

PEMANFAATAN KULTUR JARINGAN UNTUK PERBANYAKAN, PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER DAN PENYIMPANAN TANAMAN OBAT

Endang Gati Lestari

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber
Daya Genetik Pertanian*

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

PENDAHULUAN

Berbagai jenis tanaman obat telah dikembangkan untuk dimanfaatkan sebagai perawatan kesehatan dan kecantikan. Saat ini pengobatan tradisional dengan memanfaatkan keanekaragaman spesies tumbuhan obat semakin meningkat karena diyakini bahwa dengan menggunakan obat alami akan meminimalkan efek samping dibandingkan pemakaian obat kimia (Verma *et al.* 2012). Kecenderungan meningkatnya penggunaan obat alami di tingkat nasional dan internasional, dapat mendorong pertumbuhan industri obat tradisional di Indonesia. Hal ini sangat menguntungkan, mengingat Indonesia kaya akan pengetahuan pengobatan tradisional, tumbuhan obat dan rempah-rempah berkasiat obat (Umar 2006). Sekitar 60% penduduk dunia hampir sepenuhnya menggantungkan pada tanaman obat untuk menjaga kesehatan. Menurut perkiraan WHO, lebih dari 80% penduduk di negara-negara yang sedang berkembang tergantung pada ramuan obat tradisional untuk mengatasi

masalah kesehatannya (Khan *et al.* 2002).Kebutuhan yang terus meningkat harus diimbangi dengan penyediaan benih tanaman yang sehat dalam jumlah mencukupi. Oleh karena itu penyediaan benih tanaman yang efisien sangat diperlukan agar ketersediaan bahan baku tetap terjamin (Chandana *et al.* 2014).

Keterbatasan ketersediaan serta hambatan budi daya tanaman obat merupakan hal yang dapat memicu panen yang berlebihan. Adanya perusakan habitat, eksplorasi yang berlebihan dapat merusak habitat tumbuhan sehingga menyebabkan punahnya tumbuhan dan memperburuk kondisi sumber daya alam. Pelestarian tumbuhan obat secara *in situ* (pada habitatnya) saat ini sangat sulit diandalkan karena habitat aslinya banyak yang rusak oleh kegiatan eksploitasi, sehingga konservasi *ex situ* (di luar habitatnya) menjadi alternatif (Warseno 2015). Konservasi tumbuhan obat baik secara *in situ* maupun secara *ex situ* (di luar habitatnya) perlu dilakukan untuk menjaga agar plasma nutfah yang sangat berharga tidak punah. Konservasi *ex situ* adalah dengan menanam di lapangan di luar habitatnya seperti di kebun raya (Warseno 2015).

Konservasi secara *in vitro* merupakan teknik konservasi *ex situ* yang paling sesuai untuk diterapkan karena mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan teknik lainnya, seperti penghematan area tanam, tenaga kerja, biaya dan waktu, juga terhindarnya jaminan kehilangan genotipe karena cekaman biotik dan abiotik serta memudahkan dalam pertukaran plasma nutfah (Verma *et al.* 2012; Vinoth & Ravindhran 2013; Wulandari & Ermayanti 2010).

Teknik kultur jaringan dapat dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan bibit tanaman obat berkualitas dalam jumlah banyak. Mengingat kebutuhan benih tanaman obat berkualitas dalam jumlah banyak semakin meningkat, maka perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan pada tanaman obat menjadi penting. Teknik kultur jaringan telah dikembangkan untuk perbanyakan

dan penyimpanan pada tumbuhan obat yang tergolong langka dan spesies tumbuhan obat yang sangat terbatas populasinya di alam (Chandana *et al.* 2014). Manfaat kultur jaringan untuk mendukung perkembangan bioteknologi pada tanaman obat antara lain untuk tujuan perbanyakan benih unggul, perakitan varietas unggul melalui variasi somaklonal, seleksi *in vitro* untuk cekaman lingkungan biotik dan abiotik, pertukaran plasma nutfah dan produksi metabolit sekunder (Chandana *et al.* 2018)

Protokol perbanyakan benih tanaman obat melalui kultur jaringan yang telah diperoleh dan biakan di dalam botol merupakan aset bagi pengusaha yang ingin mengembangkan secara luas untuk jenis-jenis tanaman obat tertentu. Teknologi kultur jaringan pada tanaman obat dapat diaplikasikan untuk: (1) perbanyakan tanaman secara massal; (2) produksi metabolit sekunder; dan (3) pelestarian plasma nutfah termasuk jenis tanaman obat yang populasinya terbatas (hampir punah).

Kultur jaringan tanaman dapat diaplikasikan untuk menyeleksi sel dengan kandungan metabolit sekundernya tinggi serta menghasilkan komposisi media yang optimum untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder di dalam (Karuppusamy 2009). Pendekatan bioteknologi khususnya kultur *in vitro* sangat penting untuk mendapatkan senyawa penting di dalam tumbuhan yang mempunyai kandungan kimia untuk obat, teknik yang dapat dikembangkan antara lain melalui kultur kalus, kultur akar maupun produksi akar rambut melalui transformasi (Rao & Ravishankar 2002).

Tulisan ini ditujukan untuk mengulas tentang peluang dan manfaat aplikasi kultur jaringan untuk perbanyakan benih tanaman obat, produksi metabolit sekunder dan untuk penyimpanan biakan tanaman obat.

TEKNIK KULTUR JARINGAN UNTUK PERBANYAKAN BENIH TANAMAN OBAT

Masalah yang dihadapi dalam penyediaan benih secara konvensional pada tanaman obat yang mengalami dormansi, adalah tidak ada bakal tunas yang tumbuh pada musim kemarau. Dengan demikian penyediaan benih melalui kultur jaringan menjadi penting, untuk menjaga agar pasokan benih tetap terjaga serta mendapatkan stok tanaman dalam kondisi steril sehingga sewaktu-waktu diperlukan dapat digunakan (Lestari 2008).

Salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan cepat tanaman obat melalui teknologi kultur *in vitro* adalah kemampuan biakan menghasilkan tunas yang banyak pada periode tertentu. Keberhasilan proliferasi tunas ditentukan oleh banyak faktor antara lain sumber eksplan, jenis media dasar, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh serta kondisi lingkungan kultur (Lestari & Hutami 2003). Dengan memanipulasi formula media dasar dan zat pengatur tumbuh dapat mengoptimalkan aktivitas pembelahan sel untuk multiplikasi tunas.

Berikut beberapa jenis tanaman obat yang mempunyai nilai ekonomi dan mempunyai prospek untuk dikembangkan sehingga teknik mikropropagasinya perlu dikuasai. Tanaman obat tersebut antara lain purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.), keladi tikus (*Thyponium flagelliforme*), Inggus (*Ruta angustifolia*), Artemisia (*Artemisia annua* L.), dan pule pandak (*Rauwolfia serpentina*).

Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) merupakan tanaman obat asli Indonesia yang dikategorikan *endangered* atau hampir punah. Tanaman tersebut bernilai ekonomi tinggi karena berkhasiat obat, seperti afrodisiak, diuretik, dan tonik. Seluruh bagian tanaman tersebut dapat digunakan sebagai bahan obat, namun bagian yang paling berkhasiat adalah akarnya. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan juga membenarkan bahwa akarnya mempunyai sifat diuretika dan digunakan se-

bagai aprosidiak, yaitu khasiat obat yang dapat meningkatkan atau menambah stamina (Raharjo *et al.* 2004). Perbanyakan *in vitro* tanaman ini telah berhasil dilakukan dengan menggunakan media MS + kin 10 mg/l (Darwati & Roostika 2006).

Inggu (*Ruta angustifolia*) merupakan tanaman obat yang tergolong langka. Tanaman tersebut berasal dari Afrika Utara, manfaatnya antara lain obat penurun panas, seluruh bagian tanaman inggu dapat dimanfaatkan sebagai obat, dalam tanaman ini terdapat minyak atsiri yang mengandung metil-nonilketone sampai 90%. Protokol perbanyakan secara *in vitro* untuk regenerasi tunas dari eksplan mata tunas telah diperoleh dengan menggunakan media MS $\frac{3}{4}$ + BA 1–5 mg/l + 2,4–D 0,3 mg/l (Yenisbar *et al.* 2014).

Keladi tikus (*Thyponium flagelliforme*) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang bermanfaat dalam penyembuhan penyakit kanker, kandungan kimia pada keladi tikus antara lain alkaloid, saponin, steroid dan glikosida. Perbanyakan tanaman secara *in vitro* telah berhasil dilakukan menggunakan media MS +1–5 mg/l BA + 0,25 mg/l IBA menghasilkan tingkat multiplikasi yang tinggi (Imelda 2003).

Artemisia (*Artemisia annua* L.) merupakan tanaman obat tergolong dalam Familia Asteraceae, tanaman tersebut potensial dikembangkan sebagai obat malaria dengan kandungan artemisinin di dalam batang dan daunnya. Perbanyakan *in vitro* untuk pertunasan telah diperoleh yaitu menggunakan media MS + BA 1,5 mg/l + NAA 0,5 mg/l dan untuk perakaran menggunakan MS+ IBA 0,1 mg/l (Gopinath *et al* 2014).

Pule pandak (*Rauwolfia serpentina*) merupakan tanaman obat yang mempunyai nilai ekonomi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat penurun hipertensi (Lestari & Mariska 2011), pule pandak merupakan anggota Familia Apocynaceae, selain digunakan sebagai bahan baku obat tradisional juga untuk fitofarmaka, kandungannya antara lain reserpin, resinamine dan ajmalin (Yunita & Lestari 2011). *R. serpentina* merupakan salah

satu jenis tanaman obat yang sudah dinyatakan langka dan sudah terancam punah, simplisianya diperoleh dengan cara mengumpulkan langsung dari alam (hutan), oleh karena permintaan yang cukup tinggi mengakibatkan pemanenan berlebihan. Faktor lain penyebab kelangkaan *R. serpentina* adalah bagian yang dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah akar, tanaman ini sulit diperbanyak secara konvensional dan penyebarannya terbatas, yaitu hanya di pegunungan di wilayah tertentu. Kebutuhan tanaman tersebut terus meningkat sementara penyediaan bahan baku tidak sesuai dengan kebutuhan (Lestari & Mariska 2011). Perbanyakkan tanaman untuk produksi benih secara *in vitro* telah berhasil dilakukan menggunakan media MS + 0,1 mg/l BA + 1 mg/l 2-iP (Yunita & Lestari 2011) dan menggunakan media MS + BA 0,8 mg/l (Lestari & Mariska 2011).

Adas (*Foeniculum fulgare*. Mil) merupakan tanaman obat yang biasa digunakan sebagai bumbu, tanaman ini tergolong dalam Familia Apiaceae, tanaman tersebut mengandung anetol, minyak atsiri, felandren, metilchavikol, pinen, limonen. Perbanyakkan tanaman secara *in vitro* telah berhasil menggunakan media MS + NAA 1 mg/l + BA 1 mg/l untuk pembentukan tunas (Abd-Allah *et al.* 2015).

Daun dewa (*Gynura pseudochina*) merupakan tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan karena mempunyai kandungan bahan kimia yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti payudara bengkak, mengobati luka memar dan stroke, tanaman daun dewa mengandung saponin, flavonoid dan minyak atsiri. Metode perbanyakannya secara *in vitro* telah diperoleh dengan menggunakan media MS + BA 2 mg/l + NAA 1 mg/l (Kung *et al.*, 2009).

