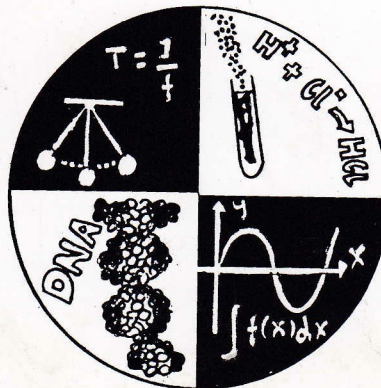


ISSN 1412-3770

JURNAL ILMIAH *SAINS*

Volume 6 Nomor 1, April 2006



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SAM RATULANGI
MANADO

9. Penentuan Magnitude Gempa di Kota Manado dengan Metode Durasi
(*Determining the Magnitude of Earthquake in Manado with Duration Method*)
Gerald H. Tamuntuan,
Subarjo dan
Nehemia Nababan 31-34
10. Kecenderungan Pemilihan Lokasi Pemukiman Berdasarkan Analisis Multikriteria di Kota Manado (*Determination of District Location According Multicriteria Decision (MCDM) in Manado*)
Winsy Ch.D. Weku 35- 43
11. Pengaruh Perubahan Tingkat Kematian Pemangsa Terhadap Kestabilan Model Satu Mangsa-Dua Pemangsa (*The Effect of Changing Mortality Rate Predator at Stability One Prey-Two Predator Model*)
Altien J. Rindengan 44- 47
12. Produksi Alkaloid dari Kalus (*Catharanthus Roseus (L) G. Don*) (*Alkaloids Production from Callus (Catharanthus Roseus (L) G. Don)*)
Dingse Pandiangan dan
Nelson Nainggolan 48- 54
13. Pengaturan Kecepatan Putaran Motor DC dengan Metode Modulasi Lebar Pulsa Berbasis Mikrokontroler (*Speed Control Motor DC with Pulse Width Modulation (PWM) Method by Microcontroler*)
Hesky S. Kolibu 55- 58
14. Pendekatan Statistika dalam Penilaian Resiko dan Keuntungan Investasi (*Statistically Approach in Measuring Risk and Return of Invesmen*)
L. Ricky Rengkung 59- 63
15. Metode Analisis Kesesuaian dalam Penentuan Prioritas Pelayanan pada Perusahaan Asuransi (*Importance-Performance Analysis Method to Determining Service Priority on Insurance Company*)
Marline S. Paendong 64- 70
16. Penentuan Episenter Gempa dengan Metode Gerak Partikel (*Determining Epicentre of Earthquakes by Particle Motion Method*)
Dolfie P. Pandara 71- 74
17. Sintesis Metil Ester Asam Lemak Minyak Kelapa Melalui Reaksi Transesterifikasi Katalis Basa (*Synthesis of Fatty Acids Methyl Ester (FAME) from Coconut Oil by Transesterification Reaction Using Acid and Base Catalys*)
Henry F. Aritonang 75- 82
18. *Electrical Properties of B-Doped ZnO Thin Film Prepared by Metal-Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD) Technique* (Sifat-sifat Listrik dari Lapisan Tipis ZnO yang Didoping dengan Atom Boron Menggunakan Metode *Metal-Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD)*)
Hanny F. Sangian 83- 85

- 19 Penentuan Bilangan Iodin Minyak Sawit pada Beberapa Tahap Produksi (*Iodine Value Determination of Palm Oil at Several of the Production Steps*)
Lidya Irma Momuat 86– 89
- 20 Inventarisasi karakter Morfometrik dan Meristik Ikan Ostraciidae di Sekitar Perairan Malalayng (*Inventaries Characteristic of Morphometric , Meristic from Ostraciidae Family Arround Malalayang Shore*)
Deidy Katili,
Elvis Bataragoa, dan
Fidelia Montolalu 90– 101
- 21 Interpretasi Data Geolistrik Tahanan Jenis Menggunakan Perangkat Lunak RESIDINV (*Interpretation of Geoelectric Resistivity Data by Using RESIDINV Software*)
Gerald Tamuntuan, dan
Ferdy 102– 104
- 22 Kestabilan Titik Kritis Sistem Predator-Prey Lotka-Voltera dengan Prinsip Kestabilan Linierisasi (*Stability Critical Point of Predator-Prey Lotka-Voltera by Principle of Linearized Stability*)
Nelson Nainggolan 105– 109
- 23 Metode *Quality Function Deployment (QFD)* dalam Penentuan Prioritas Pelayanan pada Perusahaan (*Quality Function Deployment (QFD) Method to Determine Service Priority*)
Marline S. Paendong 110– 113

