



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi (*infectious disease*), yang juga dikenal sebagai *communicable disease* atau *transmissible disease* adalah penyakit yang terjadi akibat pertumbuhan agen biologik patogenik pada organisme *host* individu. Dalam hal tertentu, penyakit infeksi dapat berlangsung sepanjang waktu. Patogen penginfeksi meliputi virus, bakteri, jamur, protozoa, dan parasit multiseluler. Patogen-patogen ini merupakan penyebab epidemi penyakit (Wardani, 2012).

Dalam penanganan kasus penyakit infeksi, seperti pernafasan akut, TBC, meningitis dan malaria, antibiotik masih menjadi obat pilihan (Utami, 2012). Contoh antibiotik yang digunakan untuk penyakit TBC adalah isoniazid dan rifampicin. Antibiotik ditemukan sekitar delapan dekade lalu dan sejak itu telah terjadi revolusi dalam manajemen, pengobatan dan hasil untuk penyakit menular. Oleh karena itu, antibiotik adalah salah satu yang paling sering diresepkan, dijual dan digunakan di seluruh dunia. Penggunaan antibiotik, yang sesuai atau tidak sesuai, telah dijelaskan sebagai pendorong utama bagi munculnya, peningkatan dan penyebaran resisten antibiotik (Abimbola, 2013).

Permasalahan resistensi ini bukan hanya terjadi di Indonesia, tetapi telah menjadi masalah global. Hasil penelitian *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN-Study) dari 2.494 individu di masyarakat, 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain: ampisilin (34%), kotrimoksazol

(29%) dan kloramfenikol (25%) (Kemenkes, 2011). Hal inilah yang menyebabkan munculnya konsep "*Back to Nature*" yaitu penggunaan obat-obatan tradisional dari berbagai tanaman obat yang terdapat di lingkungan sekitar (Kadiman, 2006).

Saat ini pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat terus meningkat. Peningkatan kebutuhan akan bahan baku tersebut sejalan dengan kembalinya masyarakat memanfaatkan tumbuhan sebagai bahan obat alami (Amzu dan Haryanto, 1990). Penggunaan tanaman obat saat ini merupakan salah satu alternatif dalam bidang pengobatan karena manusia lebih memilih bahan alami yang diyakini mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetis (Yuliana, 2001). Kebutuhan akan bahan baku tanaman obat yang semakin meningkat membuka peluang masyarakat mencari tanaman baru yang memiliki khasiat pengobatan multifungsi yaitu tanaman yang dapat mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu tanaman yang dikembangkan dari tanaman hias menjadi tanaman obat adalah sirih merah (Oktaviani, 2012).

Daun sirih merah mengandung senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, polifenol, tannin, dan minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan polifenol bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Senyawa alkaloid di dalam daun sirih bersifat antineoplastik yang juga mampu menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Sudewo, 2005). Menurut Winarto (2007), daun sirih mengandung minyak atsiri 1-4,2%, hidrosikavikol, kavikol 7,2-16,7%, kavibetol 2,7-6,2%, allilfikatekol 0-9,6%, karvakrol 2,2-5,6%, eugenol 26,8-42,5%, eugenol metileter 4,2-15,8%, p-simen 1,2-2,5%, sineol 2,4-

15,8%, karyofilen 3-9,8%, kadinen 2,4-15,8%, estragol, terpen, seskuiterpen, fenilpropana, tanin, diastase 0,8-1,8%, gula, pati. Kadar eugenol dalam minyak atsiri daun sirih merah adalah 10,1129% (Nurhidayati *et al.*, 2012).

