

## Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]

### *The effect of varied NAA concentration against growth and flavonoid content of Gynura procumbens (Lour) Merr. callus*

ARIF HARDIYANTO, SOLICHA TUN\*, WIDYA MUDYANTINI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: olich@mipa.uns.ac.id.

Diterima: 23 Pebruari 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

---

**Abstract.** The aim of this research is to study the influence of naphthalene acetic acid (NAA) concentration variation in the callus growth and flavonoid content of Daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]. The research framework relied on the benefit of daun dewa as an anti-cancer drug. This matter is enabled by its compound cytotoxic from compound flavonoid contained. Culture in vitro technique serves as the medium to produce the secondary metabolism. The addition of NAA as a treatment for the induction of callus will promote cell enlargement and the growth of the callus so that callus which later will be analyzed by its flavonoid content. This research was conducted in two-phase. The first phase represented the phase of antecedent attempt in the form of callus induction to get the good callus. The addition of NAA and kinetin was conducted to promote cell proliferation. The parameter of this phase is texture, color, and moment of callus appearance. The second phase is the form of NAA concentration variation treatment phase. At this research, it conducted with the random device complete with one factor that is 5 concentration NAA is 0 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 1,5 mg/L and 2,0 mg/L. The parameter of this phase is the callus's wet weight, the callus's dry weight, the callus's texture, the color of the callus, and flavonoid content. This research indicated that the addition of NAA does not influence callus growth and the flavonoid content of callus daun dewa.

**Keywords:** naphthalene acetic acid, callus growth, flavonoid, *Gynura procumbens* (Lour) Merr.

---

### PENDAHULUAN

Daun dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] merupakan salah satu tanaman obat dari familia Compositae yang potensial untuk dikembangkan. Menurut Subianto dalam Mudjahid (1998) daun dewa dapat dimanfaatkan sebagai obat anti kanker (kanker rahim, kanker payudara, maupun kanker darah). Khasiat daun dewa sebagai obat anti kanker dimungkinkan karena adanya senyawa sitotoksik yaitu senyawa flavonoid (Sudarto, 1990). Senyawa flavonoid merupakan salah satu produk dari proses metabolit sekunder tanaman. Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan suatu sel atau organ suatu organisme tetapi tidak dimanfaatkan secara langsung sebagai sumber energi sel atau organ yang membuatnya. Menurut Kyte dan Kleyn (1996) metabolit sekunder dapat diproduksi secara *in vitro* melalui kultur kalus.

Teknik kultur *in vitro* untuk mendapatkan metabolit sekunder dari kalus mempunyai keuntungan diantaranya menghemat waktu, tenaga, dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak dengan kondisi yang terkontrol dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan.

Pertumbuhan kalus sebagai penghasil metabolit sekunder dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh. (Hendaryono dan Wijayani, 1994; Suryowinoto, 1996).

Auksin dapat diberikan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan sitokinin untuk menginduksi kalus. Menurut Chang *et al.* dalam Suryowinoto (1996) penggunaan asam naftalen asetat atau naphthalene acetic acid (NAA) untuk induksi kalus pada eksplan yang nantinya akan dianalisis kandungan flavonoidnya memberikan efek yang lebih baik dibanding dengan auksin sintetik jenis lain. Hal ini disebabkan karena NAA tidak menimbulkan mutasi genetik yang dapat menyebabkan tidak konstannya produksi metabolit sekunder. Menurut Hrazdina (1992) NAA yang ditambahkan ke dalam media akan merangsang pembelahan sel dan sintesis protein sehingga akan memacu pertumbuhan kalus yang nantinya akan mempengaruhi produksi flavonoid.

