

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Purwoceng (*Pimpinella alpine* Molck.) merupakan tanaman herba komersial dengan beragam khasiat pada seluruh bagian tanamannya. Tanaman tersebut merupakan tanaman asli Indonesia yang hidup secara endemik di daerah pegunungan seperti dataran tinggi Dieng di Jawa Tengah, Gunung Pangrango di Jawa Barat, dan area pegunungan di Jawa Timur. Bagian dari tanaman Purwoceng yang dikenal memiliki beragam manfaat adalah akar. Khasiat obat yang dihasilkan dari akar tanaman Purwoceng diantaranya adalah sebagai obat afrodisiak dan melancarkan peredaran darah karena khasiat obat yang dikandungnya sehingga menjadikan tanaman purwoceng bernilai ekonomis tinggi.

Allah SWT telah berfirman dalam surat Asy-syu'ara'/26 ayat 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?(Qs. Asy-Syu'araa'/26 :07)*

Surat di atas menerangkan bahwa segala macam tumbuhan yang telah diciptakan di muka bumi ini sesuai dengan manfaat masing-masing, begitu juga dengan purwoceng yang memiliki berbagai fungsi sebagai obat antara lain merupakan tanaman khas jawa tengah, dimana tumbuhan ini dapat

meningkatkan vitalitas (afrodisiak) telah diteliti dan telah diformulasikan. Pada umumnya tumbuhan yang mempunyai khasiat sebagai afrodisiak mengandung senyawa tertentu misalnya saponin, alkaloid, senyawa yang berkaitan dengan steroid dan senyawa-senyawa lain yang berkhasiat sebagai penguat tubuh dan pelancar peredaran darah

Populasi Purwoceng sudah langka karena mengalami erosi genetik besar-besaran. Berdasarkan status erosi genetik, tanaman Purwoceng dikategorikan genting (*endangered*) atau hampir punah (Rivai *et al.*, 1992). Menurut *Convention on International Trading in Endangered Species* (CITES), tanaman tersebut dimasukkan dalam Apendiks I sehingga tanaman ini sangat dilindungi. Oleh sebab itu upaya untuk konservasi dan perbanyakan jenis tanaman ini perlu dilakukan untuk pengembangan di masa mendatang untuk memenuhi kebutuhan pengobatan.

Darwati (2012) menjelaskan bahwa purwoceng memiliki beberapa senyawa aktif yang berfungsi untuk berbagai macam penyakit seperti afrodisiak, meningkatkan hormon estrogen dan lain sebagainya. Penelitian uji fitokimia pada akar purwoceng diketahui terdapat bahwa pada akar purwoceng terdapat senyawa fitokimia berupa alkaloid, triterpenoid, flavanoid, steroid (stigmasterol dan sitosterol) dan glikosida.

Kultur jaringan merupakan sumber alternatif dalam menghasilkan substansi bioaktif tanaman. Bioteknologi dengan mengkultur tanaman (*in vitro*) memberikan beberapa keuntungan daripada kultivasi secara konvensional (*in vivo*). Kelebihan secara *in vitro* yaitu tidak dipengaruhi oleh

iklim dan membutuhkan ruang yang tidak begitu luas dari pada secara *in vivo* (Georgive *et al.*, 2008).

Penggunaan metabolit sekunder semakin meningkat seperti dibidang farmakologi (obat-obatan) dan industri makanan (pewarna). Molekul ini telah diketahui memiliki peranan penting dalam adaptasi tanaman pada lingkungan (Mulabagal and Tsay, 2004). Beberapa metode kultur jaringan yang digunakan untuk menghasilkan metabolit sekunder antara lain kultur rambut akar (*hairy root*), suspensi sel, dan kalus (Georgive *et al.*, 2008). Menurut Sudarmadji (2003), kalus adalah suatu kumpulan sel amorphous yang terjadi dari sel-sel yang membelah diri dan terdiri atas sel parenkim (Slater *et al.*, 2003). Menurut Stafford dan Warren (1991), kelebihan penggunaan kultur jaringan dengan menggunakan kalus adalah pada kultur kalus penampakan morfologi lebih mudah diamati, terutama warna sehingga penggunaan kultur dengan kalus sesuai dalam memproduksi zat warna atau pigmen yang berasal dari tanaman. Kultur kalus juga digunakan untuk menginisiasi kultur suspensi sel pada media cair.

