

PERTUMBUHAN *TRIBULUS TERRESTRIS* PADA BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP *IN VITRO*

Rina Puji Lestari¹⁾, Samanhudi²⁾, Ahmad Yunus²⁾

¹⁾Mahasiswa S1 Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta
²⁾Staf Dosen Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta
Penulis untuk korespondensi: samanhudi@gmail.com

Abstract

Tribulus terrestris merupakan tanaman yang tergolong dalam spesies *Zygophyllaceae*. *T. terrestris* dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Buah *T. terrestris* dimanfaatkan untuk menghambat pembentukan batu ginjal, mengobati diabetes, rematik, impotensi, penyakit jantung serta meningkatkan stamina tubuh. *T. terrestris* hanya dapat dibudidayakan pada musim tertentu. Perbanyakan tanaman dilakukan menggunakan biji. Teknologi yang dapat digunakan untuk memperbanyak *T. terrestris* adalah kultur jaringan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi, FP UNS Surakarta pada bulan Mei sampai November 2016. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah penambahan NAA pada konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5 ppm dan faktor kedua adalah penambahan BAP pada konsentrasi 0; 1; 2; 3 ppm. Data penelitian dianalisis secara deskriptif karena dari uji kenormalan data, data tidak dapat dianalisis menggunakan analisis ragam. Variabel pertumbuhan yang diamati adalah waktu muncul kalus, warna kalus, waktu muncul tunas, jumlah tunas, waktu muncul daun, jumlah daun, waktu muncul akar dan jumlah akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu muncul tunas paling cepat terdapat pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 3 ppm dengan rata-rata waktu 38 HST. Perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm mampu memunculkan tunas paling banyak sejumlah 4 tunas. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm mampu memunculkan daun paling cepat 48 HST dan akar pada 63 HST serta memiliki jumlah akar yang paling banyak yaitu 5 buah.

Keywords: Tanaman obat, kultur jaringan, zat pengatur tumbuh, kalus.

Pendahuluan

Tribulus terrestris merupakan tanaman obat yang berasal dari wilayah Mediterania yang tergolong dalam spesies *Zygophyllaceae*. Tanaman ini mengandung saponin; steroid; diosgenin; furostanol; spirostanol; tigogenin; ruscogenin; flavonoid; alkaloid; lignamides dan cinammik asam amides (Bharathiraja et al. 2013; Sarwat et al. 2008). Kandungan berbagai macam zat kimia *T. terrestris* memiliki banyak manfaat khususnya di bidang farmasi dan gizi (Salamon et al. 2015). Buah *T. terrestris* dimanfaatkan untuk menghambat pembentukan batu ginjal; mengobati diabetes; rematik; impotensi; penyakit jantung serta meningkatkan stamina tubuh (Neychev dan Mitev 2005). Hasil ekstrak saponin dan steroid dimanfaatkan di bidang farmakologi untuk meningkatkan hormon testosteron (Conrad et al. 2004). Perbanyakan tanaman pada umumnya dilakukan dengan menggunakan biji. Budidaya *T. terrestris* di Indonesia hanya dapat dilakukan pada akhir bulan Maret sampai dengan bulan Juni. Persemaian yang dilakukan di lapang masih mengalami berbagai kendala diantaranya: memerlukan lahan yang luas; biaya perawatan banyak; waktu dan tenaga yang digunakan

cukup besar (Roostika et al. 2008). Hal demikian menyebabkan masih kurangnya produksi *T. terrestris* di Indonesia. Perlu adanya suatu solusi beserta upaya untuk memperbanyak bahan tanam *T. terrestris* dalam waktu yang relatif singkat serta bebas dari penyakit. *In vitro* salah satu solusi yang dapat digunakan untuk perbanyak tanaman *T. terrestris* (Raghu et al. 2010).

