

PENGARUH KOMPOSISI MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS DAN KADAR TANNIN DARI DAUN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lamk) SECARA *IN VITRO*

SITTI FATIMAH SYAHID, NATALINI NOVA KRISTINA, dan DELIAH SESWITA

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik
Jl. Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111

(Terima Tgl. 29 - 10 - 2008 – Disetujui Tgl. 15 - 3 - 2010)

ABSTRAK

Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil senyawa tannin yang berkhasiat sebagai obat untuk obesitas. Tannin dapat diproduksi secara *in vitro* dan kadarnya dapat ditingkatkan melalui kultur kalus. Komposisi media yang tepat sangat diperlukan agar dihasilkan kalus dengan pertumbuhan cepat dan optimal. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin secara *in vitro*. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun muda yang berasal dari tanaman di rumah kaca dan berumur dua tahun. Media dasar yang digunakan adalah Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya dengan vitamin dari group B. Perlakuan yang diuji adalah media dasar MS + 2,4-D (0,1; 0,3; 0,5 mg/l) secara tunggal dan kombinasinya dengan Benzyl Adenin/BA (0,1 dan 0,3 mg/l). Parameter yang diamati adalah pertumbuhan kalus yang meliputi diameter, struktur, warna kalus, bobot basah kalus, serta visual kalus selama pengkulturan. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap pola faktorial dengan sepuluh ulangan. Analisis kandungan tannin dilakukan dengan mengeringkan kalus *in vitro* dan sampel daun dari lapang dan selanjutnya diekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l yang dikombinasikan dengan Benzyl Adenin 0,1 mg/l terhadap ukuran diameter kalus terbesar yaitu 28,7 mm, diameter kalus terbesar setelah sub kultur yaitu 31,9 mm, dan berat basah kalus yaitu 5,02 g. Kandungan tannin pada semua perlakuan kalus *in vitro* (3,72 – 4,27%) lebih tinggi dari pada tannin yang terdapat pada daun (2,24%).

Kata kunci : *Guazuma ulmifolia* Lamk, jati belanda, induksi kalus, kandungan tannin, *in vitro*

Effect of Medium Composition on Calli Growth and Tannin Content from Leaves of West Indian Elm (Guazuma ulmifolia Lamk.) through in vitro Culture

ABSTRACT

West Indian Elm (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) is one of potential plant producing tannin which is useful for controlling obesity. Tannin can be produced through *in vitro* and this compound could be increased by calli culture. The medium composition for calli induction was necessary to produce the optimal calli. The aim of this research was to obtain the medium composition for calli induction through *in vitro*. Young leaves of West Indian Elm from glass house were used as explants. Murashige and Skoog (MS) medium enriched with B vitamin group was used as basic medium. The experiments were arranged in completely randomized design in factorial pattern with ten replications. For calli induction, various concentration of 2,4-D (0.1; 0.3; and 0.5 mg/l) and its combination with Benzyl Adenin of 0.1 and 0.3 mg/l were used as treatments. Parameters observed were calli diameter, structure, colour, fresh weight and performance during culture. Analysis of tannin was conducted by using dried samples both (*in vitro* and leaves from glass house) and then extracted. The result showed that there was interaction between 2,4-D 0.3 mg/l and Benzyl Adenin 0.1 mg/l on calli diameter (28.7 mm), the biggest

calli diameter after sub culture (31.9 mm), and fresh calli weight (5.02 g) eight weeks after treatments. Tannin content obtained from all of the *in vitro* treatments (3.72 – 4.27%) was higher than tannin from leaves (2.24%).

Key words : *Guazuma ulmifolia* Lamk., West Indian Elm, calli induction, *in vitro*, tannin content

PENDAHULUAN

Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk sinonim *Guazuma tomentosa* Kunth) merupakan salah satu tanaman obat unggulan Direktorat Jenderal POM yang berkhasiat untuk melangsingkan tubuh (obesitas). Tanaman ini bukan asli Indonesia karena diduga berasal dari daerah tropis Amerika dan menyebar ke daerah tropis lainnya, di antaranya Pulau Jawa (ANON., 2008).

Jati belanda merupakan salah satu jenis tanaman obat famili Sterculiaceae yang tumbuh dengan subur pada ketinggian 1-800 m di atas permukaan laut. Tanaman ini mampu tumbuh dengan baik pada tanah yang gembur maupun liat di tempat-tempat terbuka.