PRODUKSI ALKALOID DARI KALUS (*CATHARANTHUS ROSEUS* (L) G. Don)¹⁾

Dingse Pandiangan²⁾ dan Nelson Nainggolan³⁾

ABSTRAK

Penelitian mengenai produksi alkaloid dari kalus *Chataranthus roseus* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mencari komposisi media yang optimum untuk pembentukan kalus dan menganalisis alkaloid yang terdapat pada kalus *Chataranthus roseus* yang terbentuk. Manfaat penelitian adalah untuk memproduksi alkaloid sebagai obat kanker. Kalus diinduksi pada media Murashige and Skoog (MS) dengan perlakuan sebagai berikut: DK₀ (tanpa 2,4-D & Kinetin), DK₁ (1 ppm 2,4-D and 0,1 ppm kinetin), DK₂ (1,5 ppm 2,4-D and 0,15 ppm kinetin), DK₃ (2 ppm 2,4-D and 0,2 ppm kinetin), DK₄ (2 ppm 2,4-D). Analisis pertumbuhan kalus dilakukan melalui penimbangan berat basah kalus. Kalus dipanen setelah melewati fase linier pertumbuhan kalus. Kalus diekstraksi dalam metanol yang mengandung 0,25 % HCl 1 N. selama 48 jam. Analisis kualitatif dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis, yang menggunakan UV pada panjang gelombang 254 nm untuk menampakkan noda dan untuk penampakan alkaloid disemprot dengan Dragendorff kemudian ditentukan RF-nya. Analisis kuantitatif dilakukan dengan melewati kromatogram pada spektrofotodensitometer pada panjang gelombang 300 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus terbentuk pada semua media (perlakuan) yang diberi zat pengatur tumbuh (zpt). Kalus terbentuk mulai hari kedelapan setelah kultur. Pertumbuhan kalus yang terbaik terjadi pada media DK₂ (1,5 ppm 2,4-D and 0,15 ppm kinetin) dengan sifat kalus kompak, embriogenik dan kalusnya terbentuk lebih cepat. Pertumbuhan liniernya berakhir pada hari ke 21, sehingga dilakukan panen kalus pada hari ke-21 setelah sub kultur. Alkaloid terdeteksi pada semua sampel, tetapi kadarnya tidak selalu meningkat dengan meningkatnya zpt. Kandungan alkaloid paling tinggi terjadi pada DK₂ dengan rata-rata 0,1289 %. Kandungan tersebut sangat berbeda nyata pada LSR 1% dengan kandungan alkaloid antikanker pada kalus lainnya.

