BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman herbal merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk alternatif penyembuhan penyakit secara alami. Bagian tanaman yang digunakan dapat berupa akar, batang, daun, umbi atau juga seluruh bagian tanaman. Penggunaan obat tradisional di Indonesia sudah berlangsung sejak ribuan tahun yang lalu, sebelum obat modern ditemukan dan dipasarkan. Hal itu tercermin pada lukisan di relief Candi Borobudur dan resep tanaman obat yang ditulis dari tahun 991 sampai 1016 pada daun lontar di Bali (Pringgoutomo, 2002). Indonesia yang beriklim tropis merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Di wilayah Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 di antaranya memiliki khasiat sebagai obat dan tercatat sebanyak 2500 jenis tanaman obat (Warta ekspor, 2014). Bila dikaji dari sejarah perkembangan, beberapa obat modern sebagian di antaranya juga diisolasi dari tanaman (Pramono, E., 2002).

Pada zaman sekarang, banyak masyarakat yang kembali menggunakan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan. Faktor yang mendorong masyarakat untuk mendayagunakan obat bahan alam antara lain mahalnya harga obat modern/sintetis dan banyaknya efek samping yang dihasilkan (Pramono, S., 2002). Selain itu faktor promosi melalui media masa juga ikut berperan dalam meningkatkan penggunaan obat bahan alam. Oleh karena itu obat tradisional dari bahan alam menjadi semakin populer dan penggunaannya meningkat tidak saja di negara sedang berkembang seperti Indonesia, tetapi juga pada negara maju misalnya Jerman dan Amerika Serikat (Dewoto, 2007). Pada masa sekarang juga banyak penelitian yang dilakukan terhadap tanaman herbal. Penelitian obat tradisional Indonesia mencakup penelitian obat herbal tunggal maupun dalam bentuk ramuan. Jenis penelitian yang telah dilakukan selama ini meliputi penelitian budidaya tanaman obat, analisis kandungan kimia, toksisitas, farmakodinamika, formulasi, dan uji klinik.

Pada umumnya masyarakat Indonesia sering menggunakan obat tradisional dari tanaman herbal, salah satu tanaman yang berlimpah dan sering digunakan

adalah *Morinda citrifolia* L. atau mengkudu. Semua bagian *Morinda citrifolia* L. dapat digunakan sebagai obat diantaranya daun, buah, bunga, kulit kayu dan akar yang memiliki sejumlah senyawa bioaktif. Walaupun rasa buah yang dikonsumsi pahit, tetapi memiliki khasiat yang baik untuk kesehatan. Tanaman ini merupakan tanaman tahunan dan berbuah setiap saat sehingga mudah didapat. Pemanfaatan mengkudu sebagai obat tradisional sebenarnya sudah sejak lama dikenal, baik di Indonesia maupun di luar negeri. Waha (2000) mengemukakan pada tahun 100 SM penduduk Asia Tenggara berimigrasi ke kepulauan Polinesia dan membawa tanaman mengkudu sebagai tanaman obat. Laporan tentang khasiat mengkudu sudah ada pada tulisan-tulisan kuno 2000 tahun yang lalu masa dinasti Han di Cina. Pada tahun 1860 penggunaan mengkudu sebagai bahan pengobatan alami mulai tercatat dalam literatur-literatur Barat (Djauhariyah *et al*., 2006). Dalam pengobatan tradisional, mengkudu digunakan untuk obat batuk, radang amandel, sariawan, tekanan darah tinggi, beri-beri, melancarkan kencing, radang ginjal, radang empedu, radang usus, sembelit, limpa, lever, kencing manis, cacingan, cacar air, sakit pinggang, sakit perut, masuk angin, dan kegemukan (Wijayakusuma *et al.*,1992). Hasil penelitian lainnya juga mengungkapkan bahwa mengkudu dapat digunakan sebagai obat tumor dan kanker (Hirazumi *et al*., 1999) karena memiliki senyawa yang berfungsi sebagai pengobatan sehingga banyak diambil dan dimanfaatkan.

Terdapat lebih dari 70 senyawa bioaktif pada mengkudu. Dari sekian banyak senyawa bioaktif yang berupa metabolit sekunder, ada beberapa yang yang dianggap penting diantaranya fenolik, antrakuinon (golongan kuinon), skopoletin (golongan alkaloid), asam askorbat (vitamin), β-karotin ,l-arginin, dan proseronin yang merupakan prekursor dari seronin (golongan alkaloid) (Wang *et al.*, 2002). Senyawa fenolik merupakan senyawa bahan alam yang cukup luaspenggunaannya saat ini. Kemampuannya sebagai senyawa aktif memberikan suatu peran yang besar terhadap kepentingan manusia.

