I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tumbuhan merupakan produsen alami senyawa kimia karena dapat menghasilkan senyawa metabolit, salah satunya adalah metabolit sekunder. Metabolit sekunder disintesis secara spesifik pada fase tertentu dan berfungsi sebagai agen pertahanan, atraktan serta komponen adaptasi stres lingkungan. Contoh metabolit sekunder di antaranya adalah alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan tanin (Muthmainnah, 2019). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa organik non-esensial, turunan dari metabolit primer yang terdapat pada tumbuhan dengan jumlah dan kadar yang sedikit (Astuti dan Respatie, 2022). Senyawa metabolit sekunder umumnya mempunyai bioaktivitas sehingga metabolit sekunder dari tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku utama dalam industri farmasi, kosmetik, dan pangan fungsional (Muthmainnah, 2019).

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) termasuk salah satu tumbuhan obat potensial Indonesia yang kaya akan metabolit sekunder. Daun tempuyung secara empiris dan klinis teridentifikasi mengandung senyawa flavonoid, silika, kalium, dan taraksasterol yang efektif dalam meluruhkan batu ginjal (nefrolitiasis), menurunkan kadar asam urat serta berfungsi sebagai antiinflamasi (Hapsari dkk., 2018). Namun, pemanfaatan tempuyung saat ini masih sangat bergantung pada pemanenan langsung dari alam atau budidaya konvensional. Metode konvensional ini menghadapi tantangan besar terkait inkonsistensi mutu akibat faktor cuaca, serangan hama dan degradasi

lingkungan yang mengancam keberadaan populasi tanaman di alam. Urgensi penerapan teknologi kultur *in vitro* diperlukan sebagai solusi alternatif untuk memperbanyak tanaman tempuyung secara massal, seragam dan bebas penyakit, sekaligus menjadi sistem produksi metabolit sekunder yang terkontrol tanpa merusak habitat aslinya (Widaryanto dan Azizah, 2018).

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan melalui dua jalur utama, yaitu morfogenesis langsung (*direct morphogenesis*) atau morfogenesis tidak langsung (*indirect morphogenesis*). Morfogenesis langsung merupakan perbanyakan tanaman langsung tanpa perantara atau tanpa melibatkan fase kalus. Morfogenesis tidak langsung merupakan perbanyakan tanaman dengan melibatkan fase pembentukan kalus, sebelum beregenerasi menjadi tanaman utuh (Sriyanti dan Lestari, 2021).

Keberhasilan perbanyakan kultur *in vitro* tempuyung sangat ditentukan oleh keberhasilan tahap awal, yaitu proses sterilisasi eksplan. Eksplan yang diambil dari lapangan (kondisi *ex vitro*) membawa kontaminan permukaan berupa jamur dan bakteri yang tinggi. Penerapan metode dan kombinasi bahan sterilan yang tepat pada eksplan daun tempuyung menjadi faktor penentu utama untuk meminimalkan tingkat kontaminasi. Penggunaan klorox sebagai salah satu agen sterilan eksplan memerlukan kombinasi konsentrasi dan waktu perendaman yang tepat untuk menghasilkan dekontaminasi permukaan yang terbaik sekaligus mempertahankan viabilitas eksplan. Sterilisasi yang efektif berkorelasi langsung dengan peningkatan *survival rate* (tingkat kelangsungan

hidup) eksplan yang menjadi dasar bagi keberhasilan tahapan kultur selanjutnya (Yusnita, 2015).

Tahapan krusial setelah diperolehnya eksplan yang steril dan adaptif adalah proses induksi kalus sebagai jembatan menuju regenerasi tanaman maupun produksi metabolit. Keberhasilan induksi kalus sangat bergantung pada penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang terbaik, khususnya kombinasi antara auksin berupa 2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan sitokinin berupa kinetin (Zouagri dkk., 2025). Auksin 2,4-D berperan kuat dalam memacu pembelahan sel dan dediferensiasi jaringan, sementara kinetin mendukung sinergisme pembelahan sel tersebut (Rahayu dan Suharyanto, 2020). Keseimbangan konsentrasi yang terbaik dari kedua ZPT ini diperlukan untuk mengarahkan sel-sel eksplan agar aktif membelah dan membentuk massa sel yang belum terdiferensiasi atau kalus (Sari dan Hanum, 2020).