Kata kunci: Alkaloid, kalus

ALKALOIDS PRODUCTION FROM *CHATARANTHUS ROSEUS* (L) G. Don Callus

ABSTRACT

The research of alkaloid production from *Chataranthus roseus* callus was done. The purpose of the research was to get the composition of media that optimal to grew of callus and to analysis of alkaloids content at this callus. Callus was inducted on Murashige & Skoog (MS) media with the treatment: DK₀ (without 2,4-D & Kinetin), DK₁ (1 ppm 2,4-D and 0,1 ppm kinetin), DK₂ (1,5 ppm 2,4-D and 0,15 ppm kinetin), DK₃ (2 ppm 2,4-D and 0,2 ppm kinetin), DK₄ (2 ppm 2,4-D). The analysis of callus growth was done with wet weight of callus. Callus was extracted in metanol about 48 hours. Qualitative analysis was carried out with thin layer chromatography, and to appeared the alkaloids was added with Dragendorff. Quantitative analysis was done with scanned the chromatogram on the Spectrophotodensitometer at λ 300 nm. Result of the research was showed that callus appeared at all of media that added with growth substances. Callus appeared on 8 th day after culture. The best callus growth was on DK₂ media (1,5 ppm 2,4-D and 0,15 ppm kinetin) which compact, embriogenic appearance. Linier growth was finished at 21th day. Alkaloids were detected in all sampels, but the contains not always increase with growth

1) Hasil PDM 2002 Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat
Dirjen Pendidikan Tinggi

2) Staf Pengajar Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT, Manado

3) Staf Pengajar Jurusan Matematika FMIPA UNSRAT, Manado

substances increasing. The maximum alkaloids content was DK_2 average 0,1289 %. This content significant different most at LSR 1 % with the alkaloids anticancer than the other calli.

Keywords: Alkaloid, callus

PENDAHULUAN

Tapak dara (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) adalah semak tahunan yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman hias dan obat. Wijayakusuma (1992), menyatakan tanaman tapak dara ini berguna untuk mengobati hipertensi, diabetes, pendarahan akibat penurunan jumlah trombosit, chorionic epithelioma, acute lymphocytic leuchemia, acute monocytic leuchemia, lymphosarcoma dan reticulum cell sarcoma. Beberapa penelitian lain melaporkan bahwa sekitar 100 macam alkaloid telah diidentifikasi pada tanaman ini. Diantaranya adalah alkaloid anti kanker seperti vinblastin (VLB), Vinkristin (VCR) dan leurosine.

Akhir-akhir ini telah banyak diketahui bahwa kultur kalus maupun jaringan (*in vitro*) tanaman ternyata dapat memproduksi senyawa kimia berupa alkaloid dan sejenisnya yang tergolong metabolit sekunder (Vazquez-Flota *et al.* 1994, Kim *et al.* 1994, Nef-Campa *et al.* 1994, Verpoorte & van Der Heijden 1991). Beberapa penelitian menyatakan bahwa alkaloid tertentu dihasilkan dalam kadar yang lebih tinggi melalui kultur jaringan (kalus) dari pada kandungan tanaman induknya. Keuntungan lain dari penggunaan kultur jaringan ini untuk produksi alkaloid adalah produksi tidak tergantung pada kondisi lingkungan, sistem produksinya dapat diatur, kualitas dan hasil produksinya lebih konsisten, biaya produksi lebih kecil dan mengurangi penggunaan lahan (Vazquez-Flota *et al.* 1994, Kim *et al.* 1994, Nef-Campa *et al.* 1994, Verpoorte & van Der Heijden 1991, Ernawati *et al.* 1991). Dengan demikian sangat perlu untuk menggunakan kultur jaringan pada pengembangan tapak dara ini untuk memproduksi suatu senyawa alkaloid. Penemuan ini menimbulkan harapan untuk menerapkan cara yang sama dalam skala besar terutama untuk memproduksi antara lain alkaloid anti kanker yang selama ini ditakuti.

Didasarkan atas pemikiran pentingnya tapak dara dikembangkan sebagai

sumber berbagai senyawa kimia untuk pengobatan berbagai jenis penyakit (antara lain kanker), mahalnnya obat kanker yang selama ini di impor, langkanya obat-obat tersebut dipasaran, adanya metode produksi alkaloid yang lebih efisien dan efektif maka direncanakan penelitian dengan topik: Produksi alkaloid dari kalus *Catharanthus roseus*. Untuk memproduksi alkaloid dalam kalus *C. roseus* ini, tahap penelitian yang harus dijalani adalah induksi kalus, analisis kualitatif alkaloid, penentuan kandungan alkaloid (kuantitatif), isolasi dan karakterisasi senyawa yang diinginkan dan uji hayati. Untuk penelitian ini dibatasi pada induksi kalus dari daun tapak dara dengan berbagai konsentrasi zpt 2,4 - D dan kinetin, analisis kualitatif dan kuantitatif dari alkaloid pada kalus.