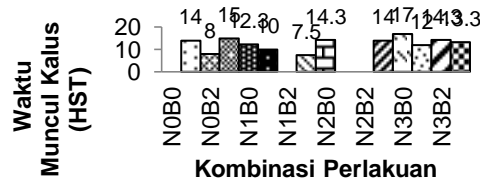
Metodologi

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai November 2016 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi, FP UNS Surakarta. Bahan yang digunakan: bahan tanam eksplan *T. terrestris*; aquadest; gula pasir; hara makro; hara mikro; vitamin; Fe-EDTA; zat pengatur tumbuh NAA dan BAP; agar putih; spirtus; methanol; alkohol 70%; formalin; chlorox; sunlight; fungisida; bakterisida; larutan tween; larutan cefadroxil; betadhine dan plastik wrap. Alat yang digunakan: autoklaf; *Laminar Air Flow*; oven; lampu bunsen; botol kultur; tutup botol; gelas ukur; timbangan analitik; *hot plate stirrer*; pinset; pisau scapel; pH meter; pipet; gunting; *cutter* dan petridish. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak lengkap. Faktor pertama adalah penambahan NAA pada konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5 ppm dan faktor kedua adalah penambahan BAP pada konsentrasi 0, 1, 2, 3 ppm. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Variabel pengamatan: waktu muncul kalus; warna kalus; waktu muncul tunas; jumlah tunas; waktu muncul daun; jumlah daun; waktu muncul akar dan jumlah akar. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

Hasil Dan Pembahasan

Kalus

Gambar 2 menunjukkan bahwa tidak semua perlakuan dapat memunculkan kalus. Salah satu penyebabnya yaitu eksplan mengalami pencoklatan dan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur ataupun bakteri. Perlakuan NAA 0 ppm dan BAP 0 ppm tidak menghasilkan kalus. Sara et al. (2012) menjelaskan bahwa kalus tidak akan terbentuk pada eksplan yang ditanam pada media MS tanpa adanya penambahan hormon pengatur tumbuh. Berdasarkan Gambar 2 induksi kalus tercepat pada perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm dengan rata-rata waktu 7,5 HST, sedangkan induksi kalus terlama didapatkan pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm dengan rata-rata waktu 17 HST. Penelitian Purnamaningsih dan Misky (2011) dalam kultur jaringan *A. vulgaris* menunjukkan hasil induksi kalus terbaik diperoleh dari formulasi media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA 0,5 ppm, hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa munculnya kalus pada eksplan *T. terrestris* dengan rata-rata waktu tercepat 7,5 HST.



Gambar 2. Rata-rata waktu muncul kalus dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Tabel 1 menunjukkan warna kalus pada eksplan *T. terrestris* sangat beragam. Menurut Krestiani dan Rukmi (2013) variasi warna kalus dalam kultur jaringan sebagai akibat dari hasil metabolisme sel fungsi genetik yang terdapat pada bagian-bagian tertentu dari eksplan yang ditanam. Perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm menghasilkan warna kalus yang terbaik yaitu dengan warna putih kehijauan. Selain warna putih kehijauan, beberapa warna lain yang dihasilkan dalam kultur jaringan *T. terrestris* yaitu: warna putih kekuningan; putih; kuning dan kuning kecoklatan.

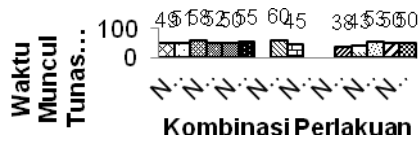
Tabel 1. Warna kalus eksplan *T. terrestris* dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP

BAP (ppm)	NAA (ppm)			
	0	0,5	1	1,5
0	-	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning
1	Putih kekuningan	Putih	-	Putih kekuningan
2	Putih kekuningan	-	-	Kuning kecoklatan
3	Putih	Putih kehijauan	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan

ppm: *part per million* (mg/l); - : tidak muncul kalus/terkontaminasi.

Waktu Muncul Tunas

Gambar 3 menunjukkan waktu yang diperlukan eksplan untuk menumbuhkan tunas berkisar rata-rata antara 38 HST hingga 60 HST. Induksi tunas tercepat terdapat pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 3 ppm dengan waktu 38 HST. Induksi tunas terlama terdapat pada perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm dengan waktu 60 HST. Perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 2 ppm; NAA 1 ppm dan BAP 1 ppm serta NAA 1 ppm dan BAP 2 ppm tidak dapat menumbuhkan tunas sama sekali, hal ini dikarenakan terjadinya kontaminasi pada eksplan. Lestari (2011) menjelaskan bahwa kombinasi yang tepat antara sitokinin dan auksin dapat memacu pembentukan tunas pada eksplan. Gambar 4 menunjukkan bahwa eksplan *T. terrestris* pada perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm dapat menghasilkan kalus dengan warna putih kehijauan. Kalus yang terbentuk lama-kelamaan akan berubah warna menjadi warna kecoklatan. Gejala pencoklatan pada kalus merupakan tanda adanya kemunduran fisiologis seiring bertambahnya umur kalus.



