



## Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Anti Kontaminan Dalam Pertumbuhan Kultur Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Varietas Tedjo MZ

### The Effectivity of Leaf Extract *Centella Asiatica* L. as Anti-Contaminant in The Growth of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Variety Tedjo MZ Tissue Culture

Alya Hasna Irbah Septiani\*, Florentina Kusmiyati, Budi Adi Kristanto

Program Studi Agroteknoteknologi, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

\*Penulis Korespondensi

Email: [alyahasna41@gmail.com](mailto:alyahasna41@gmail.com)

**Abstrak.** Kentang merupakan tanaman yang mengandung tingkat karbohidrat tinggi sehingga menjadi pangan alternatif pengganti beras. Kultur jaringan menjadi teknik perbanyak tanaman kentang yang sering digunakan karena dapat menghasilkan bibit kentang dalam jumlah banyak sekaligus. Namun, permasalahan yang sering terjadi pada kultur jaringan adalah kontaminasi oleh mikroorganisme. Penanganan kontaminasi bisa dilakukan dengan menambahkan bahan bersifat menekan pertumbuhan mikroorganisme seperti pegagan. Pegagan mengandung senyawa triterpenoid yang bersifat antimikrobia dan antifungal. Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji efektivitas konsentrasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai anti kontaminan pada pertumbuhan kultur jaringan kentang var. Tedjo MZ. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan empat kali ulangan. Faktor yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak daun pegagan; C0: 0%, C1: 2,5%, C2:5%, C3: 7,5% dan C4: 10%. Parameter yang diamati adalah panjang akar, panjang cabang, jumlah daun, tinggi planlet, waktu pertama kontaminasi, persentase kontaminasi jamur dan bakteri serta persentase keberhasilan kultur jaringan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak pegagan pada berbagai konsentrasi belum memberikan dampak signifikan pada seluruh parameter. Pemberian ekstrak pegagan pada media planlet kentang terlihat menghambat pertumbuhan planlet kentang daripada perlakuan kontrol, hal ini dapat disebabkan zat senyawa yang terdapat pada ekstrak pegagan bersifat toksik bagi planlet. Perlakuan kontrol memberikan hasil terbaik pada parameter waktu pertama kontaminasi, persentase kontaminasi jamur dan bakteri, persentase keberhasilan kultur jaringan, panjang akar, panjang cabang, jumlah daun dan tinggi planlet.

**Kata kunci:** kentang, triterpenoid, antikontaminan, kultur jaringan, pegagan.

**Abstract.** Potato is a plant that contains high carbohydrates and is an alternative food to replace rice. Tissue culture is often used to propagate potatoes because it can produce large quantity seeds at once. Contamination is the main problem in tissue culture. Contamination can be decreased by adding materials against microorganisms such as Gotu Kola. Gotu kola contains triterpenoid compounds that can be used as antimicrobial and antifungal. This study aimed to examine the effectiveness of concentration of Gotu Kola leaf extract (*Centella asiatica* L.) as an anti-contaminant on the growth of potato var. Tedjo MZ tissue culture. This study used a monofactor Completely Randomized Designed with 4 replications. The factor is concentration of Gotu Kola leaf extract; C0: 0%, C1: 2,5%, C2:5%, C3: 7,5% and C4: 10%. Parameters observed were root length, branch length, number of leaves, plantlet height, first time of contamination, percentage of

*fungus and bacterial contamination, and percentage of tissue culture success. The result showed that the addition of Gotu Kola leaf extract at various concentrations did not have a significant impact on all parameters. The addition of Pegagan leaf extract on tissue culture media seems to inhibit the growth of potato plantlets more than the control treatment, this could be due to the compounds contained in Gotu Kola leaf extract being toxic to plantlets. The control treatment gave the best results on the parameters the first time of contamination, percentage of fungal and bacterial contamination, percentage of tissue culture success, root length, branch length, number of leaves, and plantlet height.*

**Keywords:** potato, triterpenoid, anti-contaminant, tissue culture, Gotu Kola.

## 1. Pendahuluan

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan tanaman hortikultura yang dapat dimanfaatkan umbinya sebagai bahan pangan. Kentang mengandung nutrisi karbohidrat yang tinggi sehingga dapat dijadikan alternatif pangan utama. Kentang var. Tedjo MZ adalah varietas kentang lokal yang berasal dari Kabupaten Banjarnegara. Kentang var. Tedjo MZ sudah ditetapkan sebagai varietas sejak tahun 2014. Kentang var. Tedjo MZ memiliki ciri khusus, yaitu daging umbi berwarna kuning terang, umbi berbentuk bulat lonjong dan warna batang bawah terdapat guratan berwarna ungu, mampu beradaptasi pada ketinggian 1500-2000 mdpl, dapat disimpan pada suhu 20-30°C, tahan terhadap kutu kebul, *lyriomiza*, *Phytophthora* dan Nematoda Sista Kentang (NSK) (Kementerian Pertanian, 2014).

Perbanyak kentang lebih sering menggunakan teknik kultur jaringan. Kunci keberhasilan kultur jaringan adalah steril, baik peralatan yang digunakan, bahan dan lingkungan kerja. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan yaitu media, bahan eksplan dan lingkungan kerja yang akan digunakan harus steril (Apriliyana & Wahidah, 2021). Mikroorganisme, seperti jamur, virus dan bakteri harus dihindari dalam kegiatan kultur jaringan, karena dapat menyebabkan kontaminasi. Kontaminasi terjadi karena mikroorganisme masuk ke dalam botol dan akan terlihat pada media atau eksplan (Yuliarti, 2010).