Tujuan Penelitian

- Untuk mencari konsentrasi 2,4 - D dan kinetin yang tepat untuk induksi dan pertumbuhan kalus *C. roseus*.
- Untuk menentukan dan menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif alkaloid yang dihasilkan dalam kalus tapak dara.

Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat :

- Sebagai sumber informasi mengenai kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4 - D dan kinetin yang tepat untuk pertumbuhan kalus tapak dara untuk penelitian selanjutnya
- Sumber informasi untuk penelitian produksi alkaloid anti kanker melalui kultur kalus, yang merupakan salah satu penanggulangan langka dan mahalnnya obat yang sangat berbahaya (kanker). Kontribusi lainnya adalah pengembangan ilmu, teknologi dan seni.

METODA PENELITIAN

Bahan dan Medium

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun ke-3 atau ke-4 dari tunas apikal *C. roseus* yang tumbuh di Laboratorium. *C. roseus* yang digunakan sebagai sumber eksplan adalah *C. roseus* berbunga putih. Bahan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif alkaloid adalah kalus dari hasil penelitian induksi kalus.

Medium yang digunakan adalah medium Murashige dan Skoog (MS), yang dilengkapi dengan zat hara makro, mikro, vitamin, zat pengatur tubuh, sukrosa dan agar-agar. Medium akan disterilkan dengan sterilisasi (Autoklaf 15 Lb/inc²).

Induksi Kalus

Induksi kalus mengikuti metoda Pandiangan (1998). Eksplan daun *C. roseus* disterilkan terlebih dahulu sebelum dikulturkan pada medium induksi kalus. Sterilisasi dilakukan dengan alkohol 75% dan Na-hipoklorit 2 %. Eksplan yang sudah steril dikulturkan pada medium padat MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 - D dari 0 - 2,5 mg/l yang dikombinasi dengan Kinetin 0 - 0,25 mg/l. Dari penelitian sebelumnya (Pandiangan, 1998) bahwa yang ada kalus adalah seperti komposisi berikut : (pada penelitian ini komposisi tersebut saja yang di analisis)

DK₀ = kontrol (tanpa penambahan zpt)

DK₁ = 1 ppm 2,4-D dan 0,1 ppm kinetin

DK₂ = 1,5 ppm 2,4-D dan 0,1 ppm kinetin

DK₃ = 2 ppm 2,4-D dan 0,15 ppm kinetin

DK₄ = 2 ppm 2,4-D

Pengamatan penelitian dilakukan dengan pengamatan morfologi. Peubah yang diamati adalah : bagian organ yang terbentuk, sifat kalus, jumlah kalus embriogenik, hari mulai terbentuknya kalus, jumlah eksplan yang mati dan warna kalus.

Pembuatan Ekstrak

Bahan yang telah kering digiling dan diayak pada ayakan 40 mesh. Hasil ayakan dimaserasi yang dikombinasi dengan pengadukan lambat. Pengekstrak yang digunakan mengikuti metoda Sumarsi (1990) yang dimodifikasi. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dan selanjutnya

dikeringkan dengan menggunakan alat yang sesuai dengan metode yang digunakan dari berbagai ekstrak yang diperoleh kemudian dianalisis mutunya.