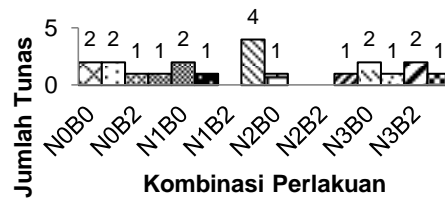
Gambar 3. Rata-rata waktu muncul tunas dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.



Gambar 4. Tunas pada eksplan *T. terrestris*.

Jumlah Tunas

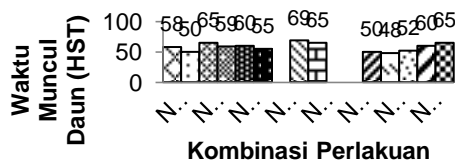
Gambar 5 menunjukkan jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm sejumlah 4 tunas. Perlakuan lainnya rata-rata hanya mampu menumbuhkan tunas sejumlah 1 sampai dengan 2 tunas. Penelitian Ferdous et al. (2012) menjelaskan bahwa pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA yang rendah dikombinasikan dengan pemberian zat pengatur tumbuh BAP dapat meningkatkan pertumbuhan dan perbanyak tunas pada eksplan.



Gambar 5. Rata-rata jumlah tunas dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Waktu Muncul Daun

Gambar 7 menunjukkan bahwa daun mulai tumbuh berkisar antara 48 HST sampai dengan 69 HST. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm merupakan perlakuan yang paling cepat dalam menginduksi daun yaitu dengan waktu 48 HST, sedangkan perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm merupakan perlakuan yang paling lama dalam menginduksi daun dengan waktu 69 HST. Gambar 8 menunjukkan pertumbuhan daun pada perlakuan NAA 0 ppm dan BAP 0 ppm. Menurut Arimarsetiowati dan Fitria (2012), salah satu fungsi dari hormon auksin pada pertumbuhan daun yaitu membantu perkembangan jaringan meristem calon daun.



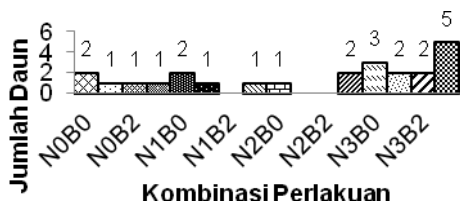
Gambar 7. Rata-rata waktu muncul daun dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.



Gambar 8. Daun pada eksplan *T. terrestris*.

Jumlah daun

Gambar 9 menunjukkan jumlah daun yang terbentuk cukup bervariasi. Jumlah daun terbanyak terdapat pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 3 ppm yaitu sejumlah 5 daun. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm mampu menumbuhkan daun sejumlah 3 buah, sedangkan perlakuan lainnya hanya mampu menumbuhkan daun rata-rata sejumlah 1 sampai dengan 2 buah saja. Gambar 10 (a) merupakan gambar jumlah daun yang terbentuk pada perlakuan NAA 0 ppm dan BAP 2 ppm sejumlah 1 buah, sedangkan pada Gambar 10 (b) jumlah daun yang terbentuk pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm sejumlah 3 buah. Daun yang terbentuk lama-kelamaan akan berubah warna menjadi kecoklatan. Menurut Lizawati et al. (2009) kandungan hormon auksin endogen yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas etilen yang menyebabkan daun menjadi kecokelatan serta layu dan kemudian gugur.



(a)



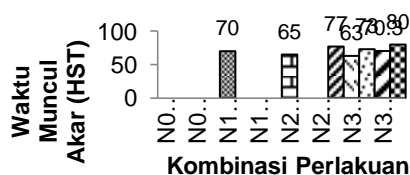
(b)

Gambar 9. Rata-rata jumlah daun dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Gambar 10. Daun pada eksplan *T. terrestris* (a) daun berjumlah 1 dan (b) daun berjumlah 3.

