

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu dari 10 kawasan megabiodiversitas di dunia yang mempunyai keanekaragaman hayati. Kekayaan flora yang dimiliki Indonesia ini sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk herbal yang kualitasnya setara dengan obat modern. Tanaman menghasilkan beragam senyawa kimia organik, sebagian senyawa kimia organik ini tidak digunakan secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Senyawa-senyawa organik ini dinamakan sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa produk atau hasil dari proses metabolisme sekunder. Metabolit sekunder ini didistribusikan secara terbatas dalam kelompok taksonomi tumbuhan (Croteu dkk., 2000). Berbagai tanaman obat dan ribuan tanaman berpotensi obat di Indonesia mengandung beraneka ragam jenis senyawa kimia alami (Saifudin dkk., 2011).

World Health Organization (WHO) pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tanaman untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka. Fakta-fakta tersebut menunjukkan bahwa tanaman obat memiliki arti penting yakni secara mendasar mendukung kehidupan maupun potensi perdagangan (Saifudin dkk., 2011). Penggunaan tanaman obat merupakan salah satu alternatif dalam bidang pengobatan dan kesehatan, alasannya karena penggunaan bahan alami yang berasal dari tanaman meminimalisir efek samping yang ditimbulkan (Yuliani, 2001). Obat alami merupakan sediaan obat, baik berupa obat tradisional dari bahan segar atau yang dikeringkan, ekstrak, kelompok senyawa atau senyawa murni yang berasal dari alam (Maheswari, 2002). Dalam perkembangannya, banyak bahan yang digunakan dalam formulasi obat tradisional baik yang baru ditemukan atau baru diperkenalkan atau baru digunakan untuk tujuan pengobatan.

Tanaman digunakan sebagai obat – obatan dikarenakan mengandung senyawa yang disebut sebagai metabolit sekunder. Tanaman menghasilkan

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariifolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOGDENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beraneka ragam. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat (Pandiangan, 2009). Senyawa metabolit sekunder dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama yaitu terpenoid, alkaloid dan senyawa fenolik (Croteu dkk., 2000). Kandungan metabolit sekunder dalam suatu tanaman mengandung golongan senyawa yang berbeda. Penelitian Anggraeni dkk (2007) mengenai kandungan metabolit sekunder dalam kalus mengkudu diperoleh hasil kandungan senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid seperti Aziridinone; dioxolan-2-imine; pyrano dan Morpholine. Pada tanaman yang sama, Purwianingsih dan Hamdiyati (2006) dalam penelitiannya mengenai elisitasi dengan menggunakan ragi *Sacharomyces cerevisiae* H. Kalus mengkudu mengandung metabolit sekunder golongan kuinon. Hasil penelitian Lin dan Harnly (2009) mengenai identifikasi senyawa pada bunga *Chrysanthemum* menunjukkan banyaknya senyawa metabolit sekunder golongan fenol.

Metabolit sekunder dalam tanaman memiliki cakupan yang sangat luas dengan manfaat yang beraneka ragam. Metabolit sekunder banyak dimanfaatkan pada dunia farmasi sebagai obat-obatan, pada industri makanan sebagai zat warna makanan, pengawet dan pemberi aroma. Penelitian Vaishnav dkk. (2006) mengenai produksi isoflavonoid pada kultur kalus *Pueraria tuberosa* menyebutkan bahwa isoflavonoid bermanfaat sebagai obat jantung dan antikanker. Samsumaharto dkk. (2011) dalam penelitiannya tentang identifikasi minyak atsiri pada kalus daun lavender juga menyebutkan mengenai manfaat metabolit sekunder bahwa minyak atsiri dapat digunakan sebagai bahan kosmetika, pewangi, sabun, dan parfum. Salah satu langkah awal produksi metabolit sekunder sebagai bahan obat-obatan adalah melalui induksi kalus yang mengandung metabolit sekunder.

Salah satu tanaman obat yang terdapat di Indonesia yang mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat yaitu dari genus *Chrysanthemum* atau lebih dikenal sebagai krisan. Tanaman genus *Chrysanthemum* mempunyai spesies mencapai 300 spesies baik berupa tanaman herba maupun yang non-herba. Isolasi fitokimia pada beberapa tanaman krisan telah diteliti, berdasarkan hasil yang

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariifolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

diujikan tanaman krisan memiliki kandungan senyawa metabolit yang berbeda – beda. Kandungan senyawa metabolit pada krisan banyak yang mengandung senyawa – senyawa golongan fenolik, terpenoid, alkaloid, lipid, purin, dan steroid (Kumar dkk., 2005).

