

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. 1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dahulu kala. Penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah masyarakat telah menerima dan membuktikan manfaat dan kegunaan tumbuhan obat dalam pemeliharaan kesehatan (Mora,2012).

Firman Allah dalam Al-Qur'an Surat Asy- Syuaraa ayat 7 berikut ini:

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 pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*(Qs. Asy-Syuaraa :7).

Dijelaskan dalam tafsir Al-Misbah (Shihab, 2001), bahwa ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya. Tumbuhan memiliki banyak manfaat yang tidak terhitung jumlahnya.

WHO (*World Healt Organization*) pada tahun 1985 memprediksi bahwa sekitar 80 % penduduk dunia telah memanfaatkan tumbuhan obat untuk pemeliharaan kesehatan primernya (Peters & Whitehouse, 2000). Kandungan senyawa yang

beragam pada berbagai tumbuhan dijumpai secara tersebar ataupun terpusat pada organ tubuh tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, akar, rimpang, ataupun kulit batang (Harnok, 1992).

Firman Allah:

وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”(Qs. Luqman :10)

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik, oleh karena itu manusia hendaknya memperhatikan hal tersebut. Tumbuhan yang baik yang dimaksud dalam ayat di atas bukan hanya tumbuhan yang sehat dan bagus akan tetapi baik juga diartikan bahwa tumbuhan tersebut memiliki manfaat bagi manusia. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat adalah tumbuhan yang dapat memberikan dampak baik bagi kesehatan tubuh manusia (Syifaiah, 2008).

Salah satu jenis tumbuhan yang baik ialah tumbuhan yang berkhasiat obat yang terdapat di Indonesia ialah *Centella asiatica* (L.) Urban, yang dikenal sebagai pegagan, antanan, atau daun kaki kuda (Handayani, 2010). Herba pegagan (*C.asiatica*) (L.) Urban merupakan tanaman obat yang hampir selalu digunakan pada industri jamu tradisional di Indonesia. Komposisi penggunaannya beragam untuk setiap merek jamu, berkisar antara 5%-25% (Prihastani, 2001).

Pegagan sering dianggap sebagai gulma yang kurang diperhatikan manfaatnya, padahal secara empiris pegagan mengandung sejumlah senyawa yang

banyak digunakan sebagai bahan simplisia obat. Pegagan mengandung berbagai kandungan metabolit sekunder yang termasuk ke dalam triterpenoid glikosida diantaranya adalah asiatikosida, medekasosida, asam asiatik, asam medekasosida (Prabowo, 2002). Pegagan mengandung banyak metabolit sekunder penting, terutama asiatikosida dan madekasosida golongan triterpenoid (Kimura, 2008).

Pegagan mengandung berbagai metabolit sekunder yang sudah diketahui antara lain beberapa senyawa saponin termasuk asiatikosida (Matsuda, *et al.*, 2001). Senyawa bioaktif asiatikosida dapat mempercepat proses penyembuhan luka dan berguna dalam pengobatan kusta dan TBC (Mangas, *et al.*, 2008). Turunan asiatikosida dapat digunakan untuk terapi obat penyakit Alzheimer karena turunan ini telah terbukti berpotensi melindungi sel terhadap kematian sel  $\beta$ -amyloid. Asiatikosida juga memiliki aktivitas antidepresan dan meningkatkan produksi granulosit untuk memperbaiki luka dan luka bakar (Kimura, 2008).

Madekasosida merupakan bahan aktif kosmetik yang digunakan sebagai anti penuaan. Penelitian tentang senyawa madekasosida telah dilakukan. Pemberian madekasosida pada dosis tinggi (12 dan 24 mg/kgBB) dapat menurunkan kadar nitrit oksida (NO) dan malondialdehid (MDA) pada jaringan kulit yang terbakar, sementara kadar reduksi glutathion (GSH) dan hidroksiprolin meningkat pada jaringan yang sama (Liu, 2008).

Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh secara konvensional yaitu dengan ekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Namun cara tersebut membutuhkan budidaya tanaman dalam skala besar sehingga mengalami kesulitan dalam

penyediaan tanaman, dan karena itu diperlukan lahan untuk mengembangkan tumbuhan tersebut. Disamping itu proses ekstraksi, isolasi, dan pemurniannya membutuhkan biaya mahal. Selain itu bila harus dibuat secara sintetik, harganya akan mahal karena struktur aktifnya sangat kompleks (Belandrin dan Klocke, 1988). Sehingga usaha-usaha untuk mendapatkan metabolit sekunder terus menerus dilakukan dan penelitian-penelitian dengan memanfaatkan kultur jaringan tanaman saat ini merupakan pilihan yang tepat untuk dikembangkan (Lenny, 2006).

