

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan banyak memberikan manfaat untuk manusia salah satunya dimanfaatkan sebagai obat herbal. Menurut Kartasapoetra (1992), tumbuhan obat adalah tumbuhan yang dapat dipergunakan sebagai obat, baik yang sengaja ditanam maupun tumbuh secara liar. Tumbuhan tersebut dimanfaatkan oleh masyarakat untuk diramu dan disajikan sebagai obat untuk penyembuhan penyakit. Sebagian besar masyarakat Indonesia banyak menggunakan tumbuhan sebagai obat karena mereka berpendapat bahwa dalam tumbuhan obat tidak menggunakan bahan kimia sintetis sehingga tidak memberikan efek samping yang tidak baik untuk tubuh. Allah Subhanahu wata'ala menciptakan alam semesta ini beserta isinya dengan penuh keteraturan. Semua itu bukan tanpa kebetulan, melainkan dengan benar, dimana terdapat tujuan dan manfaat dalam penciptaan-Nya. Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah yang banyak digunakan oleh manusia yaitu digunakan sebagai tumbuhan obat.

Firman Allah dalam surat Ad-dukhan 38-39 adalah :

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَعِبِينَ ﴿٣٨﴾ مَا خَلَقْنَاهُمَا إِلَّا بِالْحَقِّ وَلَكِنَّ

أَكْثَرُهُمْ لَا يَعْلَمُونَ ﴿٣٩﴾

Artinya: *“dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan bermain-main. Kami tidak menciptakan keduanya melainkan dengan haq, tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.”* (QS. Ad-Dukhan, 44 : 38-39)

Firman Allah yang lain dalam surat Asy-syuaraa 26:7 adalah :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan yang baik – baik?" ( Q.S. Asy – syuaraa 26 : 7)

Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah Ta'ala mengingatkan kebesaran kekuasaan-Nya dan keagungan kemampuan-Nya. Dialah yang Maha Perkasa, Maha Agung lagi Maha Kuasa yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan didalamnya tumbuh–tumbuhan yang baik berupa tanaman–tanaman, buah-buahan dan juga hewan. Sehingga Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah menciptakan tumbuhan yang baik–baik untuk dimanfaatkan salah satunya dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan adalah pegagan (*Centella asiatica* L.Urban). Tumbuhan pegagan memiliki banyak manfaat sebagai tanaman obat.

Pegagan merupakan tumbuhan liar yang banyak tumbuh diladang, perkebunan, tepi jalan maupun di pekarangan. Pegagan ini berasal dari Asia tropik menyukai tanah yang agak lembab, cukup sinar atau agak terlindung serta dapat ditemukan didaerah dataran rendah sampai dataran dengan ketinggian 2.500 meter dpl (Hyene, 1987). Pegagan banyak digunakan sebagai obat herbal. Menurut Winarto (2003), di berbagai negara, pegagan sudah secara turun temurun digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit. Di India dan di benua Afrika, pegagan dipakai sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk penyakit kusta yang sangat sulit diobati. Pegagan juga dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan luka bakar, sebagai analgesik, antiseptik,

menstimulasi peredaran darah, meningkatkan daya ingat dan memulihkan kembali bekas luka (Soeharso et al, 1992). Selain sebagai obat tradisional pegagan juga digunakan sebagai obat modern dengan nama Madecassol<sup>R</sup>, yang terdapat dalam bentuk tablet, krim dan serbuk tabur. Sebagai indikasi tambahan yang disertakan dalam kemasan ekstrak herba pegagan ini adalah untuk mencegah terjadinya keloid dan mempercepat proses penyembuhan luka (Soegihardjo, 1995). Khasiat pegagan yang begitu banyak tidak terlepas dari kandungan bahan aktifnya yang begitu kompleks. Bahkan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) telah menetapkan pegagan sebagai salah satu obat unggulan selain jati belanda, temulawak, mengkudu, daun ungu, cabe jawa, sanrego, kencur, pala, daun jinten, dan pasak bumi (Rahayu,2008).