Sumber kontaminasi pada kultur jaringan berasal dari eksplan, alat, ruangan kultur dan media kultur jaringan. Eksplan tanaman dapat menjadi sumber kontaminan karena berasal dari luar dan pada pohon induknya mengandung spora, bakteri atau virus (Heriansyah & Indrawanis, 2020). Eksplan yang akan digunakan harus dibersihkan dari kotoran dan mikroorganisme yang terbawa. Kontaminasi yang bersumber dari eksplan tanaman dapat dicegah dengan cara eksplan disterilkan terlebih dahulu sebelum di subkultur menggunakan sterilan berupa disinfektan/bakterisida/fungisida dan sebagainya (Setiani *et al.*, 2018). Media kultur jaringan dapat ditambahkan anti kontaminan untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Ekstrak tanaman pegagan dapat digunakan sebagai sumber anti kontaminan.

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) termasuk tanaman herba yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Tanaman pegagan merupakan salah satu tanaman yang dapat

dijadikan sebagai obat-obatan. Tanaman pegagan memiliki kandungan *triterpenoid* yang tinggi (Ramadhan *et al.*, 2015). *Triterpenoid* merupakan kelompok senyawa yang memiliki manfaat dalam pengobatan karena mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan antifungi. Senyawa *triterpenoid* terdiri dari *asiaticoside*, *madecassoside*, *asiatic acid* dan *madeccasic acid* (Astuti & Setyawati, 2016). Ekstrak daun pegagan dapat digunakan sebagai antikonaminan dalam kultur jaringan tanaman. Ekstrak daun pegagan konsentrasi 0,8% merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada jamur *Aspergillus flavus* (Habibi *et al.*, 2018).

Pencegahan kontaminasi dalam kegiatan kultur jaringan dilakukan dengan melakukan sterilisasi dengan tepat, namun belakangan ini muncul penelitian bahwa ekstrak daun pegagan mampu mencegah terjadinya kontaminasi pada kultur jaringan. Ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus* mutans pada perlakuan 10%, 20%, 40%, 60%, 80% (Azzahra & Hayati, 2018). Penambahan 5% ekstrak daun pegagan pada media MS kultur *in vitro* biji angrek *Dendrobium macrophyllum* berhasil tanpa ada yang terkontaminasi dengan waktu inisiasi biji berkecambah menjadi cepat, persentase berkecambah paling tinggi dan warna *protocorm* hijau segar (Martiwi & Wahyuni, 2016). Penelitian tentang penggunaan ekstrak daun pegagan sebagai antikonaminan pada kultur jaringan tanaman masih terbatas. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian penambahan ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan tanaman kentang.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengkaji efektivitas konsentrasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai anti kontaminan pada pertumbuhan kultur jaringan kentang var. Tedjo MZ. Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi mengenai pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* L.) yang tepat untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada kultur jaringan kentang var. Tedjo MZ.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada 6 September – 12 November 2021 di Laboratorium Kultur Jaringan, Program Studi D3 Agroindustri, Politeknik Banjarnegara, Banjarnegara.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kultur, timbangan analitik, gelas beker, *Laminar Air Flow* (LAF), pinset, cawan petri, gunting, scalpel, oven, corong kaca, *hot plate stirrer*, bunsen, labu ukur, erlenmeyer, plastik, karet, plastik *wrap*, pH meter, alat tulis dan *handphone*. Bahan yang digunakan adalah daun pegagan, aquades, eksplan kentang var. Tedjo MZ yang diperoleh dari Laboratorium UPTD Balai Benih Hortikultura Kabupaten Banjarnegara, air kelapa, larutan stok media Murashige and Skoog (MS), kloroks 10%, alkohol 70%, gula pasir dan agar.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal konsentrasi ekstrak pegagan sebanyak 5 taraf. Konsentrasi ekstrak pegagan yang

digunakan adalah 0% (kontrol), 2,5%, 5%, 7,5% dan 10%. Percobaan dilakukan sebanyak empat kali ulangan sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Satu unit atau satu botol ditanam 5 eksplan kentang. Subkultur dilakukan sebanyak 2 kali dengan periode tanam 4 Minggu Setelah Tanam (MST). Subkultur 1 menggunakan planlet dari Laboratorium UPTD Balai Benih Hortikultura Kabupaten Banjarnegara. Hasil subkultur 1 digunakan sebagai sumber eksplan untuk subkultur 2.

Pembuatan ekstrak daun pegagan dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh [Martawi and Wahyuni \(2016\)](#) dengan menyiapkan 1000 g daun kemudian dicuci bersih dengan air mengalir sebanyak tiga kali. Daun dikeringkan dibawah sinar matahari selama 5 hari hingga kering. Daun kering dihaluskan dan disaring dengan penyaring ukuran 20 mesh. Serbuk daun sebanyak 50g dilarutkan dalam 500ml aquades kemudian dimaserasi selama 24 jam. Filtrat disaring dan disimpan.

Sterilisasi dilakukan dengan membersihkan ruangan menggunakan radiasi *ultraviolet* (UV) dan alkohol. Alat disterilkan pada *autoclave* pada 121<sup>0</sup>C selama 2 jam, khusus untuk botol dicuci terlebih dahulu sebelum disterilkan. LAF disterilkan dengan UV selama 1 jam dan disemprot dengan alkohol 70%.

Pembuatan media MS dilakukan dengan membuat larutan sesuai dengan panduan ([Tabel 1](#)). Larutan stok diambil sesuai dengan panduan kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur 1000ml. Pembuatan media diawali dengan memasukkan larutan stok MS yang telah dibuat ([Tabel 1](#)). Media MS ditambahkan air kelapa 150 ml/L dan aquades hingga volume 1L kemudian ditambahkan 8 g/L agar dan 30 g/L gula pasir lalu diaduk menggunakan *hot plate stirrer* hingga homogen. Media dipanaskan hingga mendidih. Media yang sudah mendidih ditambahkan ekstrak pegagan sesuai dengan perlakuan dan dimasukkan ke dalam botol kultur. Botol kultur ditutup dengan plastik kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 1,5 atm selama 15menit. Media yang sudah steril diletakkan di rak kultur selama 3 hari.

