

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Beberapa jenis tumbuhan tinggi dapat digunakan sebagai sumber bahan-bahan alami untuk pembuatan obat, pestisida, parfum, penyedap rasa dan zat tambahan makanan (Balandrin & Klocke, 1988). Kebutuhan akan bahan obat semakin meningkat, hal ini menyebabkan banyak dilakukannya penelitian-penelitian yang mengarah pada penemuan metode yang dapat menghasilkan bahan bioaktif sebagai bahan dasar pembuatan obat secara efektif dan efisien. Bahan bioaktif yang terdapat pada tumbuhan umumnya merupakan metabolit sekunder, yaitu hasil metabolisme sekunder. Secara konvensional, metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Namun cara tersebut membutuhkan budidaya tanaman dalam skala besar dan biaya yang besar pula.

Hal-hal tersebut merupakan kendala, terutama jika zat bioaktif itu dibutuhkan dalam jumlah yang cukup banyak maka dibutuhkan tanaman yang banyak pula. Oleh sebab itu untuk mengatasi masalah tersebut, kultur jaringan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk memproduksi bahan bioaktif dalam tumbuhan. Keunggulan penggunaan teknik kultur jaringan adalah metabolit sekunder yang dihasilkan mudah dimurnikan karena sel-sel yang dihasilkan tidak banyak mengandung pigmen. Hal ini dapat mengurangi biaya pemurnian menjadi

lebih murah. Selain itu dengan teknik kultur jaringan tidak membutuhkan lahan yang luas, bahan yang banyak, dan dapat diproduksi secara terus-menerus dan waktu yang dibutuhkan untuk siklus sel lebih cepat (Vanisree *et al.*, 2003)

Menurut Mantell & Smith (1993), kandungan metabolit sekunder dalam beberapa kultur kalus dan kultur sel masih relatif rendah, oleh karena itu diperlukan metode dalam kultur jaringan yang dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder termasuk bahan bioaktif tumbuhan. Salah satu teknik yang telah dikembangkan adalah teknik elisitasi. Menurut Barz *et al.* (1990 dalam Purwianingsih, 1997), elisitasi merupakan teknik untuk menginduksi secara simultan pembentukan fitoaleksin, metabolit sekunder konstitusif atau metabolit sekunder lain yang secara normal tidak terakumulasi. Elisitasi dapat dilakukan dengan menambahkan elisitor. Elisitor adalah suatu senyawa biologis dan non biologis yang dapat menyebabkan peningkatan produksi fitoaleksin bila ditambahkan pada tumbuhan atau kultur sel tumbuhan (Buitelaar *et al.*, 1991). Elisitor terdiri atas dua kelompok, yaitu elisitor abiotik dan elisitor biotik (Angelova *et al.*, 2006). Menurut Namdeo (2007) Elisitor biotik dapat dikelompokkan dalam elisitor endogen dan elisitor eksogen. Elisitor endogen umumnya berasal dari bagian tumbuhan itu sendiri, seperti bagian dari dinding sel (oligogalakturonat) yang rusak oleh suatu serangan patogen melalui aktivitas enzim hidrolisis atau membran plasma yang mengalami kerusakan karena luka. Sedangkan elisitor eksogen adalah elisitor yang berasal dari luar tumbuhan atau dari luar sel misalnya elisitor yang berasal dari komponen dinding sel jamur.

Banyak penelitian tentang elisitasi yang telah berhasil meningkatkan kandungan bioaktif tumbuhan dengan menggunakan elisitor fungi. Purwianingsih (1997) telah berhasil meningkatkan kadar gosipol dua kali lipat, dalam kalus *Gossypium hirsutum* yang ditambahkan elisitor berupa ekstrak fungi *Verticillium dahliae* dan *Rhizoctonia solani*. Kandungan gosipol juga dapat ditingkatkan oleh ekstrak fungi *Rhizopus arrhizus* (Hamdiyati, 1999). Beberapa penelitian elisitasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, terutama *Saccharomyces cerevisiae* H juga telah berhasil meningkatkan kandungan bioaktif tumbuhan. Antosianin dalam kultur sel *Daucus carota* berhasil ditingkatkan kadarnya sebesar 58% dengan menggunakan ekstrak sel *Saccharomyces cerevisiae* *S. cerevisiae* H (Survalatha *et al.*, 1994). Kandungan gosipol pada kultur kalus *Gossypium hirsutum* L. dengan pemberian elisitor *S. cerevisiae* H dapat ditingkatkan sampai 200,7 % dalam sel dan 256,73% dalam medium untuk konsentrasi elisitor 0,05% (Sitinjak, 1999). Selain itu kandungan metabolit sekunder azadirachtin pada *Azadirachta indica* A. Juss dapat ditingkatkan sampai dengan 256,73% dengan menggunakan ekstrak *S. cerevisiae* sebagai elisitor (Sudirga, 2002).

Salah satu kelebihan penggunaan *S. cerevisiae* sebagai elisitor adalah jenis *Saccharomyces cerevisiae* yang tidak membahayakan kesehatan manusia sehingga mudah dan aman saat diproses. Selain itu *S. cerevisiae* memiliki proses pertumbuhan yang cepat, mudah dikultur dan dimudakan kembali (Anonim, 2007).