Menurut Saito and Mizukami (2002), pada kultur kalus terdapat beberapa faktor yang dibutuhkan terutama dalam optimalisasi produksi metabolit sekunder, yaitu zat pengatur tumbuh (ZPT), nutrisi medium (nitrogen, fosfat, sukrosa, ion Cu^{2+}), elisitor, faktor fisika (cahaya, temperatur, pH, aerasi, kepadatan sel), dan faktor biologi (variasi sel, kemampuan biosintesis). ZPT yang digunakan pada medium primer dalam pembentukan kalus sering digunakan berupa sitokinin (BAP, BA, kinetin) dan auksin (IAA,

NAA, atau 2,4-D). Pada konsentrasi antara auksin dengan sitokinin yang seimbang akan menginduksi kalus (Gurel *et al.*, 2000).

Penumbuhan kalus purwoceng dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terdapat di dalam eksplan kalus purwoceng, beberapa penelitian menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang di hasilkan dengan menggunakan teknik kultur jaringan lebih tinggi dari yang didapatkan dari tanaman di lapang. Menurut Siregar (2006) dengan penelitiannya mengenai metabolit sekunder pada *Eurycoma longifolia* Jack menyatakan bahwa melalui kultur kalus didapatkan kandungan fitokimia yang lebih tinggi dari tanaman induknya yaitu dapat dihasilkan sekitar $\pm 0,018-0,078\%$ 9-Hidroksi-kantin-6-on dan $\pm 0,013-0,085\%$ 9-metoksi-kantin-6-on dari eksplan daun sedang dari tanaman induk hanya didapatkan $\pm 0,003-0,004\%$ 9-Hidroksi-kantin-6-on dan $\pm 0,004-0,014$ 9-metoksi-kantin-6-on. Di perkuat juga dengan penelitian Zhao *et al.* (2001) yang melaporkan bahwa kalus yang berasal dari eksplan daun *Saussurea medusa* dalam medium padat MS + 0,2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA menghasilkan senyawa jaseosidin yang lebih tinggi dibanding dengan tumbuhan induk.

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 berkembang adalah teknik elisitasi. Menurut Sutini (2008), akumulasi metabolit sekunder secara *in vitro* dapat ditingkatkan dengan

menggunakan berbagai cara diantaranya dengan memberikan perlakuan radiasi, sinar, diberi pathogen misalnya jamur, pertumbuhan diganggu lewat pengurangan nutrisi, pemberian senyawa toksik berupa ion logam Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn, dan lainnya (Mondal, 2004).

Elisitasi merupakan teknik untuk menginduksi secara simultan pembentukan fitoaleksin, metabolit sekunder konstitusif atau metabolit sekunder lain yang tidak terakumulasi secara normal. Elisitasi dapat juga dilakukan dengan menambahkan elisitor. Elisitor merupakan senyawa biologis dan non biologis yang dapat menyebabkan peningkatan produksi fitoaleksin (Buitelaar *et.al.*, 1991). Elisitor merupakan faktor eksternal yang digunakan untuk meningkatkan metabolit sekunder (Siregar, 2006).

Elisitor terdiri dari dua kelompok yaitu elisitor abiotik yang berasal dari senyawa anorganik seperti etana, sinar UV, temperature ekstrim, dan logam berat, sedangkan elisitor biotik dapat dikelompokkan menjadi elisitor endogen dan elisitor eksogen. Elisitor endogen umumnya berasal dari bagian tumbuhan itu sendiri dan elisitor eksogen berasal dari luar tumbuhan.

Ion logam Cu^{2+} merupakan mikronutrien esensial bagi seluruh mahluk hidup serta kofaktor dari banyak enzim serta memiliki peranan penting dalam transport electron, reaksi redoks dan berkaitan dalam berbagai jalur metabolisme. Reaksi redoks dan homeostasis ion logam memiliki kaitan dan menyebabkan stress oksidatif. Sehingga pada penelitian Ali *et al* (2006) menyatakan bahwa pemberian ion logam Cu^{2+} dapat meningkatkan metabolit sekunder dalam kultur jaringan.

Ion logam Cu^{2+} diperlukan karena berperan dalam proses enzimatik seperti *cytochrom oxidase*, *ascorbic acid oxidase*, dan sebagai stress oksidatif pada tanaman terhadap cekaman. Menurut Muryanti (2005) ion Cu^{2+} berperan dalam respon pertahanan diri pada tanaman dengan cara menginduksi gen dan meningkatkan jalur pembentukan metabolit sekunder. Elisitor abiotik ini sebagai signal transduksi pada sistem pertahanan diri tanaman terhadap stress akibat adanya cekaman lingkungan pertumbuhan. Selain itu menurut Hudoyono (2004) elisitor Cu^{2+} berperan sebagai kofaktor enzim yang akan menempel pada sisi non protein pada enzim sebagai pemacu metabolisme metabolit sekunder jenis terpenoid, steroid, dari jalur isoprene.