Sejalan dengan berkembangnya teknik kultur jaringan maka semakin banyak penelitian yang dilakukan dengan metode tersebut. Selain digunakan untuk metode propogasi tumbuhan, teknik kultur jaringan juga dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder (Puspitasari, 2006). Salah satu upaya untuk menghasilkan metabolit sekunder dengan jumlah yang banyak adalah dengan teknologi kultur jaringan (Kristina *et al.*, 2007). Kultur jaringan telah lama digunakan sebagai metode untuk produksi metabolit sekunder dari tumbuhan. Kelebihan penggunaan kultur jaringan dalam produksi senyawa bioaktif dibanding dengan budidaya tanaman secara utuh antara lain adalah tidak adanya keterbatasan iklim, tidak memerlukan lahan yang luas, dan senyawa bioaktif dapat dihasilkan secara terus menerus dalam keadaan yang terkontrol (Collin dan Edward, 1998).

Selain itu kandungan metabolit sekunder yang diperoleh melalui kultur jaringan lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman lapang. Balandrin dkk., (1985) menerangkan bahwa ada lebih dari 30 metabolit sekunder yang dapat dihasilkan melalui kultur sel dengan tingkat konsentrasi yang jauh lebih tinggi dari tumbuhan

induknya. Hasil penelitian Kying (2008), menunjukkan bahwa secara *in vitro* tanaman pegagan mengandung total flavonoid tinggi yaitu ( $4456,9 \pm 287,5 \mu\text{g/g}$ ) dibandingkan dengan tanaman hidroponik yaitu ( $2401,0 \pm 148,4 \mu\text{g/g}$ ) dan tanaman di lapang yaitu ( $2323,5 \pm 376,8 \mu\text{g/g}$ ). Roostika (2007), juga melaporkan bahwa kandungan stigmasterol pada purwoceng secara *in vitro* lebih tinggi sekitar 10-100 kali lipat daripada akar tanaman dari lapangan yaitu sebesar (0,0356 ppm).

Menurut George dan Sherrington (1984), kultur kalus selain dapat digunakan untuk teknik perbanyakan tanaman, juga merupakan salah satu cara untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Kalus merupakan massa sel yang belum berdiferensiasi atau belum teroganisir, biasanya terbentuk diantara luka atau akibat kerja hormon auksin dan sitokinin. Adapun sel-sel yang membentuk kalus adalah berupa kumpulan sel-sel parenkim (Pierik, 1987).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* kalus. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus adalah auksin dan sitokinin. Pada penelitian ini hormon auksin yang digunakan adalah hormon 2,4-D sedangkan hormon sitokinin yang digunakan adalah air kelapa. 2,4-D merupakan auksin kuat yang sering digunakan secara tunggal untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (Bhojwani dan Razdan, 1996). Air kelapa merupakan senyawa organik yang sering digunakan dalam aplikasi teknik kultur jaringan. Hal ini disebabkan air kelapa mengandung 1,3-diphenilurea, zeatin, zeatin glukosida, dan zeatin ribosida. Air kelapa merupakan air alami steril yang

menganung kadar K dan Cl tinggi. Selain itu, air kelapa mengandung sukrosa, fruktosa, dan glukosa ( Kristina, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Tan (2010), pada pegagan (*C. asiatica*) menunjukkan bahwa pembentukan kalus maksimum (83,33%) terjadi pada eksplan daun yang ditumbuhkan dalam media dasar MS dengan 1mg/L 2,4-D. Sebagian besar kalus menutupi permukaan eksplan dan kalus berupa kalus remah dan hijau keputihan. Nazza (2013), melaporkan bahwa pemberian 1 mg/L 2,4-D + 10 % air kelapa pada media MS menghasilkan berat kalus terbaik sebesar 0,81 g dan persentase kalus sebesar 78,25% dan kalus yang terbentuk berwarna kekuningan dan bertekstur kompak. Hasil induksi kalus tersebut akan digunakan pada penelitian ini yang kemudian dilanjutkan dengan tahap subkultur.