Penanaman eksplan kentang Tedjo MZ dilakukan dalam LAF yang telah disterilisasi. Eksplan dikeluarkan dari botol dan dipotong setiap ruas berisi 1-2 daun lalu dimasukkan ke dalam media perlakuan. Setiap botol berisi 5 potong eksplan kentang. Media yang sudah ditanami eksplan kemudian ditutup dan diberi plastik *wrap* untuk menghindari kontaminasi. Ruang kultur harus terang dan suhunya 21<sup>0</sup>C. Penanaman eksplan untuk subkultur 2 dilakukan dengan langkah sama, namun sumber eksplan menggunakan hasil subkultur 1. Metodenya sama dengan subkultur 1, eksplan dipindah ke media baru dengan perlakuan yang sama dengan perlakuan sebelumnya.

Parameter yang diamati adalah waktu pertama kontaminasi, persentase kontaminasi jamur dan bakteri, persentase keberhasilan kultur jaringan, jumlah planlet yang tumbuh, panjang akar, panjang cabang, jumlah daun dan tinggi planlet.

Tabel 1. Komposisi Media MS

Stok	Bahan kimia	Massa (mg)	Konsentrasi (kali)	Vol. Pengambilan per liter (ml)
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	83500	50	20
B	KNO <sub>3</sub>	95000	50	20
C	CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	44000	100	10
D	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17000	100	10
E	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	37000	200	5
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1240		
	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3380		
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1720		
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	50		
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	5		
	COCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	5		
	KI	1240		
	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	5570		
	Na <sub>2</sub> EDTA	7450		
F	Niasin	50	10	10
	Piridoksin-HCl	50		
Vitamin	Tiamin-HCl	10	10	10
	Glisin	200		
	Myoinositol	10000		

(Widyastuti &amp; Deviyanti, 2018)

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Waktu pertama kontaminasi

Waktu pertama muncul kontaminasi pada kultur jaringan biasanya sekitar 1 minggu setelah tanam. Data waktu pertama kontaminasi yang muncul disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu pertama kontaminasi

Ekstrak pegagan (%)	Waktu pertama kontaminasi (hari ke)	
	Subkultur 1	Subkultur 2
	-----hari-----	
0	0	0
2,5	0	0
5	5	0
7,5	0	0
10	6	0

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa kontaminasi terjadi pada perlakuan 5% dan 10% dengan waktu 5 dan 6 hari setelah subkultur 1. Kontaminasi mungkin terjadi pada saat penanaman eksplan, kontaminan masuk bersama eksplan ke dalam botol. Kebersihan menjadi salah satu faktor penting pada kultur jaringan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Apriliyania and Wahidah (2021) yang menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi kultur jaringan yaitu tingkat steril atau kebersihan alat, media, bahan eksplan dan lingkungan kerja dari mikroorganisme. Agen

kontaminan seperti jamur dan bakteri memanfaatkan nutrisi dalam media untuk tumbuh. Media MS menjadi media yang tepat karena mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Oratmangun et al. \(2017\)](#) yang menyatakan bahwa bakteri dan jamur dapat hidup dengan mengambil nutrisi yang ada pada media MS. Selain kaya akan nutrisi, media kultur jaringan juga lembab hingga cukup untuk kontaminan tumbuh. Mikroorganisme muncul di atas permukaan media dan tumbuh menyebar hingga seluruh permukaannya tertutup dan dapat mengganggu pertumbuhan eksplan.

Pada subkultur 2 tidak terjadi kontaminasi pada seluruh perlakuan. Pemberian ekstrak pegagan pada media kultur jaringan tidak berbeda dengan pemberian ekstrak 0%. Kemungkinan senyawa dalam ekstrak daun pegagan menjadi lebih aktif dalam bereaksi terhadap sel mikroorganisme pada subkultur 2 sehingga kontaminasi tidak terjadi pada seluruh perlakuan. Ekstrak daun pegagan mengandung senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur yang disebut senyawa *triterpenoid*. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Astuti and Setyawati \(2016\)](#) yang menyatakan kandungan biokimia yang khas pada tanaman pegagan adalah *triterpenoid* yang terdiri dari *asiaticoside*, *madecassoside*, *asiatic acid* dan *madecassic acid*.

### 3.2. Persentase Kontaminasi Jamur dan Bakteri

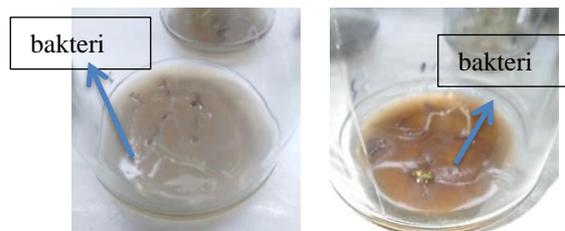
Kontaminasi akibat jamur dan bakteri menyebabkan kegagalan kultur jaringan tanaman. Semakin rendah persentase kontaminasi maka semakin baik. Data persentase kontaminasi jamur dan bakteri yang muncul disajikan pada [Tabel 3](#).