Tahapan pembentukan kalus pada eksplan daun tempuyung secara kronologis diawali oleh pembengkakan jaringan akibat kontak dengan media yang mengandung ZPT, diikuti dengan melengkung dan bergelombangnya bekas sayatan hingga terbentuk kalus embriogenik pada area luka tersebut (George dan Sherrington, 2007). Kalus embriogenik merupakan massa sel tak terdiferensiasi yang memiliki kemampuan totipotensi tinggi untuk berkembang menjadi embrio somatik yang nantinya dapat beregenerasi menjadi tanaman utuh (George dan De Klerk, 2008). Kalus embriogenik yang dihasilkan umumnya memiliki karakteristik morfologi berupa tekstur yang remah (*friable*) dan berwarna kuning dengan karakteristik histologi yang ditandai oleh struktur

sel-sel kecil yang tersusun rapat dengan inti sel dan sitoplasma yang terlihat jelas (Rahayu dan Suharyanto, 2020). Karakteristik kalus embriogenik ini sangat penting karena menunjukkan bahwa kalus memiliki totipotensi tinggi untuk beregenerasi menjadi tanaman dewasa yang utuh dan lengkap, maupun digunakan sebagai target transformasi genetik serta kultur suspensi sel (Pardede dkk., 2021).

Penelitian tentang induksi kalus daun tempuyung tergolong masih sedikit. Induksi kalus daun tempuyung yang dilakukan oleh Rahayu dan Suharyanto (2020) dilakukan dengan ZPT 2,4-D dan BAP serta sterilisasi dengan larutan fungisida dan klorox, sedangkan Wahyuni dkk. (2020) telah melakukan induksi kalus dengan kombinasi ZPT IAA, IBA, NAA, BAP dan 2,4-D serta sterilisasi dengan larutan fungisida dan klorox. Keterbaruan penelitian yang dilakukan terletak pada variasi penggunaan ZPT yang dipakai untuk menginduksi kalus, yaitu ZPT 2,4-D dan kinetin serta pengamatan morfologi pada sel kalus yang terbentuk.

B. Rumusan Masalah

1. Berapa konsentrasi klorox dan waktu perendaman yang terbaik dalam meningkatkan *survival rate* pada eksplan daun tempuyung?
2. Berapakah konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang terbaik untuk induksi kalus embriogenik daun tempuyung?
3. Bagaimana tahapan pembentukan dan karakteristik morfologi serta histologi kalus embriogenik yang dihasilkan dari eksplan daun tempuyung?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui konsentrasi klorox dan waktu perendaman yang terbaik dalam meningkatkan *survival rate* pada eksplan daun tempuyung.
2. Mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang terbaik untuk induksi kalus embriogenik daun tempuyung.
3. Mengetahui tahapan pembentukan dan karakteristik morfologi serta histologi kalus embriogenik yang dihasilkan dari eksplan daun tempuyung.

D. Manfaat

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan ide kepada peneliti-peneliti selanjutnya untuk dapat melakukan perbanyakan kalus tempuyung dan mempelajari komposisi ZPT yang tepat dalam melakukan perbanyakan secara kultur *in vitro*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman mengenai pemanfaatan bagian daun tanaman tempuyung sebagai sumber eksplan untuk induksi kalus tempuyung.
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi panduan praktis dan ilmiah untuk peneliti selanjutnya dalam menyediakan data mengenai konsentrasi dan waktu perendaman klorox yang terbaik untuk sterilisasi eksplan daun tempuyung.

4. Kombinasi terbaik antara 2,4-D dan kinetin yang dihasilkan dalam penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan atau *baseline* data bagi peneliti selanjutnya dalam melakukan induksi kalus daun tempuyung.