Permintaan pasar terhadap jati belanda cukup tinggi. Daunnya dibutuhkan oleh industri obat, di antaranya PT Indofarma sekitar 8-12 ton/bulan (ANON., 2007) sehingga peluang tanaman ini sebagai obat fitofarmaka cukup potensial.

Kandungan bahan kimia yang terdapat pada jati belanda diantaranya adalah tannin, lendir, zat pahit dan damar (ANON., 2008). Tannin biasanya ditemukan pada bagian daun, buah, kulit kayu, dan batang. Senyawa tannin dan musilago yang terdapat pada daun jati belanda dapat mengendapkan mukosa protein yang berada di dalam permukaan usus halus sehingga dapat mengurangi penyerapan makanan (ANON., 2008).

Hasil identifikasi senyawa bioaktif daun jati belanda oleh ISWANTINI *et al.* (2003) dengan ekstrak metanol menunjukkan bahwa ditemui beberapa senyawa di antaranya alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, tannin, dan kuinon dengan kadar rendah 1+. Senyawa tannin asal daun terdeteksi pada kadar sangat rendah.

Salah satu teknik untuk meningkatkan kandungan senyawa tannin adalah memproduksinya secara *in vitro*. Kelebihan produksi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* antara lain adalah faktor lingkungan tumbuh kultur dapat diatur dan dikendalikan sehingga tidak dipengaruhi oleh iklim, hama, penyakit, musim, dan areal penanaman sehingga kualitas produksi lebih konsisten serta hasil metabolit sekunder yang diperoleh dapat lebih tinggi dari tanaman induknya. Produksi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui kultur kalus. Induksi kalus memerlukan pasokan zat pengatur tumbuh secara eksogen yaitu auksin dan sitokinin yang dapat digunakan secara tunggal ataupun kombinasi keduanya dengan konsentrasi yang tepat. Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan auksin yang umum digunakan untuk induksi kalus (NAGASAWA dan FINER, 1998). Aplikasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan sitokinin (BA atau kinetin) akan lebih meningkatkan pertumbuhan kalus (XIE dan HONG, 2001; THAO *et al.*, 2005).

ASLAM *et al.* (2008) berhasil memperoleh peningkatan kandungan senyawa vincristine dari tanaman tapak dara (*Catharantus roseus* L.) hasil embriogenesis dibandingkan dengan daun konvensional. Demikian juga pada kultur kalus tanaman kopi (*Coffea arabica* L.), penambahan L-metionin nyata meningkatkan kadar kafein seiring dengan pertumbuhan kalus (LATUNRA, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin jati belanda secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Fisiologi Hasil, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik mulai bulan Januari sampai Agustus 2008.

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun tanaman jati belanda umur dua tahun yang berasal dari rumah kaca. Daun disterilisasi dengan menggunakan dithane 2 g/l, alkohol 70%, bayclin 20% dan terakhir dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Selanjutnya dikulturkan pada media dasar Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya vitamin dari group B. Sebagai sumber energi diberikan sukrosa sebanyak 30 g/l ke dalam media tumbuh. Media dibuat padat dengan penambahan agar sebanyak 8 g/l. Perlakuan yang diuji adalah beberapa taraf konsentrasi 2,4-D secara yaitu : 2,4-D (0,1; 0,3; 0,5 mg/l) serta kombinasi dengan Benzyl Adenin (BA) pada konsentrasi 0,1 dan 0,3 mg/l.

Kalus yang berasal dari perlakuan induksi kalus, disubkultur ke media yang sama dengan perlakuan awal untuk mengetahui kemampuan tumbuhnya dan selanjutnya ditimbang bobot basahnya.

Parameter yang diamati adalah struktur kalus, warna kalus, diameter dan berat basah kalus serta visual kultur. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial dengan sepuluh ulangan.

Analisis data dilakukan dengan prosedur GLM (General Linear Model), uji lanjut dilakukan dengan Uji Duncan pada tingkat ketelitian 5%.

Kultur disimpan pada rak-rak kultur di dalam ruang inkubasi dengan suhu 22 – 25°C, intensitas cahaya 1000 lux dengan lama penyinaran 16 jam dalam sehari.

Analisis tannin dilakukan dengan cara mengering-anginkan kalus dan daun jati belanda yang berasal dari lapang pada suhu 40°C selama 4 hari, lalu dihaluskan dengan menggunakan mortar. Dari 2 gram sampel ditambahkan air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 3 tetes FeCl₃. Warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa tannin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi dan Pertumbuhan Kalus

Terdapat pengaruh interaksi antara kombinasi perlakuan 2,4-D dan Benzyl Adenin terhadap struktur dan diameter kalus (Tabel 1).

