**KULTUR KALUS TANAMAN GAJAH BERANAK (*Goniothalamus tapis* Miq*)***

**TERHADAP KANDUNGAN ZAT GONIOTALAMIN**

**CALLUS CULTURE OF GAJAH BERANAK (*Goniothalamus tapis. Miq*)**

**ON THE CONTENT OF GONIOTHALAMINE**

Imam Mahadi1, Sri Wulandari2, Wan Safii3, Irda Sayuti4, Bakendri Sofyan5

1,2,3,4 Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP,Universitas Riau.

5Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN SUSKA Pekanbaru.

Email: imam.mahadi@lecturer.unri.ac.id

**ABSTRAK**

Kandungan zat Goniotalamin pada tanaman gajah beranak *(Goniothalamus tapis)* dapat digunakan sebagai obat kanker payudara. Oleh karena itu tanaman ini dapat digunakan sebagai sumber obat alternatif. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan gonotalamin melalui kultur kalus. Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan kultur kalus dari eksplan batang muda. Penelitian mengugunakan hormon 2,4-D (1-10 mg/l-1) dan BAP (0,5-2 mg/l-1) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Analisis data menggunakan teknik DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kultur kalus *G. tapis* pada media D5B1 (5,0 mg.l-1 2.4-D + 1 mg.l-1 BAP) adalah yang media perlakuan yang terbaik berbanding media perlakuan lainnya terhadap parameter waktu muncul kalus yaitu 28,33 hari, persentase pembentukan kalus yaitu 100%, tekstur kalus yang bagus yaitu remah, berwarna kuning kehijauan sesuai untuk kultur suspensi sel dan potensi kandungan goniotalamin yang banyak dengan ciri warna hasil KLN yang sangat jelas dan bersih. Untuk kultur suspensi sel berdasarkan sifat tekstur kalus yang remah dan potensi kandungan zat goniotalamin dapat menggunakan media perlakuan D5B0,5, D5B1, D5B2, D10B0,5 dan D10B1.  Dengan demikian dapat dilakuan kajian kuanttatif pada kandungan zat goniotalamin pada kultur sel dengan menggunakan Kromatografi Cair Prestasi Tinggi (KCPT).

*Kata kunci: Goniothalamus tapis, Goniotalamin, 2,4-D, BAP, Kultur suspensi sel*

**ABSTRACT**

The Goniothalamine compouns Gajah beranak (*Goniothalamus tapis*) can be used for breast cancer medicine. Therefore the need for alternative medicines to help solve the problem. This study aims to obtain gonotalamin through cell callus culture. The method used in this study uses callur culture. This research using a combination of hormone 2,4-D (1-10 mg/l-1) and BAP (0,5-2 mg/l-1) with 3 treatments with each treatment carried out 3 times. Data analysis techniques using DMRT techniques. The results of this study showed the suspension culture of *G. tapis* cells on media D5B1 (5,0 mg.l-1 2.4-D + 1 mg.l-1 BAP) show best results compared to other treatment media, the callus time parameter was 28.33 days, the percentage of callus formation was 100%, a best callus texture was friable, greenish-yellow in colour suitable for cell suspension culture and the potential for high goniotalamine content with very high colour characteristics of Thin Layer Chromatography (TLC) results. For cell suspension culture based on the texture of callus friable and potential goniotalamine content, the treatment media D5B0,5, D5B1, D5B2, D10B0,5 and D10B1 were used.Thus, a quantitative study can be carried out on the content of goniotalamine substances in cell culture using High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

*Keywords :* *Goniothalamus tapis, Goniothalamine, 2,4 D, BAP, Cell suspension culture*

**PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat lengkap, beragam jenis tanaman obat dapat tumbuh dengan subur dan telah digunakan oleh berbagai lapisan masyarakat. Tanaman obat dapat menjadi bahan utama dalam pembuatan jamu dan obat herbal. Indonesia juga memiliki hutan tropis yang kaya akan beranekaragam Tanaman yang dapat dimanfaatkan mulai dari akar, batang, daun sampai buah dan dapat digunakan sebagai obat untuk kesehatan oleh masyarakat.