Menurut Mattel dan Smith (1993), agar produksi metabolit sekunder tinggi maka perlu optimasi faktor-faktor internal dan eksternal. Optimasi faktor tersebut dapat dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pertumbuhan dan tahap produksi. Pada tahap pertumbuhan, kondisi kultur diarahkan untuk memproduksi biomassa sel dalam waktu dekat, sedangkan tahap produksi dilakukan pemindahan biomassa sel ke dalam medium produksi dengan tujuan pengkodisian kultur untuk produksi metabolit sekunder. Selain optimasi pada kedua tahap di atas, pendekatan lain yang dapat dilakukan secara efektif untuk meningkatkan produksi biomassa sel dan metabolit sekunder adalah penambahan perkusor (prazat), elistasi dan amobilisasi.

Produksi senyawa bioaktif melalui kultur jaringan dapat ditingkatkan dengan elisitasi. 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 (Vanconsuelo dan Boland 2007; Yoshikawa dan Sugimoto 1993). Senyawa yang berperan dalam proses elisitasi disebut elisitor. 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).

Elisitor merupakan stimulus fisika, kimia maupun biologi yang dapat menginduksi respon pertahanan pada tumbuhan (Heinstein, 1985). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Susilo (2007), menunjukkan bahwa ion logam merupakan elisitor abiotik yang potensial.

Elisitor yang digunakan dalam penelitian ini adalah ion logam  $Fe^{2+}$ . Menurut Canham dan Overtone (2003), besi adalah logam yang keberadaannya memiliki jumlah besar, pengolahannya relatif mudah dan murah, serta besi mempunyai sifat-sifat yang menguntungkan dan mudah dimodifikasi. Ion Logam  $Fe^{2+}$  merupakan salah satu hara yang sangat penting bagi tanaman karena Fe diperlukan dalam sintesis klorofil, memegang peranan penting dalam transfer energi, merupakan bagian dari beberapa enzim dan protein serta berfungsi dalam respirasi dan metabolisme tanaman juga terlibat dalam fiksasi nitrogen (Marschner, 1995) Unsur Fe pun menjadi aktivator enzim (Untung, 2008). Adanya besi (Fe) akan berperan dalam mengaktifkan

enzim-enzim dalam jalur pembentukan metabolit sekunder kelompok terpenoid, misalnya enzim DXP shynthase dan lain sebagainya.

Hasil penelitian Chen (2010), menunjukkan bahwa pemberian ion logam  $Fe^{2+}$  pada konsentrasi 100  $\mu M$  kultur akar *Salvia miltiorrhiza* dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder tanshinones. Tashinone termasuk kelompok metabolit sekunder dari golongan terpenoid yang memiliki beberapa efek farmakologi yaitu sebagai antibakteri, antioksidan, dan antineoplastik (Jing Wu, 2009).

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, maka dalam penelitian ini digunakan ion logam  $Fe^{2+}$  untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida pada kalus pegagan (*Centella asiatica* L. Urban).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian inia adalah:

1. Bagaimana pengaruh ion logam  $Fe^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap perkembangan kalus pegagan (*Centella asiatica*)?
2. Bagaimana pengaruh ion logam  $Fe^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica*)?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh ion logam  $\text{Fe}^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap perkembangan kalus pegagan (*Centella asiatica*).
2. Untuk mengetahui pengaruh ion logam  $\text{Fe}^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica*).

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh ion logam  $\text{Fe}^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap perkembangan kalus pegagan (*Centella asiatica*).
2. Ada pengaruh ion logam  $\text{Fe}^{2+}$  pada media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica*).

### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Memperluas ilmu pengetahuan dalam bidang kultur jaringan tumbuhan pegagan (*C.asiatica*).
2. Memberikan informasi teknologi produksi metabolit sekunder secara *in vitro* dengan metode elistasi menggunakan ion logam  $Fe^{2+}$ .
3. Hasil penelitian ini akan menjadi dasar penelitian selanjutnya.

### 1.6 Batasan Masalah

1. Penelitian menggunakan satu media yang seragam, yaitu media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan air kelapa.
2. Air kelapa yang digunakan adalah air kelapa muda, dengan cirri-ciri kulit kelapa berwarna hijau, daging buah tidak terlalu lunak dan tidak terlalu keras.
3. Kalus pegagan (*C. asiatica*) yang digunakan sebagai bahan subkultur berasal dari penelitian sebelumnya yaitu menggunakan perlakuan 1mg/L 2,4-D dengan 10 % air kelapa.
4. Elisitor yang digunakan adalah ion logam  $Fe^{2+}$ .
5. Parameter yang diamati adalah berat basah kalus, warna kalus, tekstur kalus dan kandungan metabolit sekunder asiatikosida dan madekasosida.
6. Tanaman pegagan berasal dari Materia Medika Batu-Malang.