

Identifikasi Minyak Atsiri dalam Kalus Daun Lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) dengan Perlakuan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA pada Medium MS

Identification of Essential Oil in Lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) Leaves Callus with Treatment of Addition Plant Growth Regulator NAA on MS Medium

RATNO AGUNG SAMSUMAHARTO^{1*}, FRANSISKA LEVIANA², PRAPITA SARI WIDAYANTI²

¹Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Surakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518

* Korespondensi: ras_agung@yahoo.com

(Diterima 2 Februari 2010, disetujui 1 Maret 2010)

Abstrak

Tanaman lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) mengandung metabolit sekunder salah satunya yaitu minyak atsiri. Minyak lavender dapat digunakan sebagai antiseptik, anti radang, penolak serangga (*repellant dan antifeedent*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hormon NAA dalam menginduksi kalus daun lavender dan merangsang pembentukan minyak atsiri dalam kalus daun lavender. Percobaan ini dilakukan dengan teknik kultur jaringan tanaman. Penanaman eksplan pada media MS dengan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA yaitu 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L. Kalus dilakukan pengamatan pertumbuhannya setiap hari dan dilakukan evaluasi keberhasilan pembentukan kalus, waktu induksi kalus dan berat kalus, selanjutnya dilakukan analisis minyak atsiri dengan reaksi warna dan KLT menggunakan fase gerak hesana-etil asetat (96:4) dan fase diam silika gel 60F254 dan diamati bercak dengan disemprot anisaldehyd-H₂SO₄. Hasil penelitian menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh dalam keberhasilan pembentukan kalus, mempercepat waktu induksi kalus dan berat kalus daun lavender. Penambahan zat pengatur tumbuh NAA 2,0 mg/l mempunyai keberhasilan pembentukan kalus 86,67%, waktu induksi kalus tercepat 5,69 hari dan rata-rata berat kalus kering terbesar 0,070 gram. Kalus hasil kultur jaringan dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA mengandung komponen minyak atsiri yang sama dengan tanaman asal.

Kata kunci: NAA, kalus daun lavender, minyak atsiri

Abstract

Lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) plant contains secondary metabolite such as volatile oil. Lavender oil can be used as antiseptic, anti-inflammation, repellent and antifeedant. The experiment was aimed to know the influence of NAA hormone in inducing lavender leaves callus and stimulating volatile oil in lavender leaf callus. The experiment was done by plant tissue culture technique. Explant cultivation in MS media with various NAA plant growth regulator concentrations, i.e. 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L. Observation and evaluation were conducted for the success of callus forming, callus induction time, and callus weight and then the volatile oil was analyzed by color test and TLC using mobile phase hexane-ethyl acetate (96:4) and stationary phase silica gel 60F254 and the spot was observed by anisealdehyde- H₂SO₄ spray. The result of the experiment showed that NAA plant growth regulator with difference concentrations affected callus formation 86,67%, the fastest callus induction time 5,69 days, and the biggest average

weight of dry callus 0,070 gram. The callus obtained from tissue culture with addition of NAA plant growth regulator contained volatile oil component the same as mother plant.

Keywords: NAA, lavender callus, volatile oil.

Pendahuluan

Tanaman lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) mengandung metabolit sekunder salah satunya adalah minyak atsiri. Minyak lavender dapat digunakan sebagai aroma terapi, antiseptik, antiradang, bahan penolak serangga (Wichtl dan Bisset 1994). Selain dikenal luas sebagai bahan pewangi, minyak lavender juga banyak digunakan sebagai bahan penolak serangga (*repellent* dan *antifeedent*), bahkan termasuk bahan yang sering yang digunakan sebagai lotion antinyamuk (Kardinan 2007).

Minyak lavender mengandung berbagai komponen monoterpen dan seskuiterpen. Komposisi utama dalam minyak lavender adalah linalool dan linalil asetat sebanyak 30-60%. Diduga kandungan linalool inilah yang menyebabkan minyak lavender berfungsi sebagai pengusir nyamuk karena komponen ini sudah dikenal sebagai antiserangga (Catherine 2001; Kardinan 2007)

Sehubungan dengan meningkatnya permintaan pasar akan metabolit sekunder dari tanaman dan terbatasnya penyediaan bahan baku, oleh karena itu dilakukan alternatif dengan metode kultur jaringan tanaman. Kultur jaringan tanaman adalah teknik menumbuhkan sel-sel jaringan atau organ tanaman dalam suatu media bernutrisi dan dijaga sehingga bebas dari mikroorganisme, dengan teknik ini maka dapat mengatasi permasalahan yang timbul dalam memperoleh senyawa metabolit sekunder secara konvensional yaitu terbatasnya bahan baku, lahan penanaman, dan teknik budidaya. Keuntungan kultur jaringan tanaman antara lain tidak memerlukan areal tanah yang luas, tidak menunggu sampai tahunan dari kalusnya dapat diambil metabolit sekundernya, kadar metabolit sekundernya dapat lebih tinggi (Oomen 2009).