Salah satu Tanaman yang dapat dijadikan obat tradisional dari Genus *Goniothalamus* adalah *Goniothalamus tapis.* Tanaman initersebar luas di Sumatera, Semenanjung Malaysia dan Thailand (Tang et al., 2013). *Goniothalamus* merupakan salah satu genus terbesar dari Famili Annonaceae yang menjadi sumber obatan tradisional yang penting di Asia Tengggara. Tanaman *Goniothalamus* ini disebut juga Tanaman Gajah Beranak oleh suku asli masyarakat Riau yaitu suku Sakai dari spesies *Goniothalamus tapis* dan *G.macrophyllus* (Sinclair, 1955). Bagi masyarakat suku sakai Tanaman ini digunakan sebagai obat setelah bersalin untuk membersihkan darah nifas. Tanaman ini biasa dimanfaatkan oleh masyrakat sebagai obat penurun panas, pereda maag, dan membantu pemulihan wanita bersalin. Genus ini dianggap sebagai hasil hutan yang mempunyai potensi sebagai sumber perobatan yang belum dikembangkan (Mat & K & Latiff, 2002).

Menurut Laily et al., (1992),tanaman genus *Goniothalamus* spp mengandung senyawa Goniotalamin. Goniothalamin adalah suatu zat yang bersifat aktif biologi yang diekstrak dari Tanaman *Goniothalamus* spp. Menurut Seyed et al., (2014) niotalamin dapat menghambat pertumbuhan atau perkembangan suatu sel kangker dalam jaringan tubuh. Azimahtol et al., (1993) telah membuktikan dalam kajian labor bahwa ekstrak goniotalamin dari *Goniothalamus* berpengaruh sebagai agen anti kangker payudara dan pengguguran janin ditingkat awal. Permintaan bahan baku goniotalamin semakin meningkat untuk membuat kajian-kajian perobatan sebagai anti kangker, anti mikroba dan pemhambat pertumbuhann janin sehingga perlu dilakukan peningkatan produksi melalui metode spesifik.

Tanaman *Goniothalamus* sulit dikembangkan secara konvensional karena perkembangan embrio sangat lama untuk sampai ke fase pematangan dan banyak bijinya tidak menghasilkan embrio sehingga sulit berkecambah. Penelitian Mahadi, (2012) mendapati bahwa waktu yang diperlukan untuk tanaman *Goniothalamus* berkecambah secara konvensional adalah 8 -12 bulan hal ini berbanding terbalik jika menggunakan kultur jaringan hanya membutuhkan waktu 1-3 bulan. Sehingga pengunaan metode kultur jaringan terutama kultur kalus adalah merupakan cara yang lebih cepat untuk mendapatkan hasil bahan metabolik sekunder.

Hal ini sejalan dengan penelitian Dodds, (1983) sebelumnya yaitu menjelaskan bahwa Kultur kalus adalah langkah awal untuk mendapatkan sel-sel yang muda dan giat membelah sebelum digunakan untuk pembiakan sel-sel ke dalam tahap kultur suspensi sel untuk menghasilkan bahan metabolik sekunder tanaman. Mahadi et al., (2016) juga menambahkan kulur kalus dapat dimanfaat sebagai pemilihan sel-sel potensi pada tanaman penghasil bahan metabolik sekunder baik seperti tanaman obat maupun tanaman penyengar sehingga perlu dikembangkan dengan metode kultur kalus supaya bahan metabolik sekunder yang diinginkan dapat dihasilkan lebih baik.

**BAHAN DAN METODE**

Sampel tumbuhan Gajah Beranak (*Goniothalamus* sp) yang diambil dari Hutan Ulayat Desa Cengar, Kecamatan Kuantan Mudik, Kabupaten Kuantan Singigi dan di Hutan Raya Sultan Syarif Kasim provinsi Riau.