Salah satu contohnya adalah penelitian kultur *in vitro* pule pandak yang dilakukan oleh Sandra dkk. (2002) dengan menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) + NAA 0,5 mg/l dan benzil amino purin (BAP) 2 mg/l dapat menghasilkan alkaloid sebesar 0,29% per bobot

kering. Penggunaan daun dewa sebagai ramuan anti kanker selama ini masih bersifat tradisional. Masyarakat kurang tahu tentang senyawa yang terkandung di dalamnya dan metode yang dapat digunakan untuk memproduksi senyawa tersebut (Maryani dan Suharmiati, 2003). Kultur *in vitro* dengan penambahan NAA dapat digunakan untuk menjembatani masalah tersebut. Kalus hasil perlakuan diharapkan dapat meningkatkan senyawa flavonoid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (i) konsentrasi optimum NAA dalam meningkatkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus daun dewa, (ii) senyawa yang terkandung dalam daun dewa, dan (iii) penggunaan kultur *in vitro* untuk mendapatkan senyawa tersebut.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2002 - Maret 2003 di Sub Lab. Biologi, Lab. Pusat MIPA UNS Surakarta dan analisis kandungan flavonoid dilakukan di Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan meliputi bahan tanaman sebagai sumber eksplan (daun ketiga dari pucuk), bahan kimia untuk sterilisasi (akuades, deterjen cair, alkohol 70%, klorok 30% dan 20%, fungisida (Dithane), dan alkohol absolut), media dasar Murashige dan Skoog, bahan perlakuan (NAA dengan konsentrasi 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l), media induksi kalus (0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin untuk media A, dan 1 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin untuk media B), dan bahan untuk analisis flavonoid (amoniak, toluen, etil asetat, dan metanol).

### Cara kerja

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi asam naftalen asetat dengan 5 variasi konsentrasi yaitu: N<sub>0</sub>: 0 mg/l sebagai kontrol, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, dan N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l masing-masing dengan 5 ulangan. Prosedur percobaan ini dibagi menjadi 3 tahap yaitu: (1) percobaan pendahuluan, (2) perlakuan, dan (3) analisis kandungan flavonoid.

**Percobaan pendahuluan.** Percobaan ini dilakukan untuk menghasilkan kalus yang akan digunakan dalam media perlakuan. Tahapan dalam percobaan pendahuluan adalah sterilisasi eksplan (dengan fungisida 50% 5 menit, alkohol 70% 2 menit, klorok 20% 3 menit, dan klorok 30% 5 menit dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali), proses penanaman (dalam *laminar air flow* dengan ukuran eksplan 1 × 1 cm) dan proses pemeliharaan (disemprot dengan alkohol 70% tiap 3 hari sekali). Tahap

pembentukan kalus diamati saat muncul kalus, tekstur dan warna kalus (4 minggu setelah penanaman eksplan).

**Perlakuan.** Kalus yang dihasilkan dari proses percobaan pendahuluan kemudian ditanam dalam media produksi sesuai dengan perlakuan. Tahap pertumbuhan kalus pada media perlakuan diamati tekstur dan warna kalus (4 minggu setelah perlakuan), berat basah kalus, berat kering kalus, dan laju pertumbuhan kalus.

**Analisis kandungan flavonoid.** Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan 2 cara yaitu uji pendahuluan dengan pereaksi amoniak untuk mengetahui ada tidaknya flavonoid dan uji lanjutan dengan analisis kuantitatif KLT. Fase diam yang digunakan yaitu lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya toluen: etil asetat (80:20) kemudian analisis kuantitatifnya dengan menggunakan spektrodensitometer yaitu C 5 930 Scanner (Shimadzu, Japan) (Wagner dan Bladt, 1996). Hasil yang didapatkan berupa luas area serapan yang menunjukkan besarnya kepekatan flavonoid antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain. Kadar flavonoid disini tidak dapat dihitung/ditentukan karena tidak tersedianya larutan standart.

### Analisis data

Data berat basah kalus, berat kering kalus, laju pertumbuhan kalus, dan kandungan flavonoid dianalisis dengan Anava dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%, selanjutnya dianalisis korelasi. Sedangkan saat muncul kalus, warna kalus dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Induksi Pembentukan Kalus

#### Saat muncul kalus

Tahap induksi kalus pada penelitian ini digunakan untuk mendapatkan kalus dari eksplan daun. Kalus yang terbentuk nantinya akan digunakan sebagai bahan perlakuan.