**Tabel 3.** Persentase kontaminasi jamur dan bakteri

Ekstrak pegagan (%)	Persentase kontaminasi	
	Subkultur 1	Subkultur 2
	-----%-----	
0	0	0
2,5	0	0
5	25	0
7,5	0	0
10	25	0
Rata-rata	10	0

Berdasarkan [Tabel 3](#) dapat diketahui bahwa persentase kontaminasi oleh jamur dan bakteri adalah 25% terdapat pada perlakuan 5% dan 10% ekstrak pegagan. Mikroorganisme yang mungkin terbawa pada saat melakukan pemotongan dan penanaman eksplan menyebabkan terjadi kontaminasi. Menurut [Wati et al. \(2020\)](#) bahwa bakteri yang tumbuh pada media kultur jaringan masuk melalui bekas luka pada potongan eksplan sehingga media dan eksplan mengalami kontaminasi ([Gambar 1](#)). Kontaminan yang masuk dapat hidup dan berkembang biak pada media kultur jaringan sehingga menyebabkan kegagalan kultur jaringan. Pertumbuhan kontaminan juga

dipengaruhi oleh suhu. Suhu ideal untuk ruangan kultur jaringan adalah 18-20°C. Menurut [Apriliyana and Wahidah \(2021\)](#) menyatakan bahwa media dan eksplan yang kurang steril serta faktor lingkungan lain seperti suhu dapat memicu terjadinya kontaminasi pada kultur jaringan. Luas ruangan juga mempengaruhi suhu dari pendingin ruangan (AC) semakin luas maka suhu akan semakin tinggi. Luas ruangan yang digunakan untuk penelitian cukup luas sehingga suhu yang seharusnya 18-20°C akan terasa sedikit lebih tinggi. Hal tersebut menjadi faktor yang memungkinkan bagi mikroorganisme untuk tumbuh dalam botol.



Gambar 1. Kontaminasi oleh Bakteri

Semua kontaminasi selama penelitian ini disebabkan oleh bakteri, yang ditandai oleh lendir di permukaan media dan disekitar potongan eksplan. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Setiani et al. \(2018\)](#) yang menyatakan bahwa kontaminasi bakteri ditandai dengan adanya lendir pada permukaan media. Planlet yang berada di dalam media terkontaminasi bakteri terlihat layu dan lambat laun mengalami kematian. Planlet mati disebabkan oleh aktivitas bakteri yang mengganggu sistem jaringan tanaman sehingga pertumbuhan planlet menjadi terganggu dan mati. Menurut [Wati et al. \(2020\)](#) bahwa bakteri yang tumbuh pada media kultur jaringan masuk melalui bekas luka pada potongan eksplan sehingga eksplan mengalami kontaminasi dan menjadi mati.

Jenis kontaminasi jamur tidak muncul selama penelitian. Media kultur tidak memperlihatkan adanya tanda kontaminasi jamur yaitu terdapat hifa berwarna putih hingga abu-abu yang menutupi permukaan media kultur. Senyawa *triterpenoid* yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan memiliki fungsi antifungal sehingga kemungkinan senyawa *triterpenoid* berhasil dalam menekan pertumbuhan jamur. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Ismaini \(2011\)](#) yang menyatakan bahwa senyawa *triterpenoid* yang larut bersifat toksik bagi pertumbuhan jamur patogen pada daun angrek. Tidak adanya kontaminasi akibat jamur dikarenakan peran antifungal dari *triterpenoid* dan sterilisasi yang dilakukan berhasil.

### 3.3. Persentase keberhasilan kultur jaringan

Keberhasilan kultur jaringan menjadi tujuan dalam melakukan kultur jaringan. Keberhasilan yang tinggi mengindikasikan bahwa planlet yang hidup banyak dan minim kontaminasi. Data persentase keberhasilan kultur jaringan kentang disajikan pada [Tabel 4](#).

**Tabel 4.** Persentase Keberhasilan

Ekstrak pegagan (%)	Persentase kontaminasi	
	Subkultur 1	Subkultur 2
	-----%-----	
0	100	100
2,5	100	100
5	75	100
7,5	100	100
10	75	100
Rata-rata	90	100

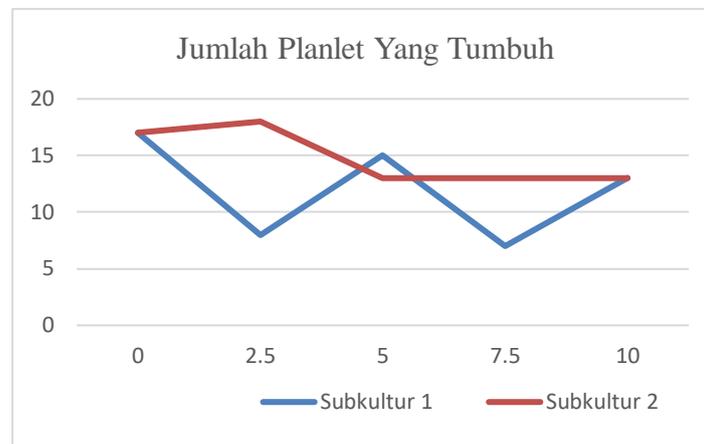
Berdasarkan [Tabel 4](#) dapat diketahui bahwa pada subkultur 1 keberhasilan kultur jaringan sebesar 90% dengan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan 0%, 2,5% dan 7,5% ekstrak pegagan, sedangkan pada subkultur 2 terdapat peningkatan keberhasilan kultur jaringan kentang menjadi 100%. Salah satu keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh ada tidaknya kontaminasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Yuliarti \(2010\)](#) yang menyatakan bahwa agen kontaminasi seperti bakteri, virus dan jamur dapat menyebabkan kontaminasi pada kultur jaringan.