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode eksperimen menggunakan rancangan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 3 perlakukan dan 3 kali pengulangan dengan penambahan hormon 2,4-Dicloropenoxy Acetic 1mg/l-1 – 10mg/l-1(2,4-D) dan Benzyl Amino Purin 0,5mg/l-1 – 2mg/l-1. Eksplan yang digunakan batang muda ex vitro). Analisis kuaitatif Goniotalamin dilakukan pada kultur kalus dan pokok induk. Parameter penelitian yaitu pertumbuhan sel kalus dan kandungan goniotalamin. Hasil kandungan goniotalamin dianalisis dengan ANAVA dan diuji lanjut dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf 5% untuk mengetahui kesignifikanannya. Tahap penelitian sebagai berikut :

**Ekstraksi Goniotalamin**

Sampel sel kalus dikeringkan dalam oven dengan suhu ± 50°C selama 24 jam dan dikisar halus. Masing-masing sebanyak 100 mg serbuk sampel sel kalus diektrak dengan menggunakan l ml etanol 100%. Ekstrak disonikat selama 10 minit dan diempar pada putaran 5000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipipet dan dimasukkan ke dalam tiup opendop yang telah disediakan untuk hasil ekstrak. Langkah ini diulangi sehingga larutan sampel menjadi jenih. Sebanyak 200 µl diambil dan dikeringkan dengan nitrogen (N2). 1 ml asetonitril (ACN) 100% dicampurkan. Setelah itu diambil 100 µl dan ditambahkan 900 µl asetonitril 100% sebagai pencairan.

**Analisis kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Analisis kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode Laily et al., (1992) yaitu penggunaan Plat kromatografi Lapis Tipis. Pre-coated TLC Plat.Plat kromatografi menggunakan pelarut petrolium eter dan ethyl acetat dengan perbandingan 1:1. Sebagai standar menggunakan goniotalamin murni, penetuan nilai RF (Faktor Pemhambat).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Waktu Muncul Kalus**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus Gajah Beranak dapat diinduksi pada semua medium perlakuan. Hasil pengamatan waktu muncul kalus menunjukkan bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus yang terbentuk pada eksplan. Perlakuan yang hanya mengandung hormon BAP saja kalus tidak terbentuk. Adapun data rerata hasil pengamatan waktu muncul kalus yang dinyatakan dalam Hari Setelah Kultur (HSK) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel. 1. Hasil Kultur kalus tanaman Gajah Beranak (*Goniothalamus* sp) dengan kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP (HSK)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Kombinasi**  **perlakuan**  **2,4-D**  **BAP (mg/l-1)** | **Waktu Muncul**  **Kalus** | **Pesentase**  **Pembentukan**  **Kalus**  **(HSK)** | **Tekstur Kalus**  **Warna** |
| D0B0 | - | - | - |
| D1B0 | - | - | - |
| D1B0,5 | - | - | - |
| D1B1 | - | - | - |
| D1B2 | - | - | - |
| D3B0 | 60,67f | 60 c | Kompak, kehijauan |
| D3B0,5 | 45,33e | 60,33 c | Kompak, kehijauan |
| D3B1 | 44,33e | 80,33b | Agak Remah, kehijauan |
| D3B2 | 43,00e | 80,67 b | Agak Remah, kehijauan |
| D5B0 | 44,67e | 100 a | Kompak, Hijau kekuningan |
| D5B0,5 | 37,33de | 100 a | Remah, kuning kehijauan |
| D5B1 | 35,33d | 100 a | Remah, kuning kehijauan |
| D5B2  D10B0  D10B0,5  D10B1  D10B2 | 28,33c  40,67b  35,67a  37,33a  38,33a | 100 a  100 a  100 a  100 a  100 a | Remah, putih kekuningan  Kompak, coklat  Remah, kuning kecoklatan  Remah, putih kekuningan  Lembek Berair, kuning kecoklatan |

Ket: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada setiap baris menunjukkan beda nyata pada taraf 5% pada uji wilayah berganda Duncan α = 0,05 D = 2,4-D B = BAP HSK = Hari setelah kultur (maks pengamatan 75 hari HSK)

