

MULTIPLIKASI TUNAS, AKLIMATISASI DAN ANALISIS MUTU SIMPLISIA DAUN ENCOK (*Plumbago zeylanica* L.) ASAL KULTUR *IN VITRO* PERIODE PANJANG

Sitti Fatimah Syahid dan Natalini Nova Kristina

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik

ABSTRAK

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Fisiologi Hasil, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor mulai Juni 2005 – Juli 2006. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh kultur *In Vitro* terhadap multiplikasi, aklimatisasi, mutu dan kandungan bahan aktif tanaman daun encok. Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas pucuk tanaman daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang berumur tujuh tahun. Untuk multiplikasi tunas, perlakuan yang diuji adalah: Benzyl Adenin (BA) 0,1 mg/l (kontrol); BA 0,1 mg/l + Thidiazuron 0,01 mg/l; BA 0,1 mg/l + Thidiazuron 0,05 mg/l; BA 0,1 mg/l + Thidiazuron 0,1 mg/l dan BA 0,1 mg/l + Thidiazuron 0,15 mg/l. Rancangan yang digunakan adalah Acak Lengkap dengan sepuluh ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah tunas, daun dan akar serta panjang tunas *in vitro*. Tanaman diaklimatisasi di rumah kaca dan langsung diobservasi. Parameter yang diamati adalah jumlah anakan, jumlah daun dan tinggi tanaman. Analisis mutu dilakukan terhadap kadar air, kadar abu, kadar sari larut dalam alkohol dan kadar sari larut dalam air serta kandungan bahan aktifnya dengan menggunakan GCMS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan BA 0,1 mg/l + thidiazuron 0,05 mg/l menghasilkan jumlah tunas dan daun terbanyak serta tunas terpanjang dalam waktu dua bulan. Morfologi tanaman hasil kultur *in vitro* sama dengan induk di rumah kaca dalam hal batang, daun dan visual tanaman. Hasil analisis mutu menunjukkan bahwa kadar sari larut dalam air dan larut dalam alkohol asal kultur *in vitro* lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman daun encok asal lapang dan MMI. Selain itu senyawa steroid dapat dideteksi pada tanaman asal kultur *in vitro*. Hasil analisis GCMS menunjukkan kandungan senyawa aktif tertinggi adalah phytol (26,13%).

Kata kunci : *Plumbago zeylanica* L., multiplikasi tunas, Benzyl Adenin, Thidiazuron, mutu, skrining fitokimia, periode panjang kultur *in vitro*

ABSTRACT

Shoot Multiplication, Analysis of Simplicia Quality of Ceylon Leadwort (Plumbago Zeylanica L.) From Long Periode of In Vitro Culture

The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory of Indonesian Medicinal and Aromatic Crops Research Institute (IMACRI) from June 2005 to July 2006. The aim of this research was to know the effect of In Vitro culture on multiplication, acclimatization, quality and active compound of ceylon leadwort. The material used was Ceylon Leadwort from long period in vitro culture. The treatments for shoot multiplication were : BA 0.1 mg/l (control); BA 0.1 mg/l + Thidiazuron 0.01 mg/l; BA 0.1 mg/l + Thidiazuron 0.05 mg/l; BA 0.1 mg/l + Thidiazuron 0.1 mg/l and BA 0.1 mg/l + Thidiazuron 0.15 mg/l. Experiment was arranged in Completely Randomized Design with ten replications. The number of shoots, leaves, roots and plant heights in vitro were observed, and than the plants were acclimatized to the green house. Total number of tiller, leaves, and plant height were observed. Analysis of plant quality was conducted through water and ash content, alcohol and water soluble extracts, fitochemistry screening and active compound analysis by using GCMS. The result shows that Benzyl Adenine at 0.1mg/l combined with Thidiazuron 0.05 mg/l could increase the number of shoots and leaves much higher than other treatments on two months period of culture. The long period of in vitro culture did not affect the morphological performance of

Ceylon Leadwort in the green house and field conditions. Extracts of plant from in vitro culture contain higher water soluble alcohol than that of conventional plant and MMI. In addition, steroid compound was also detected from in vitro culture of ceylon leadwort. GCMS analysis indicated that phytol was identified with the highest concentration (26.13%).