**Tabel 1.** Waktu yang diperlukan eksplan daun *G. procumbens* untuk membentuk kalus (HSI= Hari Setelah Inokulasi), beserta tekstur dan warnanya.

Media	Saat muncul kalus	Tekstur	Warna
A	16,8 <sup>a</sup>	Remah	Hijau, putih kekuningan
B	10,6 <sup>b</sup>	Remah	Hijau, putih kecoklatan

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom berarti tidak berbeda nyata dengan DMRT taraf 5%. A Media MS + 0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin B. Media MS + 1 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin.

Munculnya kalus ditandai dengan membengkaknya eksplan dan munculnya bercak-bercak putih. Bagian eksplan yang membentuk kalus, menurut Suryowinoto (1996) disebabkan karena sel-sel yang kontak dengan media terdorong untuk menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka.

Media A kalus muncul pada 16,8 HSI (Hari Setelah Inokulasi), sedangkan pada media B kalus muncul pada 10,6 HSI (Tabel 1). Penambahan kombinasi NAA dan kinetin yang tepat menyebabkan kalus muncul lebih cepat pada media B. NAA pada konsentrasi 1 mg/l dan kinetin 0,5 mg/l mampu merangsang pembelahan sel eksplan dan melakukan proses dediferensiasi untuk membentuk kalus lebih cepat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Toruan dalam Drajat (1999), NAA yang dikombinasikan dengan kinetin berkonsentrasi rendah pada kultur kalus tembakau lebih efektif membentuk kalus daripada menggunakan kinetin berkonsentrasi tinggi.

**Tabel 2.** Tekstur dan warna kalus *G. procumbens* pada awal dan akhir perlakuan.

Perlakuan	Tekstur kalus		Warna kalus	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
N <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>2</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat	coklat
N <sub>0</sub> U <sub>4</sub>	remah	kompak	coklat	coklat tua
N <sub>0</sub> U <sub>5</sub>	remah	kompak	coklat	coklat tua
N <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat
N <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat
N <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat	coklat tua
N <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat muda
N <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat tua
N <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>1</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>2</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>3</sub>	remah	kompak	coklat muda	coklat
N <sub>4</sub> U <sub>4</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda
N <sub>4</sub> U <sub>5</sub>	remah	remah	coklat muda	coklat muda

Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l. U<sub>1</sub>-U<sub>5</sub>: ulangan 1-5.

### Tekstur dan warna kalus

Media A dan B menghasilkan kalus yang bertekstur remah. Kalus yang remah (*freeable*) dapat diperoleh dengan melakukan sub kultur berulang-ulang, melakukan manipulasi media misalnya dengan mengatur macam dan perbandingan zat pengatur tumbuh dan dengan penggojogan (Wattimena, 1992).

Warna yang dihasilkan pada media A putih kekuningan sedangkan media B putih kecoklatan (Tabel 1.). Warna hijau masih terdapat pada kalus hasil induksi kalus. Hal ini disebabkan kalus masih membawa sifat asli eksplan. Perubahan warna dari eksplan yang berwarna hijau menjadi putih kecoklatan atau putih kekuningan disebabkan adanya proses degradasi klorofil (Santosa dan Nursandi, 2002). Adapun tekstur dan warna kalus *G. procumbens* pada awal dan akhir perlakuan disajikan pada Tabel 2.

#### Pertumbuhan kalus pada media perlakuan

### Tekstur dan warna kalus

Kalus pada media perlakuan mempunyai tekstur remah. Hal ini disebabkan terjadinya proses pertumbuhan yang mengarah pada pembentukan sel-sel yang berukuran kecil dan

berikatan longgar. Menurut Steves dan Sussex (1994) sel-sel yang menyusun kalus cenderung berbentuk tidak teratur, relatif kecil-kecil ukurannya, inti selnya besar, dan sitoplasma yang masih kental.