Hasil analisis statistik yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan untuk setiap kombinasi konsentrasi antara 2,4-D dan BAP yang diuji memberikan laju pertumbuhan kalus yang berbeda nyata. Laju pertumbuhan kalus tanaman Gajah beranak dapat ditingkatkan dengan jalan mengatur komposisi media tumbuh yang digunakan, salah satunya dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Dari tabel 1 diatas, dapat dilihat rerata waktu muncul kalus berkisar antara 60,67 HSK hingga 28,33 HSK. Sedangkan pada perlakukan D0B0 (Kontrol), D1B0, D1B0,5, D1B1 dan D1B2 kalus tidak terbentuk. Semakin tinggi kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam medium menyebabkan laju pertumbuhan kalus semakin tinggi. Rerata waktu muncul kalus yang paling tinggi terdapat pada perlakuan D3B0 yaitu 60,67 HSK yang jenis eksplannya yang hanya mengandung 2,4-D saja dengan kosentrasi rendah seperti yang terlihat pada gambar 1, ini berarti kalus muncul pada waktu yang lama hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut hanya ditambahkan 3 mg/l-1 BAP saja, sehingga belum optimal untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Hal ini dapat dibuktikan dengan peningkatan konsentrasi fitohormon yang ditambahkan dalam media dapat meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Pada perlakuan D0B0 (Kontrol), D1B0, D1B0,5, D1B1 dan D1B2 disebabkan hormon eksogen belum dapat merangsang pembelahan sel dan hormon endogen yang terkandung dalam eksplan itu tidak mampu memacu sel untuk berkembang dan memperbanyak diri. karena jumlah hormon yang tidak tersedia secara pasti. Hal ini membuktikan bahwa terbentuknya kalus sangat dipengaruhi oleh peran kosentrasi hormon dan jenis hormon. Menurut Zaino et al., (2019) kondisi tersebut membuktikan bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari fitohormon yang ada dalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media.

**A**



**B**B



Gambar 1. Kalus Gajah Beranak yang lama terbentuk pada perlakuan D1B0 (A) dan Kalus Gajah Beranak yang tercepat pada perlakuan D5B2 (B)

Pada perlakuan D5B1 merupakan rerata waktu muncul kalus Gajah Beranak yang paling rendah yaitu 28,33 HSK ini berarti kalus muncul pada waktu yang paling cepat yaitu sekitar 28-29 hari setelah hari pengkulturan eksplan seperti yang terlihat pada gambar 1. Hal ini disebabkan karena pengaruh penambahan 2,4-D dalam media ternyata efektif untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan semakin meningkatkan laju pertumbuhan kalus. Auksin berupa 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel. Plastisitas dan pengembangan dinding sel didorong oleh pemberian auksin, karena auksin mengeluarkan H+ ke dalam dinding sel dan H+ ini menyebabkan pH dinding sel menurun sehingga terjadi pelonggaran struktur dinding (berarti peningkatan plastisitas) dan terjadi pertumbuhan. Walaupun auksin dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi kalus namunpenambahan hormoh sitokinin dalam media sebagai bahan kombinasi dapat berperan dalam menginduksi pembelahan sel. Menurut Fitroh et al., (2018) secara umum penambahan auksin akan memacu pembentukan kalus, jika perbandingan auksin dan sitokinin di dalam media lebih tinggi ke sitokinin akan memacu eksplan kalus beregenerasi membentuk organ.

**Persentase Terbentuk kalus**

Pesentase pembentukan kalus pada tanaman Gajah Beranak dilakukan dengan sub kultur dengan mengambil kalus dan memindahkannya pada medium baru, dengan sistem induksi yang tepat kalus tanaman Gajah beranak dapat berkembang. Hasil rerata persentase jumlah kalus pada eksplan Gajah Beranak (*Goniothalamus tapis*) dapat dilihat pada tabel 1.

Persentase tumbuh eksplan tanaman gajah Beranak didapatkan dari jumlah eksplan yang tumbuh secara keseluruhan. Hasil analisis varian persentase tumbuh eksplan menunjukkan, bahwa pemberian hormon 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan. Perlakuan D5B0 hingga D10B2 menunjukkan persentase tumbuh eksplan mencapai 100% hal ini disebabkan karena eksplan yang digunakan adalah jaringan muda yang memiliki sifat maristematik yang memiliki hormon endogen yang aktif membelah dan kemudian dikombinasikan dengan hormon eksogen dari kelompok auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP). Menurut Zulkarnaen (2009) bahwa jaringan-jaringan yang sedang aktif tumbuh pada awal masa pertumbuhan biasanya merupakan bahan eksplan yang paling baik. Senyawa 2,4 -D merupakan salah satu jenis auksin yang sangat efektif untuk menginduksi pembentukan kalus, walaupun auksin yang berperan utama tetapi sitokinin sangat dibutuhkan untuk proliferasi kalus sehingga kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus (Mahadi, 2012).