Senyawa *triterpenoid* mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme. Penelitian [Idris and Nadzir \(2017\)](#) menunjukkan bahwa ekstrak *Centella asiatica* mampu menghambat *Aspergillus niger* dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi rendah. Ekstrak daun pegagan memiliki senyawa *saponin* berupa *triterpenoid* yang dapat berfungsi menekan pertumbuhan bakteri, jamur dan virus. Senyawa *triterpenoid/ centelloside* pada pegagan merupakan senyawa fitokimia khas yang terdiri dari *asiaticoside*, *madecassoside*, *asiaticacid* dan *madeccasicacid*. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Astuti and Setyawati \(2016\)](#) bahwa kandungan biokimia yang khas pada tanaman pegagan adalah *triterpenoid* yang terdiri dari *asiaticoside*, *madecassoside*, *asiatic acid* dan *madeccasic acid*. Bagian tanaman pegagan yang mengandung *triterpenoid* paling tinggi adalah bagian daun, oleh karena itu ekstrak daun pegagan dapat membantu dalam meningkatkan keberhasilan kultur jaringan. Hal ini sesuai dengan pernyataan [Mercy et al. \(2012\)](#) bahwa bagian daun pada tanaman pegagan memiliki sebagian besar senyawa *centelloside*.

### 3.4. Jumlah planlet yang tumbuh

Jumlah planlet yang tumbuh pada subkultur 1 adalah 60 sedangkan pada subkultur 2 berjumlah 74 dari jumlah total setiap subkultur 100 eksplan ([Gambar 2](#)). Planlet yang tumbuh selama penelitian tidak semuanya normal, khususnya pada perlakuan media dengan penambahan ekstrak daun pegagan. Planlet pada media perlakuan penambahan ekstrak daun pegagan mengalami pertumbuhan yang terhambat. Ekstrak daun pegagan mengandung senyawa *triterpenoid* yang bersifat antimikrobia, namun juga memiliki kandungan fenol yang tinggi yang memiliki efek toksik. Menurut [Prasetyo et al. \(2020\)](#) menyatakan bahwa senyawa fenol dapat

menghambat proses pertumbuhan dan diferensiasi eksplan. Komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak pegagan dapat berpengaruh pada aktivitas sel eksplan, baik dalam konsentrasi tinggi atau rendah. Penelitian [Widyani et al. \(2019\)](#) menunjukkan hasil bahwa ekstrak pegagan dengan pelarut aquades selain mengandung *triterpenoid* juga mengandung senyawa *flavonoid*, *betakarotenoid*, tanin dan vitamin C.



Gambar 2. Jumlah planlet yang tumbuh

Eksplan kentang termasuk eksplan yang sangat responsif terhadap perubahan media tumbuh. Jumlah planlet yang tumbuh terbanyak terdapat pada subkultur 1 dan 2 berturut-turut terdapat pada perlakuan 0% berjumlah 17 dan perlakuan 2,5% berjumlah 18. Perlakuan dengan penambahan ekstrak daun pegagan memiliki jumlah planlet beragam. Penambahan ekstrak daun pegagan menyebabkan beberapa eksplan mengalami stres sehingga eksplan tidak dapat tumbuh pada subkultur 1. Pada subkultur 2, eksplan sudah dapat beradaptasi dengan ekstrak daun pegagan dari subkultur 1 sehingga jumlah tunasnya meningkat walaupun belum 100%. Eksplan yang tidak tumbuh dikarenakan eksplan mengalami *browning*. *Browning* merupakan pencoklatan pada eksplan yang diakibatkan adanya aktivitas fenol sebagai respon eksplan mengalami pelukaan pada saat pemotongan eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat [Silvia et al. \(2021\)](#) yang menyatakan bahwa *browning* pada eksplan menyebabkan eksplan tidak bisa tumbuh normal bahkan tidak bisa hidup. Eksplan yang mengalami *browning* akan memproduksi banyak fenol sehingga ada beberapa eksplan yang tidak mampu untuk tumbuh.

### 3.5. Panjang Akar

Planlet kentang memiliki akar dengan panjang yang berbeda antara subkultur 1 dan subkultur 2. Pemberian ekstrak pegagan pada media kultur jaringan kentang memberikan pengaruh terhadap panjang akar yang muncul. Data panjang akar planlet kentang disajikan pada [Tabel 5](#).

Tabel 5. Panjang Akar

Ekstrak pegagan (%)	Panjang Akar	
	Subkultur 1	Subkultur 2
	-----cm-----	
0	0,6	0,8
2,5	0,1	0
5	0,3	0
7,5	0	0
10	0,5	0

Hasil terbaik ditunjukkan pada perlakuan 0% dengan rata-rata panjang akar subkultur 1 adalah 0,6 cm dan subkultur 2 adalah 0,8 cm. Media MS tanpa penambahan ekstrak daun pegagan memiliki nutrisi yang mampu merangsang pertumbuhan akar. Panjang akar berpengaruh pada pertumbuhan planlet, semakin panjang akar maka daya serap nutrisi semakin tinggi. Serapan nutrisi yang tercukupi akan mengoptimalkan pertumbuhan planlet. Menurut [Samanhudi et al. \(2021\)](#) dalam penelitiannya menyatakan bahwa jumlah akar dan panjang akar berbanding lurus terhadap serapan nutrisi untuk didistribusikan ke seluruh jaringan tanaman akan lebih banyak. Pemanjangan akar juga dibantu oleh adanya air kelapa yang ditambahkan pada media. Air kelapa mengandung hormon auksin dan sitokinin yang dapat membantu pertumbuhan eksplan kentang. Pada media yang ditambahkan ekstrak daun pegagan kemungkinan terjadi penyerapan air kelapa yang lebih sedikit karena ekstrak daun pegagan menghasilkan fitokimia yang ikut terserap ke dalam jaringan planlet dan menyebabkan berkurangnya respon sel untuk pembentukan akar.