Zat pengatur tumbuh atau hormon memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan

kultur. Zat pengatur tumbuh adalah hormon sintesis yang ditambahkan dari luar tubuh tanaman dan berfungsi untuk merangsang pertumbuhan (Hendaryono dan Wijayani 1994). Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah naftalen asam asetat (NAA) yang merupakan golongan auksin sintesis yang mempunyai sifat lebih stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau oleh pemanasan pada proses sterilisasi. NAA berfungsi untuk merangsang pemanjangan sel, akar, dan pembentukan kalus (Hendaryono dan Wijayani 1994).

Penelitian terhadap pembentukan kalus daun lavender pernah dilakukan oleh Oomen (2009) dimana produksi kalus optimal pada media MS dengan campuran hormon IAA 2 mg/l dan kinetin 1 mg/l. Kultur jaringan terbukti mampu meningkatkan pembentukan senyawa monoterpen dan seskuiterpen *Lavandula angustifolia* hingga 20 kali lipat (Banthorpe 1995).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA terhadap keberhasilan pembentukan kalus, waktu pembentukan kalus, rata-rata berat kalus dan untuk mengetahui adanya kandungan minyak atsiri dalam kalus daun lavender (*Lavandula officinalis* Chaix).

Metode Penelitian

Bahan

Bahan digunakan adalah daun lavender yang diperoleh dari daerah Kaliurang, Yogyakarta, media Murashige Skoog, NAA, Bayclin, sabun cair, Dithane M45[®], Agript 1%, alkohol 70%, Tween 80, akuades steril, petroleum eter, plat silika gel 60F₂₅₄, anisaldehyd-H₂SO₄.

Alat

Alat yang digunakan adalah autoklaf, gelas ukur, erlenmeyer, gelas piala, botol kultur, cawan petri,

karet gelang, aluminium foil, skalpel, *laminar air flow* (LAF), pH *stick*, timbangan analitik, lemari pendingin, pembakar spiritus, oven, tabung reaksi, pipa kapiler, bejana KLT, lampu UV, corong, kertas saring.

Pembuatan Media

Senyawa makronutrien, mikronutrien, sukrosa, sumber besi, vitamin, dan mio-inositol dimasukkan satu per satu ke dalam beaker glass 1 liter, dilarutkan akuades sampai 400 ml. Setelah itu larutan 400 ml dibagi menjadi empat, dimasukkan dalam beaker glass 250 ml. Setelah itu ditambahkan zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi 0,0 mg/l; 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; dan 3,0 mg/l. pH larutan pada media disesuaikan pH 5,6-5,8 dicek menggunakan pH *stick* dengan penambahan NaOH 0,1N atau HCl 0,1N. Lalu tambahkan akuades sampai 150 ml, kemudian agar-agar yang telah ditimbang sebanyak 1,2 gram dimasukkan dalam masing-masing konsentrasi hormon NAA, kemudian dipanaskan di *hot plate* dan diaduk dengan pengaduk magnetik sampai larutan mendidih dan jernih. Larutan lalu dituang dalam botol steril 10 ml, ditutup rapat dengan aluminium foil dan diberi label dan disterilisasi di autoklaf 121°C selama 1 jam.

Sterilisasi

Semua alat dari logam dan gelas yang digunakan untuk pelaksanaan kultur dicuci dengan sabun sampai bersih lalu dikeringkan dan dibungkus, selanjutnya semua alat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 30 menit dan 15 menit untuk sterilisasi medium.

LAF digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 90% kemudian peralatan yang akan digunakan dimasukkan yaitu cawan petri, skapel, pinset, media, alkohol 70%, akuades steril. LAF ditutup dan diberi kain hitam. LAF lalu dinyalakan lampu UV \pm 45 menit.