Keywords : *Plumbago zeylanica L., shoot multiplication, Benzyl Adenin, Thidiazuron, quality, fitochemistry screening, long periode in vitro culture*

PENDAHULUAN

Daun encok (*Plumbago zeylanica*) merupakan salah satu tanaman obat multifungsi. Daun dan akarnya berkhasiat sebagai obat pada berbagai penyakit diantaranya daun digunakan untuk obat encok atau rematik, masuk angin, susah buang air kecil dan sakit kepala. Akarnya secara empiris digunakan untuk mengobati kurap atau gatal-gatal (Dalimartha dan Wijayakusuma, 1999). Selain itu tanaman ini juga dapat menghilangkan rasa sakit dan mampu mengobati penyakit kanker darah. Tanaman daun encok sudah lama populer di Asia dan Afrika sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit yang disebabkan oleh parasit (Anonymous, 2006).

Kandungan senyawa kimia di dalam daun encok diantaranya minyak atsiri 2-3%, flavonoid, tannin 1,5%, steroid atau triterpenoid, plumbagin, naftakinon, saponin dan polifenol (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Senyawa plumbagin inilah yang berfungsi sebagai antimikroba dan antibiotik. Spesies ini lebih aman dibandingkan jenis lain yaitu *Plumbago indica* (Anonymous, 1999).

Untuk mendukung konservasi plasma nutfah tanaman obat, maka tunas daun encok berbunga putih ini telah dikonservasi di laboratorium kultur jaringan Balitro semenjak tahun 1997 di dalam media Murashige dan Skoog (MS) + BA 0,1 mg/l (Kristina *et al.*, 2004). Sampai tahun 2005, koleksi ini telah berumur tujuh tahun dan mulai menurunkan daya tumbuh biakan. Umumnya lama periode kultur akan menurunkan daya tumbuh biakan yang dikultur (George and Sherrington, 1984), sehingga harus segera dilakukan upaya untuk memaksimalkan kembali pertumbuhan kultur. Benzyl Adenin (BA) dan Thidiazuron (TDZ) merupakan zat pengatur tumbuh sintetis dari golongan sitokinin yang umum digunakan dalam perbanyakan *in vitro* untuk menstimulasi pembelahan sel dan multiplikasi tunas (George, 1993; Lu, 1993).

Selama di konservasi *in vitro* belum pernah dilakukan aklimatisasi tanaman dan pengujian daya tumbuh kultur pada lingkungan asalnya dan juga belum diketahui kandungan mutu dan bahan aktifnya.

Monitoring terhadap kultur yang dikonservasi secara *in vitro* sangat diperlukan untuk mengetahui stabilitas genetik tanaman yang dikonservasi (Sudarmonowati, 2005). Menurut Sarwana (1994) dalam Berma-wie dan Kristina (2003) tipe simpang hasil mutasi genetik yang muncul pada tanaman bervariasi dan mutasi tidak terlihat pada kultur di dalam botol, kecuali kerdil dan bule. Mutasi genetik akan terlihat setelah tanaman diaklimatisasi di rumah kaca.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kultur *in vitro* periode panjang terhadap multiplikasi, aklimatisasi, mutu dan kandungan bahan aktif tanaman daun encok.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium kultur jaringan dan rumah kaca Kelti Pemuliaan, Laboratorium Fisiologi Hasil, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik serta Laboratorium Dopping, Dinas Kesehatan DKI Jakarta, mulai Juni 2005 - Juli 2006.

Multiplikasi tunas

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas-tunas steril tanaman, daun encok dalam botol. Media dasar yang digunakan adalah 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 BA (0,1 mg/l) sebagai kontrol; BA 0,1 mg/l + TDZ 0,01 mg/l; BA 0,1 mg/l + TDZ 0,05 mg/l, BA 0,1 mg/l + TDZ 0,1 mg/l dan BA 0,1 mg/l + TDZ 0,15 mg/l. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan sepuluh ulangan. Setiap ulangan dikulturkan satu tunas ke dalam botol kultur. Parameter yang diamati adalah jumlah tunas, daun, panjang tunas dan akar serta visual kultur. Kultur disimpan pada rak-rak kultur di dalam ruang inkubasi dengan suhu 22-25° C, intensitas cahaya 1000 lux dengan lama penyinaran 16 jam per hari.