Gambar 3. Panjang akar eksplan

Perlakuan 0% subkultur 1 memiliki akar terpanjang berukuran 1 cm sedangkan subkultur 2 memiliki akar terpanjang berukuran 2 cm ([Gambar 3](#)). Akar planlet terlihat berdiameter kecil, panjang, permukaannya halus, berwarna putih dan sehat. Pemanjangan akar dipengaruhi oleh hormon auksin dan sitokinin. Hormon auksin akan membantu jaringan dalam melakukan pembelahan sel. Penelitian [Ramdhini et al. \(2021\)](#) menyatakan bahwa pemanjangan akar berada di jaringan meristem primer meliputi tahap pembelahan, elongasi dan diferensiasi sel. Penambahan ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan kentang diduga menghambat variabel panjang akar. Konsentrasi atau tingkat kepekatan ekstrak pada media juga terkait dengan kandungan fenol

yang tinggi yang dapat mempengaruhi kinerja akar dalam menyerap nutrisi pada media kultur untuk aktivitas pemanjangan sel.

### 3.6. Panjang Cabang

Cabang yang muncul pada ketiak daun akan mengalami pertumbuhan memanjang. Pemberian ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan berpengaruh pada panjang cabang. Data panjang cabang yang muncul disajikan pada [Tabel 6](#).

**Tabel 6.** Panjang Cabang

Ekstrak pegagan (%)	Panjang Cabang	
	Subkultur 1	Subkultur 2
	-----cm-----	
0	0	1,275
2,5	0	0
5	0	0
7,5	0	0
10	0	0

Berdasarkan [Tabel 6](#) dapat diketahui bahwa selama penelitian subkultur 1 tidak muncul cabang sedangkan pada subkultur 2 terdapat cabang yang muncul pada perlakuan 0% ekstrak pegagan dengan rata-rata panjang cabang 1,275 cm. Pemberian ekstrak pegagan kurang mendukung pertumbuhan cabang yang optimal. Senyawa dalam ekstrak daun pegagan yang masuk ke dalam jaringan eksplan menyebabkan pertumbuhan eksplan terganggu sehingga respon pembentukan cabang juga terganggu. Cabang merupakan organ tunas yang memanjang kesamping dan berfungsi membantu dalam memasok karbohidrat bagi planlet. Semakin banyak dan panjang cabang maka semakin besar peluang terbentuknya daun-daun baru. Hal ini sesuai dengan pendapat [Avivi et al. \(2013\)](#) dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa jumlah tunas tertinggi memiliki jumlah daun tertinggi.



**Gambar 4.** Panjang Cabang Eksplan

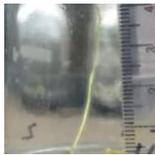
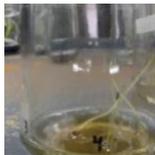
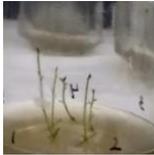
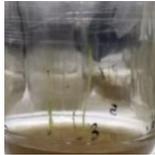
Cabang terlihat tumbuh sehat, memiliki warna hijau segar dan memiliki daun banyak. Ukuran cabang terpanjang pada perlakuan 0% ekstrak pegagan adalah 3 cm ([Gambar 4](#)). Media tanpa penambahan ekstrak daun pegagan mampu merangsang pertumbuhan cabang dengan baik. Penambahan ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi terendah 2,5% masih menghambat variabel

panjang cabang. Hal ini bisa mungkin dikarenakan konsentrasi 2,5% masih tergolong tinggi untuk eksplan kentang. Eksplan kentang sangat rentan terhadap penambahan bahan-bahan lain pada media tumbuhnya dan akan sangat berpengaruh pada pertumbuhan planlet kentang. Cabang yang tidak muncul menjadi indikasi pertumbuhan planlet terhambat karena pada umumnya planlet umur 4 MST sudah muncul cabang.

### 3.7. Jumlah Daun

Daun merupakan salah satu bagian penting dalam tanaman. Daun fungsi utamanya adalah melakukan fotosintesis karena terdapat kloroplas didalamnya. Fotosintesis membantu tanaman menyuplai kebutuhan karbohidrat untuk didistribusikan ke seluruh bagian tanaman. Pemberian ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan berpengaruh pada jumlah daun. Data jumlah daun yang muncul disajikan pada [Tabel 7](#).

**Tabel 7.** Jumlah Daun

Jumlah Daun	Ekstrak pegagan (%)				
	0	2,5	5	7,5	10
Subkultur 1	 19	 7,75	 19	 9,75	 14,75
Subkultur 2	 32,5	 19	 15	 13,25	 12,25

Berdasarkan [Tabel 7](#) dapat diketahui bahwa seluruh perlakuan menunjukkan kemampuan merangsang terbentuknya daun terbaik pada subkultur 1 ditunjukkan oleh perlakuan 0% dan 5% ekstrak pegagan dengan rata-rata 19 daun. Daun yang muncul selama penelitian terlihat segar, berwarna hijau segar, berukuran kecil dan muncul di ruas-ruas tunas planlet. Daun merupakan salah satu organ yang berperan penting karena daun merupakan tempat terjadinya fotosintesis yang menghasilkan karbohidrat bagi tanaman. Semakin banyak daun maka pertumbuhan planlet akan semakin baik karena kebutuhan karbohidrat tercukupi. Menurut [Yustisia et al. \(2018\)](#) dalam penelitiannya menyatakan bahwa banyaknya jumlah daun yang terbentuk akan mengoptimalkan pertumbuhan eksplan.

