

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP PEMBENTUKAN
DAN PERTUMBUHAN KALUS Solanum khasianum Clarke.
DAN Solanum laciniatum Ait. DALAM KULTUR IN VITRO**

Oleh

NURSANI MONA SURYA

G 20. 1103



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

B O G O R

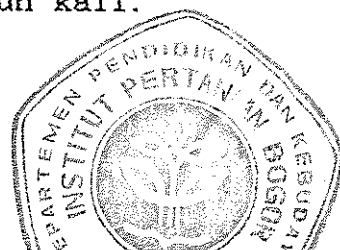
1 9 8 9

RINGKASAN

NURSANI MONA SURYA. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus *Solanum khasianum* Clarke. dan *Solanum laciniatum* Ait. dalam Kultur *In Vitro* (Dibawah bimbingan P.D. TJONDRONEGORO dan IKA MARISKA SUDHARMA).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro), sejak bulan April sampai dengan bulan November 1988. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh auksin (2,4-D), sitokinin (BAP, kinetin), dan air kelapa, terhadap kemampuan pembentukan dan pertumbuhan kalus dari jaringan tanaman *Solanum khasianum* Clarke. dan *Solanum laciniatum* Ait., di dalam kultur *in vitro*.

Perlakuan pada tanaman *S. khasianum* terdiri dari 2 macam yaitu: medium yang terdiri dari kombinasi 11 macam medium yaitu antara 3 dan 4 mg/l 2,4-D dengan 0.5 mg/l BAP atau kinetin serta 15 % air kelapa, dan eksplan yang terdiri dari hipokotil, batang dan daun. Hipokotil merupakan hasil perkecambahan biji *S. khasianum*, sedangkan batang dan daun berasal dari kultur hipokotil yang ditanam dalam medium dasar MS. Rancangan percobaan disusun secara faktorial dengan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing perlakuan diulang sepuluh kali.





Perlakuan pada tanaman *S. laciniatum* terdiri dari 1 macam yaitu, medium yang terdiri dari kombinasi 11 macam medium yaitu antara 3 dan 4 mg/l 2,4-D dengan 0.5 mg/l BAP atau kinetin serta 15 % air kelapa. Eksplan yang digunakan adalah daun yang berasal dari plantlet dalam botol steril. Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap sederhana.

Sub kultur dilakukan pada saat umur kultur berumur 60 hari, kultur pertama disebut *passage 1* dan kultur kedua disebut *passage 2*. Adapun perlakuan medium pada *passage 2* baik untuk *S. khasianum* dan *S. laciniatum* adalah sebanyak 10 perlakuan medium yang terdiri dari 1 sampai dengan 5 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0.5 mg/l BAP ataupun kinetin.

Pengamatan terhadap percobaan meliputi : kecepatan pembentukan kalus, bobot basah kalus pada hari ke-30 dan 60, bobot kering kalus, struktur kalus, warna kalus dan kandungan solasodin. Dari hasil percobaan didapatkan bahwa semua perlakuan menghasilkan respon yang sama, yaitu dapat membentuk kalus, kecuali pada medium dasar MS eksplan *S. khasianum* langsung membentuk plantlet, dan eksplan *S. laciniatum* tidak membentuk plantlet, melainkan terbentuk kalus dalam jumlah kecil yang berbeda nyata dengan perlakuan medium lainnya.



Pemakaian sitokinin baik BAP maupun kinetin pada medium yang sudah mengandung 2,4-D dapat mempercepat pembentukan kalus dan meningkatkan bobot basah kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum*. Pemakaian air kelapa juga dapat mempercepat pembentukan kalus dan meningkatkan bobot basah kalus *S. laciniatum*, tetapi tidak pada kalus *S. khasianum*.

Pada kalus *S. khasianum*, BAP dan kinetin baru memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap bobot basah kalus pada umur 60 hari, sedangkan pada kalus *S. laciniatum*, BAP dan kinetin sudah memperlihatkan pengaruh yang berbeda pada umur 30 hari. BAP kurang efektif dibandingkan kinetin dalam mempengaruhi bobot basah kalus *S. khasianum*, tetapi sebaliknya pada *S. laciniatum*.

Rata-rata kandungan solasodin dari berbagai perlakuan pada kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum* adalah 0.2 % per satu gram berat kering.

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP PEMBENTUKAN
DAN PERTUMBUHAN KALUS *Solanum khasianum* Clarke.
DAN *Solanum laciniatum* Ait. DALAM KULTUR IN VITRO**

Oleh

NURSANI MONA SURYA

G 20.1103

**Laporan Penelaahan Masalah Khusus
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Biologi
pada
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor**

JURUSAN BIOLOGI

B O G O R

1 9 8 9



J u d u l : PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP
PEMBENTUKAN DAN PERTUMBUHAN KALUS
Solanum khasianum Clarke. DAN *Solanum*
laciniatum Ait. DALAM KULTUR *IN VITRO*

Nama Mahasiswa : NURSANI MONA SURYA

Nomor Pokok : G 20.1103

Menyetujui:

Komisi Pembimbing

Ir. P.D. Tjondronegoro, MS.

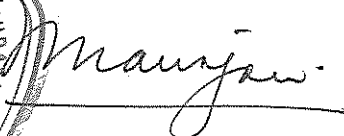
Ketua

Dr. Ir. Ika Mariska Sudharma

Anggota

Mengetahui:




Drh. Ikin Mansjoer, MSc.

Ketua Jurusan Biologi

Tanggal lulus : 29 April 1989

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 20 Januari 1965 di Jakarta, dari Bapak H. A. Zawawi Soeleiman dan Ibu Aminah Sastrawinangun sebagai putri kedua dari enam bersaudara.

Pada tahun 1977 penulis menamatkan pendidikan Sekolah Dasar Blok R II di Jakarta. Pada tahun 1980 lulus dari Sekolah Menengah Pertama Negeri XIII Jakarta dan lulus dari Sekolah Menengah Atas Negeri 70 Jakarta tahun 1983.

Penulis memasuki bangku kuliah di Institut Pertanian Bogor tahun 1983 melalui Proyek Perintis II, dan pada tahun 1984 diterima sebagai mahasiswa jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Penulis pernah menjadi asisten luar biasa untuk mata kuliah ekologi dan taksonomi tumbuhan pada ajaran 1987-1988.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tulisan ini. Tulisan ini merupakan Laporan Masalah Khusus, dan merupakan salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Biologi, pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ir. P.D. Tjondronegoro, MS., dan Ibu Dr. Ir. Ika Mariska Sudharma selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, kritik dan saran selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya laporan ini.
2. Direktur Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bapak Dr. Ir. Pasril Wahid, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis dalam melaksanakan penelitian.
3. Seluruh staf dan pegawai Balittro terutama bagian fisiologi (kultur jaringan) dan bagian Teknologi Hasil, khususnya Dra. Endang Gati, Drs. Deden S., Dra. Hernani, Mbak Cica, dan Mbak Tri atas bantuannya selama melakukan penelitian.

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	3
Hipotesis	3
TINJAUAN PUSTAKA	4
Botani Tanaman <i>Solanum</i> spp	4
Deskripsi Tanaman <i>Solanum khasianum</i> Clarke.	5
Deskripsi Tanaman <i>Solanum laciniatum</i> Ait.	6
Kultur Jaringan	9
Kultur Kalus	13
Kultur Kalus sebagai Sumber Metabolit Sekunder	16
Solasodin	18
BAHAN DAN METODE	20
Tempat dan Waktu Penelitian	20
Bahan dan Alat	20
Bahan Tanaman	20
Bahan Kimia	20
Alat-alat	21

Metode	21
Pembuatan Medium	21
Sterilisasi Alat-alat	22
Perkecambahan Biji	22
Perlakuan Kultur	23
Persiapan Kotak Transfer	25
Lingkungan Tumbuh	26
Rancangan Percobaan	26
Pengamatan Parameter	27
Analisis Solasodin	28
HASIL DAN PEMBAHASAN	31
<i>Solanum khasianum</i> Clarke.	31
Pembentukan Kalus	31
Pertumbuhan Kalus	34
<i>Solanum laciniatum</i> Ait.	44
Pembentukan Kalus	44
Pertumbuhan Kalus	47
Kandungan Solasodin	55
KESIMPULAN DAN SARAN	59
Kesimpulan	59
Saran	59



DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	64



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan Terhadap Rata-rata Kecepatan Pembentukan Kalus <i>S. khasianum</i>	33
2.	Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan Terhadap Rata-rata Bobot Basah Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam	36
3.	Warna dan Struktur Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam	41
4.	Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan Terhadap Rata-rata Bobot Kering Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-60 Setelah Tanam	42
5.	Rata-rata Bobot Basah, Warna dan Struktur serta Bobot Kering Kalus <i>S. khasianum</i> pada <i>Passage 2</i> (Umur 60 Hari)	43
6.	Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium terhadap Rata-rata Kecepatan Pembentukan Kalus <i>S. laciniatum</i>	46
7.	Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium terhadap Rata-rata Bobot, Warna dan Struktur Kalus <i>S. laciniatum</i> pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam	48
8.	Rata-rata Bobot Basah, Warna dan Struktur serta Bobot Kering Kalus <i>S. laciniatum</i> pada <i>Passage 2</i> (Umur 60 Hari)	53
9.	Kandungan Solasodin dari Kalus Asal Eksplan Hipokotil <i>S. khasianum</i> (Umur 60 Hari) pada Medium Perlakuan	56
10.	Kandungan Solasodin Hasil Sub Kultur Kalus <i>S. laciniatum</i> Berdasarkan Umur Kalus ..	57

Lampiran

1.	Komposisi Medium Dasar Murashige dan Skoog (1962)	65
2.	Kombinasi Perlakuan Medium dari Eksplan untuk Kultur Kalus <i>S. khasianum</i> dalam Medium Dasar MS	66
3.	Sidik Ragam Kecepatan Pembentukan Kalus <i>S. khasianum</i>	67
4.	Sidik Ragam Bobot Basah Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-30 Setelah Tanam	67
5.	Sidik Ragam Bobot Basah Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-60 Setelah Tanam	68
6.	Sidik Ragam Bobot Kering Kalus <i>S. khasianum</i>	68
7.	Sidik Peragam Bobot Basah Kalus <i>S. khasianum</i> pada <i>Passage 2</i> (Umur 60 Hari)	69
8.	Sidik Peragam Bobot Kering Kalus <i>S. khasianum</i> pada <i>Passage 2</i>	69
9.	Sidik Ragam Kecepatan Pembentukan Kalus <i>S. laciniatum</i>	70
10.	Sidik Ragam Bobot Basah Kalus <i>S. laciniatum</i> pada Hari ke-30 Setelah Tanam	70
11.	Sidik Ragam Bobot Basah Kalus <i>S. laciniatum</i> pada Hari ke-60 Setelah Tanam	71
12.	Sidik Ragam Bobot Kering Kalus <i>S. laciniatum</i>	71
13.	Sidik Peragam Bobot Basah Kalus <i>S. laciniatum</i> pada <i>Passage 2</i> (Umur 60 Hari)	72
14.	Sidik Peragam Bobot Kering Kalus <i>S. laciniatum</i> pada <i>Passage 2</i>	72

DAFTAR GAMBAR

Nomor	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Tanaman <i>S. khasianum</i>	6
2.	Tanaman <i>S. laciniatum</i>	8
3.	Struktur Molekul Solasodin	18
4.	Tanaman <i>S. khasianum</i> dalam Botol Kultur ...	24
5.	Tanaman <i>S. laciniatum</i> dalam Botol Kultur ..	24
6.	Jenis Spektrofotometer yang Digunakan untuk Analisis Solasodin	29
7.	Induksi Kalus pada Masing-masing Eksplan Hipokotil, Batang, Daun <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-7 Setelah Tanam	32
8.	Histogram Rata-rata Bobot Basah Kalus <i>S. khasianum</i> pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam	37
9.	Kalus <i>S. khasianum</i> Umur 30 dan 60 Hari Asal Eksplan Hipokotil, Batang dan Daun	39
10.	Perbedaan Induksi Kalus <i>S. laciniatum</i> pada Hari ke-7 Setelah Tanam	45
11.	Histogram Rata-rata Bobot Basah Kalus <i>S. laciniatum</i> pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam	49
12.	Kalus <i>S. laciniatum</i> Umur 30 dan 60 Hari dari Eksplan Daun	50
13.	Kalus <i>S. khasianum</i> dan <i>S. laciniatum</i> Umur 30 dan 60 Hari dengan Perlakuan Medium 1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP	54

14.	Kalus yang telah Dikeringkan	55
15.	Histogram Rata-rata Kandungan Solasodin Hasil Sub Kultur Kalus <i>S. laciniatum</i> (Umur 60 Hari) pada Berbagai Medium Perlakuan	57



PENDAHULUAN

Latar Belakang

Solanum khasianum Clarke. dan *Solanum laciniatum* Ait. merupakan tumbuhan penghasil bahan baku pil kontrasepsi berupa solasodin yang kadarnya cukup tinggi dan mudah diubah menjadi senyawa steroid (Sudiarto dan Rosita, 1982).

Dalam mengatasi masalah pertumbuhan penduduk yang tinggi, pemerintah Republik Indonesia melalui Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional telah melaksanakan program kegiatan Keluarga Berencana. Salah satu cara dalam pelaksanaan keluarga berencana adalah penggunaan pil kontrasepsi. Menurut Yudono (1982), penggunaan pil kontrasepsi ini selalu meningkat dari tahun ke tahun sehingga menimbulkan masalah dalam hal penyediaan bahan bakunya, karena sampai saat ini seluruhnya masih diimpor.

Senyawa steroid digunakan sebagai bahan baku utama dalam kontrasepsi oral. Solasodin sebagai salah satu senyawa steroid dihasilkan dari tanaman terong-terongan *Solanum* spp. Jenis *S. khasianum* mengandung 0.89-2.86 persen solasodin dalam buah yang berwarna hijau kuning, sedangkan jenis *S. laciniatum* mengandung hingga tiga persen solasodin dalam daunnya dan 3.5 persen dalam buahnya (Sudiarto, 1982).

Sejak dulu tumbuhan dikenal memiliki banyak manfaat, tidak hanya sebagai sumber makanan, tetapi juga penghasil

bahan untuk obat-obatan, racun, bumbu, bahan pewarna dan minyak wangi. Bahkan dengan teknologi mutahir di bidang produksi kimia dan mikrobiologi, tumbuhan masih merupakan sumber utama bagi senyawa tertentu yang sangat kompleks atau terlalu mahal jika dihasilkan dengan cara lain. Umumnya produk dari tumbuhan tersebut merupakan metabolit sekunder. Selama tiga dasawarsa terakhir ini, banyak tumbuhan yang dikulturkan untuk menghasilkan produk sekunder atau senyawa kimia lain.

Perkembangan teknologi kultur sel merupakan salah satu alternatif lain yang dapat digunakan untuk memperoleh produk sekunder dibandingkan dengan budi daya konvensional yang dipengaruhi oleh perubahan musim dan hama penyakit (Dixon, 1985).

Keuntungan dari cara sistem kultur sel adalah waktu dan tenaga yang dibutuhkan sedikit, bebas dari gangguan hama dan penyakit, tidak membutuhkan areal pertanaman yang luas serta hasil metabolit sekunder yang diperoleh kadang-kadang lebih tinggi dari tanaman seutuhnya. Karena keuntungan-keuntungan tersebut, menyebabkan para ahli memanfaatkan cara sistem kultur sel untuk memproduksi senyawa-senyawa sekunder yang berguna, terutama untuk bahan baku obat-obatan.

Dalam percobaan produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan atau kultur sel, tahap awal yang diperlu-

kan adalah pembentukan kalus dari jaringan tanaman. Banyak faktor yang menentukan keberhasilan kultur sel, salah satu yang penting adalah komposisi medium tumbuh, terutama keseimbangan zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP dan kinetin), kombinasi yang tepat dari kedua zat pengatur tumbuh dalam medium akan sangat mempengaruhi kecepatan pembentukan dan pertumbuhan kalus.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh auksin (2,4-D), sitokinin (BAP, kinetin), dan air kelapa, terhadap kemampuan pembentukan dan pertumbuhan kalus dari jaringan tanaman *Solanum khasianum* Clarke. dan *Solanum laciniatum* Ait. di dalam kultur *in vitro*.