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang banyak digunakan oleh masyarakat. Jahe merupakan salah satu di antara lima belas tanaman obat unggulan yang memiliki prospek untuk dikembangkan secara industri. Jahe banyak

mengandung gliserol dan paradol yang berguna sebagai bahan baku farmasi. Tanaman jahe mempunyai banyak kegunaan antara lain sebagai obat flu, menyembuhkan sakit lambung dan radang tenggorokan. Perbanyakannya secara *in vitro* untuk propagasi secara massal telah diperoleh menggunakan media MS+ BA 4,5 mg/l (Abbas *et al.* 2011).

Kencur (*Kaemferia galanga*) merupakan tanaman obat yang banyak dimanfaatkan baik untuk bumbu masakan maupun untuk obat. Kandungan tanaman kencur adalah minyak atsiri yang bermanfaat antara lain untuk menghilangkan lelah, radang anak telinga, memperlancar haid, menghilangkan darah kotor. Perbanyak tanaman telah berhasil dilakukan menggunakan media MS + thidiazuron 0,1 mg/l + BA 3mg/l untuk penggandaan tunas (Lestari & Hutami 2005).

Kunci pepet (*Kaemferia zedoaria*) merupakan tanaman obat potensial sebagai obat anti kanker, kandungannya antara lain saponin, sineol dan metil chavicol. Metode *in vitro* untuk perbanyak benih pada tanaman kunci pepet telah diperoleh menggunakan media MS + BA 1 mg/l + thidiazuron 0,2 mg/l (Lestari & Hutami 2003).

Temu mangga (*Curcuma heyneana*) merupakan tanaman obat yang banyak digunakan sebagai campuran ramuan jamu, manfaatnya antara lain untuk mengecilkan peranakan, pengecil perut, obat sakit perut, peluruh angin. Kandungannya antara lain flavonoid, kurkumin, damar dan ribovlavin. Perbanyak tanaman secara *in vitro* untuk menghasilkan benih secara massal telah diperoleh yaitu dengan menggunakan media dasar Gamborg + kinetin 3–5 + thi 0,5 (Hutami & Purnamaningsih 2003).

Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan tanaman obat yang banyak dimanfaatkan untuk mengobati sakit limpa, sakit kepala, sakit ginjal, dan masuk angin. Komponen kandungan utamanya antara lain kurkumin. Perbanyak tanaman secara *in vitro* untuk produksi benih temu lawak telah ditemukan dengan

menggunakan media MS+ BA 3 mg/l + IBA 1 mg/l (Samanhudi *et al.* 2007).

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman obat potensial untuk dikembangkan. Kandungan kimianya antara lain Isothankunisiide, thankunisiade, asiaticoside, madasiatic acid, brahminoside, brahmic acid, dan madecassoside. Tanaman pegagan bermanfaat untuk obat kulit (koloid), memperbaiki peredaran darah dan gangguan saraf. Perbanyakkan tanaman secara *in vitro* telah diperoleh dengan menggunakan media MS + BA 0,1 mg/l (Kristina & Surahman 2008).

Kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) merupakan tanaman obat yang banyak digunakan sebagai obat diabetes mellitus, disentri, memperlancar ASI, sakit keputihan, dan obat perut mulas saat haid. Kandungan utama pada rimpangnya adalah kurkuminoid. Perbanyakkan tanaman secara *in vitro* telah diperoleh dengan menggunakan komposisi media MS + BA 1,5 mg/l (Yulivar *et al.* 2014).

Metode perbanyakkan tanaman obat yang meliputi jenis eksplan, jenis media dasar serta zat pengatur tumbuh yang umum digunakan untuk perbanyakkan dari beberapa tanaman obat yang telah diuraikan di atas dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Dari uraian dan data yang disajikan pada Tabel 2.1 terlihat bahwa zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin, yaitu BA dan kinetin sering digunakan untuk proliferasi tunas, dan untuk induksi perakaran umumnya digunakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin, yaitu IBA atau IAA. Selain BA dan kinetin penggunaan zat pengatur tumbuh thidiazuron (thi) untuk perbanyakkan tanaman obat sudah berkembang cukup pesat (Lestari 2015).

Tabel 2.1. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk multiplikasi tunas melalui jalur organogenesis

Jenis tanaman	Eksplan	Media dasar + zat pengatur tumbuh (mg/l)	Pustaka
Jahe (<i>Zingiber officinalis</i>)	Tunas rimpang	MS cair + BA 5	Mariska & Syahid 1992
Pulasari (<i>Alyxia stellata</i>)	Setek 1 buku	MS + BA 3 + NAA 0,1	Lestari & Mariska 1992
Pule pandak (<i>Rauwolfia serpentina</i>)	Setek 1 buku kalus	MS + BA 0,8	Seswita <i>et al.</i> 1993
Purwoceng (<i>Pimpinella pruatjan</i>)	Mata tunas	MS + kin 10	Yunita & Lestari 2007
Inggu (<i>Ruta angustifolia</i>)	Mata tunas batang dan daun	MS ¾ +BA1 MS + 2,4-D 0,3 mg/l + BA 1,5 mg/l	Darwati & Roostika 2006
Daun dewa (<i>Gynura procumbens</i>)	Mata tunas	MS + BA 2	Lestari & Purnamaningsih 1999
Kencur (<i>Alpinia rotunda</i>)	Rimpang	MS+ BA 2 + IAA 1	Seswita <i>et al</i> 1994.

KULTUR JARINGAN UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER TANAMAN OBAT

Tanaman obat merupakan salah satu sumber bahan baku obat, sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau bahan obat merupakan metabolit sekunder (Raji 2005). Sampai saat ini seperempat dari obat-obat modern yang beredar di dunia berasal dari bahan aktif yang diisolasi dan dikembangkan dari tanaman. Metabolit sekunder sebagai bahan bioaktif dapat diperoleh dengan cara mengeks-traksi langsung dari organ tanaman (Ningsih 2014). Permasalahannya apabila bahan baku obat herbal diambil dari tanaman induknya, dikhawatirkan menyebabkan punahnya sumber hayati tersebut (Raji 2005).