Krisan menurut beberapa referensi sering disebut sebagai salah satu tanaman obat yang memiliki banyak kegunaan. Hal ini terlihat dari senyawa metabolit yang dikandung tanaman krisan. Menurut Wind (2014), Krisan (*C. morifolium*) sudah digunakan sebagai obat tradisional di Cina terutama pada bagian bunganya. Secara umum, bunga krisan digunakan sebagai obat tradisional di Cina dikarenakan mampu mengobati berbagai macam penyakit seperti demam, sakit kepala, batuk dan gangguan penglihatan secara tradisional. Penelitian Xie dkk. (2009), menunjukkan bahwa krisan memiliki fungsi untuk menghilangkan kelemahan otot pada jantung dan mengurangi efek ritme yang terlalu keras pada detak jantung. Pada tanaman krisan banyak mengandung senyawa kimia sehingga banyak dimanfaatkan sebagai anti-oksidan, anti-iskemia (obat stroke), anti-inflamasi, dan anti-virus (Xie dkk., 2009). Pada tanaman *C. indicum* secara tradisional memiliki aktifitas larvasid selain itu juga dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi, immunomodulatory, dan aktifitas hepatoprotektif (Rajalaksmi dkk., 2013). Tanaman *C. indicum* juga dapat dimanfaatkan sebagai obat hipertensi, penyakit pernafasan, antioksidan, antibakteri, dan anti virus (Amid dan Jamal, 2009). Tanaman *C. cinerariaefolium* dapat dimanfaatkan sebagai fitotoksik, antibakteri, antifungi dan sebagai pestisida (Ramirez dkk., 2013). Berdasarkan penelitian tersebut diduga krisan mengandung banyak metabolit sekunder.

Melihat potensi pemanfaatan *C. cinerariaefolium* yang dapat digunakan sebagai bahan obat, maka perlu dilakukan upaya untuk menghasilkan kelompok senyawa – senyawa metabolit sekunder dalam jumlah lebih banyak dan dengan cara yang lebih efektif. Secara konvensional metabolit sekunder biasanya dilakukan dengan mengekstraksi langsung dari organ tanaman. Cara konvensional ini diperlukan budidaya tanaman dalam skala besar, selain itu proses ekstraksi, isolasi, dan pemurniannya sangat mahal. Penggunaan tanaman secara konvensional akan menimbulkan habisnya sumber daya alam apabila tidak diikuti dengan teknik kultur jaringan dan atau bioreaktor (Pandiangan, 2009).

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariaefolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Penggunaan kultur jaringan untuk produksi metabolit sekunder dapat digunakan sebagai salah satu alternatif karena tidak memerlukan lahan yang luas, bahan yang banyak, dapat diproduksi terus-menerus dan proses pemurniannya yang lebih mudah (Balandrin dan Klocke 1988 dalam Purwianingsih dan Hamdiyati, 2006). Pada umumnya untuk mempelajari sintesis metabolit sekunder secara *in vitro* yang sering digunakan adalah kultur organ, kultur suspensi sel, dan kultur kalus (Katuuk, 1989). Salah satu upaya untuk menghasilkan metabolit sekunder dengan jumlah yang banyak adalah dengan teknologi kultur kalus (Zulhilmi dkk., 2012).

Sumber eksplan yang dapat digunakan dalam kultur jaringan dapat berupa tanaman hasil *in vivo* ataupun hasil *in vitro*. Tanaman hasil *in vitro* disebut juga dengan *plantlet*. *Plantlet* adalah tanaman hasil kultur jaringan yang kemudian melalui proses aklimatisasi, tanaman ini akan tumbuh dan berkembang sampai dapat dipanen hasilnya. Penggunaan *plantlet* sebagai eksplan (sumber potongan jaringan) memiliki banyak keuntungan diantaranya (1) faktor perbanyakannya tinggi, (2) tidak tergantung pada musim karena lingkungan tumbuh *in vitro* terkontrol, (3) bahan tanaman yang bebas dari penyakit meskipun dari induk yang mengandung patogen internal, (4) tanaman yang digunakan sedikit sehingga tidak merusak pohon induk, dan (5) tidak membutuhkan tempat yang sangat luas untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak. Oleh karena itu penggunaan *plantlet* sebagai sumber eksplan dapat meminimalisir kontaminasi karena tanaman sudah dalam keadaan steril dan sudah terbiasa berada dalam kondisi terkontrol (Amien, 2007).

