tertentu, dosis terlalu tinggi atau terlalu rendah tidak akan memberi efek positif (Aslamyah, 2002). Memperhatikan hal tersebut di atas maka akan dilakukan penelitian pengaruh 2,4 D dan glukosa pada kalus sarang semut (*Myrmecodia pendans*).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah kalus sarang semut (*Myrmecodia pendans*).. Bahan kimia penyusun media MS (Murashige & Skoog), 2,4 Dioksisiribonukleat acid), glukosa sedangkan alat yang digunakan Lamiar Air Flow (LAF), Autoclaf, pinset, scalpel, hot plate, timbangan analitik dan lain-lain.

Tahapan persiapan eksplan adalah buah sarang semut yang sudah tua dengan warna kuning diambil bijinya kemudian dikeringkan dalam oven selama 2 malam, selanjutnya proses sterilisasi biji sarang semut direndam dalam larutan deterjen selama 5 menit. Kemudian direndam dalam larutan dithane 2 mg/l ditambah tween 2 tetes tiap 100 ml larutan steril selama 7 menit kemudian direndam dalam larutan agrept 2 mg/l ditambah tween 2 tetes tiap 100 ml larutan steril selama 7 menit, selanjutnya dibilas dengan aquadest steril sampai bersih. Terakhir direndam dalam larutan bayclin 10% selama 5

menit. Tahapan selanjutnya penanaman eksplan biji sarang semut ditanam dalam media MS dengan hormon 2,4 D 2 ppm kemudian tumbuh kalus sampai umur 6 bulan. Kemudian kalus yang sudah tumbuh dilakukan subkultur kalus sarang semut (*Myrmecodia pendans*). Pembuatan media yaitu bahan kimia ditimbang analitik sesuai dengan komposisi masing-masing untuk media MS (lampiran). Tahapan selanjutnya subkultur kalus dilakukan didalam Laminar air flow secara aseptis, yang sebelumnya ruangan telah disterilkan dengan menyemprotkan alkohol kedalam ruangan dan di sinari dengan lampu ultraviolet selama 30 menit.

Kalus disubkultur pada media MS dengan penambahan 2,4 D konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 ppm dengan glukosa konsentrasi 15, 20, 25 dan 30 g/l. Pengamatan dilakukan terhadap perkembangan, bentuk dan warna kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan tabel 1 pada media MS yang ditambahkan 2,4 D dan glukosa menunjukkan bahwa kombinasi pemberian 2,4 D 1, 3 dan 4 ppm dengan glukosa 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus tetapi dengan bentuk kalus yang remah dan berwarna dari hijau sampai hijau keputihan atau kehitaman.

Media MS yang ditambahkan 2,4 D dan glukosa menunjukkan bahwa kombinasi pemberian 2,4 D konsentrasi 1 dan 2 ppm dengan glukosa konsentrasi 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus dengan bentuk kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau. Perlakuan kombinasi 2,4 D 2 ppm dan glukosa 30 g/l memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau

Tabel 1. Pengaruh penambahan 2,4 D dan glukosa terhadap pertumbuhan subkultur kalus sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dengan masa inkubasi 4 bulan

Perlakuan	Media	Kalus	Keterangan
2,4 D 1 ppm + Glukosa 15 g/l)	MS	Kalus (++)	Kompak, berwarna hijau kehitaman
2,4 D 1 ppm + Glukosa 20 g/l)	MS	Kalus (++)	Kompak, berwarna hijau keputihan
2,4 D 1 ppm + Glukosa 25 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau kehitaman
2,4 D 1 ppm + Glukosa 30 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau
2,4 D 2 ppm + Glukosa 15 g/l)	MS	Kalus (+)	Kompak, berwarna hijau
2,4 D 2 ppm + Glukosa 20 g/l)	MS	Kalus (++)	Kompak, berwarna hijau kehitaman
2,4 D 2 ppm + Glukosa 25 g/l)	MS	Kalus (++)	Kompak, berwarna hijau
2,4 D 2 ppm + Glukosa 30 g/l)	MS	Kalus (+++)	Kompak, berwarna hijau
2,4 D 3 ppm + Glukosa 15 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau
2,4 D 3 ppm + Glukosa 20 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau keputihan
2,4 D 3 ppm + Glukosa 25 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau keputihan
2,4 D 3 ppm + Glukosa 30 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau kehitaman
2,4 D 4 ppm + Glukosa 15 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau
2,4 D 4 ppm + Glukosa 20 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau kehitaman
2,4 D 4 ppm + Glukosa 25 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau
2,4 D 4 ppm + Glukosa 30 g/l)	MS	Kalus (++)	Remah, berwarna hijau