Aklimatisasi

Untuk aklimatisasi, planlet daun encok asal perlakuan terbaik pada multiplikasi tunas yang telah sempurna dengan akar lengkap dikeluarkan dari botol kultur, lalu dicuci di bawah air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa agar yang masih menempel pada akar tanaman. Tanaman diaklimatisasi di rumah kaca dengan menggunakan media tanah + sekam (1:1) selama 8 minggu. Setelah vigor tanaman kuat, dilakukan adaptasi tanaman dengan cara memindahkannya ke dalam polibag berukuran 20 x 30 cm dengan perbandingan media tanah + pupuk kandang (1:1). Tanaman yang diobservasi berjumlah dua puluh polibag. Parameter yang diamati adalah jumlah anakan, jumlah daun dan tinggi tanaman pada umur dua dan empat bulan. Observasi dilakukan secara individual tanpa menggunakan rancangan percobaan.

Analisis mutu, fitokimia dan bahan aktif

Analisis mutu dan skirining fitokimia tanaman dilakukan di laboratorium Fisiologi Hasil yang meliputi kadar abu, kadar sari larut dalam alkohol, kadar sari larut dalam air (Depkes, 1995), kadar air dan analisis fitokimia. Analisis mutu ekstrak menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan adsorben silica gel GF-254, eluen yang digunakan yaitu toluene etil asetat = 12 : 1 dan larutan penampakan noda H₂SO₄ 50%, setelah disemprot lempeng dipanaskan 110°C selama 15 menit. Analisis bahan aktif pada daun encok asal kultur *in vitro* daur panjang dilakukan dengan menggunakan alat GCMS

(Gas Chromatography Mass Spectrometry) di laboratorium Dopping Dinas Kesehatan DKI Jakarta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Multiplikasi tunas

Jumlah tunas

Kombinasi zat pengatur tumbuh BA dengan TDZ meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk pada umur satu dan dua bulan setelah perlakuan (Tabel 1).

Penambahan TDZ pada konsentrasi 0,05 mg/l – 0,15 mg/l ke dalam media yang sudah mengandung BA 0,1 mg/l meningkatkan jumlah tunas dan berbeda nyata dengan perlakuan BA 0,1 mg/l + TDZ 0,01 maupun kontrol. Keadaan ini menunjukkan adanya sinergisme antara kedua jenis zat pengatur tumbuh baik BA maupun TDZ yang diaplikasikan sehingga mampu memacu multiplikasi tunas ke arah yang lebih banyak. Thidiazuron merupakan kelompok sitokinin yang berfungsi dalam menginduksi pembe-

lahan sel dan proliferasi tunas aksilar (Lu, 1993). Adakalanya media yang mengandung dua jenis sitokinin yang berbeda dapat meningkatkan jumlah tunas yang dihasilkan dibandingkan dengan menggunakan satu jenis sitokinin saja (Nielsen *et al.*, 1995). Pada kultur *in vitro* tapak dara (*Catharanthus roseus*), penggunaan kombinasi Thidiazuron pada konsentrasi 0,1 mg/l dengan BA 0,5 mg/l nyata meningkatkan multiplikasi tunas (Yelnititis *et al.*, 2000). Hasil yang sama juga ditemui pada kultur *in vitro* tanaman daun encok yang menghasilkan multiplikasi tunas tertinggi pada penggunaan kombinasi BA dengan TDZ (Yelnititis, 1996). Hasil penelitian lain dengan jumlah tunas yang maksimal pada penggunaan kombinasi BA dan TDZ juga ditemui pada kultur *in vitro* tanaman *Vitis rotundifolia* Michx dan *Acer freemanii* (Kerns and Meyer, 1986; Yelnititis *et al.*, 2000).

Tabel 1. Pengaruh kombinasi BA dengan TDZ terhadap jumlah tunas daun encok *in vitro*, umur 1 dan 2 bulan setelah tanam

Table 1. Effect of BA and TDZ on numbers shoots of Ceylon Leadwort *in vitro*, 1 and 2 months after cultured

Perlakuan (mg/l)/ Treatments	Jumlah tunas/Number of shoots	
	1 bulan/One month	2 bulan/Two months
BA 0,1 (kontrol)	0,0 b	0,14 b
BA 0,1 + TDZ 0,01	0,25 b	0,43 b
BA 0,1 + TDZ 0,05	1,50 a	2,43 a
BA 0,1 + TDZ 0,1	2,13 a	2,28 a
BA 0,1 + TDZ 0,15	2,12 a	2,42 a

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

Note : Numbers followed by the same letters at the each coloum were not significantly different at 5% DMRT

Jumlah daun

Selain berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas, penggunaan kombinasi BA dengan TDZ nyata berpengaruh terhadap parameter jumlah daun (Tabel 2).

