

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck.) merupakan tumbuhan obat asli Indonesia. Tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan asli Indonesia yang hidup secara *endemic* di daerah pegunungan seperti dataran tinggi Dieng di Jawa Tengah, Gunung Pangrango di Jawa Barat, dan area pegunungan di Jawa Timur. Habitat alami purwoceng berada pada ketinggian 1.800 – 3.500 m dpl (Roostika, 2006).

Purwoceng merupakan tumbuhan herbal komersial yang akarnya berkhasiat obat sebagai afrodisiak (meningkatkan gairah seksual dan menimbulkan ereksi), diuretik (melancarkan saluran air seni), dan tonik (mampu meningkatkan stamina tubuh). Darwati dan Roostika (2006), tumbuhan ini memiliki manfaat yang cukup banyak sehingga menyebabkan terjadinya eksploitasi secara berlebihan. Salah satunya yaitu perusahaan obat tradisional (jamu) mengambil bahan tanaman purwoceng secara langsung dari habitatnya tanpa usaha peremajaan. Eksploitasi yang berlebih dan ini tidak diimbangi dengan upaya konservasi sehingga menyebabkan tumbuhan ini mengalami kelangkaan.

Berdasarkan status erosi genetiknya, tumbuhan Purwoceng dapat dikelompokkan dalam katagori genting (*endangered*) atau hampir punah. Mengingat erosi genetik yang besar maka upaya konservasi Purwoceng mutlak diperlukan. Selain regulasi, upaya konservasi lain perlu diterapkan. Upaya

konservasi tersebut sebaiknya diiringi dengan berbagai upaya pemanfaatannya secara optimal dan berkelanjutan karena manfaat dari tumbuhan ini yang cukup tinggi.

Konservasi dapat dilakukan secara *in situ* (dalam habitatnya) atau *ex situ* (luar habitat), tetapi upaya tersebut banyak mengalami kendala. Salah satu alternatif yaitu dengan konservasi *in vitro*. Teknik kultur jaringan merupakan teknologi alternatif yang dapat diterapkan untuk konservasi dan perbanyakan tumbuhan Puwoceng serta produksi metabolit sekunder. Menurut Roostika *et al.* (2006), metode regenerasi merupakan salah satu tahapan penting dalam upaya konservasi tanaman. Regenerasi dapat dilakukan melalui organogenesis dan somatik embryogenesis. Allah menjelaskan proses kultur jaringan ini tersirat dalam Al-Qur'an surat Al-Waqiah ayat 63-65, sebagai berikut:

أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ﴿٦٣﴾
 وَأَنْتُمْ تَزْرَعُونَهُ أَمْ نَحْنُ الزَّارِعُونَ ﴿٦٤﴾ لَوْ نَشَاءُ
 لَجَعَلْنَاهُ حُطَبًا فَظَلْتُمْ تَفَكَّهُونَ ﴿٦٥﴾

Artinya: “Maka Terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam. Kamukah yang menumbuhkannya atau kamikah yang menumbuhkannya? Kalau Kami kehendaki, benar-benar Kami jadikan Dia hancur dan kering, Maka jadilah kamu heran dan tercengang (QS. Al-Waqiah/56:62)

Surat Al-Waqiah ayat 63-65 secara tersirat menjelaskan proses kultur jaringan, dalam ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah Swt menyampaikan pertanyaan kepada manusia, untuk dipikirkan dan direnungkan mengenai berbagai tanaman yang ditanam oleh manusia, baik tanaman yang di sawah, di perkebunan, maupun secara *in vitro*. Diungkapkan bahwa bagi semua tanaman tersebut di atas,

kedudukan manusia hanya sekadar sebagai penanamnya, pemupuk dan memeliharanya dari berbagai gangguan yang membawa kerugian. Seperti halnya dalam kultur jaringan peneliti berusaha untuk menumbuhkan tanaman baru tetepi Allah-lah yang menentukan apa yang akan terjadi pada eksplan yang ditanam. Seperti yang tersirat dalam ayat tersebut.

Stigmasterol dan sitosterol merupakan hasil metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam Purwoceng yang berkahisat sebagai afrodisiak. Kultur jaringan dapat digunakan sebagai sarana untuk produksi metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses-proses biokimia yang terjadi dalam tubuh tanaman, sedangkan proses tersebut dapat terjadi pada kultur jaringan. Senyawa ini terdapat dalam kalus atau bagian lain, seperti akar (Dalimonthe, 1987).

Hasil metabolit sekunder yang dihasilkan dari kalus memiliki kadar yang lebih tinggi daripada dengan cara biasanya (langsung dari tanaman liar). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan pada *Eurycoma longifolia* Jack. menunjukkan peningkatkan 9 kali dari pada tanaman lapang (Siregar, 2006). Saponin sebesar 500 mg/l/hari dari bioreaktor kultur jaringan akar ginseng (Park *et al.*, 1992). Darwati (2007), menyatakan bahwa hasil analisis uji akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) menunjukkan kandungan stigmasterol sebesar $\pm 0,0510$ ppm.

Faktor penentu dalam induksi kalus maupun produksi metabolit sekunder dengan kultur jaringan salah satunya yaitu media. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media dasar

Murashige dan Skoog (MS) merupakan media tanam dengan komposisi yang memiliki kesesuaian untuk berbagai macam jenis tanaman. Pemilihan zat pengatur tumbuh pada media harus dilakukan secara tepat, karena zat pengatur tumbuh mempengaruhi pembentukan kalus serta kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan.