Senyawa fenolik mempunyai struktur yang khas, yaitu memiliki satuatau lebih gugus hidroksil yang terikat pada satu atau lebih cincin aromatik benzena, sehingga senyawa ini juga memiliki sifat yang khas, yaitu dapatteroksidasi. Kemampuannya membentuk radikal fenoksi yang stabil pada proses oksidasi

menyebabkan senyawa ini banyak digunakan sebagaiantioksidan.Studi epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi sayur dan buah dengan kandungan fenolik yang tinggi mempunyai korelasi dengan menurunnya mortalitas kanker dan penyakit kardioserebrovaskular. Antrakuinon yang tergolong senyawa fenolik memiliki manfaat yang besar dalam bidang kehidupan terutama bidang kesehatan. Salah satu kelompok antrakuinon yang ditemukan dalam *Morinda citrifolia* L. adalah *damnachantal.* Zat tersebut telah diketahui berpotensi sebagai bahan anti kanker terutama pada *Lewis Lung Carcinoma* (Bangun & Sarwono, 2002).

Produksi metabolit sekunder sangat terbatas, hanya terdapat pada jumlah yang kecil dan dalam waktu lama yaitu harus menunggu usia tanaman dewasa. Untuk itu dibutuhkan suatu teknik dalam produksi metabolit sekunder dalam waktu singkat, yaitu menggunakan teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan merupakan metode yang dapat digunakan dalam mendapatkan hasil penelitian berupa produksi metabolit sekunder dalam waktu singkat. Kultur jaringan memiliki keuntungan, salah satunya dapat memproduksi metabolit sekunder dalam skala besar (Rao dan Ravishankar, 2002) dan dapat mensintesis senyawa baru yang tidak terdapat dalam tanaman induknya (Mantell dan Smith., 1983). Selain itu metode kultur jaringan tidak memerlukan bahan yang banyak, lahan yang luas, dapat diproduksi secara terus menerus dan proses pemurniannya lebih mudah karena sel-sel hasil kultur jaringan tidak banyak mengandung pigmen sehingga biaya pemrosesannya lebih rendah (Purwianingsih dan Hamdiyati, 2006). Dalam teknik ini kita dapat menanam berbagai bagian tanaman yang masih memiliki kemampuan totipotensi yaitu kemampuan sel dari bagian tanaman untuk memperbanyak diri dan berkembang menjadi individu baru (Zulkarnain, 2009).

Pada kultur jaringan, kultur sel dan kultur kalus (kumpulan sel yang belum terorganisasi dan belum terdiferensiasi) berpotensi sebagai sarana produksi metabolit sekunder (Purwianingsih dan Hamdiyati, 2006). Teknik *in vitro* sudah banyak dilakukan untuk produksi metabolit sekunder dengan cara kultur kalus, suspensi sel, kultur akar baik transforman maupun non-transforman, juga kalus yang diinduksi membentuk perakaran atau kalus berakar (*rooted callus*) (Handayani *et al.*, 2012). Menurut Baque *et al.* (2010a) kultur yang diisolasi dari sel atau organ tanaman diakui sebagai pendekatan yang menjanjikan untuk

produksi metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang muncul ini adalah bentuk respon pertahanan yang diaktifkan dengan adanya ancaman (Radman *et al*., 2003). Menurut Desmukh *et al.* (2011) sangat penting untuk mengeksplorasi metabolit sekunder alami secara ekonomis untuk mengatasi toksisitas akibat penyakit dan menghindari produksi obat-obatan sintesis dengan biaya yang tinggi. Produktivitas tanaman dalam menghasilkan metabolit sekunder dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu mengoptimasi faktor fisiologis lingkungan hidup sel diantaranya memanipulasi nutrisi media tumbuh, zat pengatur tumbuh, prekusor dan elisitor (Zhao*et al.*, 2005).