Hipotesis

Dalam susunan medium yang seimbang diharapkan dapat dihasilkan kalus dalam masa yang besar dengan tekstur yang *friable* (mudah pecah), dan kemungkinan diperoleh kandungan solasodin yang tinggi.



TINJAUAN PUSTAKA

Botani Tanaman *Solanum* spp

Solanum khasianum Clarke. dan *Solanum laciniatum* Ait. termasuk ke dalam jenis terong-terongan (Solanaceae). Sistematika *Solanum* spp menurut Van Steenis (1978) adalah:

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Angiospermae

Sub-kelas : Dicotyledonae

Ordo : Palemoniales

Famili : Solanaceae

Genus : *Solanum*

Species : *Solanum khasianum*

Solanum laciniatum

Menurut Van Steenis (1978), tanaman *Solanum* spp mempunyai ciri morfologis sebagai berikut: merupakan tanaman herba atau perdu, jarang berbentuk pohon, berduri tempel atau tidak. Daun tersebar atau berpasangan (tetapi tidak berhadapan), mempunyai daun tunggal dengan pertulangan menyirip. Mahkota bunga berwarna kuning, putih atau ungu. Bunga beraturan, kadang-kadang tidak beraturan (*zygomorf*), berkelamin dua, kadang-kadang berkelamin satu, kelopak dan mahkota berlekatan dengan jumlah kelipatan lima. Kepala sari berhubungan membentuk

tabung, hanya bagian terujung lepas. Buah buni atau buah kotak.

Deskripsi Tanaman *Solanum khasianum* Clarke.

Solanum khasianum yang dikenal di Indonesia merupakan hasil introduksi tanaman liar yang berasal dari daerah India, pada tahun 1977. Berdasarkan bentuk durinya, dapat dibedakan menjadi tiga varietas:

- *Solanum khasianum* varietas duri lurus banyak
- *Solanum khasianum* varietas duri lurus jarang
- *Solanum khasianum* varietas duri bengkok.

Di India sendiri varietas duri lurus jarang tersebut dikenal sebagai *Solanum khasianum* Clarke. varietas *Chatter-jeanum* (Anonymous, 1985).

Menurut Maiti (1964) tanaman *S. khasianum* berupa perdu dengan tinggi sekitar 1.5 meter. Permukaan batang dan daun ditutupi oleh bulu-bulu halus yang agak mengkilat. Selain bulu-bulu, terdapat juga duri-duri yang besar, pipih dan lebar.

Daunnya berupa daun tunggal yang lebar berwarna hijau, berbentuk telur maupun segitiga dengan lekukan pada bagian tepinya.

Bunga kecil terletak di ujung tangkai yang pendek, memiliki mahkota bunga berwarna ungu yang terdiri dari lima helai terpisah pada bagian atasnya, tetapi bersatu pada pangkalnya yang membentuk cincin.

Buah berbentuk bulat dengan diameter sekitar 2.5 cm. Perkembangan warna pada buah adalah dari warna hijau, kemudian kuning sampai jingga. Daging buah tebal berwarna putih dan lembut seperti spons. Sedangkan kulit luarnya liat dan keras, tampak mengkilat, diduga karena terdapat lapisan lilin. Biji banyak, berbentuk pipih, agak bundar bercampur dengan lendir yang berwarna kekuning-kuningan dan rasanya pahit. Tanaman *S. khasianum* di lapang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman *S. khasianum*

Deskripsi Tanaman *Solanum laciniatum* Ait.

Habitat dan penyebaran *S. laciniatum* dari Australia Barat sampai Australia Selatan, Victoria, Tasmania dan New South Wales, terutama sepanjang daerah hutan basah

atau pada daerah-daerah yang lembab (Lassak dan Mc Carthy, 1983).

Anonymous (1981) mendeskripsikan tanaman *S. lacinia-tum* sebagai berikut, tinggi tanaman mencapai 1.5-2.0 meter, batang sedikit berlignein dan bercabang, pada setiap pusat percabangan muncul tiga cabang, yang masing-masing cabang diakhiri dengan pembungaan, kedudukan daun pada batang tersebar dan pada setiap ketiak daun tumbuh satu tunas.

Semua daun berbentuk oblong dengan ukuran panjang 10-40 cm, lebar 10-20 cm, dan masing-masing daun dengan tepian bersayap yang berbentuk lanset kecil. Daun dengan warna bervariasi dari hijau mengkilap sampai hijau gelap. Permukaan daun licin, terang dengan sistem pertulangan yang menjala. Daun dengan stomata yang tersembunyi pada bagian bawah, tetapi kadang-kadang juga ditemukan pada permukaan daun sebelah atas. Pada keadaan yang tidak menguntungkan, tumbuhan akan menggugurkan daunnya sebelum waktunya, dengan urutan daun yang lebih tua akan gugur terlebih dahulu.

Umumnya bunga majemuk, berbentuk tandan bebas (*racemose*) dengan 5-15 anak bunga. Pembungaan umumnya melengkung, tidak bercabang dan berukuran panjang 20-25 cm. Bunga majemuk tersebut biasanya muncul berpasangan dari setiap pusat percabangan, tetapi ada juga yang bebas,

sedangkan yang lainnya tereduksi (tidak berkembang). Bunga simetri radial (*actinomorff*), termasuk bunga lengkap, yaitu memiliki kelopak, mahkota, androesium dan ginoesium. Kelopak pendek, tepian bermembran dengan lima daun kelopak. Mahkota berwarna ungu dengan lima daun mahkota. Androesium terdiri dari lima benang sari yang bebas. Sedangkan ginoesium terdiri dari satu putik dengan satu kepala putik. Bunga berukuran 2.5-3.0 cm. Tanaman *S. laciniatum* di lapang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tanaman *S. laciniatum*

Buah berasal dari perkembangan bakal buah yang menumpang (*ovarium superior hypogenous*) dan merupakan buah buni. Dinding buah bagian luar (*eksokarp*) halus, mengkilap dan keras/liat seperti kulit. Buah berbentuk oval

dengan ukuran panjang 2.0-2.5 cm dan lebar 1.0-1.5 cm. Warna buah bervariasi selama proses pemasakan buah. Pada waktu muda (belum masak) berwarna hijau, kemudian berubah menjadi keputih-putihan, kuning dan pada akhirnya oranye pada waktu buah masak. Pada buah yang masak mengandung 150-300 biji.

Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkan tanaman dari protoplast, sel, jaringan dan organ dalam kondisi aseptik (Gamborg, 1982; Bhojwani dan Razdan, 1983). Jaringan tanaman ini dapat melakukan proses diferensiasi di dalam medium, langsung membentuk tunas dan organ lainnya atau terlebih dahulu melakukan proses dediferensiasi membentuk kalus. Tergantung pada tujuan penelitian maka kalus ini dapat diarahkan untuk membentuk tunas adventif (Hussey, 1978).

Prinsip kultur jaringan telah tercantum dalam teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann pada tahun 1838, bahwa sel mempunyai kemampuan otonom yaitu mempunyai sifat totipotensi (Hussey, 1978). Totipotensi adalah kemampuan setiap sel, dari manapun sumbernya, apabila ditumbuhkan dalam lingkungan tumbuh yang sesuai akan mampu mengalami stadium perkembangan untuk tumbuh menjadi individu yang sempurna (Gautheret dalam Soeryowinoto, 1985; Dodds dan Roberts, 1982).

Menurut George dan Sherrington (1984) kultur jaringan dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman. Pada mulanya, orientasi teknik kultur jaringan hanya pada pembuktian teori totipotensi sel. Kemudian teknik kultur jaringan menjadi sarana penelitian di bidang fisiologi tumbuhan dan aspek-aspek biokimia tanaman (Winata, 1987). Setelah banyak mengalami perkembangan dan penyempurnaan, teknik kultur jaringan dewasa ini telah mengarah ke bidang agro-industri (Lane, 1982; Winata, 1987).

Selanjutnya Winata (1984) menerangkan, bahwa tahapan kerja dalam teknik kultur jaringan terdiri dari empat tahap: (1) persiapan medium kultur, (2) persiapan eksplan dan menanamnya ke medium kultur dalam keadaan aseptik, (3) menumbuhkan kultur dalam lingkungan yang terkendali, dan (4) pemindahan bakal tanaman (plantlet) ke lapangan.

Beberapa hal yang penting untuk diketahui dalam metoda kultur jaringan adalah karakteristik dari zat kimia dalam medium, sifat fisik medium, kebutuhan akan cahaya dan suhu lingkungan serta bahan tanaman yang ditanam.

Eksplan yang digunakan dapat menentukan keberhasilan teknik kultur jaringan tanaman. Oleh karena itu, menurut Murashige (1974), perlu diperhatikan beberapa faktor, yaitu: (1) organ yang digunakan, (2) umur ontogeni dan fisiologinya, (3) saat/musim diambil dari tanaman asal,

(4) ukurannya, dan (5) kualitas tanaman asal secara keseluruhan.

Medium kultur jaringan umumnya mengandung hara yang terdiri dari unsur makro, unsur-unsur mikro, garam-garam organik, zat-zat tumbuh dan senyawa-senyawa kompleks alami seperti air kelapa (Murashige, 1974; Soeryowinoto dan Soeryowinoto, 1977; Hussey, 1978). Medium yang umumnya digunakan untuk mendapatkan metabolit sekunder dari tanaman *S. khasianum* dan *S. laciniatum* adalah medium dasar Murashige dan Skoog (MS) dengan berbagai variasi zat pengatur tumbuh (Uddin dan Chaturvedi, 1979; Conner, 1982; Kowalczyk et al., 1983).

Garam-garam organik yang terkandung dalam komposisi medium terdiri dari unsur-unsur makro dan mikro (Yeoman dan MacLeod, 1977). Bentuk-bentuk garam baik makro dan mikro yang umum dipakai adalah NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , KH_2PO_4 , $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KI , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{Na}_2\text{-EDTA}$. Konsentrasi masing-masing garam ini terdapat dalam medium dasar MS yang disajikan dalam Tabel Lampiran 1.

Komponen medium lain yang penting sebagai penentu pertumbuhan adalah vitamin dan zat pengatur tumbuh (Gamborg dan Shyluk, 1981). Vitamin yang ditambahkan ke dalam medium kultur jaringan antara lain tiamin, biotin,

asam nikotinat, meso-inositol dan piridoksin (Murashige, 1974; Hussey, 1980). Tiamin (vitamin B₁) merupakan vitamin essensial untuk pertumbuhan jaringan (Murashige, 1974). Biotin, asam nikotinat, meso-inositol dan piri-doksin ditambahkan untuk memperbaiki pertumbuhan jaringan.

Pola perkembangan eksplan menjadi tanaman lengkap dipengaruhi oleh jenis, jumlah dan perbandingan zat-zat pengatur tumbuh yang digunakan. Zat pengatur tumbuh merupakan faktor yang menentukan arah perkembangan eksplan, terutama auksin dan sitokinin. Menurut Gamborg dan Shyluk (1981), auksin dan kadang-kadang sitokinin dibutuhkan untuk merangsang pembelahan sel dan pembentukan kalus. Sedangkan menurut Hartman dan Kester (1978), di-samping hal di atas, auksin berfungsi untuk merangsang inisiasi akar, sitokinin merangsang inisiasi tunas.

Dalam suatu medium selain diberi sukrosa, vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh, dapat pula diberikan bahan alami seperti air kelapa. Menurut George dan Sherrington (1984) air kelapa mengandung vitamin, asam amino, asam nukleat dan zat pengatur tumbuh seperti zeatin.

Air kelapa yang ditambahkan pada medium kultur jaringan wortel dapat memperbaiki pertumbuhan jaringan dan merangsang perkembangan jaringan (proliferasi). Konsentrasi air kelapa yang optimal adalah antara 5-20

persen, pada konsentrasi di bawah ini akan kurang aktif, sedangkan konsentrasi di atasnya akan bersifat toksik. Air kelapa bersama-sama dengan 2,4-D akan memberikan pengaruh sinergis dalam memperbaiki pertumbuhan jaringan tomat (Gautheret, 1955).

Faktor-faktor lingkungan yang sangat mempengaruhi kultur jaringan adalah cahaya dan suhu. Kebutuhan cahaya pada pertumbuhan jaringan dapat dilihat dari intensitas cahaya, lama penyinaran dan kualitas cahaya. Para peneliti umumnya menggunakan intensitas cahaya 1 000-5 000 lux selama 12-16 jam setiap hari pada suhu ruangan 20- 25 °C (Hussey, 1978).

Kultur Kalus

Kalus adalah suatu massa sel yang tidak teratur dan tidak terdiferensiasi (Street, 1973), serta dapat terbentuk akibat adanya stress (George dan Sherrington, 1984).

Aitchison *et al.* (1977) membagi perkembangan kalus dalam tiga tahap, yaitu: (1) pembelahan sel, (2) pembentukan kalus, dan (3) diferensiasi membentuk organ seperti tunas, akar dan embrio somatik.

Apabila pada tanaman terjadi luka, maka akan segera terbentuk jaringan penutup luka, yaitu kalus. Jaringan tersebut terbentuk dengan pembelahan sel yang dipengaruhi hormon dari sel yang luka. Respon terhadap luka ini dapat dimanfaatkan dalam kultur jaringan, dan hormon yang

dihasilkan tanaman dapat diganti dengan zat pengatur tumbuh seperti NAA atau 2,4-D, sehingga terjadi pembelahan sel dan pembentukan kalus (Jones, 1974).

Kultur kalus merupakan cara terbaik untuk pemeliharaan pertumbuhan sel dan juga sebagai salah satu bentuk awal regenerasi tumbuhan (Dixon, 1985).

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan yang terkendali. Kalus diharapkan memperbanyak massa sel secara terus menerus (Winata, 1987).

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pertumbuhan sel yang berbeda pula. Jenis monokotil, dikotil, gymnospermae dan paku-pakuan telah banyak dicoba oleh beberapa peneliti dan berhasil menginisiasi kalus (Yeoman dan MacLeod, 1977; Yeoman dalam Dodds dan Roberts, 1982; Winata, 1987). Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon dan batang muda merupakan bagian yang mudah melakukan proses dediferensiasi dan menghasilkan kalus.

Beberapa kalus tumbuh dengan tekstur yang mengeras, sedangkan lainnya mudah pecah menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Pertumbuhan kalus yang mudah pecah ini dinamakan kultur kalus yang *friable* (Dodds dan Roberts, 1982).

Menurut Cocking dalam Soeryowinoto (1985), pada umumnya zat pengatur tumbuh terbaik untuk inisiasi kalus adalah 2,4-D, yang sekaligus berguna untuk proses diferensiasi dan dediferensiasi. Sebagai campuran, dapat digunakan ekstrak ragi, kasein hidrolisat dan air kelapa.

Setelah kalus tumbuh, pada selang periode 3-8 minggu setelah penanaman dilakukan sub-kultur pada medium yang sama atau pada medium lain. Tahapan pengerjaan sub-kultur yaitu dengan cara memisahkan kalus yang terbentuk dari eksplan, kemudian memotong kalus tersebut dengan pisau yang steril. Hendaknya potongan kalus yang dipindahkan tidak terlalu kecil, sehingga pertumbuhannya tidak terhambat. Setelah kalus yang baru mulai tumbuh baik, dilakukan lagi sub-kultur setiap selang waktu 4-6 minggu (Dodds dan Roberts, 1982; Dixon, 1985).

Pembentukan kalus dari daun *S. khasianum* terjadi dalam medium dasar MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 1.9 mg/l NAA dan 2.3 mg/l BAP. Sedangkan pembentukan tunas yang selanjutnya menjadi batang dan akar terjadi dalam medium dasar MS dengan penambahan 1.1 mg/l BAP dan 1.1 mg/l zeatin (Kowalczyk et al., 1983).

Conner (1982) telah berhasil menumbuhkan kalus yang baik dari potongan daun *S. laciniatum*. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa pada sub-kultur kalus, medium yang terbaik untuk pembentukan dan pertumbuhan

kalus adalah medium dasar MS yang diperkaya dengan 0.2 mg/l NOA dan 0.2 mg/l BAP.