Pada perlakuan D3B0, D3B0,5, D3B1 danD3B2 tingkat rerata persentase jumlah kalus tanaman Gajah Beranak lebih rendah yaitu sekitar 58,33 % - 80,33%, hal ini disebabkan karena pemberian hormone 2,4-D yang rendah dan kosentrasi hormon BAP yang tinggi tidak dapat merangsang pembentukan kalus yang maksimal. Konsentrasi auksin yang relatif rendah pengaruhnya tertutup oleh sitokinin yang konsentrasinya lebih tinggi sehingga menyebabkan kalus yang terbentuk hanya sedikit karena terhambat oleh hormon BAP. Menurut Wattimena (1992) auksin mempunyai peranan terhadap pertumbuhan sel, dominasi apikal dan pertumbuhan kalus.

Pada perlakuan D5B0 hingga D10B2 pembentukan kalus 100% terjadi eksplan batang muda tanaman Gajah Beranak, hal ini disebabkan auksin berkumpul di bawah permukaan batang yang menyebabkan sel-sel jaringan di bawah permukaan batang tersebut akan tumbuh lebih cepat dari sel-sel jaringan di atas permukaan batang sehingga meningkatkan bilangan sel kalus yang terbentuk. Sedangkan peranan hormon BAP yang seimbang sebagaihormon eksogen yang ditambahkan bersama dengan 2,4-D dapat membantu merangsang pembentukan kalus.

**Tekstur Kalus**

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus tanaman Gajah Beranak yang baik diasumsikan memiliki tekstur remah (*friable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Dengan demikian, dengan tekstur tersebut upaya untuk perbanyakan dalam hal jumlah kalus yaitu melalui kultur suspensi lebih mudah. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam,yaitu : padat/kompak (*compac*), agak remah (*intermediet*), remah (*friable*) dan lembek berair (*mushy watery*) (Kashyap et al., 2016). Hasil pengamatan tentang tekstur kalus dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan hasil pengamatan tekstur kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan dengan kombinasi 2,4-D dan BAP adalah bertekstur kompak, remah hingga berair dengan warna yang bervariasi dari berwarna hijau hingga berwarna kuning kecoklatan seperti terlihat pada gambar 2. Perbedaan warna yang terjadi pada kalus menunjukkan tingkat perkembangan kalus yang berbeda-beda pula, hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi fitohormon yang diberikan pada media kultur. Menurut Pierik (1987), tekstur pada kalus dapat bervariasi dari kompak hingga meremah dan berair, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrien media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur.



**B**

**A**



**C**

**D**



**E**

Gambar 2. Tekstur kalus yang terbentuk pada berbagai perlakuan: (A) Tektur padat (*Kompac*) berwarna Kehujauan, (B) Tekstur semi remah (*Intermediet*) berwarna kehijauan (C) Tektur remah (*friable*) berwarna hijau muda, (D) Tektur Remah (*friable*) Kuning kecoklatan, (E). Kalus Lembek Berair (*Mushy watery*)

Kalus dengan tekstur remah (*friable*) merupakan kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang mudah lepas yaitu terdapat pada media perlakuan D5B0,5, D5B1, D5B2, D10B0,5 danD10B1. Terbentuknya kalus yang bertekstur remah pada media kultur selain dengan adanya hormon tambahan eksogen antara konbinasi hormon 2,4-D dan BAP yang seimbang ini juga dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan batang muda dari tanaman Gajah beranak. Keseimbangan kemampuan sel tanaman dalam memanfaatkan nutrisi secara maksimal di dalam sel, dalamproses metabolisme dan sistesa protein yang aktif akan menghasilkan sel-sel yang cepat membelah dan menghasilkan bahan metabolit yang banyak. Tekstur kalus yang remah mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Sel-sel kalus yang terbentuk bersifat remah memiliki ciri-ciri antara satu sel dengan sel lainnya berpisah. Bila kalus diambil dengan pinset, maka kalus tersebut akan menempel pada pinset dan mudah disub kultur (Oratmangun et al., 2017). Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai (Syahid et al., 2020).