Berbagai medium sering digunakan dalam kultur jaringan sebagai nutrisi untuk memenuhi kebutuhan tanaman. Keberhasilan kultur tanaman sangat dipengaruhi oleh kualitas dari media yang menyuplai nutrisinya (Vasil dan Thorpe, 1994). Pada bidang farmasi, pemilihan medium tanam sangat penting bukan hanya untuk pertumbuhan tanaman tetapi juga untuk kebutuhan produksi metabolit sekunder (Docimo *et al.,* 2014). Pembentukan kalus secara *in vitro* sebagai sarana produksi metabolit sekunder. Menurut Docimo *et al*. (2014) dan Hendrayono dan Wijayani (1994) pada umumnya digunakan medium dalam kultur jaringan tanaman seperti Murashige & Skoog dan Gamborg yang dapat diaplikasikan secara luas untuk induksi kalus. Penelitian Rinanto (2011) mengatakan bahwa medium MS dapat menginduksi kalus daun jarak (*Jaropha curcas* L.); pohpohan (*Pilea trinervia* Wight) (Putra, 2015); *Morinda citrifolia* L. (Kusumawati *et al.,* 2015; Ariningsih *et al.,* 2003); *Stevia rebaudiana* (Fitriyani, 2014; Laila dan Savitri, 2014), *Phaleria macrocarpa* (Ganggaet *al.,* 2007); *Medico sativa* L. (Hayati *et al.,* 2010). Selain itu, medium lain yang sering digunakan adalah medium Gamborg (B5) yang baik dalam menginduksi kultur suspensi sel. Medium B5 pada saat ini sudah dapat digunakan dalam menginduksi kalus dan organogenesis dalam kultur padat. Penelitian Zenk *et al.* (1975) menggunakan medium B5 dapat memproduksi antrakuinon dari kalus *Morinda citrifolia*. Penggunaan medium B5 untuk menginduksi tunas Pisang raja dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP (Prayoga dan Sugiyono, 2010). Pada medium yang sama juga dilakukan analisis metabolit sekunder kalus *Morinda citrifolia* L. (Chairunnisa, 2004 dan Kartikasari *et al.,* 2007).

Selain komposisi medium, zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan salah satu aspek penting dalam kultur jaringan yang juga harus diperhatikan. Ada banyak zat pengatur tumbuh yang dapat digunakan dalam kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh ini dimasukkan ke dalam medium tanam yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan yang ditanam. Auksin dan sitokinin adalah zat pengaruh tumbuh yang sering digunakan. Kedua golongan ini berperan penting dalam memberi pengaruh respon pertumbuhan. Auksin maupun sitokinin terdapat didalam tanaman secara alami, tetapi pada teknik kultur jaringan juga dibutuhkan zat pengatur tumbuh dari luar untuk membantu pertumbuhan jaringan. Beberapa penelitian menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4 D (*Dichlorophenoxyacetic acid*), kinetin, dan NAA (1-*Naphthaleneacetic acid*) baik dalam medium MS maupun B5 dalam menginduksi kalus diantaranya penelitian Gangga *et al.* (2007) yang dengan menggunakan 2,4-D dalam medium MS dapat menginduksi kalus dari eksplan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocapa*); *Nanochloropsis oculata* (Purwitasari*et al.,* 2012); *Morinda citrifolia* L. (Kusumawati *et al.*, 2015); *Calophyllum inophyllum* Linn (Indah dan Dini, 2013). NAA dan kinetin juga dapat menginduksi kalus Sambiloto (Krestiani dan Rukmi, 2013) dan *Aglaonema* sp. (Wahyuni *et al.,* 2014). Penggunaan NAA tanpa sitokinin menghasilkan pertumbuhan kalus yang cepat dan berat basah yang tinggi dari hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) (Hayati *et al*., 2010). Begitu pula pada medium B5, penggunaan NAA secara tunggal dapat menginduksi kalus *Morinda citrifolia* L. yang mengandung metabolit sekunder (Chairunnisa, 2004; Kartikasari *et al.,* 2007), NAA dan BAP pada pertumbuhan jaringan meristem bawang putih (Karjadi dan Buchory, 2007). NAAmerupakan hormon auksin sintesis yang paling efektif untuk pembentukan kalus sehingga disebut dengan "hormon dediferensiasi"(Endress, 1994).