Penelitian yang menggunakan penambahan ion Cu^{2+} juga dilakukan oleh Ali *et al.*, 2006 pada kultur panax *ginseng* yang dapat meningkatkan kadar ginsenosida (triterpen saponin) pada penambahan Cu^{2+} dengan konsentrasi $25\mu\text{M}$. Selain itu juga dilakukan penambahan ion Cu^{2+} pada hasil kalus pegagan (*Centella asiatica*) oleh Oktafiana (2010) yang menunjukkan bahwa peningkatan campuran triterpenoid terjadi pada konsentrasi Ion Cu^{2+} $15\mu\text{M}$, $20\mu\text{M}$, $25\mu\text{M}$, dan $30\mu\text{M}$. Pada kultur suspensi sel pegagan juga ditambahkan ion Cu^{2+} yang dikombinasikan dengan metal jasmonat menunjukkan pada penambahan $25\mu\text{M}$ di hari ke-21 dapat meningkatkan 6,76 kali senyawa asiatioksida dibandingkan dengan control suspensi sel (Bulan, 2006).

Pemberian Cu^{2+} juga di gunakan dalam peningkatan senyawa isoflavon dengan menggunakan metode kultur jaringan antara lain pada *Camelia*

sinensis L. yaitu dengan menambahkan 5 ppm Cu^{2+} dapat meningkatkan 12,5% senyawa *flavon-3-ol* dibandingkan dengan kalus tanpa penambahan elisitor ion logam Cu^{2+} , hal ini dikarenakan ion Cu^{2+} yang mengaktivasi enzim lipoxigenase pada membrane sel dalam kalus (Sutini,2008). Selain itu juga dilakukan pada kedelai sebagai elisitor peningkatan senyawa isoflavon baik genstein dan deidzein, dengan menggunakan Cu^{2+} pada taraf 0,0125, 0,0250, dan 0,375 ppm dapat disimpulkan bahwa pada penambahan 0,0125 ppm dapat dihasilkan senyawa isoflavon tertinggi dari jenis genstein dan deidzein (Rahayu, 2009).

Dengan konsep pemberian elisitor sebagai pemacu peningkatan kadar metabolit sekunder zat pengatur tumbuh dan pengujian senyawa metabolit sekunder dalam tehnik kultur jaringan maka dilakukan penelitian tentang “Pengaruh pemberian ion logam Cu^{2+} terhadap perkembangan dan kandungan metabolit sekunder (*stigmasterol* dan *sitosterol*) kalus purwoceng (*Pimpinella alpine* Molk.) secara *in vitro*”

1.2 Rumusan Masealah

1. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap perkembangan kalus purwoceng secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap kandungan metabolit sekunder kalus purwoceng secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap perkembangan kalus purwoceng secara in vitro.
2. Mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap kandungan metabolit sekunder kalus purwoceng secara in vitro.

1.4 Hipotesis

1. Ada pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap perkembangan kalus purwoceng (*Pimpinella alpine* Molk.) secara in vitro.
2. Ada pengaruh pemberian beberapa konsentrasi ion logam Cu^{2+} terhadap kandungan metabolit sekunder kalus purwoceng secara in vitro.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadikan dasar penelitian lebih lanjut tentang perkembangan kalus purwoceng dengan pemberian ion logam Cu^{2+} .
2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai upaya memproduksi metabolit sekunder yang lebih tinggi sehingga bermanfaat untuk industri farmasi.

1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini hanya terbatas pada pengaruh pertumbuhan kalus purwoceng dan uji fitokimia hasil metabolit sekunder dari kalus purwoceng yang dihasilkan.

2. Kalus yang digunakan berasal dari induksi kalus dengan menggunakan 2,4-D 6mg/l didapatkan dari penelitian pendahuluan.
3. Media tanam yang digunakan adalah jenis media MS (Murashige & skoog).
4. Penggunaan ion logam Cu^{2+} dengan konsentrasi 20 μM , 30 μM , dan 40 μM serta konsentrasi 0 μM sebagai control dan bertujuan untuk meningkatkan kadar metabolit sekunder pada hasil kalus purwoceng
5. Perkembangan kalus yang diamati terdiri dari warna kalus, tekstur kalus sebagai data kualitatif dan berat kalus sebagai data kuantitatif serta pengukuran kadar metabolit sekunder.
6. Pengukuran kadar hasil metaboit sekunder terdiri dari pengamatan kadar senyawa stigmasterol, dan sitostrerol secara kuantitatif dengan menggunakan metode kromatografi kolom.