Sterilisasi dan Penanaman Eksplan

Daun lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) yang diambil dalam keadaan segar dicuci dengan air mengalir sampai bersih, dipotong bagian pinggir-pinggirnya dan direndam dalam deterjen selama 5 menit, setelah itu

dicuci dengan akuades kemudian direndam dalam larutan fungisida Dithane-M45 (3% + 3 tetes tween 80) sambil digojog-gojog selama 30 menit, dibilas dengan akuades sampai bersih lalu eksplan direndam dalam larutan Agript 1% + 3 tetes tween 80 sambil digojog-gojog selama 10 menit, dibilas dengan akuades sampai bersih. Eksplan direndam larutan Bayclin 15% + 3 tetes tween 80 selama 2 menit kemudian direndam dengan larutan Bayclin 30% + 3 tetes tween 80 selama 2 menit, lalu dibilas akuades steril 1 kali. Sterilisasi dilanjutkan dengan alkohol 70% selama 1 menit, lalu dibilas akuades steril sebanyak 3 kali. Eksplan daun lavender dipotong dengan ukuran 1x1 cm kemudian ditanam dalam media dengan bantuan pinset dengan posisi eksplan bersentuhan dengan permukaan dan sebelum botol ditutup mulut botol difiksasi terlebih dahulu serta penggunaan semua alat sebelum digunakan harus difiksasi terlebih dahulu untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Kultur dipelihara dalam ruang inkubasi pada suhu kamar dan dilengkapi dengan lampu neon 20 watt yang berjarak 20-60 cm di atas permukaan botol eksplan.

Analisa Kandungan Minyak Atsiri

Kalus lavender yang telah dipanen dikeringkan dengan di oven pada suhu 40°C dan dibuat serbuk. Serbuk dimaserasi 5 hari dengan petroleum eter. Hasil maserasi dibiarkan menguap. Ekstraksi juga dilakukan terhadap daun lavender sebagai pembanding.

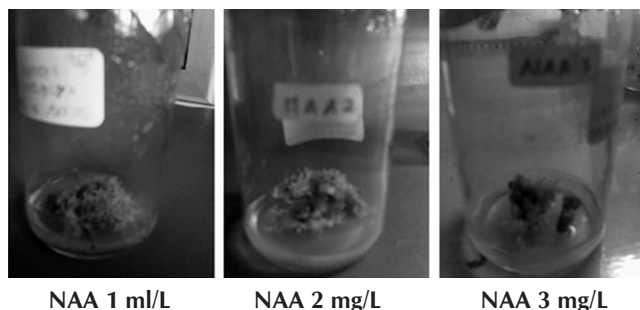
Identifikasi minyak atsiri dilakukan dengan pereaksi Sudan III yang memberikan akan warna merah senduduk dan secara kromatografi lapis tipis (KLT). Analisa KLT menggunakan silika gel 60F254 sebagai fase diam dan fase geraknya heksana-etil asetat (96:4). Bercak diamati dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pereaksi semprot yang digunakan adalah anisaldehyd-H₂SO₄ dan dipanaskan di oven suhu 100°C selama \pm 5 menit.

Hasil Dan Pembahasan

Keberhasilan Pembentukan Kalus

Penambahan zat pengatur tumbuh pada eksplan mempengaruhi pertumbuhan kalus. Media MS

tanpa penambahan zat pengatur tumbuh tidak dapat menumbuhkan kalus (Tabel 1) karena pertumbuhan kalus membutuhkan zat pengatur tumbuh untuk melengkapi nutrisi pada media dasar. Berikut adalah gambar kalus yang terbentuk karena penambahan NAA.



Gambar 1. Kalus daun lavender pada media MS dengan penambahan NAA 1 mg/L (A), NAA 2 mg/L (B), NAA 3 mg/L (C).

Tabel 1. Pengaruh penambahan NAA terhadap keberhasilan pembentukan kalus daun lavender

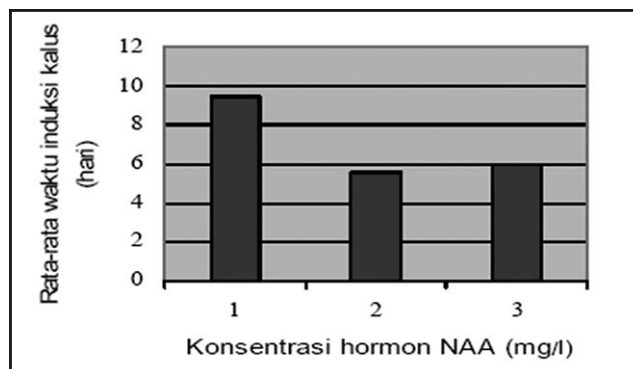
Konsentrasi NAA (mg/L)	Keberhasilan pembentukan kalus (%)
0	0
1	60
2	87
3	80

Tabel 1 menunjukkan bahwa pertumbuhan eksplan dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA 2,0 mg/L mencapai prosentase keberhasilan yang paling tinggi 86,67%. Keadaan dari daun yang diambil juga dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus, daun yang diambil terlalu tua maka proses pembelahan lambat (Hendaryono dan Wijayani 1994). Keadaan umur dari daun yang diambil juga dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus, jika daun yang diambil terlalu tua maka proses pembelahan lambat karena aktifitas metabolisme yang rendah sehingga kebutuhan dari zat pengatur tumbuh perlu ditambahkan untuk memenuhi kebutuhan dari sel tersebut.