Analisis kualitatif dan kuantitatif alkaloid antikanker

Analisis ini mengikuti metoda Sumarsi (1990), Hirata (1995). Bahan diekstraksi dan dimaserasi dalam larutan metanol yang mengandung 0,25% HCl 1 N selama 48 jam. Ekstrak kemudian dikeringkan dengan pengering rambut dingin. Residu yang diperoleh ditimbang dan dilarutkan kembali dalam 2 ml metanol untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Untuk mengidentifikasi alkaloid anti kanker dalam ekstrak bahan, dilakukan analisis kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan pelat aluminium pralapis silika gel. E. Merck GF₂₅₄ dan sebagai pembanding dalam mengidentifikasi digunakan katarantin. Larutan pengembang CHCl₃ : Et - OH : NH₄OH dengan perbandingan 20 : 4 : 1. Untuk menampakkan noda pelat disinari dibawah sinar ultra violet dengan λ 254 nm. Kromatogram disemprot dengan reagen Dragendorf untuk menampakkan senyawa alkaloid. Selanjutnya harga RF dan noda yang muncul pada kromatogram ditentukan dengan cara menghitung perbandingan antara jarak yang ditempuh oleh setiap noda dan jarak yang ditempuh oleh larutan pengembang, diukur dari titik awal penotolan. Analisis kuantitatif dengan menggunakan spektrofotodensitometer. Kandungan senyawa alkaloid diukur dengan melewati kromatogram pada spektrofotodensitometer *Dual wave Length TLC scanner*, yang diukur pada panjang gelombang 300 nm.

Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) dan kemudian lanjut dengan uji Duncan pada LSR 1 %

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan kalus tapak dara

Hasil penelitian induksi dan pertumbuhan kalus dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil tersebut merupakan hasil pengamatan secara morfologi. Dari hasil tersebut ditunjukkan bahwa semua media yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh (zpt) baik 2,4-D dan atau Kinetin dapat menginduksi kalus dari daun *C. roseus*. Peubah yang diamati antara lain sifat kalus, jumlah kalus embrionik, hari mulai terbentuknya kalus, jumlah eksplan mati dan warna kalusnya berbeda pada semua perlakuan (Tabel. 1). Hasil analisis secara morfologi dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh pada medium MS untuk menginduksi kalus yang optimum dari daun *C. roseus* adalah DK₂ (1,5 ppm 2,4-D dan 0,15 ppm Kinetin). Hal ini dapat dibuktikan

dari sifat kalusnya yang kompak, jumlah kalus embrionik yang paling banyak, eksplan yang mati sedikit, terbentuknya kalus lebih cepat. Menurut Hirata *et al.* (1990), bahwa kalus yang baik adalah kalus yang embrionik (mempunyai sifat kalus kompak, bernodul dan terlihat berwarna putih kehijauan). Sesuai dengan hal tersebut maka sebaiknya untuk induksi kalus dari daun *C. roseus* digunakan 1,5 ppm 2,4-D dan 0,15 ppm kinetin. Penambahan 2,4-D yang tinggi memang meninduksi kalus yang banyak, remah tapi tidak embriogenik. Kalus yang tidak embrionik (DK₃ dan DK₄) hanya memperbanyak jumlah kalus yang cepat tapi tidak bisa diinduksi organ-organ tumbuhan lainnya seperti akar, batang dan daunnya. Setelah dianalisis kandungan alkaloidnya juga berbeda sangat nyata dengan kalus yang embrionik (DK₁ dan DK₂) dan mengandung alkaloid yang lebih tinggi pada kalus yang embriogenik.

Tabel 1. Pengamatan Pembentukan dan pertumbuhan kalus dari daun *Catharanthus roseus*

Perlakuan (2,4-D dan Kinetin)	Peubah yang diamati					
	Bagian yang dibentuk	Sifat kalus	Kalus embrionik	Hari mulai terbentuk kalus	Eksplan yang mati	Warna kalus
DK ₀	Eksplan tetap	-	-	-	80 %	-
DK ₁	Kalus	Kompak	32 %	Hari ke-8	40 %	Putih kehijauan
DK ₂	Kalus	Kompak	80 %	Hari ke-8	20 %	Putih kehijauan
DK ₃	Kalus	Kompak	56 %	Hari ke-10	25 %	Putih
DK ₄	Kalus	Remah	16 %	Hari ke-10	32 %	putih

Analisis pertumbuhan kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan linier berakhir pada hari ke 21 setelah inisiasi kalus. Oleh karena itu subkultur kalus dianjurkan setiap sekali 3 minggu. Hal ini dianjurkan agar pertumbuhan kalus tidak sempat menurun yang dapat mempengaruhi produksi alkaloidnya. Semua sampel dalam penelitian ini diambil (dipanen) pada hari ke-21 setelah subkultur.