Tekstur kalus yang tampak pada perlakuan N<sub>0</sub> (tanpa hormon) terlihat adanya perubahan dari remah menjadi kompak. Hal ini disebabkan sel-sel yang semula membelah mengalami penurunan aktivitas proliferasinya. Aktivitas ini dipengaruhi auksin alami yang terdapat pada eksplan asal (Santosa dan Nursandi, 2002). Menurut Street (1993) kalus yang kompak merupakan susunan sel-sel yang rapat dan sulit dipisah-pisahkan.

Kalus pada awal perlakuan berwarna coklat muda sedangkan pada akhir perlakuan berwarna coklat, coklat muda dan coklat tua. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya *browning* (pencoklatan). Hal ini tampak sekali pada perlakuan 0 mg/l. Pencoklatan ini disebabkan adanya reaksi enzimatis yang mengarah pada pembentukan senyawa fenol (Santosa dan Nursandi, 2002).

**Tabel 3.** Rata-rata berat basah kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan.

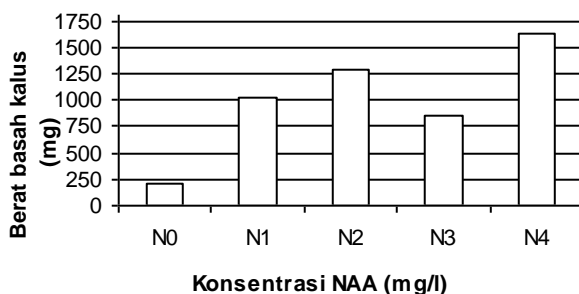
Perlakuan	N <sub>0</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>
Berat basah (mg)	216	1.026	1.294	854	1.631
Berat kering (mg)	27	64	95	68	93
Laju pertumbuhan (mg/hari)	0,0061	0,0292	0,0369	0,0243	0,046
Luas area serapan flavonoid	40.816,1	49.406,0	55.809,9	53.790,8	74.163,4

Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.

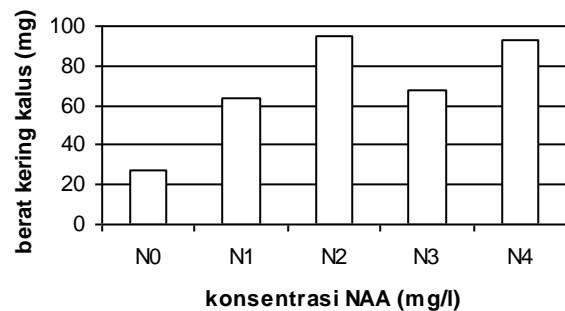
### Berat basah kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap berat basah kalus tidak beda nyata antar perlakuan, namun pada grafik hubungan konsentrasi NAA terhadap berat basah (Tabel 3 dan Gambar 1) terlihat kecenderungan naiknya berat basah seiring dengan penambahan konsentrasi NAA, walaupun pada penambahan 1,5 mg/l NAA terjadi penurunan. Hal ini disebabkan kemampuan masing-masing sel untuk menyerap air dan untuk membentuk dinding sel yang baru berbeda meskipun sama-sama berasal dari eksplan daun yang ketiga.

Penurunan berat basah kalus pada N<sub>3</sub> mungkin disebabkan tingkat juvenilitas sel yang berbeda. Sel yang lebih muda cenderung lebih mudah menyerap air daripada sel yang lebih tua (Lakitan, 1996). Penambahan NAA sebesar 2 mg/l menghasilkan kalus seberat 1,631 mg. Hal ini disebabkan pada kadar tersebut NAA dapat meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan pelonggaran dinding sel yang diikuti penurunan tekanan dinding sel, sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Hendaryono dan Wijayani, 1994).



**Gambar 1.** Hubungan konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan. Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.



**Gambar 2.** Hubungan konsentrasi NAA terhadap berat kering kalus *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan. Keterangan: N: konsentrasi NAA. N<sub>0</sub>: 0 mg/l, N<sub>1</sub>: 0,5 mg/l, N<sub>2</sub>: 1 mg/l, N<sub>3</sub>: 1,5 mg/l, N<sub>4</sub>: 2,0 mg/l.