Waktu Induksi Eksplan Membentuk Kalus

Penambahan zat pengatur tumbuh mempengaruhi waktu induksi eksplan membentuk kalus. Pengaruh

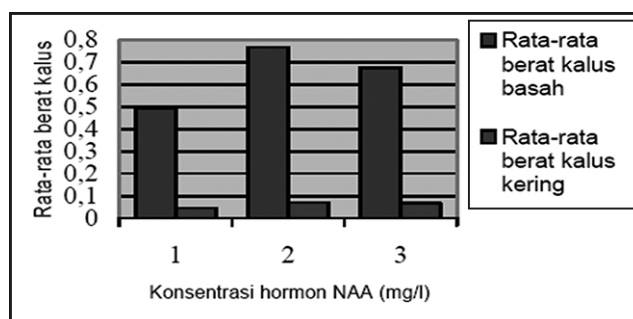
penambahan hormon NAA terhadap waktu induksi kalus daun lavender terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA terhadap waktu induksi kalus daun lavender.

Gambar 2 menunjukkan bahwa induksi kalus pada setiap konsentrasi berbeda-beda. Pemberian NAA 2 ppm menghasilkan waktu induksi tercepat yaitu 5,69 hari, kemungkinan disebabkan karena penambahan hormon tersebut sesuai dengan kebutuhan dari eksplan. Pembentukan kalus paling lambat adalah 9,56 hari yaitu pada perlakuan NAA 1 mg/L. Penambahan konsentrasi yang lebih tinggi ternyata tidak mempercepat waktu induksi. Kemungkinan terjadinya keterlambatan pertumbuhan dikarenakan pada konsentrasi tertentu zat pengatur tumbuh justru dapat menghambat pertumbuhan eksplan. Pengambilan eksplan secara acak menyebabkan adanya perbedaan fisiologi tumbuhan yang mempunyai kemampuan pembelahan berbeda sehingga dapat menimbulkan perbedaan waktu induksi kalus.

Rata-rata Berat Kalus

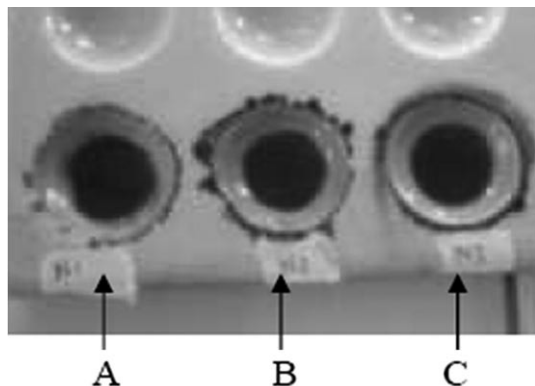


Gambar 2. Pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA terhadap rata-rata berat kalus lavender.

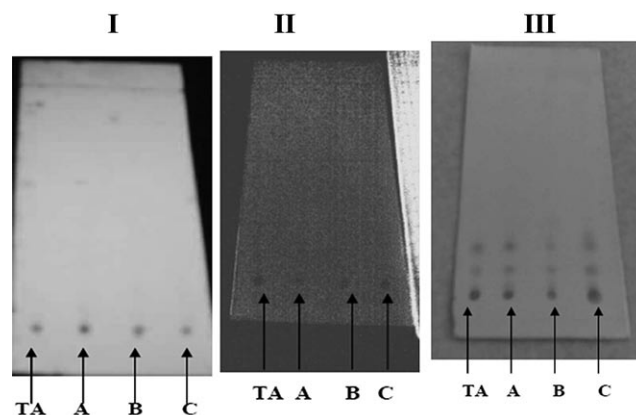
Gambar 2 memperlihatkan berat kalus yang paling besar dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA dengan konsentrasi 2 ppm, jadi hormon NAA konsentrasi 2 ppm lebih cocok dibandingkan dengan hormon NAA konsentrasi 1 ppm dan 3 ppm.