Heble et al. (1971) pada percobaannya menggunakan 1 mg/l 2,4-D, 2 mg/l kinetin dan 1 mg/l GA₃ untuk menginduksi kalus dan mendapatkan senyawa solasodin dari *Solanum xanthocarpum*.

Kultur Kalus sebagai Sumber Metabolit Sekunder

Totipotensi atau kemampuan suatu sel somatik yang diisolasi dalam mengekspresikan sifat-sifat genomnya termasuk sistem biosintesisnya, melatarbelakangi penggunaan kultur sel sebagai suatu cara untuk memproduksi produk-produk sekunder. Banyak penelitian telah dilakukan untuk memproduksi bahan-bahan farmasi, wangi-wangian, bumbu-bumbu dan insektisida melalui kultur sel. Desakan penduduk dan perkembangan industri yang semakin menyempitkan lahan-lahan pertanian menyebabkan penggunaan teknik kultur sel ini menjadi lebih menarik daripada menumbuhkan tanaman dilapang yang mempunyai banyak hambatan (Mantell dan Smith, 1983).

Kultur sel ada dua cara, yaitu melalui kultur suspensi sel dan kultur kalus. Kultur sel ini merupakan suatu sumber metabolit sekunder atau senyawa biokimia yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Diharapkan pada masa yang akan datang timbul industri metabolit sekunder secara besar-besaran yang menggantikan peranan tumbuhan

secara keseluruhan sebagai sumber metabolit sekunder (Soeryowinoto, 1985).

Soegihardjo (1987) melaporkan, bahwa beberapa ratus jenis tumbuhan telah dapat dikultur dalam bentuk kalus yang tidak terdiferensiasi.

Menurut Soeryowinoto (1985), keuntungan teknik kultur jaringan dalam menghasilkan senyawa-senyawa yang bermanfaat adalah:

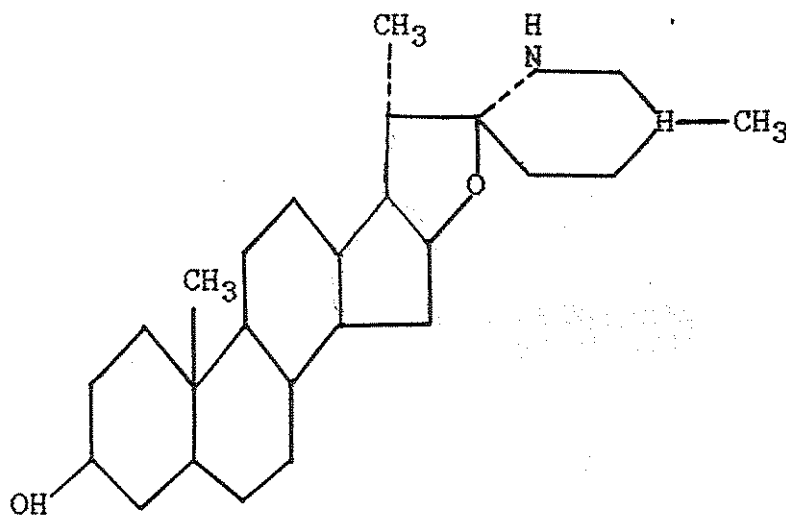
- a. Bioteknologi untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang bermanfaat dapat langsung diambil dari kalus hasil kultur jaringan.
- b. Pembentukan kalus tidak memerlukan waktu yang lama, hanya beberapa bulan saja.
- c. Dalam menghasilkan kalus, tidak dibutuhkan areal yang luas.
- d. Hasil yang diperoleh kadang-kadang kadarnya lebih tinggi dibandingkan dengan yang diambil langsung dari tanaman utuh.
- e. Melalui kultur kalus kadang-kadang juga dihasilkan jenis-jenis metabolit baru disamping senyawa pokoknya.
- f. Peningkatan kadar senyawa-senyawa kimia dalam kalus dapat diupayakan dengan cara memanipulasi medium dengan mengubah salah satu komponennya atau lingkungan tumbuhnya.

Solasodin

Solasodin merupakan serbuk halus berwarna putih dan tidak berbau, memiliki rumus kimia $C_{27}H_{43}O_2N$ (Gambar 3) dengan berat molekul sebesar 413.65.

Solasodin terdapat dalam bentuk glikosida dalam sejumlah besar tanaman Solanaceae dan Liliaceae. Genus *Solanum* merupakan sumber penting bahan baku solasodin untuk memproduksi hormon *kortikosteroid* (Uddin dan Chaturvedi, 1979).

Solasodin atau yang tergolong dalam kelompok alkaloid secara luas banyak diteliti baik untuk segi kimianya maupun penyebarannya, Khama *et al.* dalam Uddin dan Chaturvedi (1979) mengidentifikasi beberapa jenis tanaman Solanaceae yang dapat menghasilkan sapogenin (solasodin),



Gambar 3. Struktur Molekul Solasodin

dan diantaranya jenis *S. khasianum* diketahui mempunyai kandungan solasodin yang tinggi. Alkaloid ini banyak terdapat pada buahnya, yaitu pada lendir yang melapisi biji-biji buah (Saini, 1966), sedangkan pada bagian lainnya seperti biji, daging dan daun hanya sedikit mengandung alkaloid.

Oei Ban Liang (1984) berpendapat bahwa solasodin yang didapatkan dari berbagai spesies *Solanum* spp terdapat pada bagian atas tumbuhan, terutama pada daun dan buah, berbeda dengan diosgenin yang terdapat pada bagian bawah dari tumbuhan (umbi).

Kandungan solasodin dalam buah *S. khasianum* yang berwarna hijau kuning sekitar 0.89-2.86 persen (Sudiarto, 1982). Sedangkan kandungan solasodin dalam buah *S. laciniatum* yang masih muda (hijau) sekitar 2.5-3.0 persen yang akan terurai pada buah yang masak, dalam daunnya mengandung 1.5-2.0 persen (Anonymous, 1981).

Kultur kalus dari *S. khasianum* yang berasal dari kecambah, menunjukkan kandungan solasodin sebesar 0.0671 persen (Uddin dan Chaturvedi, 1979).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan dan Teknologi Hasil, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro), Cimanggu, Bogor. Penelitian dimulai pada bulan April sampai dengan bulan November 1988.

Bahan dan Alat

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah hipokotil, daun, batang hasil perkecambahan biji *S. khasianum* dan daun dari plantlet *S. laciniatum* di dalam botol steril.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan meliputi bahan-bahan dari golongan senyawa organik dan golongan senyawa anorganik.

a. Senyawa anorganik

KNO_3 , NH_4NO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , KI , H_3BO_3 , $\text{Na}_2\text{.EDTA}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

b. Senyawa organik

Sukrosa, 2,4-D, Kinetin, BAP, Meso-Inositol, Asam Nikotinat, Piridoksin-HCl, Tiamin-HCl, Air Kelapa, Agar dan GA_3 (Giberellic Acid).

Alat-alat

Alat-alat yang digunakan meliputi: tabung reaksi, gelas piala, erlenmeyer, labu ukur, pipet tetes, pipet-volumetrik, gelas ukur, pinset, pisau diseksi, autoklaf, kotak transfer, gelas pengaduk, cawan Petri, pengaduk-magnetik, alat ukur pH dan neraca sartorius.

Metode

Pembuatan Medium

Untuk memudahkan pelaksanaan pembuatan medium, semua komponen medium disiapkan dalam bentuk larutan-larutan baku kecuali komponen organik seperti gula dan agar. Labu ukur satu liter diisi akuades kira-kira setengahnya, kemudian satu per satu larutan baku ditambahkan ke dalam labu ukur sebanyak yang tercantum dalam Tabel Lampiran 1. Campuran diaduk dengan seksama setiap kali setelah penambahan suatu larutan baku. Kemudian labu diisi aquades secukupnya sampai volume mencapai satu liter.

Campuran dipindahkan ke dalam beaker besar, dan pH diukur serta ditentukan sebesar 5.6 dengan penambahan larutan HCl 1 N atau NaOH 1 N. Untuk pembuatan medium padat campuran dipindahkan ke dalam erlenmeyer besar, kemudian ditambahkan serbuk agar, sambil diaduk larutan dipanaskan hingga agar tersebut larut. Medium dituangkan ke dalam tabung kultur kira-kira sebanyak 20 cc dan

tabung ditutup dengan kertas alumunium foil. Kemudian medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 120 °C, dengan tekanan 15 lbs selama 20 menit. Selanjutnya medium dikeluarkan dan dibiarkan beberapa hari untuk mengetahui adanya kontaminasi.

Sterilisasi Alat-alat

Semua alat-alat yang digunakan dalam penanaman eksplan seperti cawan Petri yang berisi kertas saring, pinset, botol kultur dan lain-lain harus disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat disterilkan dalam oven dengan suhu 105 °C selama tiga jam.

Perkecambahan Biji

Biji direndam dalam larutan GA_3 (Giberellic Acid) 1300 ppm selama 24 jam. Kemudian biji dibilas dengan aquades lalu dikering anginkan selama satu hari. Setelah dikering anginkan, langsung disterilisasi dengan Clorox 20 persen selama 25-30 menit. Setelah dibilas dengan air akuades steril sebanyak tiga kali maka biji siap ditanam di dalam botol berisi kertas saring yang telah disterilkan dan ditambahkan akuades secukupnya.

Apabila perendaman tidak menggunakan GA_3 (Giberellic Acid) maka biji yang telah dibersihkan dengan akuades sampai benar-benar bersih dan dikering anginkan selama satu hari lalu distrelisasi dengan Clorox. Setelah

dilakukan pembilasan biji ditanam ke dalam botol yang berisi kertas saring yang ditambahkan 0.2 persen KNO_3 secukupnya.

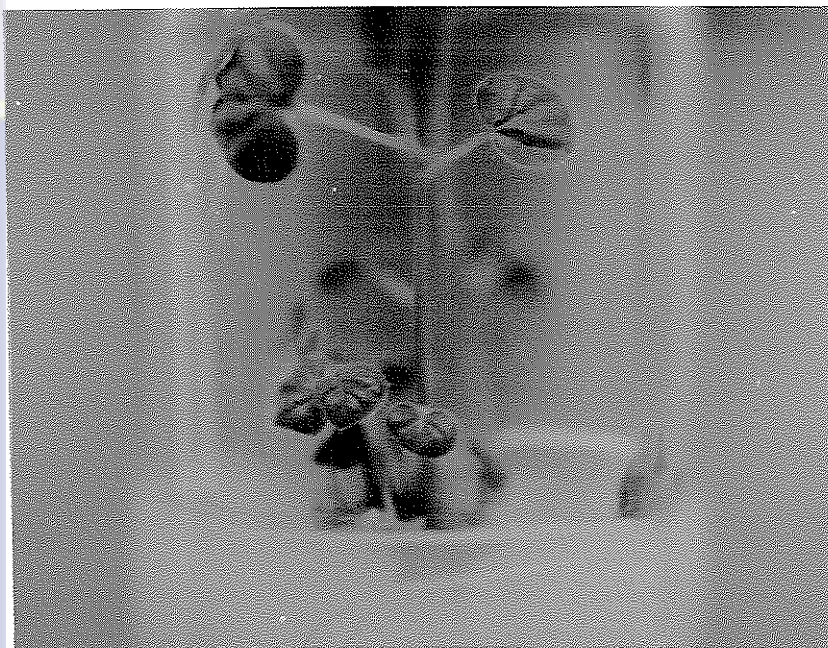
Pada setiap botol ditanam sepuluh biji *Solanum* spp. Antara 1-2 minggu setelah penanaman maka dilakukan pemotongan untuk pengambilan eksplan dengan ukuran sebesar satu centimeter.

Perlakuan Kultur

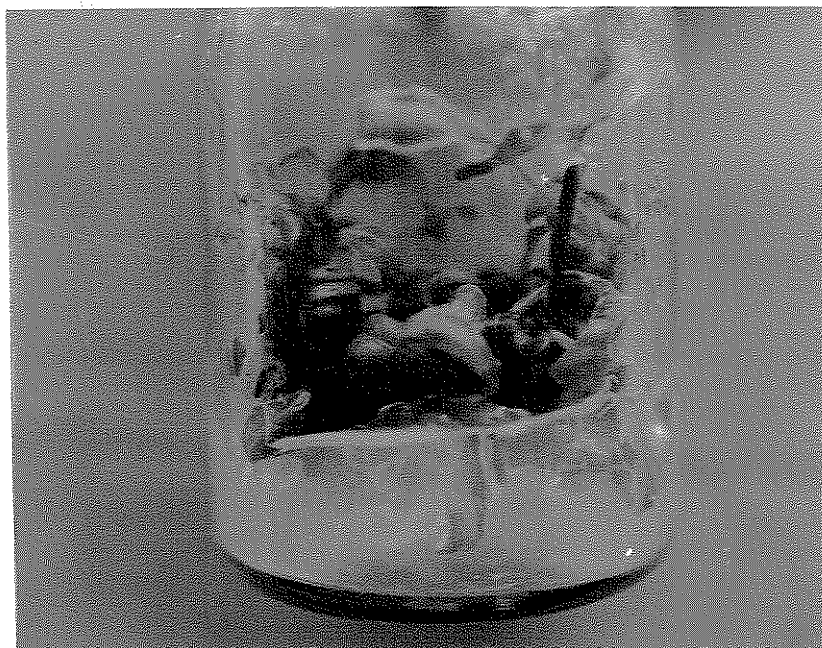
Pada tanaman *S. khasianum* eksplan yang digunakan untuk membentuk kalus adalah hipokotil, batang dan daun. Hipokotil yang digunakan sebagai eksplan merupakan hasil perkecambahan biji *S. khasianum* di dalam botol steril, sedangkan batang dan daun berasal dari kultur hipokotil yang ditanam dalam medium dasar MS. Pada Gambar 4 dapat dilihat tanaman *S. khasianum* di dalam botol yang digunakan sebagai sumber eksplan.

Eksplan yang digunakan untuk membentuk kalus *S. laciniatum* adalah daun, yang berasal dari tanaman *S. laciniatum* di dalam botol (Gambar 5) yang telah tersedia di Balittro, Bogor.

Medium yang digunakan untuk pembentukan kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum* adalah medium dasar MS (Murashige dan Skoog) yang dibuat padat dengan penambahan 7.5 gr/l. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan adalah 3 dan 4 mg/l, 0,5 mg/l BAP (Benzyl Amino Purin), 0.5 mg/l



Gambar 4. Tanaman *S. khasianum* dalam Botol Kultur



Gambar 5. Tanaman *S. laciniatum* dalam Botol Kultur

kinetin serta 15 persen air kelapa. Perlakuan kultur kalus *S. khasianum* selengkapnya disajikan pada Tabel Lampiran 2.

Kultur kalus ini dipelihara selama delapan minggu dengan pengamatan terhadap bobot basah, warna dan struktur setiap empat minggu sekali. Setelah kultur berumur delapan minggu, dilakukan sub kultur. Tujuan dari sub kultur untuk mendapatkan kalus berwarna putih dengan struktur kalus *friable* dalam jumlah yang banyak. Sub kultur dilakukan dengan cara memotong-motong kalus dan dikulturkan dalam medium perlakuan. Ukuran kalus diusahakan sama sehingga berat awal kalus tidak jauh berbeda satu sama lain. Dalam setiap botol kultur ditanam sepotong kalus. Perlakuan sub kultur adalah medium MS dengan penambahan 2,4-D pada konsentrasi (1,2,3,4 dan 5) mg/l yang dikombinasikan dengan 0.5 mg/l BAP dan 0.5 mg/l kinetin. Kultur kalus yang pertama disebut *passage 1* dan kultur yang kedua disebut *passage 2*.

Persiapan Kotak Transfer

Satu hari sebelum digunakan, kotak transfer disterilkan dengan cara disemprotkan bagian dalam dan bagian luar dengan alkohol 70 %, selanjutnya disinari dengan lampu ultra violet selama 24 jam. Lampu ultra violet dimatikan satu jam sebelum penanaman eksplan ke dalam medium.