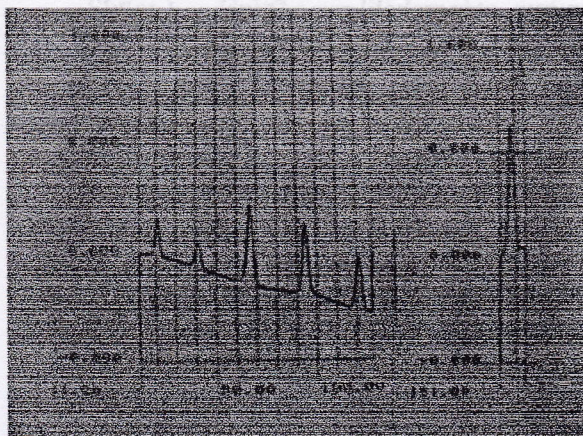
Produksi Alkaloid dari Kalus Tapak Dara

Hasil analisis kualitatif menunjukkan bahwa alkohol 70 % dapat digunakan pada pembuatan ekstrak kalus tapak dara. Hal ini terlihat dari analisis kualitatif ekstrak kalus tapak dara yang diperoleh menunjukkan adanya 3 noda alkaloid, yaitu dengan adanya spot warna jingga setelah pelat disemprot dengan larutan Dragendorf. Disamping itu ketika plat disinari di bawah UV 254 nm nampak 3 spot, salah satu adalah katarantin

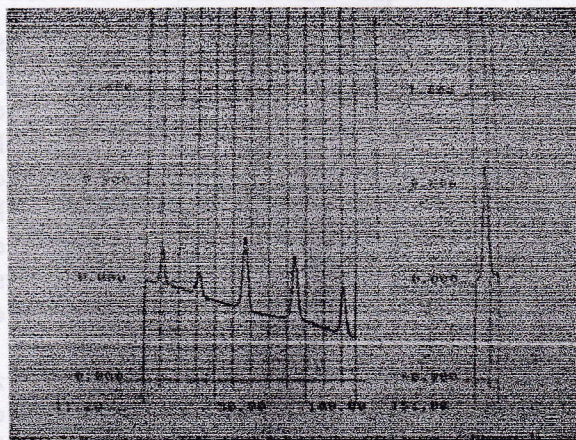
yang berwarna putih kebiru-biruan berpendar (tidak di foto).

Adanya alkaloid yang terekstrak pada analisis kualitatif, kemudian untuk menentukan kadarnya dilakukan analisis kuantitatif. Analisis kuantitatif yang digunakan adalah TLC Scanner pada panjang gelombang 254 nm. Pada panjang gelombang tersebut katarantin diamati kandungannya. Kromatogram dan luas area hasil analisis katarantin dengan menggunakan TLC scanner dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.

Dari hasil perhitungan dengan membandingkan luas area antara sampel dan standar (Tabel 2), dapat diperoleh kadar alkaloid seperti pada Tabel 3.



Gambar 2. Kromatogram TLC ekstrak kalus *Catharanthus roseus* (A) dan Standard katarantin (B) hasil ekstraksi 1 (Ulangan 1)



Gambar 3. Kromatogram TLC ekstrak kalus *Catharanthus roseus* (A) dan Standard katarantin (B) hasil ekstraksi 2 (Ulangan2)

Tabel 2. Luas area kromatogram kalus *Catharanthus roseus* dengan Standard katarantin