Pada perlakuan D3B0, D3B0,5, D5B0 danD10B0 kalus yang terbentuk mengalami lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Tekstur kalus kompak merupakan efek dari sitokinin yang berperan dalam transport zat hara. Sistem transport sitokinin dari bagian basal ke apeks akan membawa air dan zat hara melalui pembuluh pengangkut dan mempengaruhi potensial osmotik dalam sel. Penambahan sukrosa dalam medium akan mengalir melalui pembuluh floem dan menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut muncul akibat adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara (sukrosa) dari medium akan masuk kedalam sel melalui cara osmosis. Hal ini akan membuat dinding-dinding sel semakin kaku, sehingga sel kalus akan menjadi kompak. Sukrosa yang merupakan karbohidrat sebagai cadangan makanan ini akan diubah menjadi pati yang digunakan sebagai energi pada proses morfogenesis eksplan, sehingga dapat membantu sel untuk terus membelah. Menurut Kashyap et al., (2016), jika hanya auksin saja yang terdapat pada media dapat menyebabkan lignifikasi dan kalus akan bertektur kompak, sehingga perlu adanya kombinasi antara auksin dan sitokinin dalam menghasilan kalus yang bertektur remah.

Menurut (Kasi & Sumaryono, (2016), warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik. Respon eksplan Gajah beranak yang berasal dari media dengan penambahan 2,4-D yang tinggi memiliki tekstur yang remah dan dominan berwarna putih kehijauan dan sedangkan bertektur kompak danberwarna hijau ini disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi 2,4-D dan BAP (sitokinin) yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Robbiani et al., (2010) bahwa perubahan warna kalus menjadi kuning kehijauan, kemungkinan pada sel kalus sudah mulai terbentuk klorofil. Kalus yang berwarna kuning keputihan tidak mengandung kloroplas, tetapi mengandung plastid yang berisi butir pati yang sedikit demi sedikit tumbuh menjadi sistem membran yang jelas yang akhirnya terbentuklah butir-butir klorofil dengan paparan cahaya, sehingga kalus menjadi berwarna hijau. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Koua et al., (2011), bahwa cahaya kuning keputihan dapat merangsang pembentukan kalus dan organogenesis dalam kultur jaringan tumbuhan.

Pertumbuhan kalus Gajah Beranak semakin menurun dan tidak bertahan lama kemudian mati secara perlahan pada minggu ke 24 yang diawali dengan gejala perubahan warna menjadi coklat (*browning)* hal ini diduga karena selama masa perkembangannya kalus yang semakin lama berada pada media tanam akan mengalami degradasi fisiologis atau penurunan tingkat fisiologi tanaman akibat kekurangan unsur hara atau hormon tumbuhnya sehingga kalus menunjukkan ciri ketuaan pada sel sehingga menyebabkan warna kalus berubah menjadi coklat (*browning).*Gejala pencoklatan (*browning)* merupakan tanda-tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan. Selain menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol, warna coklat disebabkan oleh semakin bertambahnya umur sel atau jaringan kalus. Menurut Marisol Ochoa-Villarreal et al., (2016), warna kecoklatan pada kalus (*browning*) ini akibat adanya metabolisme senyawa fenol bersifat toksik, yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan, yang menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan.

**Analisis Kualitatif Kandungan Goniotalamin (Kromatografi Lapis Nipis)**

Analisis kuantotatif goniotalamin dilakukan terhadap media perlakukan yang menghasilkan kalus. Hasil uji KLN menunjukan bahwa tumpukan goniotalamin dari kultur kalus tanaman Gajah Beranak (*Goniothalamus* sp) pada plat Kromatografi Lapis Tipis(KLT) memiliki nilai Rf goniothamin murni adalah 0,79 sebagai standar acuan. Untuk semua sampel kalus dari semua media perlakukan didapati nilai Rf antara 0,77-0,79, ini membuktikan bahwa semua sampel ternyata memiliki angka yang mendekati atau sama dengan nilai standar goniothalamin. Hasil nilai ini menandakan semua sampel mengandung senyawa goniothalamin. Ketajaman warna juga menunjukan masing-masing perlakuan tumbuhan mengandung goniothalamin yang berbeda.