Zat pengatur tumbuh juga berperan dalam pembentukan kalus pada kultur jaringan, seperti auksin. Menurut Suryowinoto (1996), auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang kalus, suspensi sel dan organ. Golongan auksin yang sering ditambahkan dalam medium adalah 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid), IAA (Indol Asam Asetat), NAA (Naftalen Asam Asetat) dan IBA (Indol Buterik Asetat). 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus. 2,4-D bersifat stabil dari zat pengatur tumbuh lain karena tidak mudah mengalami kerusakan jika terkena cahaya dan pemanasan saat sterilisasi. Selain itu, 2,4-D dapat digunakan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder. 2,4-D dapat menyebabkan cekaman abiotik bila konsentrasi yang diberikan cukup banyak sehingga dapat menyebabkan terjadinya cekaman pada tumbuhan yang ditanam, karena adanya cekaman ini menyebabkan produksi metabolit yang dihasilkan cukup meningkat.

Penambahan 2,4-D (1,3,5 ppm) secara independen tertinggi terhadap berat basah kalus Purwoceng yaitu pada eksplan daun 3 ppm dan eksplan petiol 1 ppm tetapi tidak memberi pengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus Purwoceng pada media DKW (Darwati, 2007).

Selain zat pengatur tumbuh, pemilihan jenis eksplan juga mempengaruhi inisiasi pembentukan kalus. Menurut Harahap (2005), untuk eksplan tanaman yang baik digunakan adalah bagian tanaman yang masih muda yaitu bagian meristemnya. Gunawan (1995), menyatakan bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah: pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil. Pada umumnya eksplan yang digunakan dalam perbanyakan tanaman Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) yaitu daun (Roostika, *et.al.*, 2007), daun dan tangkai daun (petiol) (Darwati, 2007). Penghasil kalus tertinggi pada kultur jaringan *Eurycoma lingifoliana* Jack yaitu pada eksplan petiol dibandingkan eksplan daun dan batang serta kandungan Alkaloid (9-hidroksikantin-6-on dan 9-metoksikantin-6-on) paling tinggi (Siregar, *et.al.*, 2006). Eksplan daun pada kultur *Manihot esculenta* Crantz menghasilkan kalus tertinggi dibandingkan dengan eksplan batang petiol dan tunas (Fletcher, *et.al.*, 2011).

Berdasarkan beberapa penelitian diatas, maka diperlukan penelitian tentang kultur *in vitro* pada tumbuhan purwoceng lebih lanjut sebagai upaya konsevasi dan pemanfaatan metabolit sekunder dengan menggunakan berbagai jenis eksplan dan konsentrasi ZPT 2,4-D. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan jenis eksplan terhadap percepatan pertumbuhan dari eksplan tersebut, sehingga dapat diketahui mana eksplan yang tepat dalam perbanyakan kalus Purwoceng serta kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam kalus tersebut. Penggunaan hormon 2,4-D diharapkan dapat meningkatkan produksi kalus serta dapat mengetahui respon dari beberapa konsentrasi hormon 2,4 D tersebut terhadap pertumbuhan kalus dan juga dijadikan dasar untuk

mengetahui konsentrasi ZPT jenis auksin 2,4-D dalam media MS yang paling tepat untuk uji pertumbuhan kalus Purwoceng.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat diambil dari penelitian ini berdasarkan latar belakang di atas adalah:

1. Bagaimana pengaruh jenis eksplan dan konsentrasi ZPT 2,4-D terhadap pertumbuhan kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) pada media MS?
2. Apakah ada pengaruh jenis eksplan dan konsentrasi ZPT 2,4-D terhadap kadar metabolit sekunder (stigmasterol dan sitosterol) kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini berdasarkan rumusan masalah di atas adalah:

1. Mengetahui pengaruh jenis eksplan dan konsentrasi ZPT 2,4-D terhadap pertumbuhan kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) pada media MS.
2. Mengetahui pengaruh jenis eksplan dan konsentrasi ZPT 2,4-D terhadap kadar metabolit sekunder (stigmasterol dan sitosterol) kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.).

1.4 Hipotesis

Hopotesis yang dapat diambil dalam penelitian ini berdasarkan tujuan di atas adalah:

1. Konsentrasi ZPT 2,4-D pada beberapa jenis eksplan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) pada media MS.
2. Ada perbedaan kadar metabolit sekunder (stigmasterol dan sitosterol) kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) pada perbedaan eksplan dan konsentrasi 2,4-D.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi beberapa manfaat yaitu:

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadikan dasar penelitian lebih lanjut tentang pertumbuhan kalus Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.).
2. Hasil penelitian digunakan sebagai upaya memproduksi stigmastrol dan sitosterol yang bermanfaat untuk industri di bidang farmasi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Konsentrasi ZPT 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*) yang digunakan adalah 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, dan 6 mg/L.

2. Eksplan yang digunakan adalah daun muda dan tangkai daun (petiol) Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) yang berasal dari Ranu Pani Kabupaten Lumajang.
3. Media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) padat.
4. Pertumbuhan kalus meliputi warna kalus, tekstur kalus, persentase pembentukan kalus, muncul kalus pertama kali dan berat basah kalus.
5. Pengamatan pembentukan kalus, warna kalus serta kontaminasi dilakukan setiap hari.
6. Pengamatan tekstur dan warna kalus dilakukan setiap dua minggu sekali sedangkan persentase pembentukan kalus, berat kalus dan uji metabolit sekunder dilakukan pada minggu ke-delapan.
7. Pengukuran kadar stigmasterol dan sitosterol dengan menggunakan kromatografi kolom.