Kalus dapat diinduksi dari eksplan daun muda yang berasal dari rumah kaca. Respon awal inisiasi dari perlakuan jaringan yang mulai berubah bentuk menjadi massa kalus sejalan dengan bertambahnya umur kultur.

Penggunaan 2,4-D secara tunggal pada semua konsentrasi yang diaplikasikan menghasilkan kalus dengan struktur sebagian remah (*friable*) dan sebagian kompak. Kalus dengan struktur remah (*friable*) merupakan kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang mudah lepas sedangkan kalus kompak terdiri dari sekumpulan sel yang kuat. Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai. Pada penelitian ini penggunaan auksin 2,4-D saja cenderung menghasilkan kalus yang remahnya lebih sedikit dibandingkan kombinasi dengan sitokinin (Benzyl Adenin). Penggunaan kombinasi 2,4-D dan Benzyl Adenin secara keseluruhan menghasilkan kalus yang lebih remah terutama pada bagian atas dan sedikit kompak pada bagian dasar. Hal berbeda ditemui pada induksi kalus tanaman berkayu *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth, penggunaan 2,4-D 0,4 mg/l secara tunggal menghasilkan kalus dengan struktur remah dan ukuran lebih besar (AMOO dan AYISERE, 2005). Pada jati belanda, penggunaan kombinasi 2,4-D 0,3 mg/l dengan BA 0,1 mg/l merupakan konsentrasi yang optimal untuk menghasilkan massa kalus dengan diameter terbesar yaitu

Tabel 1. Pengaruh interaksi 2,4-D dan Benzyl Adenin terhadap pertumbuhan kalus jati belanda *in vitro*
 Table 1. Interaction effect between 2,4-D and Benzyl Adenin on calli growth of West Indian Elm *in vitro*

| Perlakuan (mg/l) <i>Treatment</i> | Diameter kalus (mm) <i>Calli diameter (mm)</i> | Struktur kalus <i>Calli structure</i> | Warna kalus <i>Colour of calli</i> |
|--------------------------------------|---|--|---------------------------------------|
| 2,4-D 0,1+BA 0,0 | 27,3 a | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3+BA 0,0 | 21,3 d | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5+BA 0,0 | 24,0 bc | Remah 20%, kompak 80% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1+ BA 0,1 | 23,3 c | Sangat remah, mudah lepas, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3+ BA 0,1 | 28,7 a | Remah 95%, kompak 5% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5+ BA 0,1 | 24,5 bc | Remah 95%, kompak 5%, agak mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1+ BA 0,3 | 23,8 bc | Remah seperti pasir 70%, kompak 30%, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3+ BA 0,3 | 27,2 a | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning |
| 2,4-D 0,5+ BA 0,3 | 25,3 b | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at 5% DMRT

Kalus remah = mudah dipisahkan *Friable calli = easy to separate*

Kalus kompak = sulit dipisahkan dan padat *Compact calli = difficult to separate, solid*

Mengandung air = *Vitrous = containing water*

28,7 mm dalam waktu 8 minggu. Selain kalus yang remah mencapai 95%, warna kalus lebih putih kekuningan (Gambar 1). Aplikasi kombinasi auksin dan sitokinin pada konsentrasi tepat mampu menghasilkan kalus dengan struktur remah. Penambahan sitokinin ke dalam media yang sudah mengandung auksin dapat merangsang pertumbuhan kalus karena kedua zat pengatur tumbuh tersebut bekerja secara sinergis. Adanya sitokinin yang dapat meningkatkan pembelahan sel dalam proses sitokinesis terutama pada saat sintesis RNA dan protein akan memacu aktivitas auksin dalam pembelahan sel membentuk kalus. Hal yang sama ditemui pada induksi kalus *Acacia mangium* yang berhasil memperoleh kalus terbaik dengan penggunaan kombinasi auksin 2,4-D konsentrasi 9,05 μ M dengan sitokinin kinetin pada konsentrasi 13,95 μ M (XIE and HONG, 2001). Selanjutnya ARMINI *et al.* (1992) menyatakan bahwa aplikasi zat pengatur tumbuh yang diberikan secara eksogen akan menentukan arah pertumbuhan dari jaringan yang dikulturkan. Meskipun pemberian Benzyl Adenin hanya pada konsentrasi rendah 0,1 mg/l, ternyata sudah mampu meningkatkan pertumbuhan kalus secara optimal.