Senyawa aktif dalam tumbuhan biasa disebut dengan metabolit sekunder. Menurut Hardiyanto (2004), metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan suatu sel atau organ suatu organisme tetapi tidak dimanfaatkan secara langsung dalam proses metabolisme. Sedangkan menurut Tisnadjaja (2006), metabolit sekunder diproduksi oleh tumbuhan bukan sebagai kebutuhan hidup utamanya atau senyawa ini biasanya diproduksi sebagai sistem pertahanan dirinya, baik terhadap perubahan lingkungan maupun serangan penyakit. Pegagan memiliki kandungan zat kimia yang bermanfaat bagi manusia. Berbagai kandungan kimia yang sudah diketahui antara lain *asiaticoside*, *thankuside*, *isothankunside*, *madecassoside*, *carotenoids*, *vellarine*, tanin, mucilage, resin, pektin, gula, protein, fosfor, dan vitamin B. Asiatikosida yang terdapat pada pegagan memiliki beberapa efek farmakologi yaitu mampu meningkatkan daya

ingat, konsentrasi dan kewaspadaan. Hal ini dimungkinkan karena asiaticosida yang terkandung didalamnya mampu membantu kelancaran sirkulasi oksigen dan nutrisi serta melindungi sel-sel otak dari kerusakan oksidatif oleh radikal bebas karena kandungan asam lemak yang sangat tinggi dan mudah teroksidasi (Bermawi *et al.* 2005). Selain asiaticosida, terdapat juga madecacosida dalam pegagan, madecacosida juga bermanfaat untuk mengobati penyakit. Pemberian secara oral madecacosida pada luka bakar memiliki efek penyembuhan pada luka bakar, selain itu madecacosida juga digunakan sebagai anti inflamasi dan berperan dalam kegiatan antioksidan (Liu,2008).

Asiaticosida dan Madecacosida merupakan glikosida triterpen, asiaticosida merupakan derivat alfa amarin dengan molekul gula, terdiri atas 2 glukosa dan 1 rhamnosa sedangkan madecacosida merupakan triterpen yang memiliki perbedaan satu gugus hidroksi saja dengan asiaticosida (Talajaj, 1989). Asiaticosida dan madecacosida merupakan salah satu senyawa dari terpenoid. Menurut Achmad (1986), terpenoid merupakan senyawa yang dibangun oleh dua atau lebih unit C<sub>5</sub> yang tersusun secara teratur dari “kepala ekor”. Terpenoid dikelompokkan berdasarkan perbedaan jumlah atom C yang sebagian besar kelipatan lima. Kelompok terpenoid tersebut adalah monoterpen (C<sub>10</sub>), sesquiterpen (C<sub>15</sub>), diterpen (C<sub>20</sub>), triterpen (C<sub>30</sub>), tetraterpen (C<sub>40</sub>) dan politerpene (>C<sub>40</sub>). Asiaticosida dan madecacosida merupakan dari triterpen (C<sub>30</sub>).

Metabolit sekunder atau senyawa aktif dari dalam tumbuhan bisa ditingkatkan dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Hal ini disebabkan metabolit sekunder merupakan hasil dari metabolisme yang terjadi pada tubuh

tumbuhan, sedang proses-proses tersebut juga terjadi pada kultur *in vitro*. Sedangkan menurut Hardiyanto (2004) telah dijelaskan bahwa teknik kultur *in vitro* untuk mendapatkan metabolit sekunder dari kalus mempunyai keuntungan diantaranya menghemat waktu, tenaga, dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak dengan kondisi yang terkontrol dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan. Teknik kultur *in vitro* yang biasanya digunakan untuk produksi metabolit sekunder adalah kultur kalus. Menurut Khaniyah (2012), kalus adalah suatu metode kultur jaringan yang berpotensi tinggi dalam menyediakan metabolit sekunder. Pertumbuhan kalus sebagai penghasil metabolit sekunder dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh. (Hendaryono dan Wijayani, 1994; Suryowinoto, 1996).