Meningkatnya jumlah daun yang dihasilkan berhubungan erat dengan penambahan TDZ ke dalam media perlakuan. Tanpa pemberian TDZ

atau kombinasinya dengan BA konsentrasi rendah (0,1 mg/l) nyata menghasilkan jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan dengan kombinasi pada konsentrasi yang lebih tinggi. Penambahan TDZ pada konsentrasi 0,05 mg/l – 0,15 mg/l ke dalam media yang sudah mengandung BA 0,1 mg/l mampu meningkatkan jumlah daun. Pada kultur *in vitro* daun encok yang

Tabel 2. Pengaruh kombinasi BA dengan TDZ terhadap jumlah daun daun encok *in vitro*, umur 1 dan 2 bulan setelah tanam

Table 2. Effect of BA and TDZ on number of leaves of Ceylon Leadwort *in vitro*, 1 and 2 months after cultured

Perlakuan (mg/l)/ Treatments	Jumlah tunas/Number of shoots	
	1 bulan/One month	2 bulan/Two months
BA 0,1 (kontrol)	0,0 b	0,43 b
BA 0,1 + TDZ 0,01	0,63 b	1,0 b
BA 0,1 + TDZ 0,05	3,13 a	5,0 a
BA 0,1 + TDZ 0,1	3,63 a	4,43 a
BA 0,1 + TDZ 0,15	3,13 a	4,0 a

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

Note : Numbers followed by the same letters at the each coloum were not significantly different at 5% DMRT

Tabel 3. Pengaruh kombinasi BA dengan TDZ terhadap panjang tunas daun encok *in vitro*, umur 1 dan 2 bulan setelah tanam

Table 3. Effect of BA and TDZ on the shoot length of Ceylon leadwort *in vitro*, 1 and 2 months after cultured

Perlakuan (mg/l)/ Treatments	Panjang tunas/Length of shoots	
	1 bulan/One month	2 bulan/Two months
BA 0,1 (kontrol)	0,0 b	0,14 c
BA 0,1 + TDZ 0,01	0,25 b	0,36 c
BA 0,1 + TDZ 0,05	1,38 a	1,90 a
BA 0,1 + TDZ 0,1	1,15 a	1,93 a
BA 0,1 + TDZ 0,15	1,06 a	1,21 b

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

Note : Numbers followed by the same letters at the each coloum were not significantly different at 5% DMRT

telah mengalami periode panjang ini, produksi daun berhubungan erat dengan jumlah tunas yang dihasilkan. Makin banyak jumlah tunas semakin banyak pula jumlah daun yang diperoleh.

Panjang tunas

Penggunaan kombinasi BA dengan TDZ nyata terhadap parameter panjang tunas baik pada umur satu maupun dua bulan setelah perlakuan (Tabel 3). Tanpa adanya penambahan TDZ ke dalam media tumbuh pada konsentrasi yang optimal, proses perpanjangan tidak nyata terhadap perlakuan kontrol serta BA 0,1 mg/l + TDZ 0,01 mg/l.

Perlakuan dua zat pengatur tumbuh dapat bekerja secara sinergis pada konsentrasi yang tepat, efek pemanjangan nyata diperoleh yaitu dari perlakuan BA 0,1 mg/l dengan TDZ 0,05 mg/l - 0,15 mg/l pada umur 4 minggu setelah kultur. Namun dengan meningkatnya umur kultur, penggunaan kombinasi BA 0,1 mg/l dengan TDZ 0,15 mg/l nyata menghasilkan tunas yang lebih pendek dibandingkan penggunaannya pada konsentrasi lebih rendah (0,05-0,1 mg/l). Hal ini dapat dimengerti karena peningkatan umur kultur berkorelasi dengan lamanya persistensi zat pengatur tumbuh dalam jaringan. Pada kultur *in vitro* daun encok ini, jumlah tunas yang dihasilkan pada umur delapan minggu cukup banyak, namun penampilannya lebih pendek dari perlakuan pada minggu sebelumnya. Penggunaan TDZ mulai menunjukkan gejala perubahan bentuk daun menjadi roset pada konsentrasi 0,15 mg/l dengan umur kultur delapan

minggu, kemungkinan karena efek mutasi dari senyawa ini terhadap tanaman. Umumnya TDZ dapat menimbulkan gejala keabnormalan pada tanaman bila digunakan dalam konsentrasi cukup tinggi dan periode kultur yang panjang (Lu, 1993). Hal yang sama ditemui pada penelitian *in vitro* tapak dara, yaitu penggunaan thidiazuron konsentrasi tinggi menimbulkan penampilan roset pada kultur (Kristina *et al.*, 2004).