Terdapat pengaruh interaksi antara perlakuan 2,4-D dengan Benzyl Adenin terhadap ukuran diameter dan struktur kalus hasil sub kultur ke dalam media yang sama. (Tabel 2).

Sub kultur bertujuan untuk memperbanyak bahan tanaman sehingga dapat digunakan untuk analisis kandungan kimia tertentu yang diinginkan. Dari hasil perlakuan sub kultur, terdapat interaksi antara aplikasi perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l + BA 0,1 mg/l yang menghasilkan ukuran diameter kalus paling besar yaitu 31,9 mm dalam waktu delapan minggu. Kombinasi kedua perlakuan ini merupakan keseimbangan yang optimal antara auksin 2,4-D dengan sitokinin Benzyl Adenin dalam memacu pembelahan sel. Pertumbuhan kalus terbaik akan diperoleh pada saat tercapainya keseimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diaplikasikan (GABA, 2000). Sub

kultur kalus keladi tikus (*Typonium flagelliforme*) mampu menghasilkan massa sel yang lebih banyak dengan struktur remah dan warna hijau muda (SYAHID dan KRISTINA, 2007). Interaksi antara aplikasi 2,4-D dengan Benzyl Adenin juga diperoleh terhadap parameter bobot basah kalus dimana kombinasi antara perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l dan Benzyl Adenin 0,1 mg/l menghasilkan bobot basah kalus yang paling tinggi pada umur 8 minggu yang mencapai 5,0 gram (Tabel 3).



Gambar 1. Struktur kalus pada perlakuan media MS + 2,4-D 0,3 mg/l + BA 0,1 mg/l, 8 minggu setelah kultur

Figure 1. Calli structure on MS medium + 0.3 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l BA, 8 weeks after culture

Tabel 2. Interaksi antara 2,4-D dan Benzyl Adenin terhadap pertumbuhan kalus setelah sub kultur, 8 minggu setelah perlakuan
 Table 2. Interaction between 2,4-D and Benzyl Adenin on calli growth after sub culture, 8 weeks after treatment

| Perlakuan (mg/l) <i>Treatment(mg/l)</i> | Diameter kalus (mm) <i>Calli diameter (mm)</i> | Struktur kalus <i>Calli structure</i> | Warna kalus <i>Colour of calli</i> |
|--|---|--|---------------------------------------|
| 2,4-D 0,1 + BA 0,0 | 21,1 bc | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 + BA 0,0 | 16,0 de | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,0 | 20,4 bc | Remah 20%, kompak 80% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1 + BA 0,1 | 18,5 cd | Sangat remah, mudah lepas, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 + BA 0,1 | 31,9 a | Remah 95%, kompak 5% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,1 | 19,0 cd | Remah 95%, kompak 5%, agak mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1 + BA 0,3 | 15,3 e | Remah seperti pasir 70%, kompak 30%, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 + BA 0,3 | 23,0 b | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,3 | 21,5 bc | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT
 Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at 5% DMRT
 Kalus remah = mudah dipisahkan *Friable calli = easy to separate*
 Kalus kompak = sulit dipisahkan dan padat *Compact calli = difficult to separate, solid*
 Mengandung air = *Vitrous = containing water*

Tabel 3. Interaksi antara 2,4-D dan Benzyl Adenin terhadap bobot basah kalus umur 8 minggu setelah perlakuan
 Table 3. Interaction between 2,4-D and BA on the fresh calli weight, 8 weeks after culture

| Perlakuan (mg/l) <i>Treatment(mg/l)</i> | Bobot basah kalus (g) <i>Weight of calli (g)</i> | Struktur kalus <i>Calli structure</i> | Warna kalus <i>Colour of calli</i> |
|--|---|--|---------------------------------------|
| 2,4-D 0,1+ BA 0,0 | 2,8 b | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 +BA 0,0 | 1,2 d | Remah 50%, kompak 50% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,0 | 2,6 b | Remah 20%, kompak 80% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1 + BA 0,1 | 1,5 cd | Sangat remah, mudah lepas, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 + BA 0,1 | 5,0 a | Remah 95%, kompak 5% | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,1 | 1,64 cd | Remah 95%, kompak 5%, agak mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,1 + BA 0,3 | 0,64 e | Remah seperti pasir 70%, kompak 30%, mengandung air | Putih kekuningan |
| 2,4-D 0,3 + BA 0,3 | 1,5 cd | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning |
| 2,4-D 0,5 + BA 0,3 | 1,9 c | Remah seperti pasir 70%, mudah lepas, kompak 30%, mengandung air | Agak kuning, coklat muda |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT
 Note : Numbers followed by the same letters are not significantly different at 5% DMRT
 Kalus remah = mudah dipisahkan *Friable calli = easy to separate*
 Kalus kompak = sulit dipisahkan dan padat *Compact calli = difficult to separate, solid*
 Mengandung air *Vitrous = containing water*