Pemberian zat pengatur tumbuh yang tepat akan mempengaruhi kalus yang digunakan untuk menghasilkan metabolit sekunder dari suatu tumbuhan. Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini berupa auksin sintetis yakni 2,4-D dan fitohormon yakni air kelapa. 2,4-D merupakan auksin kuat yang sering digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (Abidin, 1985). Penggunaan air kelapa dalam penelitian ini diharapkan mampu untuk menginduksi kalus daun pegagan. Air kelapa mengandung ZPT alami yang termasuk dalam golongan sitokinin yakni 1.3 *diphenylurea*, zeatin, zeatin glukosida, dan zeatin ribosida (Armini *et al.*, 1992). Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* kalus. Kombinasi yang biasa digunakan yaitu auksin dan sitokinin. Air kelapa disini digunakan sebagai pengganti sitokinin. Menurut Ariati (2008), air kelapa

sering kali digunakan dalam kultur jaringan sebagai pengganti BAP yang merupakan salah satu jenis sitokinin. Penelitian mengenai air kelapa untuk menginduksi kalus telah dilakukan. Penelitian Ariati (2012) dengan penambahan 15% air kelapa dan 2 ppm 2,4-D pada media MS menghasilkan kalus kakao yang sangat cepat yakni 6 hari sedangkan medium tanpa air kelapa akan menghasilkan kalus yang sangat lama yakni 23 hari. Nazza (2013) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D 1 mg/l yang dikombinasikan dengan air kelapa 10% pada media MS mampu menghasilkan berat kalus tertinggi pada daun pegagan sebesar 0,81 gram dan persentase kalus sebesar 78,25% dan kalus yang terbentuk berwarna kekuningan dan bertekstur kompak. Kalus hasil induksi pegagan tersebut nantinya akan di subkultur dan digunakan dalam penelitian ini yaitu untuk memproduksi metabolit sekunder asiaticosida dari pegagan.

Metode yang biasa digunakan untuk peningkatan metabolit sekunder dalam kultur kalus adalah metode elisitasi. Menurut Ratnasari (2001), elisitasi adalah teknik pemberian materi abiotik maupun biotik ke dalam sel tumbuhan sehingga produksi metabolit sekunder tumbuhan dapat meningkat sebagai respon tumbuhan untuk mempertahankan diri. Sedangkan menurut Vanconsuelo & Boland (2007), elisitasi merupakan metode yang mengacu pada fenomena alam dalam mekanisme pertahanan inang terhadap patogennya. Interaksi antara patogen dengan tumbuhan inang yang menginduksi pembentukan fitoaleksin pada tumbuhan merupakan respon terhadap serangan mikroba patogen. Elisitor merupakan salah satu faktor eksternal yang dapat digunakan untuk meningkatkan

metabolit sekunder. Elisitor merupakan stimulus fisika, kimia maupun biologi yang dapat menginduksi respon pertahanan pada tumbuhan (Oktafiana, 2010). Elisitor mengaktifkan gen dalam tumbuhan yang mengkode enzim yang diperlukan untuk sintesis fitoaleksin. Elisitor selain menginduksi pembentukan fitoaleksin juga meningkatkan berbagai metabolit sekunder dan enzim lain. Pada kultur kalus dan kultur sel penambahan elisitor juga dapat menginduksi senyawa metabolit sekunder yang bukan fitoaleksin (Eilert *et al.* 1986).

Kultur kalus dengan penambahan elisitor berpengaruh terhadap kadar kandungan metabolit sekunder dimana jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan berbeda dengan metabolit sekunder yang dihasilkan langsung dari lapang. Pada penelitian Roostika (2007) yakni penambahan asam mevalonat menghasilkan kandungan stigmasterol tertinggi yaitu 0.0356 ppm, kandungan tersebut 10 – 100 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kadar akar tanaman purwoceng dari lapang. Penelitian Kyng (2008) juga menghasilkan kandungan flavonoid planlet pegagan secara *in vitro* lebih tinggi yaitu  $4456.9 + 287.5 \mu\text{g/g}$  dibandingkan tumbuhan dengan media hidroponik yaitu  $2401.0 + 148,4 \mu\text{g/g}$  dan juga tanaman langsung dari lapang yaitu  $2323.5 + 376.8 \mu\text{g/g}$ .