Banyak tumbuhan yang dikenal sebagai sumber bahan obat, diantaranya *Morinda citrifolia* L (mengkudu). Mengkudu saat ini cukup populer

pemanfaatannya karena telah diketahui banyak mengandung bioaktif yang bermanfaat sebagai bahan obat. Dalam mengkudu telah teridentifikasi lebih dari 70 senyawa bioaktif. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut tersebar dalam berbagai organ seperti akar, daun, dan buah. Menurut Wang *et al.* (2002) dari sekian banyak senyawa bioaktif yang berupa metabolit sekunder, ada beberapa yang dianggap penting salah satunya adalah proseronin dan proseroninase yang merupakan prekursor dari seronin (golongan alkaloid). Seronin adalah senyawa aktif golongan alkaloid berperan dalam penyembuhan beberapa penyakit (Bratman *et al.*, 2003 dalam Gonzalez, 2005). Alkaloid adalah senyawa yang paling banyak ditemui hampir disetiap tanaman, yaitu sekitar 20% (Anonim, 1990). Selain berperan dalam penyembuhan penyakit, alkaloid juga merupakan senyawa antibakteri dan stimulan (Stahl, 1988).

Potensi mengkudu sebagai tumbuhan penghasil obat, telah menarik banyak peneliti untuk melakukan penelitian di bidang ini. Berdasarkan hasil penelitian Zenk *et al.*, (1975 dalam Bajaj, 1988), antrakuinon telah berhasil diproduksi pada kultur suspensi sel *M.citrifolia* dengan menggunakan medium B5 dengan penambahan 2 mg/L NAA dan medium B5 dengan penambahan 10^{-5} M NAA. Demikian juga dengan Tewtrakul *et al.* (1997) telah berhasil menumbuhkan kalus yang mengandung antrakuinon dari daun *M. citrifolia* dalam medium Murashige & Skoog (MS) dengan penambahan 2,4-D dan kinetin. Selain itu berdasarkan hasil penelitian Purwianingsih & Novianny (2003), telah berhasil memperoleh kalus *M. citrifolia* yang mengandung beberapa metabolit sekunder dari sumber potongan

jaringan daun. Kalus berhasil dibentuk pada medium MS dengan penambahan 2,4-D ($2 \cdot 10^{-1}$ - $3 \cdot 10^{-1}$ mg/L) dan pada medium B5 dengan penambahan NAA ($1 \cdot 10^{-5}$ dan $5 \cdot 10^{-5}$ M). Metabolit sekunder yang berhasil diidentifikasi dari kalus dengan menggunakan *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* (GCMS) adalah dari golongan alkaloid, flavonoid dan fenolik. Dari golongan alkaloid tersebut juga diperoleh senyawa oksazol. Oksazol merupakan metabolit sekunder berupa senyawa turunan alkaloid yang dihasilkan beberapa tumbuhan yang berasal dari suku Rubiaceae (Izuta *et al.*, 2006). Senyawa ini merupakan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antimikroba dan antimycoplasma (Tazelaar, 1991)

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dilakukan penelitian untuk meningkatkan senyawa metabolit sekunder khususnya oksazol (alkaloid) yang terdapat pada mengkudu dengan bantuan elisitor *Saccharomyces cerevisiae* H.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* H sebagai elisitor mampu meningkatkan senyawa oksazol pada kultur kalus *Morinda citrifolia* L?
2. Berapakah konsentrasi optimum *Saccharomyces cerevisiae* H yang dapat meningkatkan kandungan oksazol tertinggi pada *Morinda citrifolia* L?
3. Kapan waktu pemanenan kalus terbaik yang dapat meningkatkan kandungan senyawa oksazol tertinggi setelah dilakukan elisitasi ?

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sumber potongan jaringan untuk membentuk kalus adalah daun tanaman *Morinda citrifolia* L yang berasal dari kecambah berumur 1,5 bulan.
2. Medium kultur yang digunakan adalah medium Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 D sebanyak $3 \cdot 10^{-1}$ mg/L.
3. Kalus yang akan dielisitasi adalah kalus hasil subkultur kedua, yang telah diketahui kurva produksinya untuk menentukan waktu terbaik untuk elisitasi.
4. Pemanenan *Saccharomyces cerevisiae* H sebagai elisitor berdasarkan kurva tumbuh *Saccharomyces cerevisiae* H
5. Konsentrasi elisitor yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5% (v/v) (Modifikasi Survanalatha *et al.*, 1994) dengan pengulangan sebanyak tiga kali.
6. Waktu pemanenan hasil elisitasi kalus *Morinda citrifolia* L dilakukan pada hari ke- 0, 2, dan 4 (Purwianingsih, 1997)
7. Ekstraksi alkaloid dari kalus basah berdasarkan modifikasi metode Simes *et al.*,(1987) dalam Novianny (2003).
8. Analisis kandungan senyawa oksazol (alkaloid) dengan menggunakan *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* (GCMS).

C. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan homogenat *Saccharomyces cerevisiae* H sebagai elisitor dalam upaya meningkatkan kandungan oksazol dalam kultur kalus *Morinda citrifolia* L. Tujuan tersebut dijabarkan melalui beberapa hal sebagai berikut :

1. Konsentrasi elisitor optimum yang dapat meningkatkan kandungan senyawa oksazol tertinggi pada kultur kalus *Morinda citrifolia* L.
2. Waktu pemanenan terbaik yang dapat meningkatkan kandungan senyawa oksazol tertinggi pada kultur kalus *Morinda citrifolia* L.

D. Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan dasar untuk pengembangan produksi bahan-bahan bioaktif terutama alkaloid yang berpotensi sebagai bahan obat dari tanaman *Morinda citrifolia* L melalui metode kultur jaringan khususnya teknik elisitasi.

E. Asumsi

Asumsi yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Kalus merupakan hasil kultur *in vitro* yang dapat memproduksi metabolit sekunder seperti tumbuhan induknya (Staba, 1980)
2. *Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan sebagai elisitor untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder tertentu (Buitelaar, 1991)

F. Hipotesis

Homogenat *Saccharomyces cerevisiae* H dengan konsentrasi dan waktu pemanenan kalus tertentu, mampu meningkatkan kandungan senyawa oksazol dalam kultur kalus *Morinda citrifolia* L.