Kombinasi perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l dan Benzyl Adenin 0,1 mg/l merupakan konsentrasi yang optimal dalam menghasilkan bobot basah kalus tertinggi. Penambahan sitokinin (Benzyl Adenin) pada konsentrasi rendah (0,1 mg/l) mampu meningkatkan bobot basah kalus sehingga dapat mencapai hasil yang paling optimal. Pertumbuhan yang baik memerlukan keseimbangan antara zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin (GABA, 2000). Tingginya bobot basah kalus yang diperoleh pada penelitian ini berhubungan dengan struktur kalus yang diperoleh yaitu remah mencapai 95%. Semakin remah kalus yang diperoleh, semakin cepat proses pembelahan selnya sehingga massa kalus makin banyak dan bobot meningkat.

Analisis Tannin

Bobot basah kalus yang dihasilkan dari setiap perlakuan belum memadai untuk analisis kandungan senyawa tannin, sehingga analisis dilakukan secara komposit. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar tannin rata-rata pada kalus lebih tinggi dibandingkan dalam daun jati belanda (Tabel 4).

Tabel 4. Analisis kadar tannin pada beberapa perlakuan kalus *in vitro*
 Table 4. Analysis of tannin content from calli *in vitro*

| Perlakuan (mg/l) <i>Treatment (mg/l)</i> | Kadar tanin (%) <i>Tannin content</i> |
|---|--|
| 2,4-D (0,1 + 0,3 + 0,5) | 4,27 |
| 2,4 D (0,1 + 0,3 + 0,5) + BA 0,1 | 4,75 |
| 2,4-D (0,1 + 0,3 + 0,5) + BA 0,3 | 3,72 |
| Daun jati belanda | 2,24 |

Tannin merupakan metabolit sekunder tanaman yang bersifat astrigen dengan rasa khas yang sepat. Secara umum tannin terbagi atas tannin (proanthocyanidins) hidrolisis dan tannin kondensasi. Tannin hidrolisis diprekursor oleh asam dehydroshikimic sedangkan tannin kondensasi disintesis dari prekursor flavonoid.

Tingginya kandungan tannin dari kalus yang dihasilkan secara *in vitro* dapat dipahami karena produksi metabolit sekunder pada kalus *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor di antaranya komposisi media yang digunakan dan zat pengatur tumbuh yang diaplikasikan (ASLAM *et al.*, 2008). Selanjutnya ROCHA *et al.* (2005) dan BHAD *et al.* (2008) mengatakan bahwa keseimbangan komposisi media yang digunakan, sumber sukrosa, photo-period dan stres terhadap sel (biotik dan abiotik) selama

periode kultur dan faktor lainnya akan mempengaruhi sintesis metabolit sekunder di antaranya alkaloid. Struktur kalus yang remah sangat diperlukan dalam memproduksi metabolit sekunder secara *in vitro* karena sel-sel kalus yang remah sangat mudah membelah diri sehingga massa sel yang diperoleh dapat lebih banyak (DARWATI, 2010). Namun keterkaitan atau hubungan antara struktur maupun warna kalus terhadap kandungan metabolit sekunder (tannin) belum pernah diteliti. GATI *et al.* (1993) berhasil memperoleh kandungan K⁺ dan Na⁺ dari gabungan kalus tempuyung *in vitro* yang lebih tinggi dibandingkan daun konvensional. Selanjutnya senyawa steroid terdeteksi dengan kadar 2+ pada kalus *in vitro* keladi tikus yang sebelumnya pada tanaman konvensional tidak ditemui (SYAHID, 2008).

KESIMPULAN

Kalus dapat diinduksi dari eksplan daun jati belanda umur dua tahun yang berasal dari rumah kaca pada semua perlakuan yang diaplikasikan.

Kalus remah menghasilkan diameter terbesar, bobot basah terberat dan berpeluang untuk kadar tannin yang tinggi.