Jumlah akar

Akar pada biakan daun encok *in vitro* dapat diperoleh pada media yang hanya diperkaya dengan sitokinin. Pada semua perlakuan yang diuji dapat menginduksi akar. Jumlah akar yang diperoleh pada perlakuan BA (0,1 mg/l) dan BA (0,1 + TDZ 0,01 mg/l - 0,15 mg/l) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Secara umum, kultur tunas daun encok dapat menginduksi akar walaupun tanpa pemberian sumber auksin ke dalam media. Hanya saja waktu inisiasi akar termasuk lama karena baru pada minggu ke sepuluh tanaman ini menghasilkan akar yang penampilannya pun seperti bulu-bulu halus berwarna putih. Pada tanaman tertentu, penggunaan TDZ dapat menghambat proses pembentukan akar *in vitro* (Lu, 1993). Walaupun demikian, akar tersebut ternyata mampu beradaptasi secara normal dalam proses aklimatisasi di rumah kaca.

Aklimatisasi

Kultur *in vitro* periode panjang tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman di rumah kaca. Ta-

naman daun encok hasil kultur *in vitro* dapat beradaptasi secara normal di lingkungan yang baru dengan persentase tumbuh tinggi (90%). Selain itu pertumbuhan vegetatif tanaman normal seperti induknya baik bentuk batang, bentuk daun, warna batang dan daun, tinggi tanaman dan lainnya (Tabel 4).

Hasil pengamatan pertumbuhan di rumah kaca pada umur dua dan empat bulan di media yang diperkaya tanah + pupuk kandang cukup maksimal. Tanaman mampu tumbuh dengan baik sampai pengamatan empat bulan. Pada umur dua bulan baru terlihat satu sampai dua penambahan anakan baru, sedangkan memasuki bulan ke empat telah terlihat penambahan anakan menjadi dua. Jumlah anakan yang hanya dua pada saat tanaman berumur empat bulan berhubungan dengan kondisi tanaman pada saat diperbanyak secara *in vitro* yang hanya menggunakan zat pengatur tumbuh BA pada konsentrasi rendah yaitu 0,1 mg/l. Sedangkan pertumbuhan yang sangat cepat terlihat pada pertambahan tinggi tanaman pada umur empat bulan yang sudah mencapai rata-rata 64,5 cm. Kondisi ini tidak berbeda nyata dengan induk konvensional yang tingginya berkisar 60-200 cm (Soedibyo, 1998). Hasil yang sama diperoleh pada pertumbuhan tanaman temulawak asal kultur *in vitro* yang di aklimatisasi di rumah kaca, memiliki penampilan morfologi sama dengan induk (Syahid dan Hadipoentyanti, 2001). Berbeda halnya dengan tanaman jahe hasil kultur jaringan asal organogenesis yang memperlihatkan morfologi berbeda dengan induknya setelah diaklimatisasi di rumah kaca maupun lapang (Syahid dan Hobir,

1996; Hobir *et al.*, 1999). Bila dilihat dari morfologinya, tanaman daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang secara morfologi sama seperti induknya, baik dalam bentuk daun maupun batang, warna batang dan warna daun (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Bentuk daun tanaman daun encok asal lapang

Figure 1. Leaves performance of Ceylon leadwort from field



Gambar 2. Bentuk daun tanaman daun encok asal kultur *in vitro* periode panjang

Figure 2. Leaves performance of Ceylon leadwort from long periode in vitro culture

Tabel 4. Pertumbuhan tanaman daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang di rumah kaca

Table 4. Growth of Ceylon leadwort (*Plumbago zeylanica*) derived from long period *in vitro* culture in the green house

Komponen pertumbuhan/ <i>Growth component</i>	Umur/Age	
	2 bulan/ <i>2 months</i>	4 bulan/ <i>4 months</i>
Jumlah anakan (<i>Number of tillers</i>)	1,3 ± 0,8	1,85 ± 0,7
Tinggi tanaman (cm) <i>Plant height (cm)</i>	21,35 ± 2,6	64,50 ± 4,5
Jumlah daun (<i>Number of leaves</i>)	15,5 ± 3,1	19,9 ± 1,1

Mutu

Kadar air pada daun tanaman daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang lebih rendah dibandingkan dengan kadar air pada tanaman daun encok konvensional. Sedangkan kadar abu terlihat lebih tinggi, namun kadar ini masih dalam lingkup standar MMI yang nilai maksimalnya 14%. Hal yang terlihat sangat berbeda adalah pada komponen kadar sari terlarut dalam air yaitu 29,97% yang sangat tinggi diperoleh pada daun encok hasil kultur *in vitro* periode tujuh tahun dibandingkan dengan pada daun asal tanaman konvensional yang bernilai 20,75%, begitu juga dengan kadar sari larut dalam alkohol sangat tinggi yaitu 13,39% bila dibandingkan dengan yang diperoleh pada analisis daun encok asal konvensional yaitu 2,27% (Tabel 6).

Tingginya kandungan kadar sari larut dalam air dan kadar sari larut dalam alkohol yang ditemui pada daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang diduga berkaitan dengan lamanya periode kultur yang mungkin mempengaruhi metabolisme sel. Selain itu terdapat hubungan yang erat antara kandungan kadar sari yang terlarut dalam air dan terlarut dalam alko-

hol dengan kandungan zat berkhasiat pada tanaman. Semakin tinggi kadar keduanya mengindikasikan tingginya kandungan zat berkhasiat dalam daun tanaman tersebut (Hernani dan Syahid, 2002).

Plumbagin merupakan zat berkhasiat pada tanaman daun encok. Bila dihubungkan dengan tingginya kadar sari larut dalam air maupun dalam alkohol, diduga terjadi perubahan kandungan zat berkhasiat tanaman, namun belum diketahui dengan pasti berapa kandungan plumbagin atau senyawa lainnya. Pada pengujian tanaman temulawak hasil kultur *in vitro* generasi ke dua di lapang menunjukkan kandungan kurkumin yang lebih tinggi (3,03-4,80%) dibandingkan dengan tanaman konvensional (2,11-3,24%). Sedangkan kandungan minyak atsiri nya (6,6-9,8%) hampir sama dengan tanaman konvensional (Hadipoent-yanti dan Syahid, 2005).

Bila dibandingkan dengan daun encok asal konvensional, beberapa kandungan kimia pada tanaman asal kultur *in vitro* daun kultur panjang mengalami peningkatan diantaranya alkaloid dan glikosida. Sedangkan untuk kandungan tanin, saponin cende-

rung sedikit menurun. Hal yang menarik adalah ditemukannya senyawa steroid pada tanaman asal kultur *in vitro* yang tidak terdeteksi pada daun encok asal konvensional (Tabel 7). Steroid merupakan metabolit sekunder yang terbentuk dengan adanya prekursor yaitu Acetyl Coenz. Diduga selama periode panjang kultur *in vitro* telah terjadi perubahan kemampuan diferensiasi dari sel dan proses reaksi kimia yang berperan di dalamnya, yang dapat berupa aktivitas enzim-enzim tertentu sehingga mungkin menyebabkan perbedaan produksi metabolit sekunder yang terbentuk. Namun lingkungan tumbuh tanaman diduga juga berpengaruh karena menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991), selain minyak atsiri 2-3%, flavonoid, tanin 1,5%, plumbagin, naftakinon, saponin dan polifenol, steroid atau triterpenoid juga dapat dideteksi. Sementara hasil penelitian Suhirman *et al.*, 2006 pada daun encok yang berasal dari Kebun Percobaan Cimanggu tidak terdeteksi adanya kandungan steroid pada daun.

Kandungan bahan aktif

Hasil analisis GCMS diperoleh 21 senyawa kimia dengan persentase yang berbeda-beda. Kandungan tertinggi terdeteksi pada senyawa phytol 26,13% (Tabel 8). Phytol merupakan senyawa kimia yang menjadi prekursor dari tocopherols (vitamin E) dan phyloquinone/vitamin K (Vickery and Vickery, 1981). Phytol juga berperan dalam sintesis vitamin E dan K1. Senyawa ini berperan dalam dekomposisi produk dari klorofil. Phytol berupa cairan minyak yang tidak larut dalam air tapi larut dalam pelarut organik (Wikipedia, 2006). Mengingat peranannya dalam sintesis vitamin E dan K1 kemungkinan senyawa ini cukup berperan sebagai antimikroba karena vitamin E yang terkandung cukup tinggi, maka proses penyembuhan dan peremajaan kulit dari penyakit jamur dengan menggunakan daun encok akan lebih cepat disembuhkan.

Tabel 6. Mutu simplisia daun encok hasil kultur *in vitro* periode panjang
Table 6. *Quality of Ceylon Leadwort from long periode in vitro culture*

Pengujian mutu simplisia/ <i>Quality of simplicit esedt</i>	Daun encok in vitro/ <i>Ceylon leadwort in vitro</i>	Daun encok konvensional (*)/ <i>Ceylon leadwort from field</i>	MMI/ <i>MMI</i>
Kadar air (%) <i>Water content</i>	12,09	14,97	-
Kadar abu (%) <i>Ash content</i>	11,80	7,4	Maks 14
Kadar sari larut dalam air (%) <i>Water soluble extract</i>	29,97	20,75	Min 8,5
Kadar sari larut dalam alkohol (%) <i>Alcohol soluble extract</i>	13,39	2,27	Min 4,5

* Sumber : Suhirman *et al.* (2006)

Tabel 7. Fitokimia daun encok hasil kultur *in vitro* selama 7 tahun
 Table 7. Fitochemistry of Ceylon leadwort in vitro during seven years

Analisis Fitokimia/ Fitochemistry analysis	Daun encok hasil kultur <i>in vitro</i> selama 7 tahun/ Ceylon leadwort in vitro cultural for 7 years	Daun encok konvensional (*)/ Ceylon leadwort from field
Alkaloid/ <i>Alkaloid</i>	++++	++
Tanin/ <i>Tannin</i>	+	++++
Saponin/ <i>Saponin</i>	+	++
Flavonoid/ <i>Flavonoid</i>	+	-
Fenolik/ <i>Fenolic</i>	-	-
Steroid/ <i>Steroid</i>	+++	-
Triterpenoid/ <i>Triterpenoid</i>	-	-
Glikosida/ <i>Glycoside</i>	++++	++

Keterangan : - (negatif), + (positif lemah), ++ (positif), +++ (positif kuat), ++++ (positif kuat sekali)

Note : - (negative), + (weak positive), ++ (positive), +++ (Positive strong), ++++(positive very strong)

* Sumber Suhirman *et al.* (2005) * Source : Suhirman *et al.*, (2005)

Tabel 8. Analisis GCMS daun encok asal kultur *in vitro* periode panjang
 Table 8. GCMS analysis of Ceylon leadwort derived from long periode of in vitro culture

No	Jenis senyawa kimia/ <i>Chemical component</i>	%*)
1	Trans nusiferol	1,42
2	Kariofilen oksida	2,52
3	Metana sulfonamide	0,65
4	Astaldehyda	1,27
5	Dodekenin	1,0
6	N-oktanol	1,26
7	Dimetil ampetamin	2,16
8	Oktanol	2,16
9	Pirimidinamin	2,93
10	Bisiklo oktana	3,39
11	Sikloheksana	6,67
12	Dioksabisiklo oktanol	4,14
13	Sitromellil propionate	2,15
14	Metal ester asam hek-sanoat	13,19
15	Asam noninoat	1,96
16	Asam okta dekatrien-noat	19,84
17	Phytol	26,13
18	Dimetil asetamida	1,28
19	Gibberalin	1,05
20	Siklotrisiloksan	0,5
21	Etanoqyininon	1,6