Lingkungan Tumbuh

Untuk merangsang pertumbuhan kalus, kultur diletakkan dibawah cahaya dengan intensitas sebesar 3 000 lux selama 16 jam dalam sehari. Untuk mengurangi kontaminasi kultur, setiap hari sekali di sekitar botol kultur disemprot dengan alkohol 70 % .

Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada tanaman *S. khasianum* adalah Rancangan Faktorial dengan susunan Acak Lengkap, terdiri dari dua faktor, yaitu medium dan eksplan dengan kombinasi perlakuan sebanyak 33, masing-masing sebanyak 10 ulangan. Persamaan umum statistik menurut Steel and Torrie (1981) sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = u + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ijk}$$

$i = 1, 2, \dots, a$
 $j = 1, 2, \dots, b$
 $k = 1, 2, \dots, n$

Y_{ijk} = variabel respon karena pengaruh bersama taraf ke- i faktor A, dan taraf ke- j faktor B yang terdapat pada pengamatan ke- k .
 u = pengaruh nilai rata-rata umum
 A_i = pengaruh taraf ke- i faktor medium
 B_j = pengaruh taraf ke- j faktor eksplan
 AB_{ij} = pengaruh dari interaksi antara taraf ke- i faktor A dan taraf ke- j faktor B
 E_{ijk} = pengaruh galat dari unit percobaan ke- k dalam kombinasi perlakuan (ij).

Sedangkan rancangan yang digunakan pada tanaman *S. laciniatum* adalah Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari satu faktor yaitu medium sebanyak 11 perlakuan dengan 10 ulangan, persamaan umum statistiknya sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 Y_{ij} &= u + A_i + E_{ij} \\
 i &= 1, 2, \dots, a \\
 j &= 1, 2, \dots, b \\
 Y_{ij} &= \text{variabel respon karena pengaruh bersama} \\
 &\quad \text{taraf ke-} i \text{ faktor A pada pengamatan ke-} j. \\
 u &= \text{pengaruh nilai rata-rata umum} \\
 A_i &= \text{pengaruh taraf ke-} i \text{ faktor medium} \\
 E_{ij} &= \text{pengaruh galat dari unit percobaan ke-} j \\
 &\quad \text{pada perlakuan ke-} i.
 \end{aligned}$$

Pengamatan Parameter

Penelitian ini menggunakan eksplan hipokotil, daun, batang hasil perkecambahan biji *S. khasianum* dan daun dari plantlet *S. laciniatum* di dalam botol steril, dengan ulangan sebanyak sepuluh kali. Adapun parameter yang diamati meliputi:

1. Kecepatan pembentukan kalus
2. Bobot basah kalus pada hari ke-30 dan 60
3. Bobot kering kalus
4. Struktur kalus
5. Warna kalus
6. Kandungan solasodin

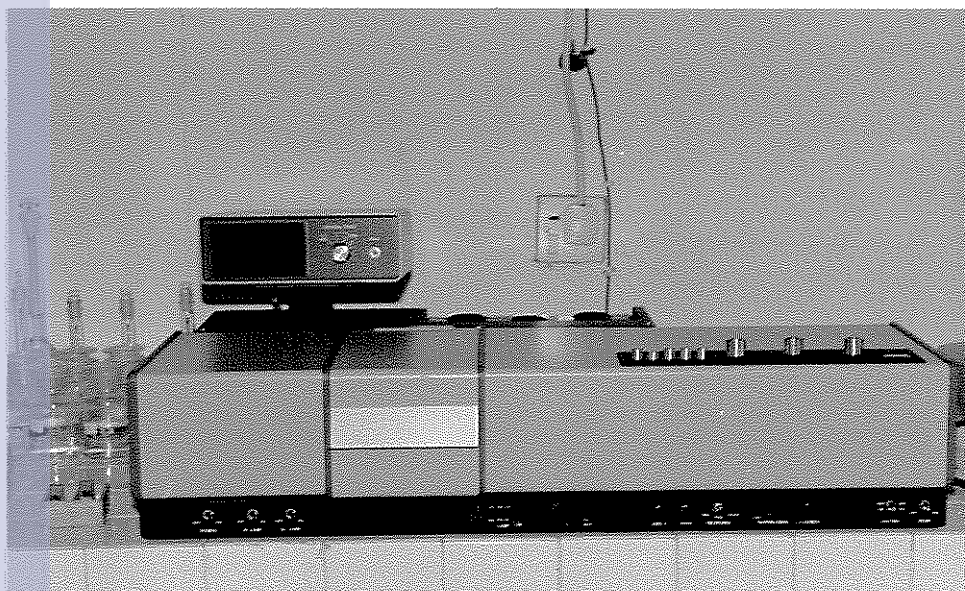
Analisis Solasodin

Pada akhir penelitian, kalus di dalam botol dikeluarkan untuk ditimbang bobot basahanya. Setelah itu kalus dikeringkan di dalam oven dengan suhu kurang lebih 50°C selama 24 jam. Apabila kalus telah kering, kalus siap ditimbang bobot keringnya, kemudian digerus sampai halus untuk keperluan analisis kandungan solasodin.

Kalus kering dihidrolisa dengan 30 ml HCl 1 N dalam metanol (reflux) selama empat jam. Dibiarkan selama satu jam lalu disaring. Dalam labu ukur 50 ml, hasil hidrolisa diimpitkan dengan larutan HCl 1 N dalam metanol, dipipet sebanyak 5 ml, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian ditambahkan 4 tetes amonia pekat, dan diimpitkan dengan metanol.

Untuk pengujian secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan khromatografi lapis tipis (TLC). Larutan contoh dipekatkan. Pada lempengan kaca ($20 \times 20 \text{ cm}^2$) dengan menggunakan silica gel 60 sebagai adsorbant, ditotolkan masing-masing 5 μl . Setelah noda kering, lempengan dikembangkan dalam larutan alkohol : heksan (1:1). Selesai dikembangkan, lempengan dibiarkan kering di udara. Kemudian disemprot dengan larutan H_2SO_4 50 % untuk membangkitkan warna noda. Setelah disemprot, dipanaskan dalam oven kira-kira 15 menit dan timbul warna merah ungu pada noda yang sama R_f nya dengan noda standar.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan cara spektrofotometri. Jenis spektrofotometer yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 6. Dalam corong pemisah ditambahkan 10 ml larutan buffer asetat, 0.1 ml brom cresol green, 2 ml larutan contoh dan 10 ml benzene p.a, dikocok sekitar 2 menit. Larutan menjadi dua bagian yang terpisah, bagian atas dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi Na sulfat kering, lalu dikocok.



Gambar 6. Jenis Spektrofotometer yang Digunakan untuk Analisis Solasodin

Tabung reaksi yang masing-masing berisi larutan standar (25, 50, 75, 100) ppm dan larutan contoh siap diperiksa menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 405 nm. Dalam mendapatkan persentase kandungan

solasodin, sebelumnya dilakukan perhitungan berdasarkan rumus-rumus sebagai berikut:

$$\text{kurva 1 ppm standar} = \frac{\text{Absorban standar}}{\text{ppm standar}}$$

$$\text{ppm contoh} = \frac{\text{Absorban contoh}}{\text{ppm standar}}$$

$$\% \text{ kadar air} = \frac{(\text{bobot basah} - \text{bobot kering})}{\text{bobot contoh asal}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot kering mutlak (gram)} \\ = (100 \% - \% \text{ kadar air}) \times \text{bobot contoh asal} \end{aligned}$$

$$\% \text{ solasodin} = \frac{\text{ppm contoh} \times \text{FP} \times 100 \% \times 10^{-6}}{\text{gram contoh kering}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Solanum khasianum Clarke.

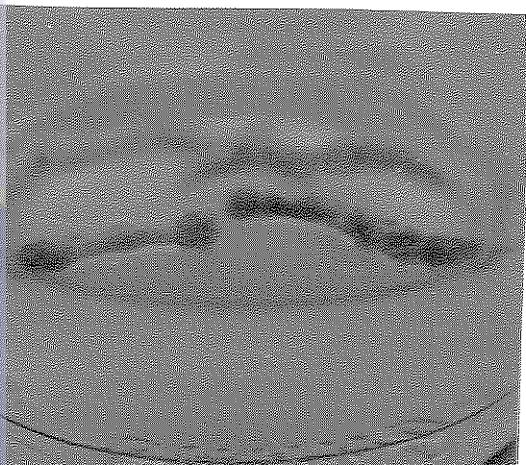
Pembentukan Kalus

Secara umum, dari hasil pengamatan terlihat bahwa eksplan mampu membentuk kalus dan membesar pada setiap medium perlakuan. Kecuali eksplan yang ditanam pada medium dasar MS tanpa tambahan zat pengatur tumbuh, eksplan dengan cepat membentuk tunas adventif dan akar adventif, yang akhirnya membentuk plantlet yang sempurna.

Secara visual, pembentukan kalus dimulai dari permukaan bagian jaringan tanaman yang terluka. Oleh sebab itu disarankan pada setiap penanaman, sebaiknya eksplan dilukai, untuk mempermudah terbentuknya kalus. Pada tahap awal, respon yang dialami eksplan adalah pengembungan pada hipokotil dan batang, sedangkan pada daun mengembang dan melengkung (Gambar 7). Pada akhirnya dari berbagai macam eksplan tersebut akan terbentuk massa kalus yang berwarna putih. Selanjutnya struktur dan warna kalus akan berubah, hal ini tergantung dari perlakuan medium dan eksplannya.

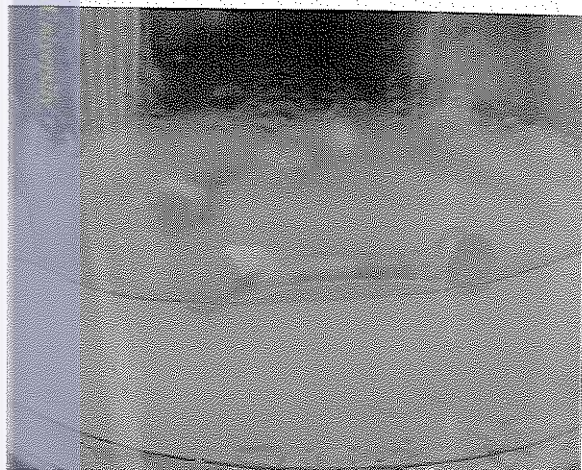
Induksi kalus rata-rata terjadi pada hari ke-7 setelah eksplan dikulturkan. Dari hasil analisis sidik ragam terdapat pengaruh interaksi antara medium dengan macam eksplan terhadap kecepatan pembentukan kalus (Tabel Lampiran 3).





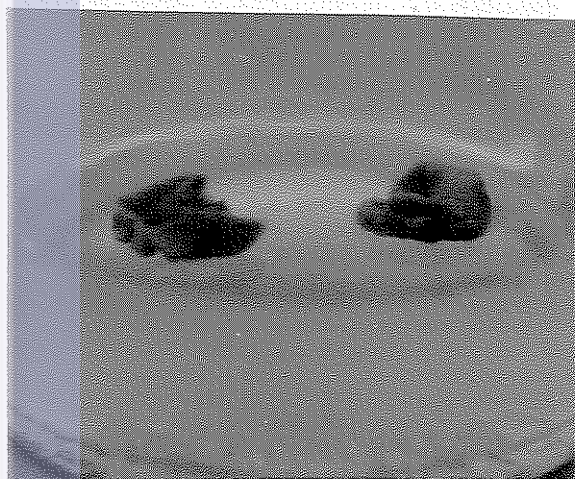
HIPOKOTIL

4 mg/l 2,4-D
+ 0.5 mg/l kinetin



BATANG

4 mg/l 2,4-D
+ 0.5 mg/l BAP



DAUN

4 mg/l 2,4-D
+ 0.5 mg/l BAP
+ 15 % air kelapa

Gambar 7. Induksi Kalus pada Masing-masing Eksplan Hipokotil, Batang, Daun *S. khasianum* pada Hari ke-7 Setelah Tanam

Tabel 1. Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan terhadap Rata-rata Kecepatan Pembentukan Kalus *S. khasianum*

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	EKSPLAN		
	HIPOKOTIL	BATANG	DAUN
	 Hari		
MD	-	-	-
MD + 2,4-D 3	8.10 ^{cde}	7.00 ^{bcd}	12.33 ^f
MD + 2,4-D 4	8.50 ^{de}	7.00 ^{bcd}	11.17 ^{ef}
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	6.00 ^{abcd}	6.00 ^{abcd}	8.33 ^{cde}
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	6.00 ^{abcd}	5.00 ^{abc}	6.80 ^{bcd}
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	4.33 ^{ab}	4.00 ^{ab}	7.80 ^{cde}
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	3.00 ^a	7.40 ^{bcd}	7.10 ^{bcd}
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.00 ^{abcd}	5.00 ^{abc}	8.30 ^{cde}
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.00 ^{abcd}	6.00 ^{abcd}	8.90 ^{de}
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.00 ^{abcd}	6.00 ^{abcd}	8.40 ^{cde}
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	5.00 ^{abc}	6.60 ^{bcd}	8.00 ^{cde}

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

Pada Tabel 1 terlihat bahwa secara keseluruhan dari semua hasil interaksi antara medium dengan jenis eksplan yang dipakai terhadap kecepatan pembentukan kalus. Kalus paling cepat terbentuk pada eksplan hipokotil dengan medium dasar yang diperkaya 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin

(3.00 hari) dan yang paling lambat terbentuk pada eksplan daun dengan medium dasar yang hanya diperkaya 3 mg/l 2,4-D (12.33 hari).

Penambahan konsentrasi auksin (2,4-D) dari 3 ke 4 mg/l tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kecepatan pembentukan kalus *S. khasianum*. Penambahan sitokinin, baik BAP maupun kinetin, cenderung mempercepat pembentukan kalus dibandingkan dengan medium yang hanya ditambahkan 2,4-D saja, namun di antara kedua jenis sitokinin tersebut tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Keadaan ini sesuai dengan pendapat dari Skoog dan Miller (1957) yang menyatakan bahwa sitokinin dapat meningkatkan aktifitas auksin dalam melakukan proses pembelahan sel. Dengan demikian dalam suatu proses baik diferensiasi maupun dediferensiasi lebih ditentukan oleh keseimbangan relatif dari beberapa zat pengatur tumbuh (auksin dan sitokinin) dari pada ada atau tidak adanya salah satu zat pengatur tumbuh di atas. Penambahan air kelapa pada medium yang sudah mengandung sitokinin tidak mempercepat waktu pembentukan kalus.

Pertumbuhan Kalus

Pengaruh perlakuan interaksi antara medium dengan eksplan terhadap rata-rata bobot basah kalus pada umur 30 hari menunjukkan hasil yang nyata, demikian pula pada umur 60 hari (Tabel Lampiran 4 dan 5).

Tabel 2 menunjukkan bahwa bobot basah kalus umur 30 hari pada eksplan hipokotil dengan medium 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin memberikan bobot terbesar (3.1712 g/botol), dan bobot terkecil ditunjukkan pada eksplan hipokotil dengan penambahan 4 mg/l 2,4-D (0.2702 g/botol).

Pengaruh penambahan sitokinin (BAP dan kinetin) pada medium yang sudah mengandung 2,4-D dapat meningkatkan bobot basah kalus dibandingkan dengan penambahan 2,4-D saja, diantara ke dua jenis sitokinin tersebut, kinetin cenderung memperlihatkan pengaruhnya dalam meningkatkan bobot basah kalus dibandingkan dengan BAP. Sedangkan penambahan air kelapa pada medium yang sudah mengandung sitokinin (BAP atau kinetin) tidak meningkatkan bobot basah kalus, terutama pada daun.

Pada eksplan yang berasal dari daun, penambahan 3 dan 4 mg/l 2,4-D menunjukkan pertumbuhan kalus yang terhambat bahkan menjadi mati setelah kultur berumur 30 hari sehingga tidak ada perkembangan kalus yang lebih lanjut.

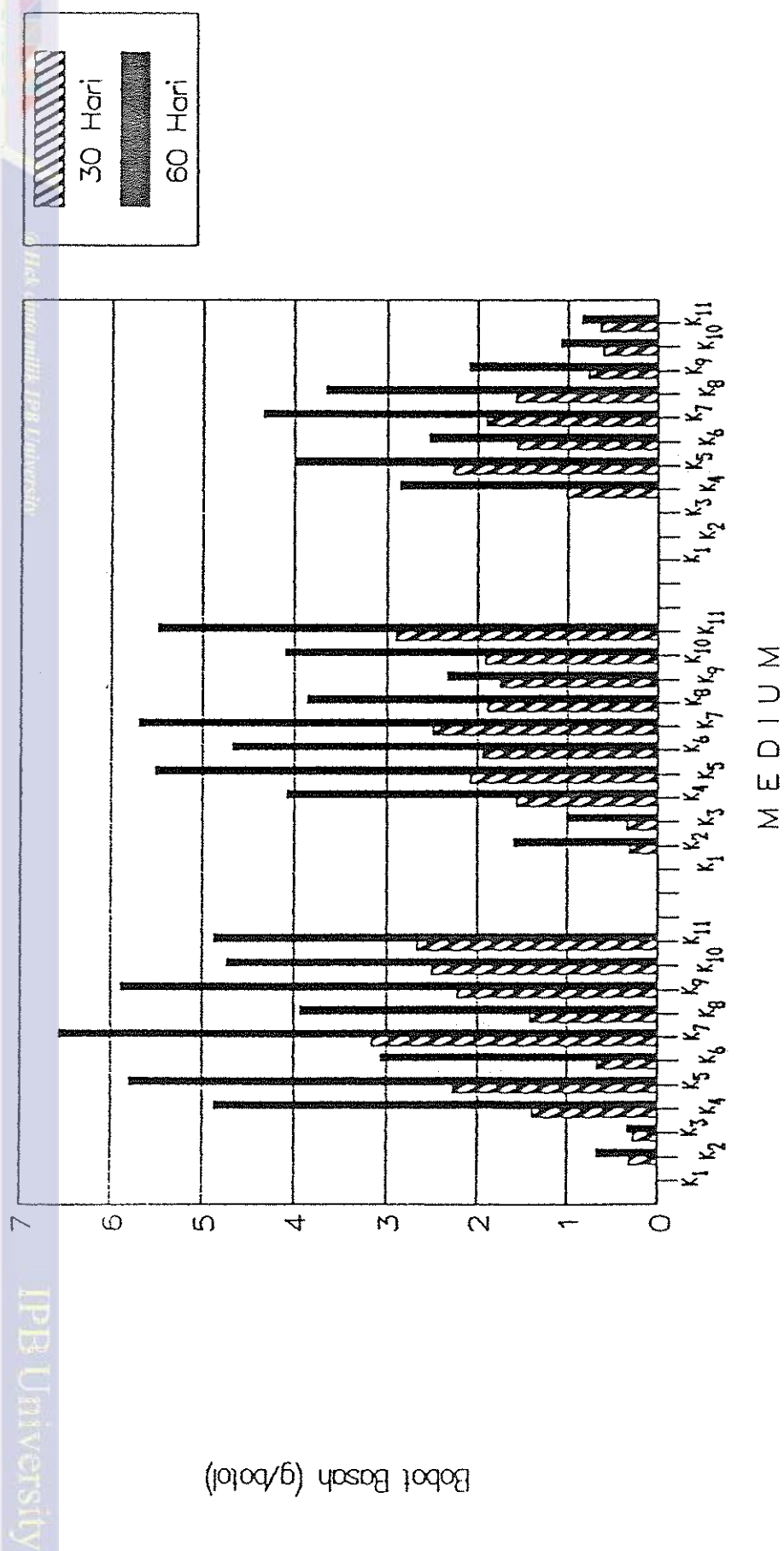
Pada Tabel 2 dapat dilihat hasil bobot basah kalus dari eksplan daun yang berbeda nyata dengan eksplan hipokotil dan batang. Bobot basah kalus yang dihasilkan eksplan daun lebih kecil dibandingkan eksplan hipokotil dan batang. Hal ini menunjukkan bahwa pada daun proses dediferensiasinya lebih sulit dibandingkan hipokotil dan

Tabel 2. Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan terhadap Rata-rata Bobot Basah Kalus *S. khasianum* pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	30 HARI			60 HARI		
	HIPOKOTIL	BATANG	DALUN	HIPOKOTIL	BATANG	DALUN
	 g/botol	 g/botol	 g/botol	 g/botol	 g/botol	 g/botol
MD	.0000 ^a	.0000 ^a	.0000 ^a	.0000 ^a	.0000 ^a	.0000 ^a
MD + 2,4-D 3	.3125 ^{ab}	.3124 ^{ab}	.0000 ^a	.6559 ^{abc}	1.5931 ^{abcde}	.0000 ^a
MD + 2,4-D 4	.2702 ^{ab}	.3408 ^{ab}	.0000 ^a	.3212 ^{ab}	.9982 ^{abcd}	.0000 ^a
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	1.3893 ^{cdef}	1.5593 ^{defg}	1.0089 ^{bcde}	4.8670 ^{hi jk}	4.0707 ^{fghi j}	2.8534 ^{defgh}
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	2.2641 ^{fghi j}	2.0762 ^{fghi}	2.2729 ^{fghi j}	5.8037 ^{jk}	5.5225 ^{i jk}	3.9728 ^{fghi j}
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	.6648 ^{abcd}	1.9451 ^{efgh}	1.5575 ^{defg}	3.0653 ^{efgh}	4.6587 ^{hi jk}	2.5360 ^{cdefg}
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	3.1712 ^j	2.4948 ^{ghi j}	1.8968 ^{efgh}	6.5783 ^k	5.7029 ^{i jk}	4.3337 ^{ghi j}
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	1.4071 ^{cdef}	1.8816 ^{efgh}	1.5684 ^{defg}	3.9264 ^{fghi j}	3.8500 ^{fghi j}	3.6444 ^{fghi}
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	2.2201 ^{fghi}	1.7547 ^{efgh}	.7613 ^{abcd}	5.8858 ^{jk}	2.3305 ^{cdefg}	2.0903 ^{bcdef}
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	2.4994 ^{ghi j}	1.9147 ^{efgh}	.5981 ^{abc}	4.7251 ^{hi jk}	4.0971 ^{fghi j}	1.0744 ^{abcd}
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	2.6570 ^{hi j}	2.9026 ^{ij}	.6362 ^{abc}	4.8646 ^{hi jk}	5.4893 ^{i jk}	.8445 ^{abc}

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

batang. Hal ini diduga karena pada daun tidak terdapat daerah yang aktif untuk pembelahan sel seperti pada hipokotil dan batang yang mempunyai jaringan meristem sekunder. Rata-rata Bobot Basah Kalus pada Hari ke-30 dan 60 digambarkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Histogram Rata-rata Bobot Basah Kalus *S. khasianum* pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam (keterangan medium lihat Tabel Lampiran 2)

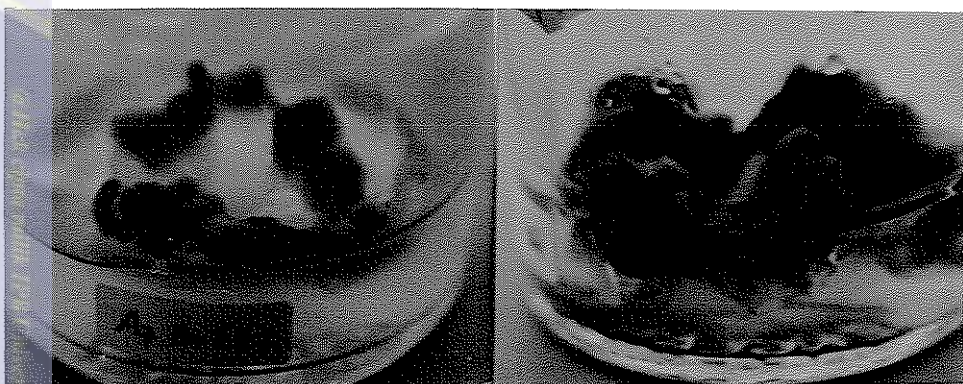
Pada umur kalus 60 hari, bobot basah kalus terbesar dijumpai pada eksplan hipokotil dengan medium 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin. Penambahan sitokinin pada umur 60 hari terlihat lebih jelas pengaruhnya dalam peningkatan bobot basah kalus. Kinetin cenderung lebih meningkatkan bobot basah kalus dibandingkan dengan BAP. Sedangkan penambahan air kelapa pada medium yang sudah mengandung sitokinin tidak meningkatkan bobot basah kalus. Gambar 9 menunjukkan kalus pada umur 30 dan 60 hari (dipilih perlakuan-perlakuan yang mempunyai bobot basah kalus tertinggi dari ketiga jenis eksplan).

Dilihat secara keseluruhan, penambahan sitokinin pada medium yang sudah mengandung 2,4-D dapat meningkatkan bobot basah dari kalus. Keadaan ini sesuai dengan pendapat George dan Sherrington (1984) yang menyatakan bahwa penambahan sitokinin pada medium yang sudah mengandung auksin kuat seperti 2,4-D dapat memperbaiki pertumbuhan jaringan sehingga dapat meningkatkan bobot basah dari kalus.

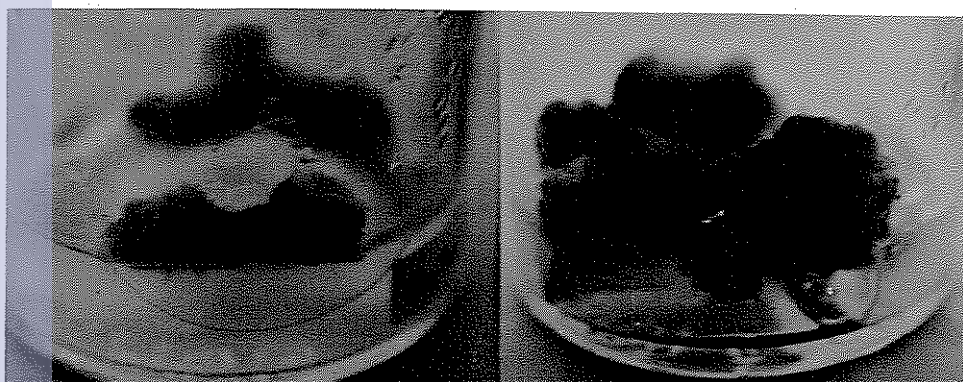
Warna dan struktur kalus dari umur 30 hari sampai 60 hari dapat dilihat pada Tabel 3. Pada medium yang hanya mengandung 3 dan 4 mg/l 2,4-D tanpa dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh sitokinin baik BAP maupun kinetin memberikan warna kalus yang coklat, hitam kecoklatan dan hitam dengan struktur yang kompak. Warna coklat pada

30 HST

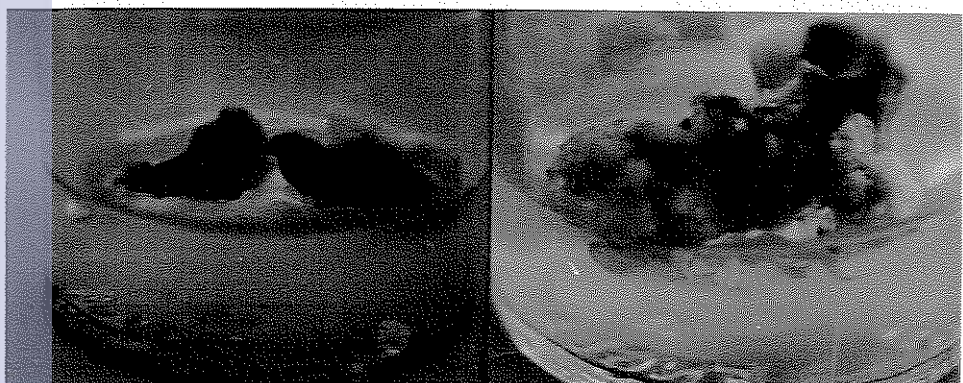
60 HST



4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin



4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin + 15 % air kelapa



3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin

Gambar 9. Kalus *S. khasianum* Umur 30 dan 60 Hari
Asal Eksplan Hipokotil, Batang dan Daun

kalus ini disebabkan oksidasi senyawa fenol yang menjadi penyebab *browning*, sehingga dapat menghambat proses pembelahan dan pertumbuhan kalus. Oleh sebab itu untuk mendapatkan kalus yang berwarna putih dengan struktur *friable* diperlukan zat pengatur tumbuh lain seperti sitokinin ataupun air kelapa.

Penambahan BAP pada medium yang sudah mengandung 3 dan 4 mg/l 2,4-D memberikan warna kalus yang lebih baik yaitu menjadi hijau keputihan walaupun strukturnya tetap kompak.

Pemberian air kelapa pada medium yang diperkaya dengan BAP, sebagian kecil menghasilkan kalus yang berwarna coklat, selebihnya berwarna hijau keputihan dengan struktur kompak (Tabel 3). Pada batang, pengaruh penambahan air kelapa tidak memperbaiki warna dan struktur kalus, bahkan sebagian besar kalusnya berwarna coklat.

Menurut George dan Sherrington (1984) pemakaian medium yang hanya mengandung 2,4-D setelah beberapa waktu bila tidak dilakukan sub kultur, maka kalus akan berubah menjadi berwarna coklat atau hitam. Keadaan ini dapat disebabkan karena 2,4-D merupakan senyawa auksin yang sangat kuat sehingga dapat mematikan sel atau jaringan tanaman. Untuk itu disarankan agar ditambahkan zat pengatur tumbuh dari group lain yaitu sitokinin.

Tabel 3. Warna dan Struktur Kalus *S. khasianum* pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam

PERKULAN MEDIUM (mg/l)	30 HARI			60 HARI		
	HIPOKOTIL	BATANG	DALN	HIPOKOTIL	BATANG	DALN
MD	-	-	-	-	-	-
MD + 2,4-D 3	coklat kompak keputihan	hitam kompak kecoklatan	-	hitam kompak	hitam kompak	-
MD + 2,4-D 4	coklat kompak keputihan	hitam kompak kecoklatan	-	hitam kompak	coklat kompak	-
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	coklat kompak	hijau kompak
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak keputihan
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 I	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak keputihan
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 I	coklat kompak keputihan	coklat kompak	coklat kompak keputihan	coklat kompak keputihan	coklat kompak kehitamaan	coklat kompak
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 I	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak	coklat kompak keputihan	coklat kompak keputihan	hijau kompak
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 I	hijau kompak keputihan	coklat kompak keputihan	coklat kompak	coklat kompak keputihan	coklat kompak keputihan	coklat kompak kehitamaan

Terdapat interaksi yang nyata antara perlakuan medium dengan eksplan terhadap bobot kering kalus (Tabel Lampiran 7). Penambahan sitokinin (BAP dan kinetin)

cenderung meningkatkan bobot kering kalus dibandingkan dengan medium yang hanya mengandung 2,4-D saja. Sedangkan penambahan air kelapa pada medium yang mengandung sitokinin (BAP atau kinetin) tidak memperlihatkan pengaruhnya dalam peningkatan bobot kering kalus (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium dengan Eksplan terhadap Rata-rata Bobot Kering Kalus *S. khasianum* pada Hari ke-60 Setelah Tanam

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	BOBOT KERING		
	HIPOKOTIL	BATANG	DAUN
	 g/botol		
ND	.0000 ^a	.0000 ^a	.0000 ^a
ND + 2,4-D 3	.0362 ^a	.0946 ^{abc}	.0000 ^a
ND + 2,4-D 4	.0232 ^a	.0757 ^{ab}	.0000 ^a
ND + 2,4-D 3 + BAP 0.5	.3906 ^j	.3203 ^{ghij}	.2297 ^{defg}
ND + 2,4-D 3 + KIN 0.5	.3039 ^{fghij}	.3543 ^{hij}	.2613 ^{efghi}
ND + 2,4-D 4 + BAP 0.5	.2068 ^{def}	.3032 ^{fghij}	.1862 ^{cde}
ND + 2,4-D 4 + KIN 0.5	.3697 ^j	.3182 ^{ghij}	.2538 ^{efgh}
ND + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	.3539 ^{hij}	.4022 ^j	.3248 ^{ghij}
ND + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	.3883 ^j	.1926 ^{de}	.1496 ^{bcd}
ND + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	.3964 ^j	.2153 ^{def}	.0970 ^{abc}
ND + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	.3537 ^{hij}	.3613 ^{ij}	.0892 ^{ab}

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

Pada Tabel 5 rata-rata bobot basah kalus terbesar pada *passage* 2 yaitu pada saat kalus berumur 60 hari. Medium dengan 5 mg/l 2,4-D dan 0.5 mg/l kinetin, memberikan bobot basah kalus terbesar dan juga bobot keringnya. Hasil analisis sidik peragam menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan medium terhadap bobot basah dan bobot kering kalus *S. khasianum* (Tabel Lampiran 7 dan 8). Karena antara perlakuan tidak berbeda

Tabel 5. Rata-rata Bobot Basah, Warna dan Struktur serta Bobot Kering Kalus *S. khasianum* pada *Passage* 2 (Umur 60 Hari)

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	BOBOT BASAH (g/botol)	WARNA dan STRUKTUR KALUS	BOBOT KERING (g/botol)
MD + 2,4-D 1 + BAP 0.5	3.3444	coklat kehitaman kompak	.2187
MD + 2,4-D 1 + KIN 0.5	4.4551	coklat kehitaman kompak	.2245
MD + 2,4-D 2 + BAP 0.5	4.5927	coklat kehitaman kompak	.2373
MD + 2,4-D 2 + KIN 0.5	3.5030	coklat kehitaman kompak	.2009
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	4.4749	coklat kehitaman kompak	.2386
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	3.9657	coklat kehitaman kompak	.2071
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	4.6227	coklat kehitaman kompak	.2215
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	4.3953	coklat kehitaman kompak	.2362
MD + 2,4-D 5 + BAP 0.5	4.5604	coklat kehitaman kompak	.2159
MD + 2,4-D 5 + KIN 0.5	5.6708	coklat kehitaman kompak	.2571

nyata, maka bila ditinjau dari segi efisiensi pemakaian zat pengatur tumbuh, perlakuan yang terbaik pada *passage* 2 adalah kombinasi sitokinin (BAP atau kinetin) dengan 1 mg/l 2,4-D (Gambar 13). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan medium dengan penambahan 2,4-D pada konsentrasi rendah 1 mg/l sudah cukup untuk merangsang pembentukan kalus.