Kalus	Luas area I	Luas area II
DK ₀ = kontrol atau daun eksplan	23331,23	20404,26
DK ₁ = 1 ppm 2,4-D dan 0,1 ppm kinetin	16251,83	15217,89
DK ₂ = 1,5 ppm 2,4-D dan 0,1 ppm kinetin	51452,62	48749,48
DK ₃ = 2 ppm 2,4-D dan 0,15 ppm kinetin	38029,86	31007,88
DK ₄ = 2 ppm 2,4-D	25824,96	22220,99
Standar Katarantin	97337,94	83794,01

Tabel 3. Kandungan katarantin dari kultur kalus *Catharanthus roseus*

Kalus/perlakuan	Kandungan Katarantin (%)	Rata-rata
DK ₀ Ulangan 1	0,0367	0,0379 ^a
Ulangan 2	0,0391	
DK ₁ Ulangan 1	0,0517	0,0512 ^b
Ulangan 2	0,0507	
DK ₂ Ulangan 1	0,1227	0,1289 ^d
Ulangan 2	0,1351	
DK ₃ Ulangan 1	0,0879	0,0865 ^c
Ulangan 2	0,0852	
DK ₄ Ulangan 1	0,0602	0,0600 ^b
Ulangan 2	0,0599	

Catatan:

- Koefisien keragaman = 5,61 %
- Kolom angka yang berpangkat huruf berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata pada uji Duncan dengan LSR 1 %

Dari Gambar 2, 3 dan Tabel 3 terlihat bahwa produksi alkaloid yang dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuh (dalam hal ini adalah 2,4-D dan atau kinetin), walaupun tidak selalu meningkat dengan meningkatnya kadar zpt. Hal ini terlihat dari kontrol (tanpa penambahan zpt) atau DK₀ yang mengandung alkaloid katarantin paling rendah bila dibandingkan dengan kalus lain yang diberi zpt (2,4-D dan atau Kinetin). Produksi alkaloid yang paling tinggi terjadi pada kalus DK₂ dengan rata-rata produksi 0,1289 %, yaitu dengan penambahan 2,4-D = 1,5 ppm dan kinetin = 0,1 ppm. Tapi pada penambahan zpt yang lebih tinggi justru mengalami penurunan produksi alkaloid khususnya katarantin. Kalau dilihat dari data tersebut produksi alkaloid ini berkaitan erat dengan sifat embrionik kalus. Hal ini ditunjukkan dari DK₃ yang sedikit kalus embrionik (tidak embrionik) pada Tabel 1, terlihat kandungan alkaloidnya juga lebih sedikit (Tabel 3) bila dibandingkan dengan DK₂ yang mempunyai kalus embrionik lebih tinggi juga mengandung alkaloid lebih tinggi meskipun kadar zpt-nya lebih rendah.

Whitner *et al.* (2002), melaporkan bahwa kultur sel *C. roseus* dengan penambahan NAA dan Kinetin meningkatkan transkripsi mRNA untuk enzim striktosidin sintase (SS) dan triptofan dekarboksilase (TDC). Kedua enzim ini sangat penting dalam

sintesis alkaloid indol. Secara keseluruhan sintesis alkaloid indol dikatalisis oleh kedua enzim tersebut di atas. Demikian juga Moreno-Valenzuela *et al.* (1998), bahwa difrensiasi sel ke akar dapat meningkatkan kandungan alkaloid melalui peningkatan enzim triptofan dekarboksilase dan stiktosidin sintetase. Enzim tersebut berperan penting dalam sintesis alkaloid.

Penurunan alkaloid pada penambahan zpt yang lebih tinggi bisa juga disebabkan oleh adanya kemungkinan alkaloid jenis yang lain juga mengalami perubahan tetapi karena dalam penelitian ini tidak diukur maka tidak dapat diambil kepastian apakah alkaloidnya menurun atau sebaliknya. Dengan demikian dianjurkan bagi peneliti selanjutnya agar mengukur alkaloid antikanker lain seperti vinkristin, viblastin, leurosin, dll atau mengukur dengan alat HPLC (High performance Light Chromatography).