NB : + = sedikit, ++ = agak banyak, +++ = banyak

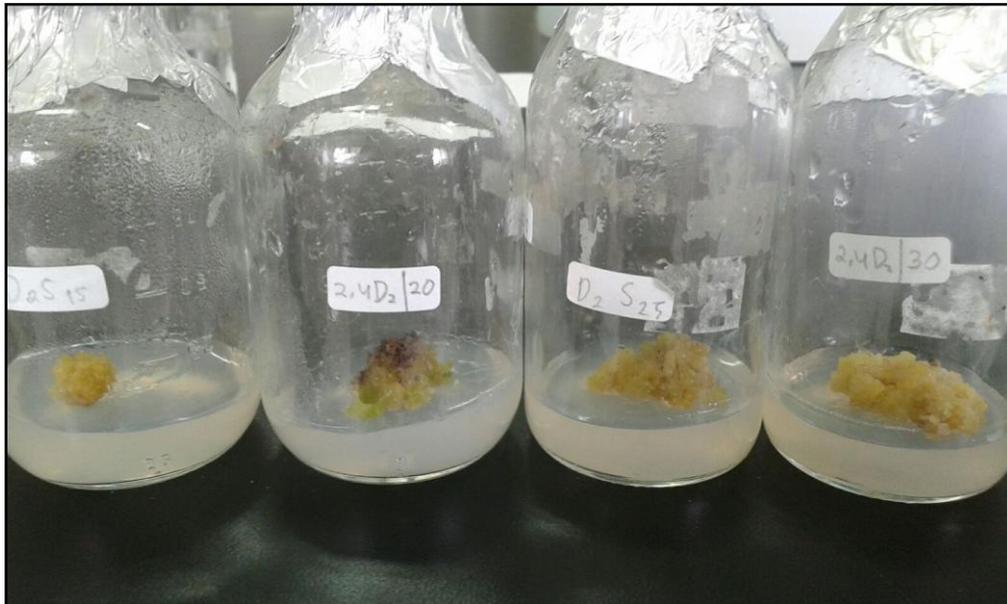
Pada media MS yang ditambahkan 2,4 D dan glukosa pada umur 4 bulan menunjukkan bahwa kombinasi pemberian 2,4 D 1, 3 dan 4 ppm dengan glukosa 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus tetapi dengan bentuk kalus yang remah dan berwarna dari hijau sampai hijau keputihan atau kehitaman. Dengan bentuk kalus yang dihasilkan dengan bentuk remah, untuk perkembangan selanjutnya untuk di apabila akan dikembangkan biakan menjadi planlet kemungkinan tingkat keberhasilannya akan sangat kecil, apalagi dengan warna kalus yang mulai berwarna keputihan atau kehitaman, menunjukkan akan mengalami kematian,

Sedangkan media MS yang ditambahkan 2,4 D dan glukosa menunjukkan bahwa kombinasi pemberian 2,4 D

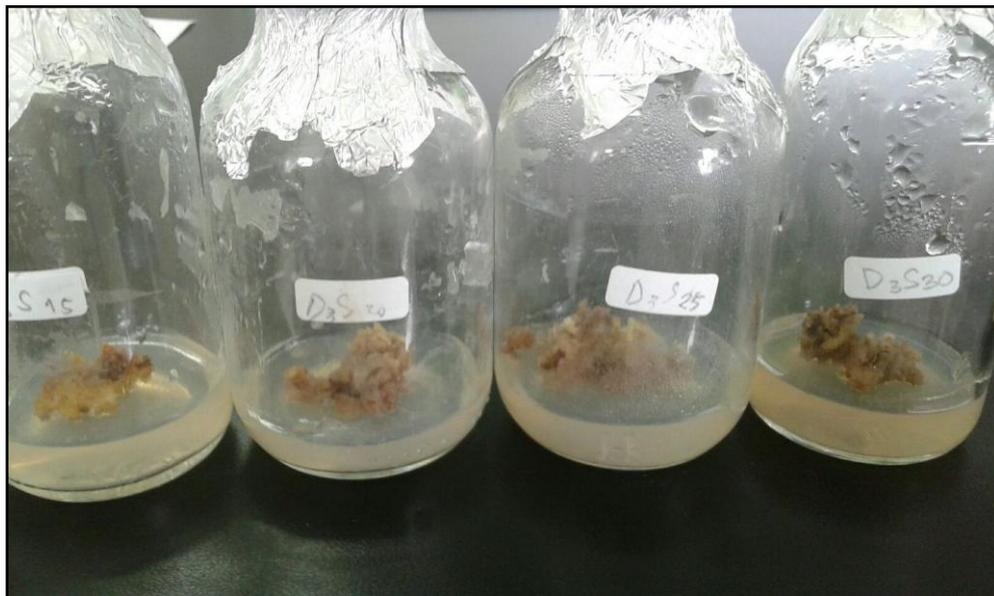
konsentrasi 1 dan 2 ppm dengan glukosa konsentrasi 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus dengan bentuk kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau. Perlakuan kombinasi 2,4 D 2 ppm dan glukosa 30 g/l memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau. Hal ini menunjukkan bahwa dengan kombinasi 2,4 D dan glukosa 15 sampai 30 g/l menunjukkan kombinasi yang seimbang dengan ditandai bentuk kalus yang kompak. Dengan adanya bentuk kalus yang kompak, memungkinkan untuk selanjutnya dikembangkan menjadi individu yang sempurna apabila dipecah-pecah atau disubkultur kalus dengan media dan penambahan hormon yang sesuai