Warna dan struktur kalus *Solanum khasianum* pada kombinasi medium 2,4-D 1 sampai 5 mg/l dengan BAP/kinetin, pada umur 30 hari berwarna hijau kecoklatan dengan struktur kompak, kemudian berubah menjadi coklat pada umur 60 hari.

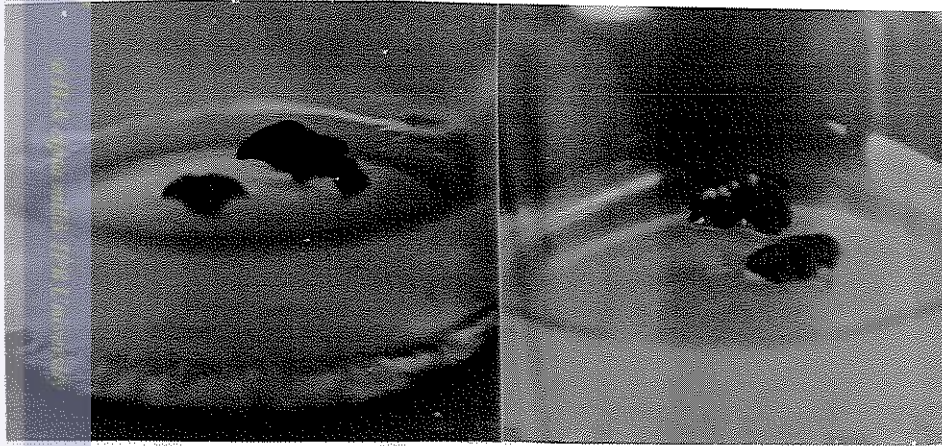
Solanum laciniatum Ait.

Pembentukan Kalus

Eksplan yang ditanam pada medium yang menggunakan auksin 2,4-D yang dikombinasikan dengan kinetin, BAP serta air kelapa memberikan respon yang sama yaitu dapat membentuk kalus 100 %, kecuali pada medium tanpa zat pengatur tumbuh hanya sebagian kecil saja yang membentuk kalus, dan pertumbuhan kalusnya juga sangat terhambat (Tabel 6).

Pada hari ke-7 setelah penanaman pada medium dasar tanpa zat pengatur tumbuh, belum terlihat adanya pembentukan kalus, tetapi di lain pihak pada medium yang

diperkaya dengan auksin dan sitokinin sudah menunjukkan adanya induksi kalus (Gambar 10).



Medium Dasar

3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP
+ 15 % air kelapa

Gambar 10. Perbedaan Induksi Kalus *S. laciniatum* pada Hari ke-7 Setelah Tanam (tanda panah menunjukkan kalus)

Kalus awal yang diinisiassi pada medium dasar MS yang dikombinasikan dengan 2,4-D, kinetin dan air kelapa berwarna putih. Selama pertumbuhannya dalam medium perlakuan, terjadi perubahan warna kalus ada yang menjadi hijau dan coklat dengan struktur *friable*.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan medium terhadap kecepatan pembentukan kalus *S. laciniatum* (Tabel Lampiran 9). Pengaruh penambahan sitokinin (BAP dan kinetin) atau air kelapa tidak mempercepat pembentukan kalus dibandingkan dengan medium yang hanya mengandung 2,4-D saja. Conner

(1982) telah berhasil melakukan penelitian dalam membentuk kalus dari eksplan yang berasal dari daun *S. laciniatum* dan mendapatkan kombinasi perlakuan medium yang terbaik ditunjukkan pada 0.2 mg/l NOA dengan 0.2 mg/l BAP.

Tabel 6. Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium terhadap Rata-rata Kecepatan Pembentukan Kalus *S. laciniatum*

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	KECEPATAN PEMBENTUKAN KALUS (hari)
MD	22.33 ^b
MD + 2,4-D 3	6.25 ^a
MD + 2,4-D 4	6.75 ^a
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	6.75 ^a
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	6.20 ^a
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	6.20 ^a
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	6.80 ^a
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.20 ^a
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.20 ^a
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.80 ^a
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	7.20 ^a

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

Pembentukan kalus pada medium dasar MS tanpa zat pengatur tumbuh sangat lambat yaitu 22.33 hari (Tabel 6). Walaupun demikian kalus masih dapat terbentuk meskipun medium tidak ditambah auksin, hal ini diduga karena jaringan tanaman tersebut mengandung auksin endogen yang cukup untuk menginduksi kalus.

Pertumbuhan Kalus

Dari hasil analisis sidik ragam terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan medium terhadap bobot basah kalus *S. laciniatum* pada umur 30 dan 60 hari (Tabel Lampiran 10 dan 11).

Perlakuan 3 dan 4 mg/l 2,4-D pada umur 30 hari memberikan bobot basah kalus yang terkecil, tetapi pada umur 60 hari aktifitas pembelahan selnya semakin cepat sehingga bobot basah kalusnya memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Warna kalus pada perlakuan 3 dan 4 mg/l 2,4-D tersebut putih kehitanan, warna hitam dapat menghambat perkembangan kalus selanjutnya (Tabel 7).

Pada umur kalus 30 hari, pengaruh penambahan sitokinin (BAP dan kinetin), cenderung meningkatkan bobot basah kalus dibandingkan dengan penambahan 2,4-D saja. Diantara ke dua jenis sitokinin tersebut BAP sepertinya lebih efektif dari pada kinetin dalam peningkatan bobot

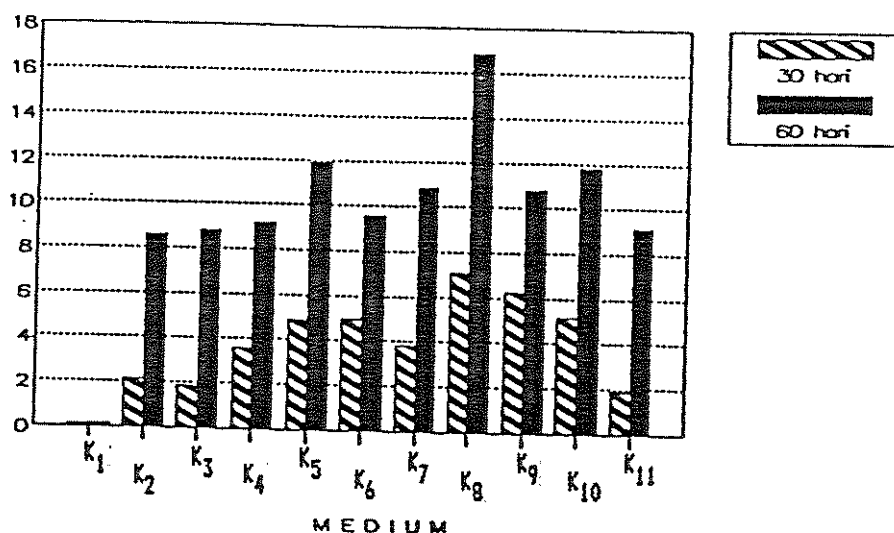
Tabel 7. Pengaruh Berbagai Macam Perlakuan Medium terhadap Rata-rata Bobot, Warna dan Struktur Kalus *S. lacinia* pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam

PERLUKUAN MEDIUM (mg/l)	30 HARI			60 HARI		
	BOBOT BASAH (g/botol)	WARNA dan STRUKTUR KALUS		BOBOT BASAH (g/botol)	WARNA dan STRUKTUR KALUS	BOBOT KERING (g/botol)
MD	.1219 ^a	putih	<i>friable</i>	.1322 ^a	coklat kehitaman, <i>friable</i>	.0105 ^a
MD + 2,4-D 3	2.1275 ^{ab}	coklat keputihan, <i>friable</i>		8.5904 ^b	putih kehitaman, <i>friable</i>	.3913 ^b
MD + 2,4-D 4	1.8300 ^{ab}	hitam keputihan, <i>friable</i>		8.8106 ^b	putih kehitaman, <i>friable</i>	.4402 ^b
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	3.5975 ^{bc}	hijau keputihan, <i>friable</i>		9.1767 ^b	hijau kekuningan, <i>friable</i>	.4436 ^b
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	4.8720 ^{cd}	hijau keputihan, <i>friable</i>		11.9076 ^b	hijau keputihan, <i>friable</i>	.4607 ^b
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	4.9620 ^{cd}	hijau keputihan, <i>friable</i>		9.5839 ^b	putih kehijauan, <i>friable</i>	.4069 ^b
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	3.8320 ^{bc}	hijau keputihan, <i>friable</i>		10.8237 ^b	putih kehijauan, <i>friable</i>	.4297 ^b
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	7.0866 ^d	hijau keputihan, <i>friable</i>		16.8667 ^c	putih kehijauan, <i>friable</i>	.5665 ^c
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	6.2489 ^{cd}	putih kehijauan, <i>friable</i>		10.7890 ^b	putih kehijauan, <i>friable</i>	.3955 ^b
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air Kelapa 15 %	5.1420 ^{cd}	putih kehijauan, <i>friable</i>		11.8206 ^b	putih kehijauan, <i>friable</i>	.4070 ^b
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5 + Air Kelapa 15 %	1.8840 ^{ab}	hijau keputihan, <i>friable</i>		9.1551 ^b	putih kehijauan, <i>friable</i>	.3997 ^b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

basah kalus. Rata-rata bobot basah kalus pada hari ke-30 dan 60 digambarkan pada Gambar 11.

Pada umur kalus 60 hari, penambahan sitokinin (BAP dan kinetin) tidak memperlihatkan pengaruhnya dalam meningkatkan bobot basah kalus dibandingkan dengan yang



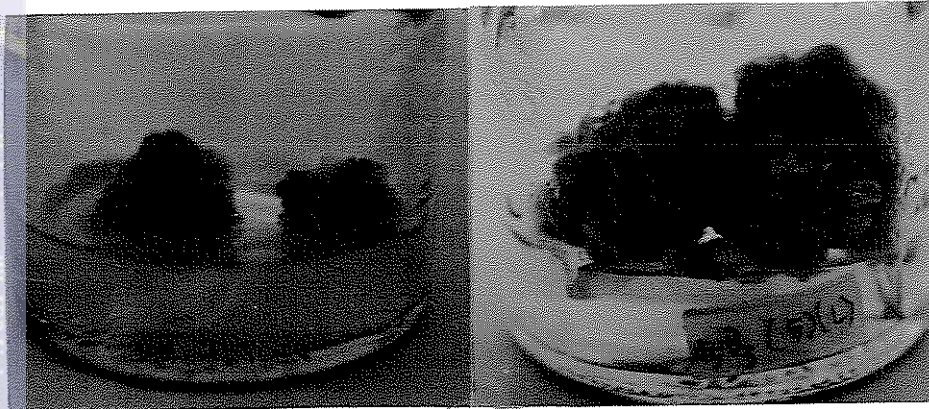
Gambar 11. Histogram Rata-rata Bobot Basah Kalus *S. laciniatum* pada Hari ke-30 dan 60 Setelah Tanam (keterangan medium lihat Tabel Lampiran 2)

hanya mengandung 2,4-D saja. Sedangkan pengaruh penambahan air kelapa pada medium yang mengandung sitokinin (BAP atau kinetin) cenderung meningkatkan bobot basah kalus terutama pada perlakuan 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP dan 15 % air kelapa (16.8667 g/botol), yang berbeda nyata dengan perlakuan medium lainnya. Gambar 12 menunjukkan kalus pada umur 30 dan 60 hari dari perlakuan-perlakuan yang mempunyai bobot basah kalus tertinggi.

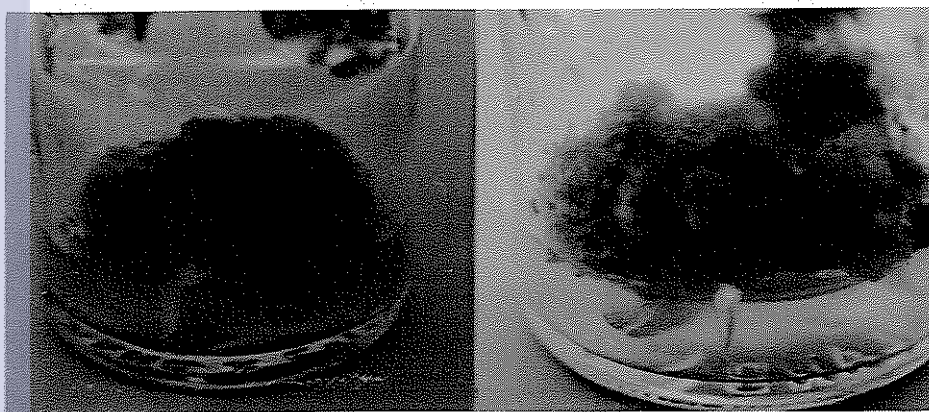
Pengaruh penambahan sitokinin dan air kelapa menunjukkan peningkatan bobot basah kalus yang tinggi, seperti terjadi pada *S. khasianum* bahwa sitokinin dapat meningkatkan aktifitas auksin dalam melakukan proses pembelahan sel.

30 HST

60 HST



3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin



3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP + 15 % air kelapa

Gambar 12. Kalus *S. laciniatus* Umur 30 dan 60 Hari dari Eksplan Daun

Warna kalus pada saat inisiasi berwarna putih. Pada medium tanpa zat pengatur tumbuh warna kalus yang semula putih berubah menjadi coklat kehitaman, hal ini mungkin disebabkan tidak adanya auksin ataupun sitokinin yang dapat merangsang pembentukan kalus selanjutnya. Menurut Dixon (1985) zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin

merupakan faktor utama yang menentukan berhasil tidaknya suatu proses dediferensiasi bagi pertumbuhan kultur sel tanaman.