Menurut Gamborg dan Shyulk (1981) hampir semua bagian jaringan tanaman dapat dijadikan eksplan. Daun sebagai bagian terbanyak dari suatu tanaman dan belum termanfaatkan secara baik dalam perbanyakan tanaman secara konvensional (Windujati, 2011) dan produksi metabolit sekunder. Oleh karena itu penelitian ini menggunakan daun *Morinda citrifolia* L. sebagai eksplan yang terdapat banyak di alam. Penelitian ini berlandaskan pada teori totipotensi sel yang menyatakan bahwa setiap sel atau jaringan mempunyai potensi untuk menghasilkan

metabolit sekunder yang sama seperti yang dihasilkan tumbuhan aslinya. Menurut Zenk *et al.* (1975) kemampuan sel tanaman *in vitro* dalam mensintesis metabolit sekunder disebabkan adanya sifat totipotensi biokimia yang terdapat didalam sel tanaman itu. Sel bersifat autonom dan mampu bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Kemampuan pada tanaman ini dikarenakan pada bagian tanaman masih ada jaringan yang belum terdiferensiasi yaitu jaringan meristematik yang dapat berkembang menjadi tanaman baru yang mirip dengan induknya (Febriani *et al.,* 2013). Eksplan daun ini memiliki sifat meristematik yang dapat dediferensiasi dan menghasilkan metabolit sekunder.

Berdasarkan paparan diatas, dibutuhkan penelitian untuk mendapatkan variasi zat pengatur tumbuh dan medium yang baik dalam pertumbuhan kalus yang memproduksi senyawa metabolit sekunder fenolik dan antrakuinon. Penelitian ini menggunakan media MS dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, media B5 dengan zat pengatur tumbuh NAA. Ahmed *et al.* (2008) berhasil memproduksi fenolik dan antrakuinon dengan dalam medium MS dengan 2,4-D (2 mg/L) dan kinetin (1 mg/L) dan Zenk *et al.* (1975) dapat memproduksi antrakuinon dalam medium B5 dengan penambahan 10^{-5} M pada kalus *Morinda citrifolia* L.. Sopiana (2004) dalam Bastoni (2005) menyatakan bahwa kalus dari eksplan potongan daun dapat diinduksi pada perlakuan NAA secara tunggal maupun kombinasi dengan kinetin. Pada teknik *in vitro* ini, kita dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diproduksi dalam skala besar tanpa memanen tanaman lengkap dan bebas dari faktor lingkungan (Deshmukh *et al.,* 2011). Deteksi metabolit sekunder diuji secara kualitatif dengan uji fitokimia yaitu menggunakan pereaksi $FeCl_3$ dan KOH untuk identifikasi adanya fenolik dan antrakuinon. Menurut Mehta *et al.* (2013) uji fitokimia dapat digunakan dalam mendeteksi senyawa bioaktif kemudian dapat mengarah pada penemuan dan pengembangan obat. Banyak penelitian yang dilakukan dalam uji fitokimia diantaranya kandungan antrakuinon dengan adanya perubahan warna pada ekstrak daun *Morinda citrifolia* L. yang diteliti oleh Setyawaty *et al.* (2014). Analisis fitokimia secara kualitatif ini merupakan suatu metode analisis awal dalam penelitian kandungan senyawa bioktif hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L. khususnya fenoik dan antrakuinon.

B. Rumusan masalah

Permasalahan yang dapat dirumuskan dari hasil pemaparan latar belakang yaitu: “Bagaimana respon pertumbuhan eksplan daun *Morinda citrifolia* L. hasil kultur jaringan yang ditanam pada medium Murashige & Skoog (MS) dan Gamborg (B5) dalam menghasilkan metabolit sekunder?”

Agar penelitian ini lebih terarah maka rumusan masalah dijabarkan dalam pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana respon pertumbuhan eksplan daun *Morinda citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium Murashige & Skoog (MS) dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin?
2. Bagaimana respon pertumbuhan eksplan daun *Morinda citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium Gamborg (B5) dengan zat pengatur tumbuh NAA?
3. Pada konsentrasi zat pengatur tumbuh berapa di setiap medium dapat menginduksi kalus dengan pertumbuhan optimal?
4. Apakah dengan uji fitokimia ditemukan senyawa fenolik dan antrakuinon dari hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L. yang ditanam pada kedua medium?

C. Batasan Masalah

Untuk mencegah meluasnya masalah maka penulis membatasi masalah pada:

1. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kedua dan ketiga dari tanaman dewasa *Morinda citrifolia* L.
2. Eksplan daun diambil dari sumber yang sama yaitu tanaman mengkudu yang berada di daerah kampus Universitas Pendidikan Indonesia (UPI)
3. Medium yang digunakan adalah medium padat Murashige & Skoog (MS) dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, Gamborg (B5) dengan zat pengatur tumbuh NAA
4. Metabolit sekunder yang diidentifikasi secara kualitatif adalah fenolik dan antrakuinon.

5. Parameter pengamatan berupa respon kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L., waktu inisiasi kalus, berat basah dan identifikasi senyawa fenolik dan antrakuinon.