Tumpukan semua eksplan batang kultur kalus pada perlakuan D5B1 danD5B2, menunjukan warna pada plat KLN yang sangat jelas, hal ini membuktikan bahwa kandungan goniotalamin dalam kajian ini berbeda dengan ketajaman warna pada plat KLN yang dihasilkan. Semakin jelas dan cerah serta memiliki niai RF yang sama atau mendekati nilai RF goniothalamin strandar maka hal ini menunjukan kandungan goniothalamin yang tinggi. Keadaan ini menjelaskan bahwa dengan adanya goniotalamin di dalam kultur kalus mengandung goniothalamin. Kualitas warna yang dihasilkan olek Plat KLN akan mengindikasi tingginya kandungan suatu zat yang ada di dalamnya pada kultur kalus tanaman Gajah beranak (*Goniothalamin tapis*). Keberadaan zat goniothalamin tersebut dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Keberadaan Goniotalamin dengan UJI Kromatografi Lapis Nipis (KLN) bersdasarkan perlakuan pada Tanaman Gajah Beranak.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan  2,4-D dan BAP (mg/l-1) | Keberadaan  Goniotalamin | Kualitas  Warna | Indikasi  Kadungan  Goniotalamin |
| D3B0 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D3B0,5 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D3B1 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D3B2 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D5B0 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D5B0,5 | Ada | Jelas | Banyak |
| D5B1 | Ada | Sangat Jelas | Sangat Banyak |
| D5B2 | Ada | Sangat Jelas | Sangat Banyak |
| D10B0 | Ada | Kabur | Sedikit |
| D10B0,5 | Ada | Jelas | Banyak |
| D10B1 | Ada | Jelas | Banyak |
| D10B2 | Ada | Kabur | Sedikit |

Berdasarkan pada tabel 4 bahwa perlakuan D1B0 danD1B0,5 menunjukan tidak adanya keberadaan Goniotalamin karena tidak ditemukan noktah atau tumpukan warna biru yang mendekati nilai RF goniotalamin murni (Standar). Sedangkan untuk perlakuan D5B1 danD5B2  menunjukkan noktah dengan warna sangat jelas dan diperkirakan banyak mengandung goniothalamin berbanding perlakuan media lainnya. Untuk perlakuan media D3B0, D3B0,5, D3B1, D3B2, D5B0 dan D10B2 menunjukan warna kabur pada plat KLN, hal ini menghasilkan goniotalamin sedikit. Dari semua perlakuan hanya 5 media yang dapat diteruskan ke kultur suspensi sel berdasarkan tekstur dan potensi kandungan goniotalamin dari kategori banyak hingga kategori sangat banyak yakni pada media perlakuan D5B0,5, D5B1, D5B2, D10B0,5 dan D10B1.  Dengan demikian dapat dilakuan kajian kuanttatif pada kandungan zat goniotalamin pada kultur sel dengan menggunakan Kromatografi Cair Prestasi Tinggi (KCPT).

**SIMPULAN**

* Hasil kajian kultur kalus tanaman gajah beranak (*Goniothalamin tapis*) mendapati bahwa media pertlakuan D5B1 (5,0 mg.l-1 2.4-D + 1 mg.l-1 BAP) adalah yang terbaikterhadap parameter .
* Kultur suspensi sel berdasarkan sifat tekstur kalus yang remah dan potensi kandungan zat goniotalamin dapat menggunakan media perlakuan D5B0,5, D5B1, D5B2, D10B0,5 dan D10B1.
* Dapat dilakuan kajian kuanttatif pada kandungan zat goniotalamin pada kultur sel dengan menggunakan Kromatografi Cair Prestasi Tinggi (KCPT).

**DAFTAR PUSTAKA**

Azimahtol, H. L. P., Johnson, S., Devaraj, T., Manimaran, S., & Laily, D. (1993). The potential of Goniothalamus extract as antitumor agent. *Proceedings of the Seventeenth Malaysia Biochemical Society Annual Meeting*, 1–9.

Dodds, R. A. (1983). *Experiments in Plant Tissue Culture*. Cambridge University Press.

Fitroh, A. I., Dwiyani, R., Wijaya, I. K. A., & Yuswanti, H. (2018). Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Daun Stroberi (Fragaria sp.) dengan Media Alternatif Nutrisi Hidroponik AB Mix. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*.