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang berasal dari tanaman yang memiliki kemampuan bioaktif dengan struktur yang beragam (Bourgaud *et al.* 2001; Saraswati 2012). Dengan berkembangnya bioteknologi dapat berperan dalam budi daya tanaman, rekayasa genetik dan skrining mikroba endofit yang

dapat menghasilkan metabolit sekunder dalam rangka pengembangan bahan obat yang berasal dari tanaman obat

Metabolit sekunder biasanya digunakan organisme untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Pada tumbuhan obat, metabolit sekunder memiliki beberapa fungsi, diantaranya sebagai atraktan (menarik serangga penyerbuk), melindungi dari stres/cekaman lingkungan, pelindung dari serangan hama/penyakit (phitoaleksin), pelindung terhadap sinar ultra violet, sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain (alelopati) (Bourgau *et al.* 2001; Saraswati 2012). Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman berguna untuk obat-obatan, insektisida, pengharum, pemberi rasa, bahan pewarna serta fungsi lainnya (Saraswati 2012).

Produksi metabolit sekunder pada tanaman obat melalui teknik kultur jaringan telah dilakukan, seperti produksi *solasodine* yang diisolasi dari kultur kalus *Solanum eleagnifolium*, alkaloid *cephaelin* dan *emetine* diisolasi dari kultur kalus tanaman *Cephaelis ipecacuanha* (Jha *et al.* 1988). Demikian juga dengan alkaloid penting lainnya seperti *quinoline* diisolasi dari kultur jaringan *Cinchona ledgeriana*, diosgenin dari kultur jaringan *Dioscorea deltoidea* (Ravishankar *et al.* 1991). Menggunakan kultur sel (kultur suspensi), memungkinkan memperoleh produk metabolit sekunder alami secara berkelanjutan (Vinoth & Ravindhran 2013).

Kultur kalus telah dikembangkan untuk memproduksi beberapa produk metabolit sekunder penting antara lain *vasine* yang diisolasi dari *Adhatoda vasica* melalui kultur kalus menggunakan media MS + 2,2 μ M BAP + 10,7 μ M NAA dari eksplan petiole dan daun. Hasil yang diperoleh menunjukkan 90% menghasilkan kalus pada hari ke-7 dengan konsentrasi metabolit sekunder 3,2% (Shalaka & Sandhya 2009). Asam rosmarinik merupakan komponen phenolik aktif salah satu senyawa aktif dari *Agastache rugosa* Kuntze berfungsi sebagai antioksidan, anti pembengkakan

dan anti virus. Produksi asam rosmarinik secara *in vitro* telah berhasil dilakukan menggunakan kultur akar rambut *A. rugosa* dengan menginfeksi daun dan batang menggunakan *Agrobacterium rhizogenes* R1000, dikulturkan pada media MS cair. Setelah 14 hari diperoleh asam rosmarinik sebanyak 116 mg/g berat basah (Lee *et al.* 2007).

Produksi metabolit sekunder untuk tujuan komersial telah dilakukan menggunakan bioreaktor. Penggunaan bioreaktor untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder secara komersial, jauh lebih efisien jika dibandingkan dengan cara konvensional. Menggunakan sistem bioreaktor dapat digunakan untuk menghasilkan saponin sebesar 500 mg/l/hari dari bioreaktor kultur jaringan akar pohon ginseng (Park *et al.* 1992) dan produksi alkaloid *ginsenoside* dari kultur akar *panax ginseng* dengan sistem bioreaktor berskala besar 1-10 ton (Hahn *et al.* 2003). Di Jepang telah diproduksi metabolit sekunder dalam skala besar melalui kultur sel yaitu shikonin, ginsenosides dan berberin (Bourgaud *et al.* 2001). Teknik bioreaktor juga telah berhasil dilakukan untuk memproduksi zat anti kanker dari beberapa spesie tanaman *Taxus*, cara ini jauh lebih efisien dibandingkan dengan produksinya dengan cara konvensional dimana untuk mendapatkan 1 kg komponen aktif taxol harus menebang 1 pohon *Taxus* yang kira-kira telah berumur 100 tahun (Muhlba 1998).

Beberapa keuntungan pemakaian teknik kultur jaringan tanaman untuk produksi senyawa metabolit sekunder antara lain: (1) Dapat dilakukan sepanjang waktu, tidak tergantung faktor lingkungan seperti iklim, hama penyakit, hambatan-hambatan geografi dan musim; (2) Sistem produksinya dapat diatur, dimana produksi dapat dilakukan pada saat dibutuhkan dan dalam jumlah yang diinginkan, sehingga mendekati keadaan pasar yang sesungguhnya; (3) Kualitas dan hasil produknya lebih konsisten; dan (4) Mengurangi penggunaan lahan untuk tujuan tersebut (Sulichanthini 2015; Paek *et al.* 2005).

Keberhasilan teknik kultur jaringan untuk produksi metabolit sekunder ditentukan oleh beberapa faktor antara lain media kultur dan eksplan yang digunakan (Bourgaud *et al.* 2001). Beberapa strategi dapat digunakan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder antara lain menggunakan elisitor (Bourgoud *et al.* 2001), yaitu dengan memberikan perlakuan cekaman fisik maupun kimia pada kultur sehingga akan memacu produksi metabolit sekunder, elisitor biotik yang dapat digunakan antara lain: *chitosan* dan berbagai ekstrak protein. Cekaman abiotik yang dapat digunakan antara lain pengaturan temperatur, sinar UV dan pH lingkungan tumbuh.