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui respon pertumbuhan eksplan daun *Morinda citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium Murashige & Skoog (MS) dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, medium Gamborg (B5) dengan zat pengatur tumbuh NAA.
2. Mendapatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada masing-masing medium yang baik dalam induksi dan pertumbuhan kalus.
3. Melihat adanya kandungan metabolit sekunder fenolik dan antrakuinon pada hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L. secara kualitatif.

E. Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui respon pertumbuhan eksplan daun *Morinda citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium Murashige & Skoog (MS) dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin, medium Gamborg (B5) dengan zat pengatur tumbuh NAA.
2. Mendapatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh pada masing-masing medium yang baik dalam induksi dan pertumbuhan kalus.
3. Melihat adanya kandungan metabolit sekunder fenolik dan antrakuinon pada hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L. secara kualitatif.
4. Memberikan tambahan referensi terkait produksi metabolit sekunder khususnya fenolik dan antrakuinon yang terkandung dari hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L.
5. Sebagai informasi pendukung untuk penelitian yang lebih lanjut mengenai jenis dan kadar metabolit sekunder (fenolik dan antrakuinon) secara kuantitatif menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS) dan High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

F. Asumsi

1. Setiap sel memiliki potensi genetik (totipotensi sel) seperti zigot yang mampu memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Schleiden dan Schwan, 1838 dalam Karjadi dan Buchory, 2007).
2. Kultur sel dan kultur kalus (kumpulan sel yang belum terorganisasi dan belum terdiferensiasi) berpotensi sebagai sarana produksi metabolit sekunder (Purwianingsih dan Hamdayati, 2006).
3. Medium Murshige & Skoog (MS) dan Gamborg (B5) digunakan dalam induksi kalus yang dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder (Docimo *et al.*, 2014).
4. Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dapat menginduksi kalus yang mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Iriawati dan Esyanti, 2015).
5. Zat pengatur tumbuh NAA dapat menginduksi kalus dan akar *Morinda citrifolia* L. yang mengandung metabolit sekunder antrakuinon, flavonoid, dan fenolik (Baque *et al.*, 2012).
6. Setiap sel tanaman memiliki informasi genetik yang sama dengan induknya sehingga mampu membentuk metabolit primer dan metabolit sekunder seperti yang dimiliki oleh induknya (Katuuk, 1989; Rao dan Ravishankar, 2002).

G. Hipotesis

Berdasarkan asumsi di atas, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat senyawa fenolik dan antrakuinon dalam hasil kultur eksplan daun *Morinda citrifolia* L. pada medium Murashige & Skoog (MS) dengan penambahan 2,4-D:kinetin dan Gamborg (B5) dengan penambahan NAA.

H. Struktur Organisasi Skripsi

Secara umum, gambaran tentang isi dari keseluruhan skripsi ini dapat dilihat dalam struktur organisasi penulisan skripsi berikut ini. Adapun sistematika yang digunakan dalam penulisan skripsi ini berdasarkan pedoman karya tulis ilmiah Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) 2016. Struktur organisasi penulisan skripsi tersebut adalah sebagai berikut:

1. Bab I Pendahuluan

Pada bab I, terdapat uraian mengenai latar belakang dilakukannya penelitian ini. Kemudian, terdapat pula rumusan masalah yang diteliti serta batasannya. Selain itu, terdapat uraian mengenai tujuan dan manfaat dari penelitian ini. Asumsi yang mendukung hipotesis penelitian juga dijelaskan pada bab tersebut.

2. Bab II Kajian Pustaka

Pada bab II, teori-teori yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya profil *Morinda citrifolia* L., kultur jaringan, zat pengatur tumbuh, dan analisis metabolit sekunder.

3. Bab III Metodologi Penelitian

Bab III, terdapat metode penelitian, desain penelitian, lokasi penelitian, populasi sampel, prosedur penelitian dan analisis data.

4. Bab IV Temuan Penelitian dan Pembahasan

Pada bab IV, temuan hasil penelitian dan pembahasan dijabarkan sesuai dengan temuan penelitian yang diperoleh melalui metode dan desain penelitian yang terdapat pada bab III dengan dukungan teori-teori dalam bab II.

5. Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Pada bab V, terdapat simpula, implikasi serta rekomendasi penulis sebagai bentuk pemaknaan terhadap hasil analisis penelitian. Rekomendasi berdasarkan kesalahan yang ditemukan serta upaya untuk perbaikan penelitian selanjutnya.