

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman

Menurut Steenis (1992), Backer dan Brink (1965), klasifikasi benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) adalah berikut ini :

- Divisio : Spermatophyta
- Subdivisio : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Ordo : Santalales
- Famili : Loranthaceae
- Genus : *Dendrophthoe*
- Spesies : *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.

Benalu merupakan tanaman semiparasit, tumbuh pada tanaman berkayu seperti pada mangga, jambu, teh, kelor dan sebagainya. Tanaman berupa perdu. Akar tumbuh menjalar pada inang, warna akar kecoklatan, dan perlekatan kuat. Batang tegak, agak panjang, bulat, warna kusam dan cabang banyak, panjang, membentuk banyak ranting dan ruas tua membesar. Daun berbentuk lanset, kaku, rapuh, dan warna hijau muda sampai hijau tua. Bunga kecil 1-2,5 cm, warna mahkota putih kekuningan, kuning atau merah, berbilang 5 dalam tandan tunggal pada ketiak daun.

B. Kegunaan Tanaman

Benalu telah lama dikenal oleh masyarakat untuk dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Susanto (1990), menyebutkan bahwa kemladean (*D. pentandra*) digunakan dalam pengobatan cacar air dan kanker. Hal ini dinyatakan pula oleh Mardisiswono dan Sudarso (1987), bahwa kemladean berguna bagi pengobatan kanker dengan membuat ramuan dari daun, batang, akar, bunga dan buahnya. Karjono (1999) menyatakan bahwa dengan air rebusan daun benalu dapat menghambat kanker kolon.

Di luar negeri seperti di Vietnam, *D. pentandra* digunakan sebagai obat pilek. Di Malay Pensilvania digunakan untuk mencegah terjangkitnya penyakit setelah melahirkan, selain itu digunakan pula untuk mengatasi sakit akibat luka ringan, luka borok dan bisul serta untuk obat pernafasan (Perry, 1980).

C. Kandungan Senyawa Tanaman

Daun dan batang *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq., menghasilkan suatu metabolit sekunder golongan flavanoid yaitu quercitrin dan pada lilinnya mengandung melisyl alkohol (Ikan, 1969) dan (Perry, 1980). Hartono (1999) menyatakan bahwa senyawa quercitrin berperan menghambat perbanyakan dan peningkatan keganasan kanker.

D.Kultur *In Vitro*

Teknik kultur *in vitro* berdasarkan pada teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu bahwa sel mempunyai kemampuan totipotensi (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Kultur jaringan tanaman atau disebut juga kultur *in vitro* merupakan teknik penanaman/pemuliaan sel, jaringan dan organ tanaman yang telah dipisahkan dari lingkungan alamnya dan ditumbuhkan pada medium buatan yang sesuai dalam keadaan yang steril (Staba, 1980; Dodds and Roberts, 1982; dan Suryowinoto, 1996).

Kultur *in vitro* akan berhasil dengan baik jika memenuhi beberapa persyaratan, yang meliputi faktor eksplan, faktor komponen medium dan faktor lingkungan kultur (Narayanaswamy, 1994; Dodds and Roberts, 1982).

1. Faktor eksplan

Pemilihan eksplan sebagai bahan dasar mempunyai pengaruh penting dalam keberhasilan kultur. Bagian tanaman yang akan dikultur sebaiknya yang masih muda. Eksplan yang dipelihara pada medium dan hormon yang cocok serta dalam keadaan steril akan membentuk kalus.

2. Faktor Komponen Medium

Komponen utama medium kultur *in vitro* meliputi garam anorganik, vitamin, sumber karbon, sumber nitrogen dan zat pengatur tumbuh (hormon). Komponen lain seperti senyawa organik, ekstrak tambahan tidak mutlak namun dapat menguntungkan (Narayanaswamy, 1994).

Garam-garam anorganik meliputi unsur makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien merupakan unsur-unsur yang dibutuhkan

tumbuhan dalam jumlah besar untuk menyokong pertumbuhannya, misalnya C, H, O, N, S, P, K, Ca dan Mg. Mikronutrien merupakan unsur-unsur yang dibutuhkan dalam jumlah kecil, tetapi bila kekurangan atau tanpa unsur ini akan mengganggu pertumbuhan tanaman, misalnya Fe, Mn, Cu, B, Mo, dan Zn (Suryowinoto, 1996).

Gula ditambahkan dalam medium kultur sebagai sumber karbon dan sumber energi yang diperlukan untuk induksi kalus. Sukrosa dan glukosa 2-4% merupakan sumber karbon yang paling cocok (Dodds and Roberts, 1982).