Pengaruh perlakuan yang menggunakan BAP dan kinetin pada umur 30 hari memberikan warna kalus hijau keputihan. Warna kalus yang agak kehijauan disebabkan karena penambahan sitokinin dalam medium yang sudah mengandung 2,4-D, yang berpengaruh dalam sintesa RNA, protein dan klorofil pada sel tanaman (George dan Sherrington, 1984).

Demikian pula pengaruh air kelapa, warna kalus menjadi putih kehijauan kecuali pada medium dengan 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP + 15 % air kelapa dan 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin + 15 % air kelapa. Warna kalus yang semula berwarna hijau keputihan pada umur 30 hari, kemudian berubah menjadi putih kehijauan pada umur 60 hari (Tabel 7). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Heble *et al* (1971) pada tanaman *S. xanthocarpum* menunjukkan bahwa pemberian air kelapa sebanyak 10 persen pada medium yang diperkaya dengan 1 mg/l 2,4-D menghasilkan kalus dengan struktur yang baik.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata dari perlakuan medium terhadap bobot kering kalus (Tabel Lampiran 12). Bobot kering kalus terbesar diperoleh pada medium 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP + 15 % air kelapa (Tabel 7).

Pengaruh penambahan BAP pada medium yang sudah mengandung auksin (2,4-D) berperan penting dalam meningkatkan bobot basah dan bobot kering kalus. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Conner (1982) pada *S. laciniatum*, bahwa medium dasar MS yang ditambah 0.2 mg/l BAP berat keringnya sebesar 0.142 g, tetapi apabila BAP dikombinasikan dengan 0.2 mg/l NOA berat keringnya mengalami peningkatan menjadi 0.367 gram. Hasil analisis sidik peragam menunjukkan pengaruh yang sangat nyata dari perlakuan medium terhadap bobot basah dan bobot kering kalus *S. laciniatum* pada *passage* 2 (Tabel Lampiran 13 dan 14).

Peningkatan konsentrasi 2,4-D sampai 3 mg/l sangat efektif untuk merangsang pertumbuhan kalus. Sedangkan pada konsentrasi 4 mg/l bobot basah kalus akan menurun, dan pada konsentrasi 5 mg/l bobot basah meningkat kembali tetapi warna kalus berubah menjadi putih kecoklatan (Tabel 8). Warna coklat ini disebabkan oksidasi senyawa fenol, yang dapat meracuni medium sehingga menghambat pertumbuhan kalus selanjutnya.

Walaupun medium dengan 5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin cenderung menunjukkan bobot basah terbesar, akan tetapi kalus yang dihasilkan berwarna putih kecoklatan. Oleh karena itu pemilihan medium terbaik adalah pada medium dengan penambahan 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin atau BAP warna kalus putih kehijauan dan bobotnya tidak

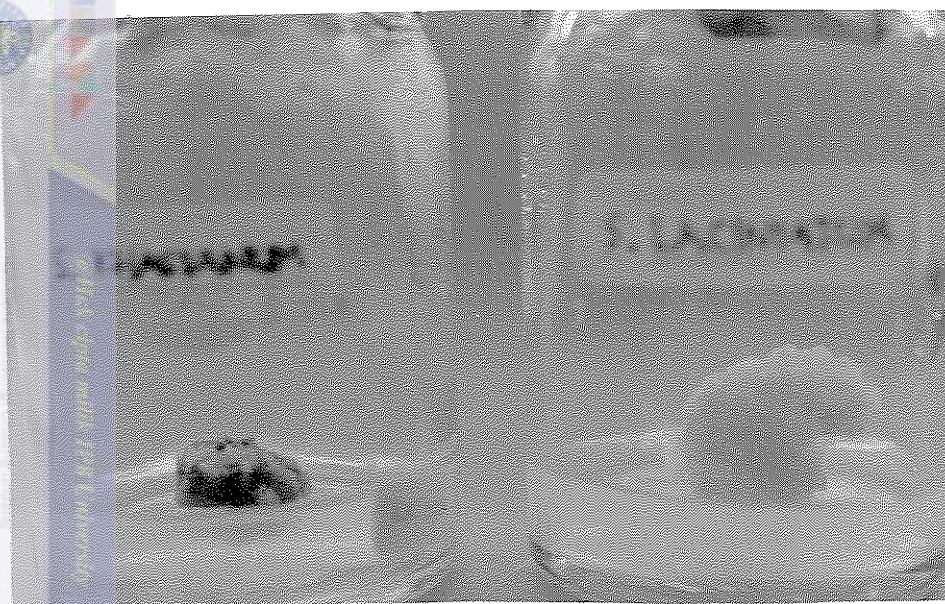
Tabel 8. Rata-rata Bobot Basah, Warna dan Struktur serta Bobot Kering Kalus *S. laciniatum* pada Passage 2 (Umur 60 Hari)

PERLAKUAN MEDIUM (mg/l)	BOBOT BASAH (g/botol)	WARNA dan STRUKTUR KALUS	BOBOT KERING (g/botol)
MD + 2,4-D 1 + BAP 0.5	6.5232 ^a	Putih Kehijauan friable	.3469 ^{abc}
MD + 2,4-D 1 + KIN 0.5	7.1516 ^{abc}	Putih Kehijauan friable	.3492 ^{abc}
MD + 2,4-D 2 + BAP 0.5	6.9179 ^{ab}	Putih Kehijauan friable	.3624 ^{bcd}
MD + 2,4-D 2 + KIN 0.5	7.9867 ^{abcd}	Putih Kehijauan friable	.3924 ^{cd}
MD + 2,4-D 3 + BAP 0.5	9.5040 ^{de}	Putih Kehijauan friable	.4084 ^d
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5	9.6574 ^{de}	Putih Kehijauan friable	.3843 ^{cd}
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5	6.5449 ^a	Putih Kehijauan friable	.3517 ^{abcd}
MD + 2,4-D 4 + KIN 0.5	8.6492 ^{cde}	Putih Kehijauan friable	.3006 ^a
MD + 2,4-D 5 + BAP 0.5	8.2749 ^{bcde}	Putih Kecoklatan friable	.3031 ^a
MD + 2,4-D 5 + KIN 0.5	9.6998 ^e	Putih Kecoklatan friable	.3179 ^{ab}

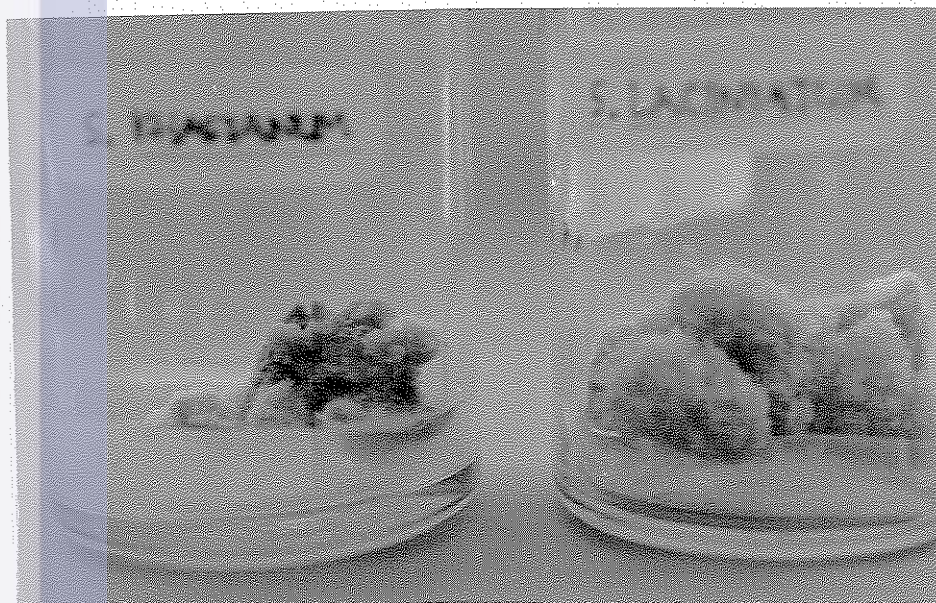
Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 0.05

jauh berbeda dengan kalus yang tumbuh pada medium 5 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin. Gambar 13 menunjukkan kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum* pada passage 2 umur 30 dan 60 hari.

Warna dan struktur kalus pada konsentrasi 1 sampai dengan 4 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan BAP atau kinetin memberikan warna putih kehijauan dengan struktur



30 HST



60 HST

Gambar 13. Kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum*
Umur 30 dan 60 Hari dengan Perlakuan
Medium 1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP

friable, sedangkan pada konsentrasi 5 mg/l 2,4-D warna kalus putih keoklatan dengan struktur *friable*.

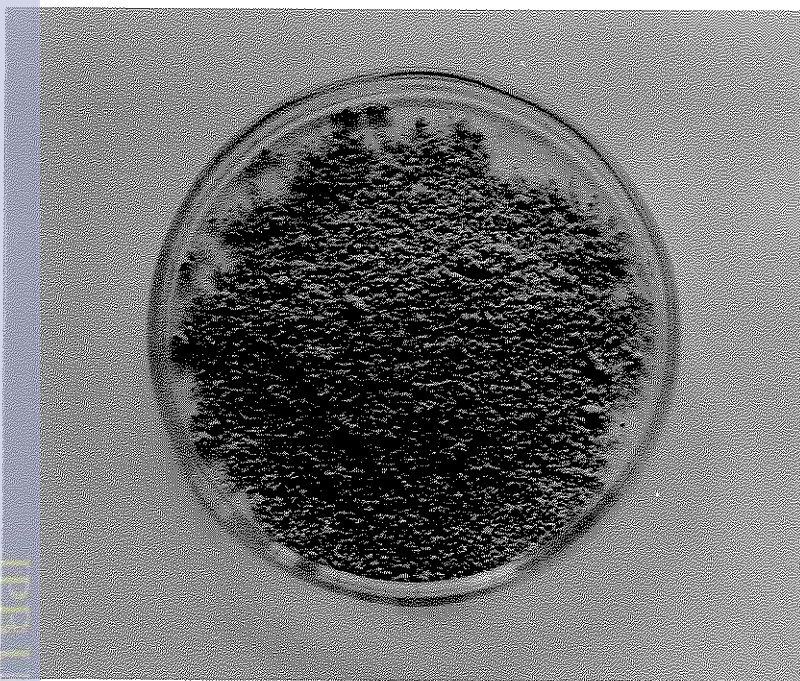
Pengaruh penambahan konsentrasi auksin (2,4-D) sampai 3 mg/l cenderung meningkatkan bobot kering kalus.

Selanjutnya pada konsentrasi 4 mg/l 2,4-D bobot keringnya mengalami penurunan. Penentuan bobot kering terbesar, bila ditinjau dari segi efisiensi ditunjukkan pada medium yang diperkaya dengan 2 mg/l 2,4-D dengan 0.5 mg/l BAP atau kinetin.

Kandungan Solasodin

Sebelum dilakukan analisis solasodin, maka kalus dikeringkan terlebih dahulu (Gambar 14). Hasil analisis solasodin secara kualitatif dengan menggunakan khromatografi lapis tipis (TLC) memberikan noda berwarna ungu dengan R_f yang sama dengan R_f standar, yaitu 0.8.

Dalam penelitian ini tidak semua perlakuan dideteksi secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil analisis



Gambar 14. Kalus yang Telah Dikeringkan

solasodin secara kuantitatif berturut-turut tercantum dalam dalam Tabel 9 dan 10 serta Gambar 15.

Pada Tabel 9, terlihat kandungan solasodin dari kalus asal eksplan hipokotil *S. khasianum*. Pada medium dengan penambahan 4 mg/l 2,4-D dan 0.5 mg/l BAP + 15 % air kelapa menunjukkan kandungan solasodin yang lebih tinggi dari pada kombinasi 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin + 15 % air kelapa. Keadaan ini sejalan dengan hasil penelitian yang diperoleh Heble *et al* (1971) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dapat mempengaruhi kandungan solasodin dari kalus tanaman *Solanum xanthocarpum*.

Tabel 9. Kandungan Solasodin dari Kalus Asal Eksplan Hipokotil *S. khasianum* (Umur 60 Hari) pada Medium Perlakuan

MEDIUM (mg/l)	KANDUNGAN SOLASODIN (% BERAT KERING)
MD + 2,4-D 3 + KIN 0.5 + Air kelapa 15%	0.19
MD + 2,4-D 4 + BAP 0.5 + Air kelapa 15%	0.22

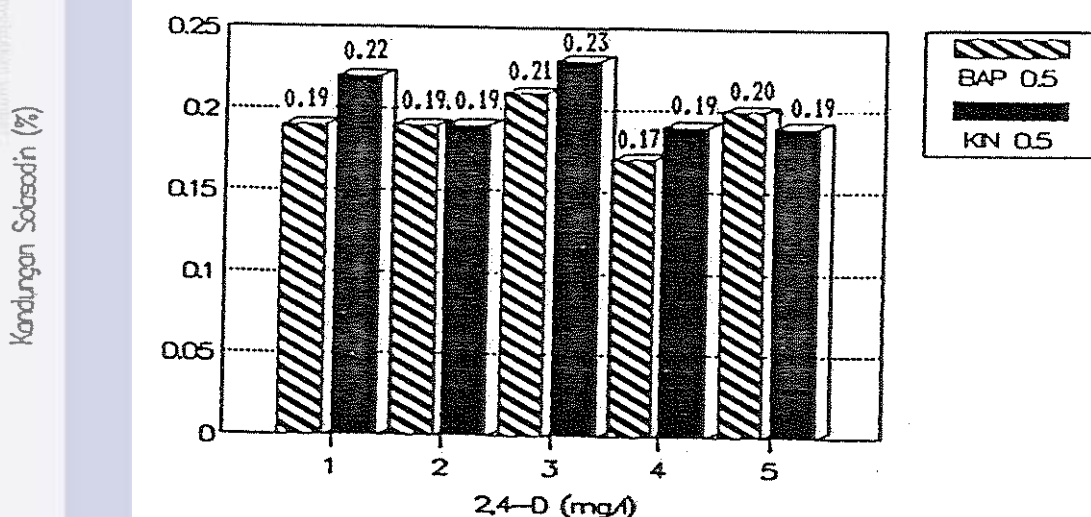
Perbedaan umur kalus, juga menunjukkan adanya perbedaan kandungan solasodin. Pada Tabel 10 terlihat bahwa dengan perlakuan medium yang sama 1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP tetapi pada umur kalus yang berbeda kandungan solasodinnnya juga berbeda. Kandungan solasodin pada kalus berumur 30 hari lebih tinggi daripada kalus yang

Tabel 10. Kandungan Solasodin Hasil Sub Kultur Kalus *S. laciniatum* Berdasarkan Umur Kalus

MEDIUM (mg/l)	UMUR KALUS (HARI)	KANDUNGAN SOLASODIN (% BERAT KERING)
MD + 2,4-D 1 + BAP 0.5	30	0.24
MD + 2,4-D 1 + BAP 0.5	60	0.19

berumur 60 hari. Uddin dan Chaturvedi (1979) pada kultur kalus *S. khasianum* mendapatkan kandungan solasodin tertinggi pada minggu ke 6 atau 8, kemudian secara bertahap menurun setelah minggu ke delapan

Pada Gambar 15 terlihat kandungan solasodin yang cukup beragam. Kandungan solasodin tidak mengikuti pola



Gambar 15. Histogram Rata-rata Kandungan Solasodin Hasil Sub Kultur Kalus *S. laciniatum* (Umur 60 Hari) pada Berbagai Medium Perlakuan

yang tetap berdasarkan peningkatan konsentrasi 2,4-D. Tetapi terlihat adanya kecenderungan meningkat dari 1 - 3 mg/l 2,4-D dan kemudian menurun pada 4 dan 5 mg/l 2,4-D. Rata-rata kandungan solasodin yang didapat sebesar 0.2 % per satu gram berat kering. Keadaan ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Vagujfalvi et al (1971) bahwa pada kalus *Solanum laciniatum* tidak dapat dideteksi adanya senyawa solasodin, tetapi ditemukan adanya senyawa steroid lain, yaitu diosgenin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pemakaian sitokinin baik BAP maupun kinetin pada medium yang sudah mengandung 2,4-D dapat mempercepat pembentukan kalus dan meningkatkan bobot basah kalus *S. khasianum* dan *S. laciniatum*. Pemakaian air kelapa juga dapat mempercepat pembentukan kalus dan meningkatkan bobot basah kalus *S. laciniatum*, tetapi tidak pada kalus *S. khasianum*.