Analisis Minyak Asiri dalam Kalus

Analisis minyak atsiri dilakukan dengan dua cara. Sebagai uji pendahuluan dengan penambahan pereaksi Sudan III dan ditegaskan dengan KLT. Hasil uji pendahuluan terlihat semua kalus menghasilkan reaksi positif dengan terbentuknya warna merah (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil identifikasi minyak atsiri dalam kalus daun lavender akibat perlakuan NAA 1 mg/L (A), NAA 2 mg/L (B), dan NAA 3 mg/L (C) dengan penambahan pereaksi Sudan III.



Gambar 3. Kromatogram KLT analisis minyak atsiri dalam daun lavender (TA) dan kalus daun lavender akibat perlakuan NAA 1 mg/L (A), NAA 2 mg/L (B), dan NAA 3 mg/L (C) pada fase diam silika gel 60F₂₅₄ dan fase gerak heksana: etil asetat (96: 4) yang dideteksi pada UV 254 nm (I), UV 365 nm (II), dan pereaksi semprot anisaldehyd – H₂SO₄ (III).

Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa kalus daun lavender mengandung komponen minyak atsiri. Komponen minyak atsiri pada kalus daun lavender sama seperti pada tanaman asal yang terlihat dari kesamaan warna dan nilai hRf bercak yang muncul. Jadi, dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kalus daun lavender mengandung minyak atsiri seperti pada tanaman asal.

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh NAA berpengaruh dalam keberhasilan pembentukan kalus, mempercepat waktu induksi kalus dan berat kalus daun lavender (*Lavandula officinalis* Chaix). Penambahan zat pengatur tumbuh NAA 2,0 mg/l mempunyai keberhasilan pembentukan kalus 86,67%, waktu induksi kalus tercepat 5,69 hari dan rata-rata berat kalus kering terbesar 0,070 gram. Kalus hasil kultur jaringan dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA mengandung senyawa komponen minyak atsiri yang sama seperti tanaman asal.

Sampel	hRf	Warna bercak			Interpretasi
		UV 254 _{nm}	UV 366 _{nm}	anisaldehyd-H ₂ SO ₄	
TA	1. 11,25	-	-	Ungu	Komponen minyak atsiri
	2. 21,25	-	-	Ungu	
A	1. 11,25	-	-	Ungu	Komponen minyak atsiri
	2. 22,50	-	-	Ungu	
B	1. 11,75	-	-	Ungu	Komponen minyak atsiri
	2. 21,25	-	-	Ungu	
C	1. 11,00	-	-	Ungu	Komponen minyak atsiri
	2. 21,50	-	-	Ungu	

Keterangan: TA = Tanaman Asal; A = Kalus daun lavender dengan konsentrasi NAA 1 mg/l; B = Kalus daun lavender dengan konsentrasi NAA 2 mg/l; C = Kalus daun lavender dengan dengan konsentrasi NAA 3 mg/l

Tabel 2. Data kromatogram KLT analisis minyak atsiri dalam daun lavender dan kalus daun pada fase diam silika gel 60F₂₅₄ dan fase gerak heksana: etil asetat (96: 4)

Hasil analisis KLT terhadap minyak atsiri dalam kalus daun lavender dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 2.

Daftar Pustaka

- Banthorpe DV, Bates MJ, and Ireland MJ. 1995. Stimulation of accumulation of terpenoids by cell suspensions of *Lavandula angustifolia* following pre-treatment of parent callus. *Phytochemistry*. 40 (1): 83-87.
- Catherine J, Chu, Kathi J, Kemper, MD, MPH. 2001. Lavender. *Longwood Herbal Task Force*. 1-32
- Hendaryono D, Wijayani A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 118
- Indrayanto G, Rahman A. 1990. Prospek bioteknologi sel tanaman untuk produksi bahan obat nabati secara *In Vitro*. *Medika Jurnal Kedokteran dan Farmasi*.
- Kardinan A. 2007. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Cetakan ke-8. Jakarta Selatan: Penerbit PT Agromedia. 18-19, 25-26
- Ommen R. 2009. Production of blue pigments from the callus cultures of *Lavandula angustifolia* and red pigments (betalain) from the hairy root culture of *Beta vulgaris* [Thesis]. New Zealand: Biotechnology Department, Massey University. ii.
- Supriyadi. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia, Penggunaan dan Khasiat*. Edisi I. Jakarta: Populer Obor. Ix
- Wichtl M, and Bisset NG. 1994. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Stuttgart: MedPharm CRC Press. 566.