Kombinasi perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l + Benzyl Adenin 0,1 mg/l merupakan perlakuan terbaik yang dapat menghasilkan struktur kalus yang lebih remah, warna putih kekuningan dan diameter terbesar yaitu 28,7 mm dengan indikasi kadar tannin lebih tinggi. Perlakuan tersebut juga menghasilkan laju pertumbuhan yang lebih cepat setelah kalus di sub kultur ke media yang sama.

Mengingat waktu sub kultur dapat dilakukan setiap 8 minggu sekali, sehingga memberi peluang penelitian lebih lanjut dalam mengamati pengaruh sub kultur yang paling optimal terhadap kadar tannin.

DAFTAR PUSTAKA

AMOO., S. O and B.E AYISIRE. 2005. Induction of callus and somatic embryogenesis from cotyledon explants of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. African Journal of Biotechnology, 4(1) : pp 68-71.

ANONYMOUS. 2007. Pasar Tumbuhan Obat; Agrofarmasi (Bagian 1). Naturalife. Pharmacy Bussiness; An Overview of Pharmacy Related and Healthcare Industry.

ANONYMOUS. 2008. Jati Belanda Si Pelangsing Pengusir Kaki Gajah. Al Jazirah Herbal Center.8/07020008. <http://aljazirah.blogspot.com/2008/08>.

ARMINI, N. M., G.A. WATTIMENA, dan L.W. GUNAWAN. 1992. Perbanyakan Tanaman. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor, 307p.

ASLAM, J., A. MUJIB., S.A. NASIM, and M.P. SHARMA. 2008. Screening of vincristine yield in ex vitro and in vitro somatic embryo derived plantlets of *Catharanthus roseus* L. (G) Don. Scientia Horticulturae (2008) in pdoi:10.1016/J.scientia. 2008.08.018.

BHAD, M.A., S. AHMAD, A. JUNAID, A MUJIB, and M. DUFAN. 2008. Salinity stress enhanced production of solasodine in *Solanum ningrum* L. Chem. Pharm. Bull. 56 (1) : 17-21.

DARWATI, I. 2010. Komunikasi pribadi mengenai metabolit sekunder *in vitro*.

GABA, V. P. 2000. Plant regulator in plant tissue culture and development. In Trigiano RN and D.J. Gray Eds. Plant Development and Biotechnology. New York : CRC Pr. 87-99.

GATI, E., I. MARISKA, dan S. YULIANI. 1993. Produksi senyawa sekunder flavonoid, K⁺ Na⁺ pada tanaman tempuyung melalui kultur jaringan. Medkom Puslitbangtri. No 12 : 50-55.

ISWANTINI, D., L. K. DARUSMAN., E. GUNAWAN, dan Y. NURULITA. 2003. Identifikasi senyawa bioaktif daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) sebagai pelangsing dengan menggunakan metode enzimatis (enzyme lipase). Jurnal Ilmiah Pertanian Gakuryoku. IX (2) : 138-142.

LATUNRA, A. I. 2004. Pengaruh L-metionin terhadap kadar kafeina kultur kalus *Coffea arabica* L. Departemen Biologi ITB. Master Thesis JBPTITBBI/2004-12-14. 15: 02:7.

NAGASAWA, A. and J. J. FINER. 1988. Induction of morphogenic callus culture from leaf of Garlic. Hort Sciences 23 : 1068-107.

ROCHA, L. K., A. J. B. OLIVEIRA, C. A MANGOLIN, and M.F.P.S. MACHADO. 2005. Effect of different culture medium components on production of alkaloid in callus tissues of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). Acta Sci. Biol. Sci. 27 :37-41.

SYAHID, S. F. dan N. N. KRISTINA. 2007. Induksi dan regenerasi keladi tikus (*Typonium flagelliforme* Lodd.) secara *in vitro*. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 13 (4): 142-146.

SYAHID, S. F. 2008. Keragaman morfologi, pertumbuhan, mutu, dan fitokimia keladi tikus (*Typonium flagelliforme* Lodd.) Blume asal variasi somaklonal. Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 14(3):113-118.

THAO, N.T.P., Y. OZAKI, and H. OKUBO. 2003. Callus induction and plantlet regeneration in ornamental *Alocasia micholitziana*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 73 : 285-289.

XIE, D and Y. HONG. 2001. *In vitro* regeneration of *Acacia mangium* via organogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 66 : 167-173.