Perlakuan N<sub>0</sub> (kontrol) terlihat rata-rata berat basah kalus yang rendah. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa penambahan NAA kalus dapat muncul. Terjadinya pertumbuhan kalus tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dimungkinkan karena terdapatnya auksin endogen (Santosa dan Nursandi, 2002).

### Berat kering kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap berat kering kalus tidak beda nyata antar perlakuan. Hubungan antara konsentrasi NAA terhadap berat kering kalus disajikan dalam Tabel 3 dan Gambar 2.

Pemberian 1 mg/l NAA dan 2 mg/l NAA menunjukkan hasil yang hampir sama tinggi dalam memproduksi biomassa yang ditunjukkan dengan berat kering kalus seberat 95 mg dan 93 mg. Hal ini disebabkan pada konsentrasi tersebut NAA mampu menghasilkan biomassa yang tinggi akibat sel-selnya mampu membelah diri dan memperbanyak diri yang dilanjutkan dengan pembesaran kalus yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) NAA akan membantu menurunkan tekanan turgor sel sehingga air mudah masuk ke dalam sel. Hasil yang hampir

sama diperoleh Dwari dan Chand (1999) yaitu penambahan 0,5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg 2 mg NAA + 0,5 benzil amino purin (BAP) menghasilkan berat kering kalus yang tidak berbeda nyata setelah 3 minggu perlakuan.

Gambar 2 menunjukkan adanya korelasi antara berat basah kalus dengan berat kering kalus. Selama masa pengeringan dapat diasumsikan bahwa kalus akan mengalami proses evaporasi yang sama maka akan didapatkan pola grafik berat kering kalus yang serupa dengan pola grafik berat basah kalus (Gambar 1) (Goldsworthy dan Fisher, 1992). Perbedaan terjadi pada penambahan 2 mg/l NAA yang berat keringnya lebih rendah dibandingkan dengan penambahan 1 mg/l NAA. Hal ini mungkin disebabkan berat basah yang dihasilkan kandungan airnya lebih tinggi sehingga pada saat proses pengeringan, kandungan airnya lebih banyak yang menguap sehingga didapatkan berat kering yang lebih rendah.

#### Laju pertumbuhan kalus

Pengaruh penambahan NAA terhadap laju pertumbuhan kalus tidak beda nyata antar perlakuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian Shimaru (1992) pada kultur *Liquidambar styraciflua* pada penambahan 0,5 mg/l dan 2 mg/l NAA menunjukkan laju pertumbuhan yang tidak berbeda nyata yang disebabkan penambahan NAA pada konsentrasi tersebut belum dapat memacu pertambahan berat basah kalus yang signifikan (Tabel 3.).

Laju pertumbuhan kalus yang nilainya lebih tinggi dimungkinkan karena adanya pengaktifan gen yang berarti terjadi proses penguatan terhadap aktivitas replikasi DNA dan transkripsi berulang DNA menjadi mRNA yang diikuti oleh translasi mRNA menjadi protein. NAA menjadi pengendali pada beberapa titik dalam aliran informasi genetik mulai dari replikasi sehingga proses proliferasi sel dan morfogenesis dapat berjalan (Santosa dan Nursandi, 2002).

Lambatnya laju pertumbuhan kalus secara umum disebabkan kondisi internal eksplan yang permukaannya dilindungi oleh lapisan kutikula. Selain itu juga permukaan eksplan secara mikroskopis pada daunnya banyak terdapat rambut-rambut penutup berjumlah 4-5 sel yang dapat menghambat absorpsi zat hara dari media (Maryani dan Suharmiati, 2003).