PENYIMPANAN TANAMAN OBAT LANGKA SECARA *IN VITRO*

Beberapa tanaman obat mengalami eksploitasi yang berlebihan karena mempunyai nilai ekonomis yang tinggi tetapi tidak ditunjang dengan budi daya yang berkelanjutan sehingga mengalami kelangkaan. Beberapa tanaman obat lainnya juga dapat mengalami kelangkaan karena belum diketahui manfaatnya sehingga tidak dibudi dayakan oleh petani. Beberapa tanaman obat yang mengalami kelangkaan, antara lain Purwoceng (Roostika *et al.* 2008), Pule pandak (*Rauwolfia serpentina*) (Yunita & Lestari 2011); Inggau (*Ruta angustifolia*) (Yenisbar 2013), Temuputi (*Curcuma petiolata* Roxb.) (Lestari & Supriyati 2001); Pronojiwo (*Euchresta horsfieldii*), Pulosari (*Alyxia reinwardii*) (Hidayat & Risna 20017).

Keuntungan penyimpanan tanaman obat secara *in vitro* antara lain: (1) penyimpanan plasma nutfah dapat dilakukan pada tanaman yang sudah langka atau mempunyai nilai ekonomi tinggi; (2) biakan yang disimpan dapat sewaktu-waktu diregenerasikan untuk diperbanyak kembali (Verma *et al.* 2012). Verma *et al.* (2012) telah berhasil mengkonservasi 23 tanaman obat secara *in*

vitro. Syahid (2007) melakukan penyimpanan pada biakan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) menggunakan zat penghambat tumbuh paclobutrazol konsentrasi 5 mg/l dapat mengurangi frekuensi subkultur menjadi tujuh bulan yang semula setiap dua bulan.

Pada tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan*), konservasi *in situ* yaitu di habitat aslinya sulit dilakukan karena rusaknya habitat alami (hutan konservasi), sedangkan konservasi *ex situ* di tempat lain menghadapi kendala karena purwoceng sulit dibudi dayakan di luar habitat aslinya (Roostika *et al.* 2008), sehingga konservasi secara *ex situ* menggunakan teknik kultur jaringan menjadi alternatif (Roostika *et al.* 2006). Biakan purwoceng dapat disimpan selama 4 minggu dengan teknik enkapsulasi tunas pucuk *in vitro* menggunakan 2,5% Na Alginat dan media DKW + BA 4 ppm dalam CaCl_2 selama 15 menit (Roostika *et al.* 2006). Saat ini purwoceng ditanam oleh petani di wilayah yang sangat sempit, yaitu di Desa Sekunang, Dataran Tinggi Dieng (Syahid *et al.* 2005). Dengan demikian, pada tanaman tersebut, konservasi secara *in vitro* menjadi alternatif yang dapat diandalkan untuk menghindari kepunahan tanaman (Roostika *et al.* 2009).

Teknik penyimpanan secara *in vitro* untuk koleksi aktif umumnya dilakukan dalam keadaan tumbuh normal dengan menggunakan formulasi media untuk perbanyakan (Dewi *et al.* 2015). Dengan teknik tersebut memerlukan subkultur berkali kali sehingga sangat menyita waktu serta penggunaan media tumbuh tidak sedikit. Untuk mengurangi frekuensi subkultur maka penyimpanan biakan dapat dilakukan dengan metode penyimpanan pertumbuhan lambat melalui penghambatan laju pertumbuhan disebut dengan penyimpanan dalam kondisi minimal.

Teknik pertumbuhan minimal paling banyak diterapkan di Indonesia karena efisien, risiko kontaminasi dan mutasi lebih rendah, dan sumber daya yang tersedia memadai (Rahayu 2014). Prinsip teknik pertumbuhan minimal adalah memberi kondisi

agar eksplan (bahan tumbuhan yang disimpan) melakukan metabolisme dan pertumbuhan dalam kecepatan rendah dengan mengatur komposisi medium dan lingkungan fisik kultur, yaitu menurunkan kadar nutrisi, menambahkan zat osmoregulator, menambahkan zat penghambat, dan menyimpan kultur dalam temperatur, intensitas cahaya, serta lama penyinaran di bawah titik optimal. Karena metabolisme eksplan lambat maka tidak perlu terlalu sering dilakukan subkultur yang bermuara pada pemborosan bahan, waktu, dan tenaga (Engelmann 2011).

Penyimpanan biakan daun dewa (*Gynura procumbens*) menggunakan media MS $\frac{1}{2}$ + ABA 5 mg/l mampu menghambat pertumbuhan sampai 7 bulan (Lestari & Purnamaningsih 2005). Untuk mencapai tujuan tersebut umumnya digunakan senyawa penghambat pertumbuhan seperti paclobutrazol, cycocel, ancymidol, dan inhibitor asam absisat, serta komponen osmotik seperti sorbitol atau manitol. Tujuannya untuk memperpanjang masa simpan *in vitro* karena senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai osmoregulator (Dewi *et al.* 2015; Shawky & Aly 2007). Selain menggunakan senyawa penghambat, penghambatan pertumbuhan dapat juga dilakukan dengan mengencerkan media dasar menjadi setengah atau seper empatnya, atau dengan pengurangan komposisi garam medium, penyimpanan pada suhu rendah, pengenceran garam-garam mineral, dan penurunan konsentrasi sukrosa (Pookmanee *et al.* 2001).

Paclobutrazol (PBZ) merupakan senyawa organik sintetik yang dapat menghambat urutan reaksi oksidasi dari ent-kaurene menjadi asam ent-kaurenoid dalam pembentukan asam giberelin (GA) yang sering ditambahkan ke dalam media kultur untuk memperpanjang masa simpan (Dewi *et al.* 2015). PBZ dapat memperbaiki penampilan tanaman yang disimpan dan memperpanjang masa simpan pada penyimpanan beberapa aksesori ubi jalar (Roostika & Sunarlim 2001).

Selain menggunakan teknik pertumbuhan minimal, metode kriopreservasi juga dapat diterapkan untuk penyimpanan jangka panjang (Roostika & Mariska 2003). Penggunaan metode kriopreservasi dapat mengatasi masalah keterbatasan ruang melalui penyimpanan dalam tangki (*cryo container*) dengan jaminan stabilitas genetik pada materi yang disimpan (Matsumoto 2017). Sebagai contoh sebuah tabung kriopreservasi yang memuat enam rak dengan kapasitas 11 kotak per rak dan 120 tabung perkotak akan menampung 7920 tabung. Apabila satu tabung diisi dengan 20 eksplan koleksi tanaman obat, maka satu *container* dapat menampung sekitar 158 ribu eksplan (Leunufna 2007). Untuk penyimpanan jangka panjang menggunakan teknik kriopreservasi dapat menggunakan eksplan tunas pucuk (Niino *et al.* 2015).

Teknik kriopreservasi merupakan penyimpanan materi genetik tanaman termasuk tanaman obat pada suhu sangat rendah dalam nitrogen cair (suhu -196°C). Teknik ini ideal untuk menyimpan plasma nutfah jangka panjang karena tidak diperlukan sub kultur (Matsumoto 2017; Niino *et al.* 2015). Melalui penyimpanan pada nitrogen cair (suhu -196°C), materi kriopreservasi dapat bertahan hingga waktu tak terbatas dan diasumsikan dapat menjaga konsistensi genetik ketika dipanaskan kembali (Matsumoto 2017). Selanjutnya koleksi kriopreservasi dapat mengurangi ketergantungan pada aliran listrik karena nitrogen cair dapat ditambahkan secara manual (Leunufna 2007). Kriopreservasi sebagai sarana untuk penyimpanan jangka panjang dengan waktu tak terhingga (dengan catatan masukan nitrogen cair dilakukan secara rutin) akan meniadakan perlunya penanaman kembali atau subkultur, memungkinkan pemanfaatan yang efisien dari tenaga teknis yang terbatas serta mengurangi biaya operasional sebagaimana terjadi pada koleksi lapang dan koleksi *in vitro* (Leunufna 2007; Niino *et al.* 2015).

Penyimpanan plasma nutfah secara *in vitro* sangat menguntungkan karena mempunyai potensi untuk koleksi, pertukaran

aksesi antar laboratorium dan konservasi termasuk sumber daya genetis dari benih-benih rekalsitran (benih yang kadar airnya tinggi sehingga tidak dapat disimpan pada temperatur dan kelembaban rendah); semirekalsitran (benih dengan kadar air sedang sehingga tahan kelembaban rendah tetapi tidak mampu disimpan pada temperatur rendah), dan spesies yang diperbanyak secara vegetatif dan dalam kondisi terancam punah (Donowati *et al.* 2004). Adanya bencana alam seperti kekeringan dan banjir atau kebakaran hutan dapat mengancam punahnya akses tumbuhan yang sudah langka sehingga penyimpanan plasma nutfah secara *in vitro* menjadi penting.

KESIMPULAN

Teknik kultur jaringan sangat besar potensinya untuk mendukung program pengadaan benih tanaman obat secara komersial sebagai sarana pengadaan benih berkualitas dalam jumlah besar dan kontinu.

Kultur jaringan mempunyai peran penting untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder dari tanaman yang berguna untuk pengobatan, produksi metabolit sekunder menggunakan teknik kultur jaringan lebih menguntungkan karena tidak tergantung musim dan produk yang dihasilkan dapat dipanen sewaktu-waktu.

Penyimpanan plasma nutfah tanaman obat khususnya yang sudah pada tahap langka secara kultur *in vitro* sangat menguntungkan karena dapat digunakan sewaktu-waktu dan tidak memerlukan areal yang luas serta terhindar dari kehilangan genotipe karena bencana alam. Teknik konservasi ini lebih efisien ditinjau dari segi tempat, tenaga dan biaya dibandingkan dengan konservasi di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas MS, Taha S, Aly UI, Hattem M, El-Shabrawi HM, Gaber HSI, El-Sayed I. (2011). *In Vitro* propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosco). J Genet Eng Biotechnol. 9:165-172.
- Abd-Allah RH, Zeid EMA, Mahmoud M, Zakaria, Eldahmy SI. (2015). Micropropagation of wild fennel (*Foeniculum Vulgare* Var. *Vulgare*) via organogenesis and somatic embryogenesis. J Dev Biol Tissue Eng. 7:1-10.
- Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gonteur E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. Plant Sci. 161:839-851.
- Chandana BC, Nagaveni HCK, Heena MS, Kolakar SS, Lakshmana D. (2018). Role of plant tissue culture in micropropagation, secondary metabolite production and conservation of some endangered medicinal crops. J Pharmacogn Phytochem. SP3:244-251.
- Darwati I, Roostika I. (2006). Status penelitian purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) di Indonesia. Bul Plasma Nutfah. 12:19-15.
- Dewi N, Sabda M. (2005). Pelestarian *In Vitro* pada plasma nutfah ubi jalar, ubi kayu, dan talas. Kumpulan makalah seminar hasil penelitian 2004. Bogor (Indonesia): Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik.
- Dewi N, Dewi IS, Roostika I. (2015). Pemanfaatan teknik kultur *in vitro* untuk konservasi plasma nutfah ubi-ubian. J AgroBiogen. 10:34-44.
- Donowati ST. (2004). Konservasi plasma nutfah secara *in vitro*. J Teknol Lingkungan. P3TL-BPPT. 5:140-143.