Pada proses kultur jaringan salah satu hasilnya adalah berupa kalus, yaitu suatu jaringan yang bersifat meristematis akibat timbulnya luka dan merupakan salah satu wujud dari dediferensiasi (Suryowinoto, 1996). Melalui kultur kalus, dapat diperoleh kandungan metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari kalus biasanya lebih banyak jenisnya, karena seringkali timbul zat-zat alkaloid atau persenyawaan – persenyawaan lainnya yang sangat berguna untuk pengobatan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Kelebihan kultur jaringan dalam produksi metabolit sekunder dibanding dengan tanaman utuh antara lain adalah tidak adanya keterbatasan iklim, tidak memerlukan lahan yang luas dan senyawa bioaktif dapat dihasilkan secara

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariifolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

kontinyu dalam keadaan yang terkontrol. Kelebihan lain dari propagai *in vitro* dari tanaman obat adalah mampu menghasilkan obat ataupun bahan obat yang berkualitas tinggi (Pandiangan, 2009). Namun dalam penumbuhan kalus yang mengandung metabolit sekunder perlu diperhatikan berbagai hal seperti sumber potongan jaringan, komposisi medium dan macam serta kombinasi zat pengatur tumbuh (Staba dalam Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Medium tumbuh merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan pada kultur jaringan dan juga dapat mempengaruhi dihasilkannya metabolit sekunder. Menurut Dixon (1985 dalam Chairunnisa 2004), medium Murashige & Skoog (MS) biasa digunakan dalam kultur jaringan sebagian spesies tanaman dikotil maupun monokotil. Dalam penelitian Jain dkk. (2011) berhasil menumbuhkan kalus dari tanaman *Sericostoma pauciflorum* yang mengandung metabolit sekunder β -sitosterol dan caffeic. Pada penelitian Dinuriani (2011) telah menumbuhkan kalus yang mengandung metabolit sekunder alkaloida pada tanaman *Eurycoma longifolia* Jack. Pada penelitian Purwianingsih dan Hamdiyati (2006) juga berhasil menumbuhkan kalus tanaman *Morinda citrifolia* yang mengandung kuinon pada medium MS.

Tidak hanya medium, zat pengatur tumbuh juga diperlukan untuk pembentukan kalus dan sintesis metabolit sekunder dalam kalus. Zat pengatur tumbuh sintetik perlu ditambahkan karena zat pengatur tumbuh yang terbentuk secara alami seringkali tidak mencukupi pertanaman jaringan eksplan. Zat pengatur tumbuh selain mempengaruhi perpanjangan, pembelahan dan diferensiasi sel, juga mempengaruhi terbentuknya metabolit sekunder, baik dalam jumlah dan macamnya (Hanani, 1993). Pemberian zat pengatur tumbuh dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, hal ini disebabkan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tanaman melalui pengaturan kerja enzim. Zat pengatur tumbuh akan menginduksi sintesis enzim yang ekspresinya tergantung sintesis RNA dan protein. Peningkatan jumlah enzim yang terlibat dalam metabolit sekunder juga akan meningkatkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan (Wardani dkk., 2003). Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini mengaktifkan enzim

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariifolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

tersebut dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru yang terbentuk ini menyebabkan serentetan reaksi-reaksi sekunder salah satunya adalah pembentukan metabolit sekunder (Wattimena, 1991).

Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan untuk induksi kalus dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin (Gunawan, 1992). Kadar auksin yang tinggi dari sitokinin memacu pertumbuhan akar, kadar auksin yang lebih rendah dibanding sitokinin memacu pertumbuhan tunas, sementara kadar keduanya dengan konsentrasi yang seimbang akan mengarahkan eksplan pada pembentukan kalus (Wetter dan Constabel, 1991 dalam Khaniyah dkk, 2012). Senyawa 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) yang termasuk kedalam golongan auksin biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus (Suryowinoto, 1996). Senyawa 2,4-D merupakan suatu auksin sintesis yang sifatnya lebih stabil dibandingkan dengan IAA. Penggunaan 2,4-D ini lebih sering memacu terbentuknya kalus (Rahman, 1991). Pemberian 2,4-D meningkatkan sintesis protein sebagai bahan baku penyusun enzim yang nantinya dapat memacu kerja enzim dalam proses metabolisme tubuh (Wardani dkk., 2003). Kinetin merupakan sitokinin sintetik yang mempunyai aktifitas yang lebih tinggi dari pada sitokinin alami (Santoso dan Nursandi, 2003). Pemberian sitokinin dalam jumlah sedikit memacu potongan jaringan membentuk kalus yang renyah atau meremah (Rahman, 1991).

Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin telah digunakan untuk menginduksi kalus yang berpotensi mengandung metabolit sekunder. Penambahan 1,5 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin yang dilakukan oleh Wardani, dkk. (2003) dalam media mampu meningkatkan kadar saponin yang termasuk kedalam golongan terpenoid pada kalus *Talinum paniculatum* secara *in vitro*. Penelitian Vantu (2006) juga berhasil menginduksi kalus terbaik berwarna coklat pada minggu kedua dengan penambahan kombinasi konsentrasi 2 mg/L 2,4-D dan 0,2 mg/L kinetin sebelum kalus mengalami organogenesis. Penelitian Sarker dan Shaheen (2001) menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik untuk menginduksi kalus dari eksplan daun berada pada konsentrasi 5 mg/L BAP dan 0,5 mg/L kinetin. Hasil penelitian Noerhadi (1981 dalam Prihatini 2006), varietas tebu memberikan respons kalus yang paling baik pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariifolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

optimal pada 2,5 – 4,5 mg/L 2,4-D dan 0,2 mg/L kinetin pada medium MS. Menurut Rahayu dkk. (2003), penambahan 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm pada media MS dapat memacu pembentukan kalus *Acalypha indica* namun tidak dapat meningkatkan kandungan metabolit sekundernya. Hasil penelitian Wijaya, menunjukkan bahwa penambahan 2,4-D yang semakin tinggi kedalam media dapat memperbesar kadar dalam kalus *C. morifolium*. Hasil penelitian Kalla dkk. (2012) menunjukkan 2,4-D dapat menginduksi kalus dari potongan daun yang mengandung terpenoid pada tanaman *Canthium parviflorum*. Penelitian yang dilakukan Chen dkk. (2012) zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin berpengaruh terhadap kandungan fenol pada kultur kalus tanaman *Ipomea batatas*. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut diharapkan dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin pada medium MS dapat berpengaruh terhadap pembentukan kalus yang mengandung metabolit sekunder.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah “Bagaimana hasil analisis metabolit sekunder pada kalus *Chrysanthemum cinerariaefolium* yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kinetin?”

C. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, dapat diuraikan menjadi beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut?

1. Bagaimana respons pertumbuhan eksplan daun *C. cinerariaefolium* yang ditumbuhkan pada medium Murashige dan Skoog yang ditambahkan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin?
2. Pada kombinasi konsentrasi 2,4-D dan kinetin berapakah yang optimal bagi induksi kalus yang mengandung metabolit sekunder?
3. Metabolit apa saja yang terkandung dalam kalus yang ditumbuhkan pada medium Murashige dan Skoog yang ditambahkan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin?

Santika Febri Wardani, 2015

ANALISIS KANDUNGAN METABOLIT PADA KALUS *Chrysanthemum cinerariaefolium* YANG DITANAM PADA MEDIUM MURASHIGE DAN SKOOG DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DIKLOROGENOKSIASETAT DAN KINETIN

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

D. Batasan Masalah

Dalam penelitian ini dibatasi agar tidak meluas dalam pelaksanaannya, sebagai berikut :

1. Medium yang digunakan adalah Murashige dan Skoog (1962 dalam Katuuk 1989).
2. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk induksi kalus adalah 2,4-D dengan rentang konsentrasi 0-4 mg/L dan kinetin dengan rentang konsentrasi $0-4 \cdot 10^{-1}$ mg/L.
3. Eksplan untuk menghasilkan kalus diambil dari plantlet *C. cinerariaefolium* berupa daun yang dikultur pada medium MS dengan penambahan $5 \cdot 10^{-1}$ mg/L NAA dan $7,5 \cdot 10^{-1}$ mg/L BAP dan eksplan yang ditanam yaitu organ daun.
4. Analisis kandungan metabolit dilakukan pada kalus berwarna cokelat.
5. Analisis kandungan metabolit sekunder dengan menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectrofotometer* (GCMS).

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada kalus *C. cinerariaefolium* yang ditanam pada medium Murashige dan Skoog dengan penambahan 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kinetin.

F. Manfaat Penelitian

Dapat digunakan sebagai informasi dasar dalam pengembangan produksi metabolit sekunder yang terkandung dalam *C. cinerariaefolium* melalui penumbuhan kalus.

G. Asumsi

1. Penambahan 2,4-D dan kinetin yang dalam media mampu meningkatkan kadar saponin yang termasuk kedalam golongan terpenoid pada kalus *Talinum paniculatum* secara *in vitro* (Wardani dkk., 2003).

2. Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dalam media MS dapat menginduksi kalus yang mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Iriawati dkk., 2015).

H. Hipotesis

Terdapat kandungan metabolit sekunder pada kalus *C. cinerariaefolium* yang dikultur dalam medium Murashige dan Skoog dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin.