

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia yang beriklim tropis merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terluas dengan memiliki 40.000 jenis flora dan 30.000 diantaranya tumbuh di Indonesia. Kekayaan flora di Indonesia sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk herbal yang kualitasnya setara dengan obat modern. Akan tetapi 26% flora di Indonesia yang telah dibudidayakan hanya sebanyak 940 jenis tanaman yang digunakan sebagai tanaman obat tradisional dan 74% masih tumbuh liar di hutan (Tjahjohutomo, 2011).

Seiring dengan berkembangnya industri obat tradisional maupun modern, pemakaian tanaman obat terus meningkat. Tjahjohutomo (2011) menyebutkan bahwa peningkatan yang terjadi terhadap pemakaian tanaman obat diduga karena adanya beberapa aspek yang mendukung, antara lain kecenderungan kembali ke alam (*back to nature*) dari pemakaian tanaman obat, efek samping yang ditimbulkan belum berarti bila dibandingkan dengan obat sintesis, populasi penduduk yang semakin meningkat dan diiringi adanya pasokan obat tidak banyak mendukung, serta biaya perawatan yang cukup mahal. Indonesia termasuk salah satu negara yang banyak menggunakan obat tradisional.

Tumbuh-tumbuhan dapat digunakan sebagai obat herbal atau obat tradisional karena mengandung suatu senyawa metabolit sekunder. Tumbuhan dapat menghasilkan metabolit sekunder yang digunakan dalam bidang farmasi sebagai obat, serta berpotensi sebagai *agrochemicals*, penambah aroma makanan, parfum, zat pewarna, antioksidan, insektisida dan obat (Murthy, *et al.*, 2014). Metabolit sekunder adalah suatu senyawa yang disintesis oleh makhluk hidup baik tanaman maupun mikroba yang melalui proses biosintesis dan berasal dari metabolit primer (Saifudin, 2014). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang pada umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai senyawa kimia pertahanan bagi tumbuhan tersebut dari cekaman atau gangguan pada tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Metabolit sekunder ini diantaranya

adalah alkaloid, fenolik, steroid, lignin, resin, tanin dan lain-lain (Anurag, *et al.*, 2015).

Senyawa metabolit sekunder biasanya terdapat banyak dalam tumbuhan. Suatu hal yang dapat dilakukan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder diperlukan tumbuhan yang cukup berlimpah, salah satunya seperti pada tumbuhan obat yaitu *Morinda citrifolia* L. atau yang sering dikenal dengan sebutan mengkudu. *M. citrifolia* L. diketahui memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif. Menurut Purwianingsih dan Hamdiyanti (2006), pada tumbuhan ini terdeteksi 70 senyawa bioaktif dengan memiliki banyak manfaat. *M. citrifolia* L. merupakan salah satu tumbuhan obat yang sangat melimpah di Indonesia bahkan dinegara-negara Asia sering menggunakan tumbuhan tersebut sebagai obat alternatif. Menurut Baque dan Lee (2010), metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan *M. citrifolia* L. yaitu antrakuinon, fenolik, terpenoid, alkaloid, sitosterol, karoten, flavon dan glikosida. Dengan adanya kecenderungan penggunaan bahan obat yang berasal dari tumbuhan cukup tinggi dan memperhatikan adanya potensi pemanfaatan serta banyaknya kandungan senyawa bioaktif pada tumbuhan *M. citrifolia* L. yang berupa senyawa metabolit sekunder, perlu kiranya pengembangan penelitian yang mengarah pada pencarian metode yang efektif dan efisien dengan memanfaatkan tumbuhan langsung dari lingkungan.

Kebutuhan untuk menyediakan bahan-bahan bioaktif dalam waktu yang singkat tidak diiringi dengan ketersediaan lahan dan plasma nutfah. Dengan adanya permasalahan tersebut, teknik kultur jaringan dapat dimanfaatkan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Teknik kultur jaringan dapat dikatakan berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi. Syarat dalam teknik kultur jaringan tersebut meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang tepat dan cocok serta penambahan zat pengatur tumbuh yang tepat dan seimbang.

Eksplan merupakan potongan jaringan organ tumbuhan, seperti embrio, kotiledon, hipokotil, daun, dan batang. Presentase keberhasilan kultur jaringan akan lebih tinggi apabila menggunakan jaringan meristem. Dalam hal pemilihan

eksplan yang digunakan adalah daun muda dari tumbuhan induknya yang tumbuh liar dilindungi dengan tujuan untuk memanfaatkan tumbuhan secara langsung dari tanaman induknya melalui teknik kultur jaringan. Dengan memanfaatkan eksplan daun dari tumbuhan induknya secara langsung memiliki keuntungan yaitu daun muda yang diambil memiliki jaringan meristem yang masih aktif membelah dan memiliki sifat totipotensi sel, daun merupakan bagian yang terbanyak dalam tumbuhan dan kurang banyak dimanfaatkan secara konvensional sehingga daun tidak lagi terbuang sia-sia, tidak memerlukan sampel daun yang banyak pada teknik kultur jaringan, dan dapat memelihara serta membudidayakan tumbuhan tersebut. Selain itu, ditinjau dari aspek waktu lebih efisien menggunakan eksplan daun langsung dari tumbuhan induknya daripada menggunakan kecambah yang memerlukan waktu lebih lama dalam proses perkecambahan. Namun dengan menggunakan eksplan daun langsung dari tumbuhan induknya beresiko kontaminasi bakteri dan jamur sehingga pada proses sterilisasi eksplan harus dengan prosedur yang efektif untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri dan jamur. Eksplan yang digunakan yaitu jaringan atau sel tumbuhan yang mempunyai sifat totipotensi, yang artinya bahwa setiap sel memiliki potensi genetik untuk memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi tanaman yang sama dengan induknya (Yulianti, 2010). Kemampuan sel tanaman *in vitro* untuk mensintesis metabolit sekunder disebabkan oleh adanya sifat totipotensi biokimia yang terdapat didalam sel, hal ini berarti bahwa setiap sel tanaman yang diisolasi dari tanaman induknya memiliki potensi genetik dan fisiologi untuk mensintesis metabolit sekunder (Zenk, 1975).

Berdasarkan sejumlah literatur dan publikasi ilmiah, dapat diketahui bahwa hampir semua bagian tanaman *M. citrifolia* L. mengandung senyawa terbesar dari golongan fenolik, asam organik, flavonoid dan alkaloid. Golongan fenolik yang ditemukan pada *M. citrifolia* L. diantaranya damnachantal, skolopetin, morindin, akubin, nordamnachantal, rubiadin, dan antrakuinon (Chandra dan Sagar, 2013). Golongan senyawa fenolik yang terkandung dalam *M. citrifolia* L. memiliki manfaat sebagai anti kanker, anti bakteri, anti inflamasi, dan anti tumor (Baque, *et al.*, 2012). Pada bagian daun *M. citrifolia* L. yang biasanya terbuang sia-sia

ternyata mengandung suatu senyawa bioaktif yang berguna bagi kesehatan dalam tubuh. Menurut Chandra dan Sagar (2013), daun *M. citrifolia* L. mengandung senyawa antrakuinon yang mempunyai peranan penting sebagai anti kanker (anti-carcinoma), antibakteri dan mampu mengatasi peradangan. Daun pada tumbuhan *M. citrifolia* L. yang selama ini belum banyak dimanfaatkan diketahui mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat. Daun *M. citrifolia* L. yang digunakan sebagai eksplan untuk induksi kalus merupakan daun muda yang lebar dan sehat sehingga dapat memicu terbentuknya kalus. Menurut Manitto (1981), daun muda merupakan tempat sintesis auksin. Dilihat dari segi anatomi daun tersusun oleh mesofil dengan dinding sel yang tipis sehingga dapat membentuk kalus.

Dengan memperhatikan banyaknya kandungan senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat dapat diproduksi melalui teknik induksi kalus. Menurut Kusdianti, *et al.*, (2007) dengan kultur kalus *M. citrifolia* L. dapat memproduksi senyawa antioksidan vitamin C. Kandungan senyawa metabolit sekunder *M. citrifolia* L. dapat diperbanyak secara *in-vitro* dengan kultur kalus. Penelitian Anggraeni, *et al.* (2007) hasil dari kultur kalus *M. citrifolia* L. mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid seperti Aziridinone, dioxolan-2-imine, pyrano dan morfin. Kultur kalus ini dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak jumlahnya dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh tanaman induknya. Seperti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Ariningsih, *et al.*, (2003) menunjukkan adanya kandungan senyawa antrakuinon dari ekstrak sel-sel kalus *M. citrifolia* L., yaitu dengan munculnya warna kuning bening yang semakin tua pada konsentrasi antrakuinon yang lebih tinggi. Produksi metabolit sekunder menggunakan kultur kalus terbukti dapat menghasilkan metabolit sekunder sama ataupun lebih besar daripada tanaman aslinya, Sreeranjini dan Siril (2013) menunjukkan hasil tersebut diperoleh dari kalus *M. citrifolia* L. pada medium MS dengan penambahan auksin dapat meningkatkan produksi antrakuinon.

Dalam membentuk kalus yang memproduksi metabolit sekunder dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu mengoptimasi faktor lingkungan hidup sel dengan cara memanipulasi nutrisi media tumbuh, komposisi zat pengatur tumbuh,

sumber eksplan dan jenis tumbuhan (Sugiyarto, *et al.*, 2014). Biasanya medium yang digunakan untuk induksi kalus adalah medium *Murashige and Skoog* (MS). Medium MS merupakan media dasar yang umumnya digunakan untuk perbanyakan tumbuhan dan medium MS juga kaya akan mineral yang dapat merangsang terjadinya pembelahan sel (Kusumawati, *et al.*, 2015; Mariska dan Gati, 1995). Berdasarkan yang dilaporkan oleh Zuhilmi, *et al.*, (2012), pada kultur kalus *Spilanthus acmella* Murr. yang ditanam dalam medium MS menunjukkan pertumbuhan yang baik untuk memproduksi alkaloid, terpenoid dan fenolik.

Dalam menginduksi kalus sangat berkaitan dengan zat pengatur tumbuh endogen dan eksogen. Dengan penambahan auksin dan sitokinin akan meningkatkan proses induksi kalus (Sitinjak, *et al.*, 2015). Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan untuk induksi kalus yaitu 2,4-D (*2,4-Dichlorophenaxyacetic acid*) dan kinetin. Kedua golongan zat pengatur tumbuh ini berpengaruh terhadap respon pertumbuhan yang akan menjadi pemicu dalam proses pembelahan sel dan pembesaran sel. Auksin maupun sitokinin terdapat didalam tanaman secara alami, tetapi pada teknik kultur jaringan juga dibutuhkan zat pengatur tumbuh dari luar untuk membantu pertumbuhan jaringan. Telah banyak penelitian yang menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dalam menginduksi kalus, diantaranya penelitian Dalila, *et al.*, (2013) kombinasi 2,4-D dan kinetin mampu menginduksi kalus pada tumbuhan *Barringtonia racemosa*. Selain itu, kombinasi auksin dan sitokinin dapat mengakumulasi senyawa metabolit sekunder (Chaabani, *et al.*, 2015). Purwianingsih dan Hamdiyati (2006) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D (3.10^{-1} mg/l) pada kultur kalus *M. citrifolia* L. mampu memproduksi senyawa kuinon. Pada kultur kalus *Oryza sativa* pertumbuhan kalusnya dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D (Yamada, *et al.*, 1967). Zat pengatur tumbuh auksin yang dikombinasikan dengan sitokinin secara tepat dan seimbang akan merespon pembentukan kalus. Ahmed *et al.*, (2008), menggunakan konsentrasi 2,4-D 2 mg/l dan konsentrasi kinetin 1 mg/l untuk pembentukan kalus *M. citrifolia* L. Penambahan 2,4-D (2 mg/l) dan kinetin (2 mg/l) mampu menginduksi kalus pada kultus anter *Capsicum annum* L. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Al Abdallat *et al.*, (2011) menunjukkan

bahwa pada kultur kalus *Cratageus aronia* yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 2,4-D (2 mg/l) dan kinetin (1.5 mg/l) mampu menginduksi kalus yang memproduksi senyawa polifenol.

Pada penelitian ini, akan diinduksi kalus dari eksplan daun *M. citrifolia* L. yang ditanam dalam medium *Murashige & Skoog* (MS) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa senyawa fenolik dan antrakuinon. Analisis metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif menggunakan uji fitokimia. Penelitian ini menggunakan 12 perlakuan kombinasi terhadap konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (1-1.75 mg/l) dan kinetin (1-1.5 mg/l). Parameter yang diukur adalah respon pembentukan kalus, waktu muncul pertama kalus dan berat basah kalus (parameter untuk mengetahui adanya pertumbuhan, pembelahan dan pembesaran sel pada kalus) yang diuji secara kuantitatif. Pengukuran bioaktif secara kualitatif menggunakan uji fitokimia dan pengamatan morfologi kalus secara kualitatif.

B. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: “Bagaimana kandungan metabolit sekunder senyawa fenolik dan antrakuinon pada kultur kalus yang berasal dari eksplan daun *M. citrifolia* L. dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin yang ditanam pada medium MS ?

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

1. Bagaimana respon pertumbuhan eksplan daun *M. citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin?
2. Pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh berapakah yang optimal untuk menginduksi kalus dari eksplan *M. citrifolia* L.?
3. Bagaimana analisis kualitatif kandungan senyawa fenolik dan antrakuinon pada hasil kultur eksplan daun *M. citrifolia* L. yang ditanam pada medium MS

dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin menggunakan uji fitokimia?

C. Batasan masalah

Dalam penelitian ini permasalahan penelitian dibatasi agar tidak meluas saat pelaksanaannya, yaitu sebagai berikut:

1. Medium yang digunakan adalah medium padat *Murashige and Skoog* (MS) (Purwianingsih dan Hamdiyati, 2006)
2. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D dan kinetin (Ahmed, *et al.*, 2008).
3. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan adalah 1, 1.25, 1.5, dan 1.75. Sedangkan konsentrasi untuk kinetin yaitu 1, 1.25 dan 1,5 (dimodifikasi dari Ahmed, *et al.*, 2008).
4. Respon pertumbuhan yang diamati meliputi morfologi kalus dan berat basah kalus.
5. Senyawa metabolit sekunder yang akan dianalisis adalah senyawa fenolik dan antrakuinon.
6. Produksi senyawa fenolik dan antrakuinon dianalisis dengan menggunakan uji fitokimia.

D. Tujuan penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan, diantaranya:

1. Untuk mengetahui respon pertumbuhan eksplan daun *M. citrifolia* L. yang ditumbuhkan pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin.
2. Untuk mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimal pada medium MS dalam induksi kalus dari eksplan *M. citrifolia* L.
3. Untuk menganalisis kandungan senyawa fenolik dan antrakuinon pada hasil kultur eksplan daun *M. citrifolia* L. yang ditanam pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin menggunakan uji fitokimia secara kualitatif.

Annisa Nur Fazrina, 2016

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER KALUS *Morinda citrifolia* L. PADA MEDIUM MURASHIGE AND SKOOG (MS) DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH 2.4-D DAN KINETIN

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

E. Manfaat penelitian

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat diperoleh beberapa manfaat, yaitu:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan referensi dalam pengembangan ilmu-ilmu yang dipelajari di bidang bioteknologi melalui teknik kultur jaringan tumbuhan. Selain itu, diharapkan dapat memperluas wawasan dan pengetahuan dalam teknik kultur jaringan tumbuhan yang berkaitan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam kalus *M. citrifolia* L.

2. Manfaat Praktis

- a. Kalus *M. citrifolia* L. yang dihasilkan dapat digunakan sebagai penelitian lanjutan, misalnya dengan menggunakan metode elisitasi untuk meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam kalus *M. citrifolia* L.
- b. Produksi metabolit sekunder pada *M. citrifolia* L. ini dapat dilanjutkan untuk produksi skala industri sebagai bahan obat tradisional yang bermanfaat bagi pengobatan.
- c. Penelitian ini dapat memanfaatkan tanaman obat *M. citrifolia* L. yang melimpah dengan memanfaatkan secara langsung dari alam.

F. Asumsi

1. 2,4-D adalah auksin yang biasa digunakan untuk menginduksi kalus dengan mengembalikan sel-sel eksplan pada tahap dediferensiasi dan pembelahan sel (George, *et al.*, 2008).
2. Kinetin merupakan kelompok sitokinin yang digunakan untuk menstimulasi pembelahan sel dan mengontrol morfogenesis (George, *et al.*, 2008).
3. Konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang sangat penting karena dapat mengatur diferensiasi dan dediferensiasi pada eksplan (Bourgaud, *et al.*, 2001).

4. Variasi kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dapat meningkatkan akumulasi senyawa metabolit sekunder (Duangpron dan Siripong, 2009).
5. Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin mampu menginduksi kalus yang mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Iriawati dan Esyanti, 2012).

G. Struktur Organisasi Skripsi

Gambaran secara umum tentang isi dari keseluruhan skripsi ini dapat dilihat dalam struktur organisasi penulisan skripsi berikut ini. Adapun sistematika 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 masalah dilakukannya penelitian ini. Selain itu, terdapat pula rumusan masalah beserta batasan masalah dalam penelitian ini.

2. Bab II Kajian Pustaka

Pada bab II terdapat teori-teori yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya gambaran umum tumbuhan *Morinda citrifolia* L., kultur jaringan tumbuhan, zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tumbuhan, metabolit sekunder dalam kultur jaringan, metode ekstraksi dalam kultur jaringan dan analisis kualitatif menggunakan uji fitokimia.

3. Bab III Metodologi Pendahuluan

Pada bab III terdapat desain penelitian, lokasi penelitian, populasi dan sampel, prosedur penelitian dan analisis data .

4. Bab IV Temuan Penelitian dan Pembahasan

Pada bab V diuraikan temuan hasil penelitian dan pembahasan sesuai dengan temuan yang diperoleh melalui serangkaian metode dan desain penelitian yang terdapat pada bab III serta didukung dengan teori-teori yang tersaji dalam bab II.

Annisa Nur Fazrina, 2016

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER KALUS *Morinda citrifolia* L. PADA MEDIUM MURAHSHIGE AND SKOOG (MS) DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH 2.4-D DAN KINETIN

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

5. Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Pada bab V tersaji kesimpulan dari hasil analisis penelitian yang dilakukan, implikasi dan rekomendasi penulis yang tersaji adalah sebagai bentuk pemaknaan terhadap hasil analisis penelitian yang dilakukan. Adapun rekomendasi dalam penelitian ini didasarkan pada kekurangan yang ditemukan serta upaya untuk perbaikan pada penelitian yang akan dilakukan selanjutnya.