- Engelmann F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In vitro Cell Dev Biol Plant*. 47:5-16.
- Gopinanth B, Gandhi K, Saravasan S.(2014). *In vitro* propagation of an important medicinal plant *Artemisia annua* C from axillary bud explant. *Plagia Research Library. Adv Appl Sci Res*. 5:254-258.
- Hahn EJ, Kim YS, Yu KW, Jeong CS, Paek KY. (2003). Adventitious root cultures of panax ginseng and ginsenoside production through large scale bioreactor system. *J Plant Biotechnol*. 5:1-6.
- Hidayat S, Risna RA. (2007). Kajian ekologi tumbuhan obat langka di taman nasional Bromo Tengger Semeru. *Biodiversitas*. 8:169-173.
- Imelda M. 2003. Perbanyak *in vitro* keladi tikus (*Thyponicum flageliforme* (Lodd).BI), tanaman yang berpotensi sebagai obat anti kanker. *Berita Biol*. 6:569-573.
- Jha S, Sahu NP, Mahato SB. (1988). Production of the alkaloids emetine and cephaelin in callus cultures of cephaelis ipecacuanha. *Planta Med*. 54:504-506.
- Karuppusamy S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. *J Med Plants Res*. 31:1222-1239.
- Keng CI, Yee LS, Pin PL. (2009). Micropropagation of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. An important medicinal plant. *J Med Plants Res*. 3:105-111.
- Khan MT, Lampronti HL, Martello D, Bianchi N, Jabbar S, Choudhuri MSK, Datta BK, Gambari R. (2002). Identification of pyrogallol as an anti-proliferative compound present in extracts from the medicinal plant *Emblica medicinalis*: Effect on

- in-vitro* cell growth of human tumor cell lines. Int J Oncol. 21:187-92.
- Kristina NN, Surachman D. (2008). Multiplikasi tunas dan aklimatisasi pegagan (*Centella asiatica* L.) periode kultur lima tahun. J Littri. 14:30-35.
- Lee SY, Kim YK, Park SU. 2008. Rosmarinic acid production in hairy root cultures of *Agastache rugosa* .Kuntze. 24:969-972.
- Lestari EG, Mariska I. 1992. Mikropropagasi tanaman obat langka *Alyxia stellata*. Prosiding Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi I. Puslitbang Bioteknologi LIPI. 11-12 Pebruari. Bogor.
- Lestari EG, Husni A. (1994). Regenerasi tunas adventif dari jaringan batang dan kalus pada tanaman Inggu. Prosiding Simposium Puslitbangtri. 21-23 November. Cipayung.
- Lestari EG, Purnamaningsih R. (1994). Mikropropagasi daun dewa melalui kultur *in vitro*. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VII. 24-25 November. Bogor.
- Lestari EG, Supriyati Y. (2001). Penyimpanan temu putri (*Curcuma petiolata* Roxb.) melalui pertumbuhan minimal. BiosMART. 3:24-28.
- Lestari,EG, Hutami S. (2003). Perbanyakkan cepat kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Rosc) melalui kultur *in vitro*. BioSmart. 5:102-105.
- Lestari EG, Purnamaningsih R. (2005). Penyimpanan *in vitro* tanaman obat Daun Dewa melalui pertumbuhan minimal. J AgroBiogen. 1: 68-72.
- Lestari EG, Hutami. S. (2005). Produksi bibit kencur (*Kaempferia galanga* L.) melalui kultur jaringan. Berita Biol. 7:315-321.

- Lestari EG. (2008). Kultur jaringan tanaman. Bogor (Indonesia): Aka Demia. 60 hlm.
- Lestari EG. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Agrobiogen*. 7: 63-68.
- Lestari EG, Mariska I. (2011). Perbanyakan dan penyimpanan tanaman *Rauwolfia serpentina* secara *in vitro*. *Bul Plasma Nutfah*. 7:40-45.
- Lestari EG. (2015). Peran thidiazuron dalam peningkatan kemampuan proliferasi tanaman secara *in vitro*. *Penelit Pengemb Pertan*. 34:87-93.
- Leunufna S. (2007). Kriopreservasi untuk konservasi plasma nutfah tanaman: Peluang pemanfaatannya di Indonesia. *J AgroBiogen*. 3:80-88.
- Manalu MM, Wirasutisna KR, Elfahmi. (2012). Produksi senyawa metabolit sekunder melalui kultur jaringan dan transformasi genetik *Artemisia Annua* L. *Acta Pharm Indones*. XXXVII:23-27.
- Mariska I, Syahid SF. (1992). Perbanyakan vegetatif melalui kultur jaringan pada tanaman jahe. *Bul Littri*. 4:1-5.
- Mariska I. 2002. Perkembangan penelitian kultur *in vitro* pada tanaman industri, pangan, dan hortikultura. *Bul AgroBio*. 5(2): 45-50.
- Matsumoto T. (2017). Cryopreservation of plant genetic resources: Conventional and new methods. *Rev Agric Science* 5:13-20.
- Muhlbach H. (1998). Use of plant cell cultures in biotechnology. *Biotech Ann Rev*. 4:113-171.
- Niino T, Arizaga MV. 2015. Cryopreservation for preservation of potato genetic resources. *Breed Sci*. 65:41-52.

- Ningsih IY. (2014). Pengaruh elisitor biotik dan abiotik pada produksi flavonoid melalui kultur jaringan tanaman. *Pharmacy*.11:117-132.
- Paek KY, Chakrabarty D, Hahn EJ. (2005). Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. *Plant Cell Tissue Org Cult*. 81:287-300.
- Paek KY, Hahn EJ, Son SH. (2001). Application of bioreactors for large-scale micropropagation systems of plants. *In vitro Cell Dev Biol Plant*. 37:149-157.
- Park JM, Yoon SY. (1992). Production of sanguinarine by suspension culture of *Papaver somniferum* in bioreactors. *J Ferm Bioeng*. 74:292-296.
- Pookmanee T, Amphawan, Topoonyanont RN, Wichit N. (2001). *In vitro* germplasm preservation of *Amorphophallus oncophyllus* Prain ex Hook. F. Proceeding of the 3rd Maejo University Annual Conference, Maejo University, Chiang Mai, Thailand. p. 145-155.
- Rahayu ES. (2014). Konservasi plasma nutfah tumbuhan secara *in vitro*: Potensi dan kontribusinya dalam mewujudkan unnes sebagai universitas konservasi. Prosiding Seminar Nasional Konservasi dan Kualitas Pendidikan. Semarang (Indonesia): UNNES. hlm. 113-123.
- Raharjo M, Wahyuni S, Trisilawati O, Djauharia E. (2005). Ciri agronomis, dan lingkungan tumbuh tanaman obat langka purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII Bogor 15-16 September.
- Radji M. (2005). Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Maj Ilmu Kefarm*. II:113-126.