Waktu Muncul Akar

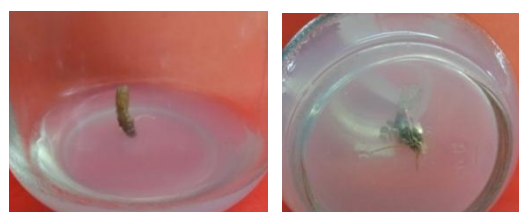
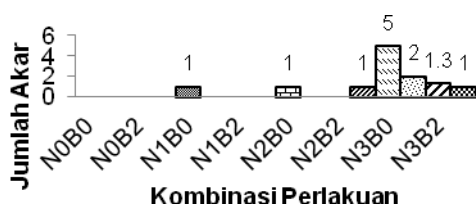
Pada Gambar 11 kemunculan akar hanya dapat terinduksi pada 7 kombinasi perlakuan. Akar *T. terrestris* muncul berkisar dengan waktu rata-rata antara 63 HST sampai dengan 80 HST. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm merupakan perlakuan yang paling cepat menginduksi akar yakni dengan rata-rata waktu 63 HST. Induksi akar paling lama terdapat pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 3 ppm dengan rata-rata waktu 80 HST. Deli et al. (2015) menyatakan bahwa auksin yang ditambahkan kedalam media dapat merangsang terbentuknya akar pada eksplan. Akar merupakan salah satu organ vegetatif utama yang berfungsi sebagai pemasok air, mineral serta bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Samanhudi et al. 2010).



Gambar 11. Rata-rata waktu muncul akar dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Jumlah Akar

Berdasarkan Gambar 12 jumlah akar yang terbanyak diperoleh pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm yakni sebanyak 5 buah. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 1 ppm juga mampu memunculkan akar sejumlah 2 buah. Jumlah akar paling sedikit diperoleh yakni sebanyak 1 buah terdapat pada 5 kombinasi perlakuan, sedangkan untuk perlakuan lainnya tidak mampu untuk memunculkan akar. Jumlah akar yang semakin banyak dan panjang bagus untuk penyerapan nutrisi dari media. Hal itu disebabkan karena semakin banyak dan semakin panjang akar pada eksplan maka bidang penyerapan nutrisi dari media akan semakin luas pula (Yuniastuti et al. 2010). Gambar 13 (a) menunjukkan bahwa akar yang tumbuh dari eksplan berjumlah 1 dengan warna putih pada perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 2 ppm. Gambar 13 (b) menunjukkan perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm dengan akar sejumlah 5 buah. Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa akar yang tumbuh berfungsi sebagai alat untuk menyerap unsur hara dan nutrisi selain itu juga sebagai penopang tubuh tanaman itu sendiri.



(a)

(b)

Gambar 12. Rata-rata jumlah akar dengan berbagai konsentrasi NAA dan BAP.

Gambar 13. Akar pada eksplan *T. terrestris* (a) berjumlah 1 dan (b) berjumlah 5.

Kesimpulan Dan Saran

Kesimpulan

1. Waktu muncul tunas paling cepat terdapat pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 3 ppm dengan rata-rata waktu 38 HST.
2. Perlakuan NAA 0,5 ppm dan BAP 3 ppm mampu memunculkan tunas paling banyak yaitu sejumlah 4 tunas.
3. Perlakuan NAA 1,5 ppm dan BAP 0 ppm mampu memunculkan daun paling cepat, yaitu pada 48 HST dan akar pada 63 HST serta memiliki jumlah akar yang paling banyak yaitu 5 buah.

Saran

Saran yang dapat diberikan penulis berdasarkan ulasan hasil penelitian ini, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai cara sterilisasi eksplan *T. terrestris* secara tepat dan penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang lebih rendah sehingga tunas yang terbentuk akan lebih banyak.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui skim Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional (INSINas) tahun anggaran 2016.