Kashyap, S., Kapoor, N., & Kale, R. D. (2016). Callus and Suspension Cell Culture of the Endangered Medicinal Plant Using Vermicompost Extract and Coelomic Fluid as Plant Tissue Culture Media. *American Journal of Plant Sciences*, *07*(06), 899–906. https://doi.org/10.4236/ajps.2016.76085

Kasi, P. D., & Sumaryono. (2016). Perkembangan kalus embriogenik sagu (Metroxylon sagu Rottb.) pada tiga sistem kultur in vitro Development of embryogenic callus of sago (Metroxylon sagu Rottb.) on three systems of in vitro culture. *E-Journal Menara Perkebunan*. https://doi.org/10.22302/ppbbi.jur.mp.v76i1.88

Koua, F. H. M., Abbas, F. M., Elgaali, E. I., Khalafallah, M. M., & Babiker, H. A. A. (2011). In vitro host-free seed culture, callus development and organogenesis of an obligatory root-parasite Striga hermonthica (Del.) Benth: The witch-weed and medicinal plant. *International Journal of Plant Biology*. https://doi.org/10.4081/pb.2011.e9

Laily, D., Zuriati, Z., Mohd. Wahid, S., Abd. Hamid, A. H., & Latifi, A. (1992). Sebatian terbitan stirilpiron dari pada Goniothalamus tapis Miqo (Annonaceae). *Prosiding Seminar Kebangsaan Kumpulan Sebatian Semulajadi Ke 6*, 121–126.

Mahadi, I. (2012). *Induksi Kalus Kenerak ( Goniothalamus umbrosus ) Berdasarkan Jenis Eksplan Menggunakan Metode In Vitro Callus Induction of Kenerak Based on Explant Types Using In vitro Methods*. *1*(1), 18–22. https://www.neliti.com/publications/258945/induksi-kalus-kenerak-goniothalamus-umbrosus-berdasarkan-jenis-eksplan-menggunak

Mahadi, I., Syafi’i, W., & Sari, Y. (2016). Callus Induction of Calamansi (Citrus microcarpa) Using 2,4-D and BAP Hormones by in vitro Methods. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, *21*(2), 84–89. https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84

Marisol Ochoa-Villarreal, Howat, S., Hong, S. M., Jang, M. O., Jin, Y. W., Lee, E. K., & Loake, G. J. (2016). Plant cell culture strategies for the production of natural products. *BMB Reports*, *49*(3), 149–158. https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.3.264

Mat, S., & K & Latiff, A. (2002). *Tanaman Ubatan Malaysia*. Universiti Kebangsaan Malaysia.

Oratmangun, K. M., Pandiangan, D., & Kandou, F. E. (2017). Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus Catharanthus roseus (L.) G. Donnaman. *Jurnal MIPA*. https://doi.org/10.35799/jm.6.1.2017.16154

Robbiani, D., Nurhidayati, T., & Jadid, N. (2010). PENGARUH KOMBINASI NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA) DAN KINETIN PADA KULTUR IN VITRO EKSPLAN DAUN TEMBAKAU (Nicotiana tabacum L. var. Prancak 95). *Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya*.

Seyed, M. A., Jantan, I., & Bukhari, S. N. A. (2014). Emerging Anticancer Potentials of Goniothalamin and Its Molecular Mechanisms. In *BioMed Research International*. https://doi.org/10.1155/2014/536508

Sinclair, J. (1955). A revision of the Malayan Annonaceae. *Gardens’ Bulletin*, 423–446.

Syahid, S., Fatimah, K., Natalini, N., & Seswita, D. (2020). Pengaruh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin dari daun jati belanda (Guazuma ulmifolia lamk) secara in vitro. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. https://doi.org/10.21082/jlittri.v16n1.2010.1-5

Tang, C. C., Xue, B., & Saunders, R. (2013). A new species of Goniothalamus (Annonaceae) from Palawan, and a new nomenclatural combination in the genus from Fiji. *PhytoKeys*, *32*, 27–35. https://doi.org/10.3897/phytokeys.32.6663

Zaino, l H., Ahmad, S., Syed, M., Mahmood, M., & Mansor, H. (2019). *Factors Afecting Cell Biomass and Flavonoid Production of Ficus deltoidea var. kunstleri in Cell Suspension Culture System*.