KESIMPULAN DAN SARAN

Komposisi media yang optimum untuk induksi kalus tapak dara adalah dengan penambahan 2,4-D = 1,5 ppm dan kinetin = 0,1 ppm pada media MS. Penambahan zat pengatur tumbuh pada kultur kalus dapat mempengaruhi produksi alkaloid. Produksi alkaloid yang paling tinggi terjadi pada kalus DK₂ dengan penambahan 2,4-D = 1,5 ppm dan kinetin = 0,1 ppm yaitu sebesar 0,1289 %.

Disarankan agar alkaloid antikanker lain dari kalus tapak dara dapat diukur, seperti vinkristin, vinblastin dan yang lainnya. Disamping itu agar kandungan alkaloidnya diukur dengan *Hight Performance Liquid Cromatography*.

DAFTAR PUSTAKA

- Diana, S. 1995. Pengaruh L. Triptofan terhadap Pertumbuhan dan Produksi Alakloid kultur akar kina (*Cinchona ledgeriana* (Howard) Moens. Tesis. Biologi ITB.
- Harbone JB. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis

- Tumbuhan. Terj. Padmawinata, K. dan Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Hashimoto T, & Yamada Y. 1994. Alkaloid Biogenesis: Molecular Aspects. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 257-285.
- Hirata KA, Yamanaka K, Kurano K, Miyamoto dan Miura Y. 1990. Production of indole alkaloids in multiple shoot culture of *Catharanthus roseus*. *Agric. Biol. Chem.* 51 (5) : 1311 – 1317.
- Hirata KA, Horiuchi M, Ando T, Miyamoto K dan Miura Y. 1990. Vindoline and Catharanthine Production in Multiple Shoot Culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering* . 70 (3): 193-195
- Hirata Y, Hirata K, Kurano N, Miyamoto K dan Uchida K. 1995. Formation of vinblastine in multiple shoot culture *Catharanthus roseus*. *In Press*.
- Kim S.W, Jung K, Kwak H, S. & Liu JR 1994. Relationship between cell morphology and indole alkaloid production in suspension cultures of *Catharanthus roseus* . In: *Plant Cell Report* 14: 23-26.
- Moreno-Valenzuela OA, Galaz-Avalos RM, Minero-Garcia Y, Loyola-Vargas VM. 1998. Effect of differentiation on the regulation of indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* hairy roots. *Plant Cell Reports*. 18: 99-104.
- Nef-Campa C, Trouslot M, Trouslot P, & Chrestin H. 1994. Long-Term Effect of *Pythium* Elicitor Treatment on the Growth and Alkaloid Production of *Catharanthus roseus* Cell Suspensions. In: *Planta Medica* 60.
- Pandiangan D, Doodoh B, Sumampow DMF. 1998. Induksi kalus dan tunas *Catharanthus roseus*. Dalam J Pontoh (ed). *Prosiding Seminar Nasional MIPA I: Pengembangan sains dan teknologi dalam pemanfaatan sumber daya alam*. FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Sumarsi, Darjianto S dan Suprpto. 1990. Isolasi Komponen Aktif Daun Tapak Dara. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Hasil Pertanian.
- Vazquez-Flota F, Moreno-Valenjuela O, Miranda-Ham ML, Coello-Coello J, & Loyola-Vargas VM 1994. Catharanthine and katarantine synthesis in *Catharanthus roseus* hairy root cultures. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 38: 273-279. Kluwer Academic Publisher. Netherlands.
- Vickery LM & Vickery B. 1981. *Secondary Plant Metabolism*. The Macmillan Press Ltd. London.
- Whitmer S, Heijden R, Verpoorte R. 2002. Effect of precursor feeding on alkaloid accumulation by a tryptophan decarboxylase over-expressing transgenic cell line T22 of *Catharanthus roseus*. *J Biotechnol* 96: 193-203.
- Wijayakusuma HMH, Dalihmarta S, Winar AS. 1992. *Tanaman Berkasiat Obat di Indonesia*, Jilid I. Pustaka Kartini, Ikapi Jaya.