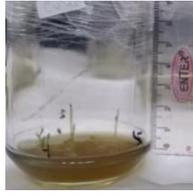
Hasil terbaik pada subkultur 2 terdapat pada perlakuan 0% dengan rata-rata jumlah daun 32,5. Jumlah daun perlakuan 0% pada subkultur 2 mengalami peningkatan dibanding dengan subkultur 1 karena pada subkultur 2 terdapat beberapa cabang yang tumbuh sehingga jumlah daun meningkat. Perlakuan dengan penambahan ekstrak (2,5%, 5%, 7,5%, 10%) memiliki daun dengan jumlah lebih sedikit. Hal ini sebabkan daun yang terbentuk memiliki jarak antar daun yang lebih

lebar atau tinggi planlet yang lebih rendah dari perlakuan 0% membuat keterbatasan ruang untuk terbentuknya daun. Pertumbuhan planlet yang kurang optimal pada perlakuan dengan penambahan ekstrak daun pegagan ke dalam media kultur dapat mengurangi aktivitas sel untuk merespon pertumbuhan daun. Menurut [Widyastuti and Deviyanti \(2018\)](#) yang menyatakan bahwa bahan organik sebagai alternatif substitusi media MS dapat memberikan respon berbeda tergantung dengan varietas tanaman. Penambahan bahan organik pada media kultur jaringan masih memberikan hasil yang beragam tergantung jenis bahan organik yang digunakan, konsentrasi dan jenis eksplan.

### 3.8. Tinggi Planlet

Pertumbuhan tinggi planlet adalah parameter yang paling mudah dilihat untuk mengetahui apakah pertumbuhan planlet normal atau tidak. Pemberian ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan berpengaruh pada tinggi planlet. Data tinggi planlet yang muncul disajikan pada [Tabel 8](#).

**Tabel 8.** Tinggi Planlet

Tinggi Planlet	Ekstrak pegagan (%)				
	0	2,5	5	7,5	10
Subkultur 1					
	9,75	2,625	11,525	5,95	10,175
Subkultur 2					
	14,9	6,25	5,575	4,625	4,8

Hasil yang disajikan pada [Tabel 8](#) menunjukkan bahwa rata-rata akhir tinggi subkultur 1 terdapat pada perlakuan 5% ekstrak daun pegagan adalah 11,525 cm. Pemberian ekstrak 5% menunjukkan terdapat respon pertumbuhan tinggi planlet yang lebih tinggi dari lainnya. Tinggi planlet menunjukkan bahwa serapan nutrisi pada perlakuan dengan penambahan ekstrak daun pegagan tidak terhambat. Selain faktor penambahan ekstrak, tinggi planlet dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, cahaya dan media yang digunakan. Hal ini sesuai dengan pendapat [Apriliyana and Wahidah \(2021\)](#) yang menyatakan bahwa suhu, cahaya, kelembaban ruang inkubasi merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Suhu ruangan 20<sup>0</sup>C seharusnya sudah optimal namun, suhu diruangan diduga tidak sesuai karena *air conditioner* (AC) sudah lama sehingga kinerja sudah menurun dari sebelumnya. Pengaturan suhu

pada kultur jaringan kentang perlu diperhatikan karena eksplan kentang optimal pada suhu sedang-rendah sesuai dengan pertumbuhan tanaman kentang di lapangan.

Pada subkultur 2 hasil terbaik terdapat pada perlakuan 0% dengan rata-rata tinggi planlet 14,9 cm. Perlakuan penambahan ekstrak pegagan sebagian besar mengalami penurunan rata-rata tinggi. Sumber eksplan subkultur 2 berasal dari subkultur 1 umur 4 MST. Pengaruh ekstrak pegagan pada pertumbuhan planlet di tahap subkultur 1 diduga memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tinggi planlet pada subkultur 2. Menurut [Apriliyana and Wahidah \(2021\)](#) pada penelitiannya menyatakan bahwa sumber eksplan perlu diketahui umur, eksplan dan genotipnya sebelum dilakukan penanaman. Ekstrak daun pegagan yang bersifat toksin menghambat aktivitas sel sehingga respon untuk pertumbuhan tinggi menjadi terganggu.

#### 4. Kesimpulan

Simpulan dari penelitian yang telah dilakukan yaitu pemberian ekstrak daun pegagan pada media kultur jaringan kentang menghambat pertumbuhan eksplan kentang var. Tedjo MZ dan kurang optimal dalam menghambat kontaminasi oleh mikroorganisme. Ekstrak pegagan yang digunakan masih terlalu tinggi sehingga hasil tidak ada yang signifikan dan mengganggu pertumbuhan planlet.

#### Daftar Pustaka

- Apriliyana, R., & Wahidah, B. F. (2021). Perbanyak Anggrek *Dendrobium Sp.* Secara In Vitro: Faktor-Faktor Kehasilannya. *Jurnal Mahasiswa Biologi*, 1(2), 33-46. <https://doi.org/10.24252/filogeni.v1i1.21192>
- Astuti, S., & Setyawati, H. (2016). Peningkatan Nilai Gizi Umbi Talas Melalui Proses Fermentasi Menggunakan *Starter Bimo CF* dan Pegagan (*Centella asiatica* Linn Urban). Seminar Nasional Inovasi dan Aplikasi Teknologi di Industri (SENIATI). Institut Teknologi Nasional Malang, Malang. 6 Februari 2016. <https://ejournal.itn.ac.id/index.php/seniati/article/view/1612>
- Avivi, S., Soedarmo, S. H., & Prasetyo, P. A. (2013). Multiplikasi Tunas Dan Aklimatisasi Tiga Varietas Pisang: Raja Nangka, Kepok Dan Mas. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 4(2), 83-89. <https://doi.org/10.29244/jhi.4.2.83-89>.
- Azzahra, F., & Hayati, M. (2018). Uji aktivitas ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L). urb) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 5(1), 9-19. <https://doi.org/10.33854/jbd.v5i1.133>
- Habibi, M. W., Setiawan, M. A., Ulfa, R. M., & Istiqomah, L. (2018). Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus*. *Chemical Engineering Research Articles*, 1(2), 58-65. <https://doi.org/10.25273/cheesa.v1i2.3168>
- Heriansyah, P. & Indrawanis, E. (2020). Uji Tingkat Kontaminasi Eksplan Anggrek *Bromheadia finlysoniana* L.miq Dalam Kultur In-Vitro Dengan Penambahan Ekstrak Tomat. *Jurnal Agroaqua: Media Informasi Agronomi dan Budidaya Perairan*, 18(2), 223-232. <https://doi.org/10.32663/ja.v18i2.1502>
- Idris, F. N. & M. M. Nadzir. (2017). Antimicrobial Activity of *Centella asiatica* on *Aspergillus nigris* and *Bacillus subtilis*. *Chemical Engineering Transactions*, 56, 1381-1385. <https://doi.org/10.3303/CET1756231>