*) Limpahan dari 5µ ml daun encok

KESIMPULAN

Multiplikasi tunas terbaik diperoleh pada kombinasi BA 0,1 mg/l dengan thidiazuron 0,05 mg/l. Hasil aklimatisasi tanaman asal perlakuan *in vitro* di rumah kaca normal seperti tanaman induk konvensional baik dalam bentuk daun, batang maupun akar. Kadar sari terlarut dalam air (29,97%) dan kadar sari larut dalam alkohol (13,39%) asal periode panjang kultur *in vitro* lebih tinggi dari tanaman konvensional (20,75%) dan (2,27%). Senyawa steroid pada tanaman daun encok asal kultur *in vitro* periode panjang dapat terdeteksi dengan sinyal cukup kuat (3+).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1999. Plant Resources of South East Asia. No. 12 (1). Medicinal and Poisonous Plant I. L.S. de Padua, N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. lemmens (Eds), Bogor, Indonesia. pp. 409-412.
- Anonimous, 2006. Plumbagin. http://ntp-server.nichs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_Background/ExSumPdf/Plumbagin.pdf. 15 Juli 2006. 27 hal.
- Bermawie, N. Dan N. N. Kristina. 2003. Penyimpanan *in vitro* Tanaman Obat Potensial. Perkembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat. Vol. 15 (1) : 51-60.
- Dalimartha, S dan Wijayakusuma, H.H.M., 1999. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid I. Trubus Agriwidya, Jakarta. hal. 44-46.
- Depkes (Departemen Kesehatan), 1995. Materia Medika Indonesia. Jilid VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal. 333-337.
- George, E. F and P.D Sherrington, 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd, England. 709 p.
- George, E.F., 1993. Plant propagation by tissue culture. Part I. The Technology. Edington, Wilts, Exegetics Ltd, BA 134QG, England. 1361 p.
- Hadipoentyanti, E. dan S.F. Syahid, 2005. Respon temulawak hasil kultur *in vitro* generasi kedua terhadap pemupukan. Jurnal Puslitbangtri Vol 13 (3) : 106-110.
- Hernani dan S. F. Syahid, 2001. Kualitas daun tempuyung dari beberapa daerah. Jurnal Gakuryoku. Vol VII (4) : 99-103.
- Hobir, S.F. Syahid dan I. Mariska, 1999. Pengaruh pupuk dan jarak tanam terhadap pertumbuhan dan produksi jahe asal kultur jaringan. Jurnal Puslitbangtri Vol IV (4) : 129-134.
- Kerns, K. R. and M. M. Jr. Meyer, 1986. Tissue culture propagation of *Acer x freemanii* using thidiazuron to stimulate shoot tip proliferation. Hort Sciences 21 : 1209-1210.
- Kristina, N.N.; N. Bermawie, Amalia dan Nursalam, 2004. Konservasi *in vitro* tanaman rempah dan obat. Laporan teknis Balittro (*tidak dipublikasi*). hal. 20-85.

- Lu, C., 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In vitro Cell Dev. Biol.* 29 : 92-96.
- Nielsen, J. M., J. Hansen and K. Brandt, 1995. Synergism of thidiazuron and benzyladenin in axillary shoot formation depends on sequence of application in *Miscanthus X ogiformis* "Giganteus". *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 41 : 165-170.
- Suhirman, S., T. Fatimah dan M. Sukmasari, 2006. Analisis kimia daun, batang dan akar daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) secara kualitatif. Prosiding Seminar Nasional dan Pameran Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII. Badan Litbang Pertanian – Balitro – Pokjanas TOI - Direktorat Tanaman Sayuran dan Biofarmaka. hal. 350-357.
- Syahid, S.F. dan Hobir, 1996. Pertumbuhan dan produksi rimpang jahe asal kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. Vol. II (2) : 95-100.
- Syahid, S. F dan E. Hadipoentyanti, 2001. Aklimatisasi planlet temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) hasil kultur *in vitro*, 2001. Prosiding Simposium Nasional Pengelolaan Pemuliaan dan Plasma Nutfah, Bogor 22-23 Agustus 200. Buku 3, PERIPI, Bogor. hal. 777-781.
- Syamsuhidayat, S. S. dan J. R. Hutapea, 1991. Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, Jakarta. hal. 472-473.
- Soedibyo, M., 1998. Alam sumber kesehatan. Manfaat dan kegunaan. Balai Pustaka. Jakarta. hal. 125-126.
- Sudarmonowati, E., 2005. Konservasi plasma nutfah. Buku Pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. hal. 27-37.
- Vickery, M. L. and B. Vickery, 1981. Secondary Plant Metabolism. The Macmillan Press LTD, London, 355 p.
- Wikipedia, 2006. The free encyclopedia, July 15, 2006.
- Yelnitis, 1996. Pengaruh BA, thidiazuron dan auksin (IAA dan IBA) terhadap multiplikasi tunas dan perakaran *in vitro* ki encok. Prosiding Simposium Nasional Tumbuhan Obat dan Aromatik. APINMAP, Bogor, hal. 278-283.
- Yelnitis, N. Bermawie, D. Surachman, 2000. Pengaruh BA dan Thidiazuron terhadap inisiasi dan multiplikasi tunas tapak dara (*Catharanthus roseus*). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, Vol. XI (2) : 11-18.