#### Analisis Kandungan Flavonoid Kalus

Analisis kromatografi lapis tipis yang digunakan untuk menganalisis kandungan flavonoid dari semua konsentrasi NAA ternyata menunjukkan hasil yang positif (Tabel 3). Hal ini ditunjukkan pada hasil pemeriksaan kualitatif dan

**Tabel 4.** Nilai korelasi berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus, dan luas area serapan flavonoid *G. procumbens* 5 minggu setelah perlakuan.

	Berat basah	Berat kering	Laju pertumbuhan	Luas area serapan flavonoid
Berat basah	1,000	0,638	1,000	0,393
Berat kering	0,638	1,000	0,647	0,248
Laju pertumbuhan	1,000	0,647	1,000	0,388
Luas area serapan flavonoid	0,393	0,248	0,388	1,000

kuantitatif. Hasil pemeriksaan kualitatif adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna kuning pada deteksi *visible*, warna redam pada  $\lambda$  254, dan warna jingga pada  $\lambda$  365 (Wagner dan Blatt, 1996). Pemeriksaan kuantitatif didapatkan suatu luas area kandungan flavonoid pada masing-masing perlakuan. Luas area tersebut hanya dapat diketahui seberapa besar perubahan kepekatan flavonoid pada masing-masing perlakuan. Menurut Sudarto dkk. (1986) pada *Sonchus arvensis*, L. (Compositae) belum terdeteksi adanya senyawa flavonoid yang spesifik sehingga hanya bisa diketahui senyawa flavonoid secara umum. Flavonoid secara spesifik dapat diketahui dengan adanya larutan pembanding atau larutan standart seperti rutin, quersetin, myrsetin dan lain-lain (Wagner dan Blatt, 1996).

Pengaruh penambahan NAA terhadap luas area serapan flavonoid tidak beda nyata antar perlakuan. Hal ini mungkin disebabkan penambahan NAA masih digunakan untuk proses pertumbuhan kalus sehingga luas area serapan flavonoid yang terdeteksi tidak signifikan. Rata-rata perlakuan terlihat luas area maximum terdapat pada perlakuan N<sub>4</sub>. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut NAA yang ditambahkan dapat meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (FAL). NAA dalam sintesis flavonoid berfungsi untuk meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (FAL) yang menghasilkan sinamat dari fenilalanin. Tahapan selanjutnya pembentukan flavonoid dari malonil CoA, sehingga apabila konsentrasi NAA maksimal maka pembentukan flavonoid dimungkinkan juga maksimal (Hrazdina, 1992).

Perlakuan yang lain menunjukkan rata-rata hasil yang hampir seragam. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa penambahan dan dengan penambahan NAA sampai kadar 1,5 mg/l flavonoid yang terdeteksi relatif rendah. Rendahnya luas area serapan flavonoid pada perlakuan tersebut dapat disebabkan NAA yang ditambahkan masih digunakan untuk meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan kalus (Santosa dan Nursandi, 2002).

*Analisis korelasi berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus dan luas area serapan flavonoid*

Besarnya nilai korelasi antara berat basah dengan laju pertumbuhan menunjukkan bahwa berat basah kalus sangat berkaitan dengan laju pertumbuhan kalus. Hal tersebut disebabkan laju pertumbuhan kalus dapat diketahui dengan menggunakan parameter berat basah kalus pada awal dan berat basah kalus pada akhir percobaan. Berat basah kalus sendiri didapatkan dari selisih antara berat basah kalus awal dengan berat basah kalus akhir percobaan. Pengikatan NAA pada membran sel dapat menyebabkan sel tersebut mengembang, sehingga secara kuantitatif berat kalus meningkat. Peningkatan berat basah akan mempengaruhi laju pertumbuhan kalus (Santosa dan Nursandi, 2002). Tabel 4 dapat diketahui bahwa masing-masing faktor berkorelasi positif.