- Rao SR, Risvanhankar GA. (2002). Plant cell culture:chemical factories of secondary metabolites. *Biotchnol Adv.* 20:101-153.
- Ravishankar GA, Grewal S. (1991). Development of media for growth of *Dioscorea deltoidea* cells and *in vitro* diosgenin production: Influence of media constituents and nutrient stress. *Biotechnol Lett.* 13:125-130.
- Riyadi I, Tahardi TS. (2009). Perbanyakin *in vitro* Kina (*Theobroma ledgeriana* Moer) melalui tunas aksilar dan apikal. *Menara Perkeb.* 77:36-46.
- Roostika I, Sunarlim N. (2001). Penyimpanan *in vitro* tunas ubi jalar dengan penggunaan paclobutrazol dan ancymidol. *J Pen Pert Tan Pangan.* 20:48-56.
- Roostika I, Mariska I. (2003). Pemanfaatan Teknik Kriopreservasi dalam Penyimpanan Plasma Nutfah Tanaman. *Bul Plasma Nutfah.* 9:10-18.
- Roostika I, Darwati I, Mariska I. (2006). Regeneration of *Pimpinella pruatjan* Molk: axillary bud proliferation and encapsulation. *J AgroBiogen.* 2:68-73.
- Roostika I, Rahayu S, Sunarlim N. (2008). Kriopreservasi tanaman obat langka purwoceng dengan teknik enkapsulasi-vitrifikasi. *Bull Plasma Nutfah.* 14:49-56.
- Roostika I, Purnamaningsih R, Darwati I. (2009). Penyimpanan *in vitro* tanaman Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) melalui aplikasi pengenceran media dan paclobutrazol. *J Littri.* 15:84-90.
- Samanhudi A, Yunus, Pujiasmanto B, Saras A. (2017). *In vitro* propagation of Temulawak (*Curcuma zanthorriza*). *J Jamu Indones.* 2:37-42.

- Saraswati RD. (2012). Kajian potensi penggunaan bioreaktor senyawa ajmalisin suatu contoh produksi metabolit sekunder tanaman obat. *J Kefarm Indones.* 2:28-34.
- Seswita D, Mariska I, Lestari EG. (1993). Perbanyakkan tanaman obat langka *Rauwolfia serpentina* melalui kultur jaringan. *Bul Littri.* (6):5-9.
- Shalaka DK, Sandhya P. (2009). Micropropagation and organogenesis in *Adhatoda vasica* for the estimation of vasine. *Pharmacogn Mag.* 5:339-363.
- Shawky B, Aly UI. (2007). *In vitro* conservation of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) germplasm. *Int J Agric Biol.* 9:404-407.
- Sulichantini ED. (2015). Produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan. Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1. Samarinda, 5-6 Juni 2015.
- Syahid SF, Rostiana O, Miftakhurohmah. (2005). Pengaruh NAA dan IBA terhadap perakaran Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* molk.) *in vitro*. *J Littri.* 11:146-15
- Syahid SF. 2007. Pengaruh retardan paclobutrazol terhadap pertumbuhan Temu Lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) selama konservasi *in vitro*. *J Penelit Tanam Ind.* 13:93-98.
- Umar MR. (2006). Keanekaragaman spesies tumbuhan berhasiat obat yang dimanfaatkan masyarakat Desa Paselloreng, Kabupaten Wajo. Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya dan Keanekaragaman Hayati Secara Berkelanjutan. Makassar (Indonesia): UNHAS-LIPI.
- Verma P, Kumar A, Mathur, Jain PS, Mathur A. (2012). Research article *in vitro* conservation of twenty-three over exploited medicinal plants belonging to the Indian Sub Continent. *Sci Word J.* Vol 2012, 1–10. Doi:10.1100/2012/929650.

- Vinoth A, Ravindhran R. (2013). *In vitro* propagation-a potential method for plant conservation. Int J Comput Algorithm. 2:268-272.
- Warseno T. (2015). Konservasi *ex situ* secara *in vitro* jenis-jenis tumbuhan langka dan kritis di Kebun Raya “Eka Karya” Bali. Pros Semin Nas Masy Biodiv Indones. 1:1075-1082.
- Wulandari DR, Ermayanti TM. (2010). Konservasi *in vitro* Nilam (*Pogostemon cablin*, benth.). Berk Penelit Hayati. Edisi Khusus: 4A:71-76.
- Yenisbar Yarni, Rizki A. (2013). Multiplikasi tunas tanaman Inggu (*Ruta angustifolia* L.) secara *in vitro* dengan penambahan benzyl adenin. E-J Widya Kesehat Lingkung. 1:1-6.
- Yulizar DR, Noli ZA, Idris M. (2014). Induksi tunas kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) pada media ms dengan penambahan berbagai konsentrasi BAP dan sukrosa secara *in vitro*. J Chem Inf Model. 3:310-316.
- Yunita R, Lestari EG. (2008). Komonikasi pendek: Perbanyak tanaman *Artemisia annua* secara *in vitro*. J AgroBiogen. 4:41-44.
- Yunita R, Lestari EG. (2011). Perbanyak tanaman Pulai Pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) dengan teknik kultur jaringan. J Natur Indones. 14:68-72.