Gambar 1. Kalus Sarang semut pada hormon 2,4 D 1 ppm kombinasi dengan glukosa 15, 20, 25 dan 30 g/l



Gambar 2. Kalus Sarang semut pada hormon 2,4 D 2 ppm kombinasi dengan glukosa 15, 20, 25 dan 30 g/l



Gambar 3. Kalus Sarang semut pada hormon 2,4 D 3 ppm kombinasi dengan glukosa 15, 20, 25 dan 30 g/l

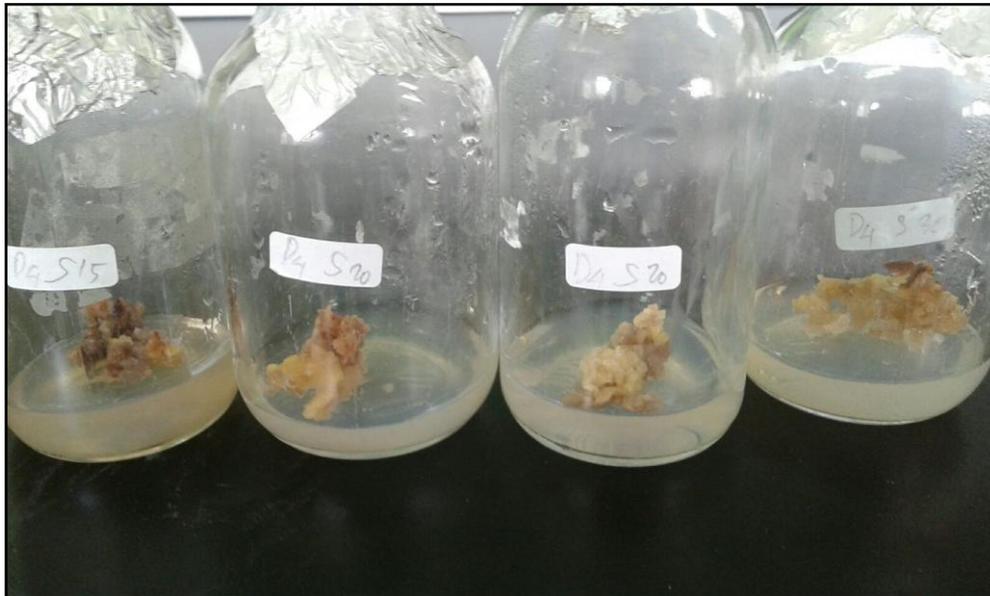


Foto : Koleksi Penulis

Gambar 4. Kalus Sarang semut pada hormon 2,4 D 4 ppm kombinasi dengan glukosa 15, 20, 25 dan 30 g/l

Hormon 2,4 D merupakan auksin yang paling kuat daya hambat terhadap morfogenesis. Oleh karena itu 2,4 D sering digunakan untuk menginduksi kalus dan suspensi sel. Pengaruh auksin terhadap jaringan berbeda-beda, namun rangsangan yang paling kuat adalah terhadap sel-sel meristem apikal dan koleoptil. Auksin bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya reduksi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein sel terhadap air dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk kedalam yang disertai kenaikan volume sel.

Pemberian auksin hanya merangsang pembentukan akar dikarenakan pergerakan auksin mengikuti proses geotropisme yaitu kebagian bawah, sehingga konsentrasi auksin meningkat dan akibatnya merangsang pembentukan akar. (Wetter, I.R & F. Constabel., 1991).

Media kultur mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dengan perbandingan yang cocok serta sumber tenaga (umumnya digunakan sukrosa). Media juga mengandung satu atau dua macam vitamin dan

zat perangsang pertumbuhan. Penambahan zat pemat (agar) diperlukan supaya terjadi kontak antara jaringan tanaman dengan media dan juga dengan udara. (Wetherell, 1982).