Saat ini metabolit sekunder dari sirih merah diperoleh dengan cara mengekstraksi daun sirih merah secara langsung, hal ini menyebabkan keterbatasan bahan baku sirih merah yang berada di alam. Menurut Fowler (1983), metabolit sekunder dapat dihasilkan melalui teknik kultur *in-vitro*. Teknik ini mempunyai keuntungan dalam produksi metabolit dibandingkan dengan tanaman utuh karena kecepatan pertumbuhan sel dan biosintesis dalam kultur yang diinisiasi dari eksplan sangat tinggi dan dalam periode yang sangat singkat. Beberapa keuntungan dari pemakaian teknik kultur *in-vitro* untuk produksi metabolit sekunder antara lain: tidak tergantung musim, sistem produksi dapat diatur sesuai kebutuhan, lebih konsisten, dan mengurangi penggunaan lahan (Watimena, 1992). Kultur *in-vitro* juga lebih ekonomis untuk tanaman yang memerlukan waktu lama untuk mencapai usia produktif. Teknik ini dapat menghasilkan metabolit sekunder dalam jaringan tanaman dan juga dalam sel-sel yang dipelihara pada media buatan secara aseptik (Fitriani, 2003). Keberhasilan kultur *in-vitro* dipengaruhi oleh genotipe tumbuhan, komposisi medium, zat pengatur tumbuh (ZPT) dan faktor-faktor fisik dalam pertumbuhan sel seperti cahaya dan suhu (Siregar *et al.*, 2006).

Metabolit sekunder bisa diperoleh melalui kultur kalus. Kalus adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi. Massa sel ini terbentuk di seluruh permukaan irisan eksplan, sehingga semakin luas permukaan irisan

eksplan semakin cepat dan banyak kalus yang terbentuk (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Metabolit yang dihasilkan dari kalus sering kali kadarnya lebih tinggi dari pada metabolit yang diambil langsung dari tanamannya.

Kalus adalah suatu metode kultur jaringan yang berpotensi tinggi dalam menyediakan metabolit sekunder. Kandungan metabolit sekunder dapat ditingkatkan produksinya, salah satunya dengan menggunakan teknik kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* dapat digunakan sebagai sarana penghasil senyawa metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses-proses biokimia yang terjadi pada tubuh tanaman secara utuh, sedang proses-proses tersebut juga terjadi pada kultur *in vitro*. Produksi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik genetik maupun kondisi lingkungan kultur. Adanya perbedaan kondisi lingkungan pertumbuhan antara kultur *in vitro* dan tumbuhan asalnya, memungkinkan suatu kultur jaringan tanaman mempunyai kandungan metabolit sekunder yang berbeda dengan tanaman asal (Hardianto *et al.*, 2004).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pembentukan kalus yang nantinya diharapkan dapat meningkatkan metabolit sekunder adalah dengan menambahkan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Menurut Payghamzadeh dan Kazemitabar (2010), penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan IBA memiliki efek yang sinergis dalam pembentukan kalus dan berat basah kalus. Hal serupa juga diungkapkan oleh Mohajer *et al.* (2012) dalam penelitiannya yang menggunakan kombinasi NAA, BAP dan IBA pada medium MS dan diperoleh kombinasi 2 mg/l BAP dan 1 mg/l IBA memberikan berat basah kalus

tertinggi dari eksplan daun Sainfoin (*Onobrychis sativa*). Ada beberapa tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder tertentu dapat ditingkatkan produksinya melalui kultur jaringan, tetapi pada beberapa tanaman yang lain, kultur jaringan justru tidak berhasil meningkatkan kandungan metabolit tanaman (Gunawan, 1992). Ekspresi metabolit sekunder pada tanaman yang dikulturkan selain tergantung dari jenis eksplan yang dipakai juga terkait dengan jenis dan konsentrasi dari zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media (Wardani *et al.*, 2004).

Pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) dapat mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder pada sel maupun kalus (Toruan *et al.*, 1990). Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang semakin tinggi menyebabkan laju pertumbuhan dan kandungan saponin di dalam kalus tanaman som jawa semakin meningkat (Wardani *et al.*, 2004). Penelitian yang dilakukan Heryanto *et al.* (2014) terhadap kalus tanaman *Stevia rebaudiana* yang menggunakan kombinasi hormon IBA 2 mg/l + BAP 2 mg/l memberikan rerata kadar steviosida terbesar yaitu 19,537 µg. Menurut Abidin (1982), zat pengatur tumbuh dapat mengatur proses-proses fisiologi tanaman karena zat pengatur tumbuh mempengaruhi sintesis protein dan mengatur aktivitas enzim. Zat pengatur tumbuh mempengaruhi metabolisme asam nukleat yang berperan dalam sintesis protein dan mengatur aktivitas enzim untuk pertumbuhan tanaman.