Elisitor dapat berupa biotik maupun abiotik. Elisitor biotik berasal dari makhluk hidup, dari patogen atau dari tumbuhan itu sendiri. Elisitor abiotik berupa faktor fisik atau senyawa kimia (Vasconsuelo & Boland 2007). Elisitor yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu elisitor abiotik. Keuntungan menggunakan elisitor abiotik adalah ketersediannya, harga yang relatif murah, dan berupa senyawa kimia, sehingga ketika digunakan dalam kondisi kultur tidak

menghambat pertumbuhan sel-sel (Sudha, 2000). Elisitor abiotik yang digunakan berupa ion logam. Logam yang digunakan adalah logam  $\text{Cu}^{2+}$ . Menurut Effendi (2003), tembaga atau *copper* (Cu) merupakan logam berat yang dijumpai pada perairan alami dan merupakan unsur yang esensial bagi tumbuhan dan hewan. Pada tumbuhan, termasuk algae, tembaga berperan sebagai penyusun *plastocyanin* yang berfungsi dalam transpor elektron dalam proses fotosintesis. Menurut Marschner (1995), ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  merupakan mikronutrien esensial bagi seluruh makhluk hidup serta kofaktor dari banyak enzim serta memiliki peranan penting dalam transport elektron, reaksi redoks serta dalam berbagai jalur metabolisme. Reaksi redoks dan homeostatis ion logam memiliki kaitan yang erat dan dapat menyebabkan *stress* oksidatif.

Penelitian terdahulu telah dilakukan oleh Bulan (2008), dengan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sebanyak 25  $\mu\text{M}$  telah meningkatkan kadar asiaticosida sebanyak 6,76 kali dibandingkan dengan kontrol suspensi sel, penelitian yang lain juga dilakukan Oktafiana (2010), dengan penambahan  $\text{Cu}^{2+}$  sebanyak 15  $\mu\text{M}$  sampai 30  $\mu\text{M}$  mampu menghasilkan kandungan campuran triterpenoid kalus pegagan. Dari hasil penelitian tersebut maka dalam penelitian ini digunakan konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  lebih tinggi. Menurut Muryati (2005),  $\text{Cu}^{2+}$  berperan dalam pengaturan respon pertahanan diri pada tanaman dengan cara menginduksi gen dan meningkatkan jalur pembentukan metabolit sekunder sehingga adanya cekaman (*stress* oksidatif) akan berpengaruh terhadap jalur pembentukan metabolit sekunder. Dengan konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  yang lebih tinggi diharapkan bisa menyebabkan cekaman dan berpengaruh terhadap jalur pembentukan metabolit

sekunder kultur kalus pegagan dan mampu meningkatkan produksi metabolit sekunder asiaticosida dan madekasosida pada kalus pegagan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap perkembangan subkultur kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kandungan metabolit sekunder asiaticosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) pada media 2,4- D dan air kelapa?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap perkembangan kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) secara *in vitro*
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kandungan metabolit sekunder asiaticosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) pada media 2,4-D dan air kelapa

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ada pengaruh pemberian beberapa konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap perkembangan kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) secara *in vitro*
2. Ada pengaruh pemberian konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban) pada media 2,4-D dan air kelapa

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah :

1. Memperluas ilmu pengetahuan dalam meningkatkan nilai guna pegagan (*Centella asiatica* L.Urban)
2. Memberikan informasi penggunaan  $\text{Cu}^{2+}$  untuk meningkatkan kadar metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida pada pegagan (*Centella asiatica* L.Urban)

#### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Media yang digunakan adalah media MS
2. Zat pengatur tumbuh menggunakan 2,4-D
3. Air kelapa yang digunakan adalah air kelapa sedang (Tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua) dengan ciri-ciri kulit kelapa berwarna hijau, daging buah tidak terlalu lunak dan tidak terlalu keras

4. Pegagan diperoleh dari Balai Materia Medika Batu
5. Kalus yang digunakan hasil induksi kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban ) pada media 2,4-D 1 mg/l dan air kelapa 10%
6. Parameter kalus yang diamati warna kalus, tekstur kalus dan berat kalus
7. Cu yang digunakan  $\text{Cu}^{2+}$  dengan konsentrasi 30, 35 dan 40  $\mu\text{M}$
8. Metabolit sekunder yang dihasilkan adalah asiatikosida dan madekasosida