Vitamin diberikan pada medium untuk mempercepat pertumbuhan dan diferensiasi kalus. Vitamin juga berperan dalam reaksi-reaksi enzimatik. Vitamin yang umumnya diberikan pada medium kultur antara lain tiamin HCl, asam nikotinat, piridoksin, dan riboflavin (Dodds and Roberts, 1982; Staba, 1980).

Zat pengatur tumbuh (hormon) diperlukan dalam jumlah yang sangat sedikit namun sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa hormon, pertumbuhan eksplan akan terhambat, bahkan kemungkinan tidak tumbuh sama sekali (Indrianto, 1992). Hormon dalam tanaman terdiri dari 5 kelompok yakni auxin, sitokinin, giberellin, etilene dan inhibitor (Abidin, 1985; Fosket, 1994). Hormon yang ditambahkan di dalam medium kultur umumnya dari kelompok auxin dan sitokinin.

Beberapa senyawa organik tambahan dapat ditambahkan ke dalam medium kultur, misalnya ekstrak buah, air kelapa, kasein hidrosilat, glutamin,

arginin, dan aspargin. Senyawa-senyawa tersebut tidak mutlak diperlukan, tetapi dapat meningkatkan pertumbuhan sel (Wetter dan Constabel, 1991; Narayanaswamy, 1994).

3. Faktor Lingkungan Kultur

Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi berbagai aspek lingkungan, antara lain cahaya, pH, temperatur, oksigen, karbon dioksida dan gas lain pada medium (Narayanaswamy, 1994). Cahaya meliputi intensitas, periode, jenis dan kualitas cahaya. Cahaya ultraviolet mendorong pertumbuhan dan pembentukan tunas dari kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Sel tanaman yang dikembangkan pada kultur *in vitro* mempunyai toleransi pH antara 5,0 – 6,0. Senyawa fosfat berperan penting dalam menstabilkan pH. Unsur besi (Fe) yang terdapat dalam medium juga berfungsi sebagai penyangga (*Chelatin agent*) yang sangat penting untuk mempertahankan kestabilan pH (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Temperatur yang dibutuhkan untuk dapat terjadi pertumbuhan yang optimum berkisar 20 – 30⁰ C (Narayanaswamy, 1994). Menurut (Hendaryono dan Wijayani, 1994), temperatur optimum untuk pertumbuhan kalus adalah sekitar 25⁰ C.

Suryowinoto (1996), Hendaryono dan Wijayani (1994) menyatakan bahwa kultur *in vitro* memiliki manfaat yang besar dibidang farmasi, karena dapat dihasilkan metabolit sekunder yang terbentuk dalam kalus atau protokormus. Melalui teknik kultur *in vitro* untuk mendapatkan metabolit sekunder dari kalus suatu eksplan, diharapkan lebih menguntungkan karena :

- a. Menghemat waktu dan tenaga.
- b. Metabolit yang dihasilkan dari kalus biasanya juga memiliki kadar yang lebih tinggi daripada tanaman utuh.
- c. Metabolit sekunder bermanfaat yang diambil dari kalus dapat ditingkatkan kadarnya dengan cara memanipulasi mediumnya, mengubah salah satu komponen dalam medium, atau memberi zat tambahan tertentu ke dalam medium, contohnya hormon.

Kalus merupakan kumpulan sel-sel amorf yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Inisiasi kalus dapat diperoleh dari semua bagian tumbuhan, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Indrayanto, 1988). Kalus biasanya tumbuh pada tempat irisan, karena sebagai jaringan penutup luka. Kalus biasanya terbentuk pada bagian yang tidak berhubungan langsung dengan medium dan pertumbuhan kalus yang cepat terjadi di daerah perifer (Dodds and Roberts, 1982).

Menurut Mursyidi (1990), metabolit sekunder merupakan zat kimia bukan nutrisi yang berperan penting dalam proses keberadaan dan evaluasi bersama antar jenis dilingkungan. Senyawa ini bersifat spesifik dalam setiap jenis organisme pada umumnya dan pada tumbuhan khususnya. Senyawa bersifat spesifik disebabkan oleh kemampuan sel dalam organ untuk melakukan biosintesis metabolit sekunder sangat tergantung pada jenis enzim yang tersedia.

Tanaman tingkat tinggi diperkirakan memproduksi lebih dari 100.000 jenis metabolit sekunder dengan struktur kimia lebih dari 15.000. Metabolit sekunder

mempunyai banyak kegunaan namun secara ekonomi tidak begitu menguntungkan jika diambil langsung dari tanaman, karena jumlahnya sedikit dan memerlukan waktu yang lama, selain itu metabolit biasanya terdapat di dalam jaringan spesifik (Dennis and Turpin, 1990). Kultur *in vitro* merupakan alternatif untuk pengembangan produksi metabolit sekunder.