Penelitian ini menggunakan zat pengatur tumbuh dari jenis auksin berupa *Indole Butyrik Acid* (IBA) dan sitokinin berupa *Benzylaminopurin* (BAP). Pemberian *Indole Butyrik Acid* (IBA) secara eksogen diharapkan dapat

memenuhi kebutuhan hormon auksin dalam eksplan, yang nantinya dapat memacu kerja enzim dalam proses metabolisme. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif usaha peningkatan produksi metabolit sekunder sebagai bahan baku obat dengan cara menginduksi pertumbuhan kalus yang menghasilkan metabolit sekunder berkadar tinggi dibandingkan dengan produksi tanaman utuh.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah sebagai berikut :

1. Apakah variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP berpengaruh terhadap lama waktu induksi kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.)?
2. Apakah variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP berpengaruh terhadap berat basah dan kering kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.)?
3. Bagaimana morfologi kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) setelah pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP?
4. Berapa variasi konsentrasi terbaik kultur kalus setelah pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP?

5. Senyawa apa sajakah yang memiliki luas area tertinggi yang teridentifikasi pada ekstrak kalus sirih merah setelah pemberian zat pengatur tumbuh IBA dan BAP dengan metode analisis GCMS?

1.3 Asumsi Penelitian

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan tanaman untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel, dan organ (Gunawan, 1988). Auksin mempengaruhi plastisitas dinding sel sehingga memungkinkan pembesaran sel (Wattimena, 1991). Auksin juga berperan dalam merangsang pembelahan (George dan Sherrington, 1984). Zat pengatur tumbuh IBA merupakan salah satu auksin yang dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dan unsur hara juga meningkat sehingga terjadi pemanjangan sel (Wulandari *et al.*, 2013).

Sitokinin adalah kelompok senyawa organik yang menyebabkan pembelahan sel. Pengaruh sitokinin dalam kultur jaringan tanaman antara lain mendukung proses pembelahan sel, proliferasi tunas, penghambatan pertumbuhan akar. Sitokinin yang sering digunakan dalam metode kultur jaringan adalah BAP, hal ini dikarenakan sifat BAP yang stabil (tahan terhadap degradasi), mudah diperoleh, murah dan lebih efektif dibandingkan kinetin (Nisak *et al.*, 2012).

Penelitian yang dilakukan Mulyono (2010) pada tanaman gaharu (*Aquilaria cumingiana*) dengan menggunakan kombinasi IBA dan BAP berpengaruh pada pembentukan kalus pada semua taraf perlakuan. Dengan demikian diasumsikan bahwa variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan

BAP berpengaruh terhadap induksi kalus dan produksi metabolit sekunder tanaman sirih merah.

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis Kerja

Jika zat pengatur tumbuh IBA dan BAP memiliki pengaruh terhadap kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) maka zat pengatur tumbuh IBA dan BAP dengan variasi konsentrasi berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap Lama waktu terbentuknya kalus (hari), berat basah kalus (mg) dan berat kering kalus (mg), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

1.4.2 Hipotesis Statistik

H_0 : Tidak ada pengaruh pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap waktu induksi kalus (hari), berat basah kalus (mg), dan berat kering kalus (mg), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

H_1 : Ada pengaruh pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap waktu induksi kalus (hari), berat basah kalus (mg), dan berat kering kalus (mg), morfologi kalus (tekstur dan warna) dan hasil analisis kandungan senyawa sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).

1.5 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap lama waktu induksi kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap berat basah dan kering kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
3. Mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap morfologi kalus pada kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
4. Mengetahui variasi konsentrasi terbaik zat pengatur tumbuh IBA dan BAP terhadap kultur eksplan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.).
5. Mengetahui senyawa dengan luas area tertinggi yang teridentifikasi pada ekstrak kalus sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) setelah pemberian zat pengatur tumbuh IBA dan BAP dengan metode analisis

penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan dalam usaha untuk mengembangkan produksi metabolit sekunder yang berasal dari tanaman.