Antara berat basah kalus dengan berat kering kalus merupakan 2 faktor yang berkorelasi positif. Hal ini berarti semakin tinggi berat basah kalus maka berat kering kalus juga mengalami kenaikan. Menurut Wetter dan Constabel (1991) hubungan antara berat basah dan berat kering yang dikulturkan biasanya tetap linier jika berat basah di bawah 500 mg. Laju pertumbuhan kalus selain dipengaruhi oleh berat basah kalus juga dipengaruhi berat kering kalus. Besarnya nilai korelasi menunjukkan bahwa berat kering kalus mempunyai hubungan yang berbanding lurus dengan berat basah kalus.

Berat basah kalus, berat kering kalus, dan laju pertumbuhan kalus mempunyai nilai korelasi di bawah 50% (Tabel 4). Hal ini berarti faktor-faktor tersebut kurang mempengaruhi luas area serapan flavonoid. Lindsay dan Yoenan dalam Gati dan Mariska (1992) menyatakan bahwa kalus yang pertumbuhannya cepat serta rapuh dapat menurunkan akumulasi senyawa metabolit sekunder.

## KESIMPULAN

Penambahan NAA sampai dengan konsentrasi 2 mg/l tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan kalus baik pada berat basah, berat kering, laju pertumbuhan kalus dan kandungan flavonoid kalus *G. procumbens*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh penambahan NAA dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Selain itu juga disarankan untuk memperpanjang masa inkubasi kalus agar dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus *G. procumbens*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Drajat, I. 1999. *Produksi Nikotin Kalus Tembakau (Nicotiana tobaccum) pada berbagai Konsentrasi NAA dan Kinetin*. [Skripsi]. Yogyakarta: UPN Veteran.
- Dwari, M. and P.R. Chand 1999. Rapid plant regeneration from explants and callus cultures of the three legumes *Dalbergia lanceolaria*, L. In Islam, A.S. (ed.). *Plant Tissue Culture*. New York: Science Publisher Inc.
- Gati, E. dan I. Mariska 1992. Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan kalus *Mentha piperita*. Linn. *Bulletin Litri* 3: 1-4.
- Goldsworthy, P.R. and N.M. Fisher 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Penerjemah: Tohari. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hrazdina, G. 1992. Compartemeration in aromatic metabolism In Stafford, A.H. and K.R. Ibrahim (Eds.). *Phenolic Metabolism in Plant*. New York: Plenum Press.
- Kyte, L. and J. Kleyn 1996. *Plant from Test Tubes an Introduction to Micropropagation*. 3rd Edition. Washington: Timber Press Inc
- Lakitan, B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: P.T. Raja Grafindo Persada.
- Maryani, H. dan Suharmati. 2003. *Khasiat dan Morfologi Daun Dewa dan Sambung Nyawa*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Mudjahid, A. 1998. *Pengaruh Daun Dewa terhadap Perubahan Morfologi Sel serta Struktur Morfologi Lesi Jaringan Hepar Tikus*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Kedokteran UNS.
- Sandra, E., E.A.M. Zuhud, Y. Fitria, F. Yahya, dan T. Anwar, 2002. *Kultur In Vitro Tumbuhan Obat Langka Pule Pandak*. Bogor: Forum Kultur Jaringan.
- Santosa, U. dan Nursandi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Penerbit UMM Press.
- Steeves, T.A. and I.M. Sussex 1994. *Pattersin Plant Development*. Second Edition. New York: Cambridge University Press.
- Street, H.E. 1993. *Plant Tissue and Cell Culture*. Los Angeles: University of California Press.
- Sudarto, B. 1990. *Studi Farmakognosi Tumbuhan Gynura procumbens (Lour) Merr.* Tesis. Yogyakarta: Fakultas Pasca Sarjana UGM.
- Sudarto, B., C.J. Soegihardjo, dan S. Wahyono 1986. Pemeriksaan flavonoid dalam daun *Sonchus arvensis*, L. Dalam Mulyadi (ed.). *Abstrak Pemeriksaan dan Publikasi Ilmiah*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM.
- Wagner, H. and S. Bladt 1996. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second Edition. London: Springer.
- Wattimena, G.A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Wetter, L.R. and F. Constabel 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Edisi ke 2. Penerjemah: Mathilda. Bandung: Penerbit ITB.