Gula digunakan sebagai sumber energi dalam media kultur, karena umumnya bagian tanaman atau eksplan yang dikulturkan tidak autotrof dan mempunyai laju fotosintesis yang rendah. Oleh sebab itu tanaman kultur jaringan membutuhkan karbohidrat yang cukup sebagai sumber energi. Menurut Gautheret dalam Gunawan (1992), Sukrosa adalah sumber karbohidrat penghasil energi yang terbaik melebihi glukosa, maltosa, rafinosa. Namun jika tidak terdapat sukrosa, sumber karbohidrat tersebut dapat digantikan dengan gula pasir. Gula pasir cukup memenuhi syarat untuk mendukung pertumbuhan kultur. Selain sebagai sumber energi, gula juga berfungsi sebagai tekanan osmotik media.

Sumber karbohidrat yang biasanya digunakan dalam media kultur adalah sukrosa. Glukosa dan fruktosa dalam beberapa hal dapat digunakan sebagai pengganti sukrosa, dimana glukosa mempunyai efektivitas yang sama dengan sukrosa dibanding dengan fruktosa.. Konsentrasi sukrosa normal dalam media kultur berkisar antara 2 dan 3%.

Karbohidrat harus tersedia dalam media kultur karena sangat sedikit sel dari jenis tanaman yang diisolasi dapat bersifat autotropik, yaitu kemampuan menyediakan kebutuhan karbohidrat sendiri melalui asimilasi CO₂ selama proses fotosintesa. Sukrosa dalam media kultur secara cepat akan diurai menjadi fruktosa dan glukosa. Glukosa adalah yang pertama digunakan oleh sel, diikuti oleh fruktosa. Saat media disterilisasi dengan autoclave, sebagian sukrosa akan mengalami hidrolisa. Apabila sukrosa yang diautoklap ada bersama komponen media lain maka proses hidrolisa akan lebih besar. Kultur dari beberapa spesies tanaman akan tumbuh baik pada media yang sukrosanya diautoklap dibandingkan dengan media yang sukrosanya disterilisasi dengan filter. Hal ini dimungkinkan akan menguntungkan sel-sel karena tersedianya glukosa dan fruktosa. (Widiyana, 2013)

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi pemberian 2,4 D 1 dan 2 ppm dengan glukosa 15 sampai 30 g/l diperoleh pertumbuhan kalus yang lebih baik. Perlakuan kombinasi 2,4 D 2 ppm dan glukosa 30 g/l memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan kalus yang lebih kompak dan berwarna hijau

DAFTAR PUSTAKA

- Darwis S.N., 1992, *Aplikasi Bioteknologi Dalam Perbaikan Budidaya Tanaman Industri*. Dalam Prosiding Forum Komunikasi Ilmiah Penelitian Aplikasi Bioteknologi Kultur Jaringan Pada Tanaman Industri. Puslitbangtan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB Bogor.
- Gunawan L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi. IPB Bogor.
- Habir, D., Sukmadjaja dan I. Mariska, 1992. *Aplikasi Kultur Jaringan Dalam Dalam Produksi Bibit Pada Beberapa Industri*. Prosiding Forum karya Ilmiah, Balitbangtan. Balitbangtri. Bogor.
- <https://www.bukalapak.com/p/personal-care/produk-kesehatan> diakses tanggal 14 Juni 2016)
- <https://www.deherba.com/khasiat-sarang-semut.html> diakses tanggal 14 Juni 2016
- <http://disehat.com/manfaat-sarang-semut-papua-untuk-kesehatan/> diakses tanggal 14 Juni 2016)
- Salisbury, F.B and Ross, C.W., 1985. *Fisiologi Tumbuhan (Terjemahan)*, Diah R.L. dan Sumarsono
- Rifai, M.A., 1979, *Proses Pelangkaan Tumbuhan Obat di Indonesia*. Lembaga Biologi Nasional. LIPI. Bogor
- Wetherell, D.F. 1982. *Introduction to In Vitro Propagation*. Avery Publishing Group Inc, Wayne. New Jersey
- Wattimena, G.A. 1992. *Bioteknologi Tanaman I*. Pusat Antar-Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
- Wetter, I.R & F. Constabel., 1991. *Teknik Perbanyakan Secara Modern (Kultur Jaringan)*. Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Widiyana T, 2013. Media Kultur Jaringan <http://tatik-widiyana.blogspot.co.id/2013/04/media-kultur-jaringan.html> Diakses tanggal 14 Juni 2016