E. Medium dan Zat Pengatur Tumbuh (Hormon)

Induksi kalus dapat menggunakan berbagai macam medium dasar yang telah ada, antara lain medium Murashige-Skoog (MS), Gamborg (B5), Schenk-Hildebrandt (SH), White Medium (WM), dan Vacin-Went (VW) atau variasi dari medium-medium tersebut (Narayanaswamy, 1994). Pemilihan nutrisi dan komposisi komponen dalam medium disesuaikan dengan jenis eksplan yang dikultur (Gamborg and Philips, 1995).

Menurut Wetter dan Constabel (1991), medium yang dikembangkan oleh Murashige dan Skoog (medium MS) mempunyai keistimewaan dengan kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi. Medium Gamborg (medium B5) mengandung unsur hara yang lebih rendah daripada medium MS, namun kondisi ini seringkali lebih baik bagi spesies tertentu. Medium MS dan medium B5 mengandung jumlah hara anorganik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur. Menurut Dixon (1985), apabila belum ada informasi yang mendukung dalam pemilihan medium, pelaksanaan kultur dapat dimulai dengan penggunaan medium standar seperti medium MS atau

medium B5. Hendaryono dan Wijayani (1994), menyatakan bahwa medium untuk induksi kalus yang paling banyak digunakan adalah medium MS.

Fosket (1994), menyatakan bahwa hormon mengatur proses fisiologis tumbuhan, meskipun jumlahnya sangat sedikit dalam tanaman. Hormon berperan sebagai sinyal untuk merangsang atau menghambat pertumbuhan atau pun mengontrol berbagai perkembangan tanaman. Hormon tanaman umumnya aktif pada jaringan target spesifik yang jaringan/tempatnya berbeda dengan jaringan/tempat hormon dihasilkan. Menurut George and Sherrington (1984), agar pertumbuhan kalus terjadi, selain zat hara dalam medium diperlukan juga hormon tumbuh. Pengaruh auxin dalam kultur *in vitro* antara lain memacu terbentuknya kalus dari eksplan, namun tidak terjadi diferensiasi sel. Sitokinin berperan untuk merangsang terjadinya pembelahan sel dan pembesaran sel. Dixon (1985), menyatakan bahwa produksi kalus pada medium padat dapat dirangsang dengan auxin saja, tapi dengan ditambahkan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

Kombinasi antara kelompok auxin dan sitokinin dapat memberikan respon yang berbeda tergantung dari spesies, macam organ, umur dan konsentrasi hormon itu sendiri. Kombinasi auxin dan sitokinin yang sering digunakan adalah kombinasi metode Mohr. Metode ini bertujuan untuk mengetahui dosis kombinasi hormon yang dapat memberikan pertumbuhan yang paling baik terhadap eksplan (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Menurut Narayanaswamy (1994), pemberian hormon dalam kultur bervariasi, hormon dapat berupa kombinasi antara auxin dan sitokinin atau dalam bentuk tunggal (auxin saja) dengan konsentrasi yang disesuaikan untuk macam spesies dan organ yang dikultur.

Hormon yang paling sering digunakan dari golongan auxin sintetis adalah 2,4 - diclorofenocsiacetat acid (2,4-D) dan Napthaleneacetat (NAA), karena lebih lambat terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tumbuhan dan lebih stabil pada proses pemanasan/sterilisasi (Wetter dan Constabel, 1991; Hendaryono dan Wijayani (1994). Auxin eksogen seperti NAA dan 2,4-D yang ditambahkan ke dalam medium berguna untuk meningkatkan pertumbuhan sel (Torres, 1989). Auxin 2,4-D digunakan secara luas dalam kultur *in vitro* untuk inisiasi kalus (Smith, 1992).

Smith (1992), menyatakan bahwa sitokinin merupakan turunan basa adenin yang mempunyai peranan penting dalam pengaturan pembelahan sel, proliferasi tunas dan morfogenesis tunas. Sitokinin seperti kinetin atau benzil adenin terkadang dibutuhkan bersama 2,4-D atau NAA untuk memperoleh pembentukan kalus yang baik (Wetter dan Constabel, 1991). Menurut George and Sherrington (1984), sitokinin berperan aktif memacu pembelahan sel pada kultur *in vitro* dan mempercepat pertumbuhan tunas. Pemberian sitokinin yang berlebih pada jaringan tanaman mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan memperlambat inisiasi.

F. Hipotesa

Berdasarkan uraian yang telah tertera di depan maka hipotesis penelitian ini yaitu bahwa pembentukan kalus akan optimal apabila medium dan zat pengatur tumbuh (hormon) yang dipakai dalam kultur *in vitro* adalah cocok/sesuai.