- Ismaini, L. (2011). Aktivitas Antifungi Ekstrak (*Centella asiatica* L.) Urban Terhadap Fungi Patogen Pada Daun Anggrek (*Bulbophyllum flavidiflorum* Carr.). *Jurnal Penelitian Sains*, 14(1), 47-50. <https://doi.org/10.56064/jps.v14i1.127>
- Kementerian Pertanian. Berita Resmi PVT Pendaftaran Varietas Lokal. No. Publikasi: 004/BR/PVL/2014.
- Martiwi, I. N. A., & Wahyuni, E. S. (2016). Penambahan Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Sebagai Anti Kontaminan Pada Medium *In Vitro* Alternatif Perkecambahan Anggrek *Dendrobium macrophyllum* A. Rich. *Jurnal MIPA*, 5(2), 85-90. <https://doi.org/10.35799/jm.5.2.2016.13103>
- Mercy, S., Sangeetha, N., & Ganesh, D. (2012). In Vitro Production of Adventitious Root Containing Asiaticoside from Leaf Tissues of *Centella asiatica* L. *Journal of In Vitro Cellular & Development Biology – Plant* (48), 200-207. <https://doi.org/10.1007/s11627-011-9416-x>
- Oratmangun, K. M., Pandiangan, D., & Kandou, F. E. (2017). Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus *Catharanthus rosues* (L.) G. Don. *Jurnal MIPA*, 6(1), 47-52. <https://doi.org/10.35799/jm.6.1.2017.16154>
- Prasetyo, R., Sugiyono, P. L., & Prayoga, L. (2020). Induksi tunas mikro pisang kultivar ambon angka (*Musa* sp.) secara in vitro. *Vigor J Ilmu Pertan dan Subtrop*, 5(2), 45-50. <https://doi.org/10.31002/vigor.v5i2.3044>
- Ramadhan, N. S., Rasyid, R., & Syamsir, E. (2015). Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Yang Diambil Di Batusangkar Terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholerae* Secara *In vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(1), 202-206. <https://doi.org/10.25077/jka.v4i1.222>
- Ramdhini, R. N., Manalu, A. I., Ruwaida, I. P., Isrianto, P. L., Panggabean, N. H., Wilujeng, S., ... & Surjaningsih, D. R. (2021). Anatomi Tumbuhan. Yayasan Kita Menulis, Medan. Retrived from <https://books.google.co.id/books>
- Samanhudi, S., Pujiasmanto, B., Yunus, A., & Majid, N. (2021). Pertumbuhan In Vitro *Tribulus Terrestris* Dengan Perlakuan Indole Butyric Acid (IBA) Dan Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Agrium*, 24(1), 40-47. <http://dx.doi.org/10.30596%2Fagrium.v23i2.6916>
- Setiani, N. A., Nurwinda, F., & Astriany, D. (2018). Pengaruh Desinfektan Dan Lama Perendaman Pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus atilis* (Parkison ex. F. A Zorn) Fosberg). *Journal of Biotropika*, 6(3), 78-82. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.biotropika.2018.006.03.01>
- Silvia, M., Hazmi, M., Murtiyaningsih, H., & Arum, L. (2021). Regenerasi Sorgum (*Sorghum bicolor*) Melalui Kultur In Vitro. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 17(1), 68-75. <https://doi.org/10.30598/jbdp.2021.17.1.68>
- Wati, T., Astarini, I. A., Pharmawati, M., & Hendriyani, E. (2020). Perbanyak *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka Dengan Teknik Kultur Jaringan. *Journal of Biological Sciences*, 7(1), 112-122. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i01.p15>
- Widyani, M., Ulfa, M., & Wirasisya, D. G. (2019). Efek Penghambatan Radikal Bebas Infusa Dan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urb) dengan metode DPPH. *Jurnal Pijar MIPA*, 14(1), 100-106. <https://doi.org/10.29303/jpm.v14.i1.1006>
- Widyastuti, N., dan Deviyanti, J. (2018). Kultur Jaringan – Teori dan Praktik Perbanyak Tanaman Secara In-Vitro. ANDI Yogyakarta, Yogyakarta, 61.
- Yuliarti, N. (2010). Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga. Lily Publisher, Yogyakarta. Retrived from <https://books.google.co.id/books>
- Yustisia, D., Arsyad, M., Wahid, A., & Asri, J. (2018). Pengaruh Pemberian ZPT Alami (Air Kelapa) Pada Media MS 0 Terhadap Pertumbuhan Planlet Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Jurnal Agrominansia*, 3(2), 130-140. <https://doi.org/10.34003/272009>