Pada kalus *S. khasianum*, BAP dan kinetin baru memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap bobot basah kalus pada umur 60 hari, sedangkan pada kalus *S. laciniatum*, BAP dan kinetin sudah memperlihatkan pengaruh yang berbeda pada umur 30 hari. BAP kurang efektif dibandingkan kinetin dalam mempengaruhi bobot basah kalus *S. khasianum*, tetapi sebaliknya pada *S. laciniatum*.

Rata-rata kandungan solasodin dari berbagai perlakuan adalah 0.2 % per satu gram berat kering.

Saran

Untuk penelitian lebih lanjut disarankan untuk memodifikasi komponen-komponen lain seperti NH_4^+ , sukrosa ataupun kolesterol sebagai prekursor senyawa solasodin pada berbagai taraf konsentrasi dalam upaya meningkatkan kandungan solasodin dari kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1981. Cultivation Technology of *Solanum laciniatum* in Hungary. Its Botanical Description, and Analytical Determination of its Active Ingredient Solasodine. Compiled by Research Institute of Medical Plants. Budakalasz, Hungary. (Unpublished).
- . 1985. Tiga Puluh Tahun Penelitian Tanaman Obat. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian. Jakarta. pp 31-34.
- Aitchison, P.A., A.J. MacLeod, and M.M. Yeoman. 1977. Growth Patterns in Tissue (Callus) Culture. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp 267-306.
- Bhojwani, S.S., and M.K. Razdan. 1983. Plant Tissue Culture, Theory and Practice. Elsevier. Amsterdam. 502 p.
- Conner, A.J. 1982. Tissue culture of *Solanum laciniatum*. New Zealand J. Bot. 20:4-6.
- Dixon, R.A. 1985. Plant Cell Culture, A Practical Approach. IRL Press. Washington DC. 228 p.
- Dodds, J.H., and L.W. Roberts. 1982. Experiment in Plant Tissue Culture. Cambridge University. London. 165 p.
- Gamborg, O.L. 1982. Callus and cell culture. In L.R. Wetter, and F. Constabel (eds.). Plant Tissue Culture Methods. National Research Council of Canada, Prairie Regional Laboratory. Saskatoon, Saskatchewan, Canada. pp 1-9.
- , and J.P. Shyluk. 1981. Nutrition, media, and characteristic of plant cell and tissue culture. In T.A. Thorve (ed.). Plant Tissue Culture, Method, and Application in Agriculture. Academic Press. New York. pp 21-44.
- Gautheret, R.J. 1955. The nutrition of plant tissue cultures. Annu. Rev. Plant Physiol. 6:433-484.
- George, F., and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exetetics Ltd. London. 709 p.

- Hartman, H.T., and D.E. Kester. 1978. Plant Propagation Principles and Practices. Prentice-Hall of India. New Delhi. 662 p.
- Heble, M.R., S. Narayanaswami, and M.S. Chadha. 1971. Hormonal control of steroid synthesis in *Solanum xanthocarpum* tissue cultures. *Phytochemistry*. 10:2393-2394.
- Hussey, G. 1978. The application of tissue culture to the vegetative propagation of plants. *Sci. Prog.* Oxford. 65:185-208.
- . 1980. *In vitro* propagation. In D.S. Ingram, and J.P. Helgeson (eds.). *Tissue Culture Method for Plant Pathologist*. Blackwell Scientific Publications. London.
- Jones, L.H. 1974. Propagation of clonal oil palm by tissue culture. *Oil Palm News* 17:1-8.
- Kowalczyk, T.P., I.A. Mackenzie, and E.C. Cocking. 1983. Plant regeneration from organ explants and protoplast of the medicinal plant *Solanum khasianum* C.B. Clarke var. *Chatterjeanum* Sengupta (syn *Solanum viarum* Dunal). *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 111:55-68.
- Lane, W.D. 1982. Tissue culture and *in vitro* propagation of deciduous fruit and nut species. In D.T. Tomes et al. (eds.). *Application of Plant Cell and Tissue Culture to Agriculture and Industry*. University of Guelph. Guelph, Ontario, Canada. pp 163-186.
- Lassak, E.V., T. Mc Carthy. 1983. *Australian Medicinal Plants*. Metheun Australia. Australia.
- Maiti, P.C. 1964. *Solanum khasianum* var. *Chatterjeanum* Sengupta, the richest source of solasodine. *Current Sci. (India)* 33(3):730-732.
- Mantell, S.H., H. Smith. 1983. Cultural factors that influence secondary metabolite accumulations in plant cell and tissue cultures. In S.H. Mantell and H. Smith (eds.). *Plant Biotechnology*. Cambridge University Press. London. pp 75-108.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:135-166.

- Oei Ban Liang. 1984. Penyediaan solasodin - suatu bahan dasar bagi bahan baku kontrasepsi oral. Makalah pada Seminar Nasional II Bahan Baku Kontrasepsi PIL. Jakarta. 7 p.
- Saini, A.D. 1966. Alkaloidal content of *Solanum khasianum* Clarke. Current Sci. (India) 35:600-603
- Skoog, F., and Miller, C.O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultural *in vitro*. Symp. Soc. Eop. Biol. 11:118-131.
- Soegihardjo, C.J. 1987. Kultur Jaringan Tumbuhan sebagai Sumber Metabolit Sekunder. Kursus Singkat Kultur Jaringan Tumbuhan. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta.
- Soeryowinoto, M. 1985. Budidaya Jaringan dan Manfaatnya. 58 p.
- Soeryowinoto, M.S., dan M. Soeryowinoto. 1987. Perbanyakan Vegetatif pada Anggrek. Penerbit Yayasan Kanisius. Yogyakarta. 93 p.
- Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1981. Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach 2th ed. Mc Graw Hill Book Co. Singapore.
- Street, N.E. 1973. Roots. In P.F. Kruse, Jr, and M.K. Patterson, Jr. (eds.). Tissue Culture Methods and Application. Academic Press. New York.
- Sudiarto. 1982. Experiment on cultivation of diosgenine and solasodine yielding plants. Dalam Sinopsis dan Kumpulan Makalah. BKKBN, IPB, Puslit Farmasi Departemen Kesehatan RI. Jakarta. pp 120-121.
- , dan M.D. Rosita. 1982. Upaya penyediaan bahan baku kontrasepsi oral. Jurnal Litbang Pertanian I(2):41-44.
- Uddin, A., and H.C. Chaturvedi. 1979. Solasodine in somatic tissue cultures of *Solanum khasianum*. Planta Medica 37 (1):90-92.
- Vagujfalvi, D., M. Maroti, P. Tetenyi. 1971. Presence of diosgenin and absence of solasodine in tissue cultures of *Solanum laciniatum*. Phytochemistry 10: 1389-1390.

Van Steenis, C.G.G.J. 1978. Flora untuk Sekolah di Indonesia. PT Pramadya Paramita. Jakarta.

Winata, L. 1984. Tissue culture techniques. Training Course on Seed Technology of Forest Trees. SEAMEO. Bogor. 10 p. (unpublished).

_____. 1987. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 243 p.

Yeoman, M.M., and A.J. MacLeod. 1977. Tissue (callus) cultures - techniques. In H.E. Street (ed.). Plant Tissue and Cell Culture. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp 31-59.

Yudono, H.M. 1982. Oral contraceptives use (the Indonesia experience). Dalam Sinopsis dan Kumpulan Makalah. BKKBN, IPB, Puslit Farmasi Departemen Kesehatan RI. Jakarta. pp 24-26.



Hik Cipta, Peningkat, Undang Undang

1. Cipta yang ada sebagai data, informasi, karya tulis, for target memajukan dan memajukan sumber

4. Peningkat yang untuk kemajuan, produksi, distribusi, penjualan karya ilmiah, penelitian, laporan, penelitian karya atau tujuan untuk masalah

5. Peningkat yang untuk kemajuan yang untuk IPB University

1. Cipta yang untuk dan memajukan karya tulis for dalam bentuk laporan, karya tulis IPB University

L A M P I R A N

Tabel Lampiran 1. Komposisi Medium Dasar Murashige dan Skoog (1962)

UNSUR MAKRO	JUMLAH (mg/l)
KNO ₃	1 900
NH ₄ NO ₃	1 650
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
UNSUR MIKRO	JUMLAH (mg/l)
Na ₂ · EDTA	37.3
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8
MnSO ₄ · 4H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ · 4H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025
SENYAWA ORGANIK	JUMLAH (mg/l)
Sukrosa	30 000
Meso-inositol	10 000
Asam nikotinat	100
Pyridoxine-HCl	100
Thiamine-HCl	100
Agar 1 % (w/v)	7 500

Tabel Lampiran 2. Kombinasi Perlakuan Medium dari Eksplan untuk Kultur Kalus *S. khasianum* dalam Medium Dasar MS

MEDIUM (K)	EKSPLAN (B)		
	HIPOKOTIL (1)	BATANG (2)	DAUN (3)
K ₁	K ₁ B ₁	K ₁ B ₂	K ₁ B ₃
K ₂	K ₂ B ₁	K ₂ B ₂	K ₂ B ₃
K ₃	K ₃ B ₁	K ₃ B ₂	K ₃ B ₃
K ₄	K ₄ B ₁	K ₄ B ₂	K ₄ B ₃
K ₅	K ₅ B ₁	K ₅ B ₂	K ₅ B ₃
K ₆	K ₆ B ₁	K ₆ B ₂	K ₆ B ₃
K ₇	K ₇ B ₁	K ₇ B ₂	K ₇ B ₃
K ₈	K ₈ B ₁	K ₈ B ₂	K ₈ B ₃
K ₉	K ₉ B ₁	K ₉ B ₂	K ₉ B ₃
K ₁₀	K ₁₀ B ₁	K ₁₀ B ₂	K ₁₀ B ₃
K ₁₁	K ₁₁ B ₁	K ₁₁ B ₂	K ₁₁ B ₃

Keterangan :

K = MEDIUM

B = EKSPLAN

K₁ = MD (kontrol)

B₁ = Hipokotil

K₂ = MD + 3 mg/l 2,4-D

B₂ = Batang

K₃ = MD + 4 mg/l 2,4-D

B₃ = Daun

K₄ = MD + 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP

K₅ = MD + 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l KIN

K₆ = MD + 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP

K₇ = MD + 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l KIN

K₈ = MD + 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP + 15 % AIR KELAPA

K₉ = MD + 3 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l KIN + 15 % AIR KELAPA

K₁₀ = MD + 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP + 15 % AIR KELAPA

K₁₁ = MD + 4 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l KIN + 15 % AIR KELAPA

Tabel Lampiran 3. Sidik Ragam Kecepatan Pembentukan Kalus *S. khasianum*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	9	315.29	35.03	25.98**	1.88	2.41
Eksplan	2	383.10	191.55	142.05**	3.00	4.61
Medium X Eksplan	18	204.30	11.35	8.42**	1.62	1.96
Galat	247	333.07	1.35			
Total	276	1235.76				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 4. Sidik Ragam Bobot Basah Kalus *S. khasianum* pada Hari ke-30 Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	213.8219	21.3822	54.0086**	1.83	2.32
Eksplan	2	26.2886	13.1443	33.2008**	3.00	4.61
Medium X Eksplan	20	53.3879	2.6694	6.7425**	1.57	1.88
Galat	282	111.6448	0.3959			
Total	314	405.1432				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 5. Sidik Ragam Bobot Basah Kalus
S. khasianum pada Hari ke-60
 Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	1022.0824	102.2082	56.5411**	1.83	2.32
Eksplan	2	198.1339	99.0670	54.8034**	3.00	4.61
Medium X Eksplan 20	174	174.8716	8.7436	4.8369**	1.57	1.88
Galat	278	502.5352	1.8077			
Total	310	1897.6232				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 6. Sidik Ragam Bobot Kering Kalus
S. khasianum

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	4.8015	0.4801	106.4338**	1.83	2.32
Eksplan	2	0.7785	0.3893	86.2860**	3.00	4.61
Medium X Eksplan 20	174	0.8019	0.0401	8.8881**	1.57	1.88
Galat	273	1.2316	0.0045			
Total	305	7.6135				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 7. Sidik Peragam Bobot Basah Kalus
S. khasianum pada *Passage 2* (Umur
 60 Hari)

Sumber Keragaman	db	JUNLAH PERKALIAN			db	Y TERTIMBANG THD X				
		XX	XY	YY		JK	KT	F hit	F(0.05)	F(0.01)
TOTAL	39	0.8644	0.0546	42.1257						
MEDIUM	9	0.1427	0.1305	15.2764						
GALAT	30	0.7218	-0.0760	26.8493	29	26.8382	0.9255			
MEDIUM + GALAT	39	0.8644	0.0546	42.1257	38	42.1218				
MEDIUM TERTIMBANG					9	15.2835	1.6982	1.835	2.22	3.09

Tabel Lampiran 8. Sidik Peragam Bobot Kering Kalus
S. khasianum pada *Passage 2*

Sumber Keragaman	db	JUNLAH PERKALIAN			db	Y TERTIMBANG THD X				
		XX	XY	YY		JK	KT	F hit	F(0.05)	F(0.01)
TOTAL	39	0.8644	-0.0173	0.0472						
MEDIUM	9	0.1427	0.0020	0.0099						
GALAT	30	0.7218	-0.0193	0.0374	29	0.0367	0.0013			
MEDIUM + GALAT	39	0.8644	-0.0173	0.0472	38	0.0468				
MEDIUM TERTIMBANG					9	0.0102	0.0011	0.8945	2.22	3.09

Tabel Lampiran 9. Sidik Ragam Kecepatan Pembentukan Kalus *S. lacinatum*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	709.9633	70.9963	7.2766**	2.02	2.70
Galat	39	380.5167	9.7568			
Total	49	1090.4800				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 10. Sidik Ragam Bobot Basah Kalus *S. lacinatum* pada Hari ke-30 Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	203.8562	20.3856	11.5482**	2.02	2.70
Galat	40	70.6105	1.7653			
Total	50	274.4667				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 11. Sidik Ragam Bobot Basah Kalus
S. laciniatum pada Hari ke-60
 Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	687.2324	68.7232	15.0021**	2.02	2.70
Galat	40	183.2369	4.5809			
Total	50	870.4693				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 12. Sidik Ragam Bobot Kering Kalus
S. laciniatum

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0.05	0.01
Medium	10	0.7831	0.0783	32.0198**	2.02	2.70
Galat	40	0.0978	0.0024			
Total	50	0.8809				

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 13. Sidik Peragam Bobot Basah Kalus
S. laciniatum pada Passage 2
(Umur 60 Hari)

Sumber Keragaman	db	JUMLAH PERKALIAN			db	Y TERTIMBANG THD X				
		XX	XY	YY		JK	KT	F hit	F(0.05)	F(0.01)
TOTAL	86	1.0681	4.0652	242.5463						
MEDIUM	9	0.1760	0.7623	140.1790						
GALAT	77	0.8921	3.3029	102.3673	76	88.6606	1.1666			
MEDIUM + GALAT	86	1.0681	4.0652	242.5463	85	228.0610				
MEDIUM TERTIMBANG					9	139.4004	15.4889	13.2771**	2.22	3.09

** Berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel Lampiran 14. Sidik Peragam Bobot Kering Kalus
S. laciniatum pada Passage 2

Sumber Keragaman	db	JUMLAH PERKALIAN			db	Y TERTIMBANG THD X				
		XX	XY	YY		JK	KT	F hit	F(0.05)	F(0.01)
TOTAL	86	1.0681	-0.0015	0.1826						
MEDIUM	9	0.1760	-0.0680	0.0730						
GALAT	77	0.8921	0.0665	0.1096	76	0.1040	0.0014			
MEDIUM + GALAT	86	1.0681	-0.0015	0.1826	85	0.1826				
MEDIUM TERTIMBANG					9	0.0786	0.0087	6.3799**	2.22	3.09

** Berbeda nyata pada taraf 1%