Daftar Pustaka

- Arimarsetiowati R, Fitria A. 2012. Pengaruh penambahan auxin terhadap pertunasan dan perakaran kopi arabika perbanyak somatik embriogenesis. *J Pelita Perkebunan* 28(2): 82-90.
- Bharathiraja C, Sukirtha R, Meenakshi S, Anbalagan S, Krishnan M, Baburaj S. 2013. In vitro micropropagation and somatic induction of *Tribulus terrestris* L. from nodal explants. *Int J Bio Pharmacy Allied Sci (IJBPAS)* 2(4): 903-914. ISSN: 2277-4998.
- Conrad J, Dinchev D, Klaiber I, Mika S, Kostova I, Kraus W. 2004. A novel furostanol saponin from *Tribulus terrestris* of bulgarian origin. *J Fitoterapia*. 75(2): 117-122. DOI: 10.1016/j.fitote.2003.09.001.
- Deli NR, Zozy AN, Suwirman. 2015. Respon pertumbuhan nodus *Artemisia vulgaris* L. pada medium Murashige-Skoog dengan penambahan beberapa zat pengatur tumbuh secara in vitro. *J Bio Univ Andalas* 4(3):2303-2162. ISSN: 2303-2162.
- Ferdous MM, Shahinozzaman M, Faruq MO, Paul SP, Azad MAK, Amin MN. 2012. In vitro propagation of a medical plant-mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.). *Int J Biosci (IJB)* 2(11): 166-172.
- Krestiani V, Rukmi. 2013. Kajian konsentrasi NAA dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus dari kotiledon sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) secara in vitro. *J Sains dan Teknologi* 6(1):16-20.
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *J Agro Biogen* 7(1):63-68.
- Lizawati, Trias N, Ragapadmi P. 2009. Induksi dan multiplikasi tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara in vitro. *J Agro Indonesia* 37(1): 78-85.
- Neychev VK, Mitev VI. 2005. The aphrodisiac herb *Tribulus terrestris* does not influence the androgen production in young men. *J Ethnopharmacol* 101(1-3): 319-323. DOI: 10.1016/j.jep.2005.05.017.
- Purnamaningsih R, Misky A. 2011. Pengaruh BAP dan NAA terhadap induksi kalus dan kandungan artemisin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi* 10(4).
- Raghu AV, Geetha SP, Gerald M, Indira B, Mohanan KV. 2010. Micropopagation of *Tribulus terrestris* Linn. *Indian J Natural Products Resource (IJNPR)* 1(2) :232-235.
- Roostika I, Ragapadmi P, Arief VN. 2008. Pengaruh sumber karbon dan kondisi inkubasi terhadap pertumbuhan kultur in vitro Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). *J Agro Biogen* 4(2): 65-69.
- Salamon I, Grul'ova D, Feo VD. 2015. Comparison of two methods for field grow of puncture vine (*Tribulus terrestris* l.) in Slovakia. *Acta Agr Scandinavica, section b-soil plant sci*. DOI: 10.1080/09064710.2015.1093652.

- Samanhudi, Sakya AT, Rahayu M 2010. In vitro axillary bud multiplication of *Citrus nobilis* Lour. in Indonesia. J Life Sci 4(4): 39-51. ISSN: 1934-7391.
- Sara S , Taher NS , Alireza Z, Ahmad M, Hamid RG. 2012. Enhanced callus induction and high-efficiency plant regeneration in *Tribulus terrestris* L an important medicinal plant. J Medicinal Plants Res 6(27): 4401-4408. DOI :10.5897/JMPR12.260.
- Sarwat M, Das S, Srivastava PS. 2008. Analysis of genetic diversity through AFLP, SAMPL, ISSR and RAPD markers in *Tribulus terrestris*, a medicinal herb. J Plant Cell Rep 27 :519-528. DOI: 10.1007/s00299-007-0478-5.
- Yuniastuti E, Praswanto, Harniningsih I 2010. Pengaruh konsentrasi bap terhadap multiplikasi tunas anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden) pada beberapa media dasar secara in vitro. J Caraka Tani 25(1): 1-8.
- Zulkarnain. 2009. Kultur jaringan tanaman: solusi perbanyak tanaman budidaya. Jakarta(ID): Bumi Aksara.