

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

**1.1. Latar Belakang Masalah**

Tanaman merupakan sumber penghasil senyawa metabolit sekunder yang dapat dijadikan bahan obat untuk kebutuhan industri farmasi. Beberapa tahun terakhir, pemanfaatan obat dari tanaman terus meningkat di seluruh dunia (Mosihuzzaman, 2012). Menurut WHO, 80% penduduk negara berkembang dan 60% penduduk dunia masih bergantung pada obat dari tanaman untuk mengatasi permasalahan utama kesehatan mereka (Mahajan, *et al.*, 2020). Bahan obat dari tanaman dapat diperoleh melalui ekstraksi langsung kandungan metabolit sekunder dari seluruh bagian tanaman.

Metabolit sekunder merupakan produk dari metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh tanaman untuk kepentingan pertahanan terhadap suatu sinyal asing yang bersifat patogenik yang dapat mengaktifkan kerja gen dalam memproduksi senyawa metabolit yang dikehendaki (Taiz dan Zeiger, 2002). Metabolit sekunder tidak memiliki peran penting dalam pemeliharaan proses kehidupan fundamental tanaman. Metabolit sekunder berperan dalam mekanisme pertahanan tanaman, menginduksi karakteristik warna, persinyalan, dan membantu tanaman untuk menjaga keseimbangan dengan lingkungan luar (Srivastav, *et al.*, 2020). Produksi metabolit sekunder tanaman sangat rendah yakni kurang dari 1% berat kering dan produksinya tergantung pada tahap fisiologi dan perkembangan tanaman (Bourgaud, *et al.*, 2001; Thakur, *et al.*, 2019).

Salah satu contoh metabolit sekunder yang bermanfaat dalam bidang kesehatan adalah senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa yang bersifat amfifilik dengan adanya struktur rantai aglikon yang larut dalam lemak dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik yang larut dalam air (Oleszek, 2002). Saponin bermanfaat sebagai imunomodulator (Sarikahya, *et al.*, 2018), moluskisida (Castillo-Ruiz, *et al.*, 2018), antiinflamasi (Li, *et al.*, 2019), antifungi (Soberón, *et al.*, 2017), antibakteri (Zhao, *et al.*, 2020), antitumor dan antikanker (Ma, *et al.*, 2019), serta antivirus (Pu, *et al.*, 2015).

Adapun tanaman obat tradisional di Indonesia yang memiliki kandungan saponin, di antaranya *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. yang lebih dikenal dengan ginseng Jawa atau som Jawa. Tanaman ini tergolong dalam famili Portulacaceae yang memiliki struktur akar yang menggembung seperti akar *Panax ginseng* dan berkhasiat menjaga sirkulasi darah (Tolouei, *et al.*, 2019), sebagai tonikum aktivitas estrogenik (Thanamool, *et al.*, 2013), sebagai imunomodulator (Puspitaningrum, *et al.*, 2018), sebagai obat kuat atau afrodisiak, bermanfaat untuk menguatkan paru-paru, memperlancar masa haid, mengatasi kondisi badan lemah, nyeri lambung, keputihan dan diare (Hidayat, 2005). Selain dari organ akar, khasiat dari *T. paniculatum* juga dapat diperoleh dari organ lainnya. Organ daun *T. paniculatum* bermanfaat sebagai antibakteri (Patel, *et al.*, 2018), antifungi (Setyowati dan Setyani, 2019), mengatasi nosisepsi dan edema (Ramos, *et al.*, 2010), mengatasi penyakit pada sistem reproduksi (Tolouei, *et al.*, 2020), berperan dalam aktivitas sitotoksik (Dos Reis, *et al.*, 2015) dan sebagai antioksidan (Lestario, *et al.*, 2009). Kandungan saponin *T. paniculatum* juga lebih tinggi dibandingkan jenis ginseng jawa yang lain yakni *T. triangulare* atau kolesom (Hernani, *et al.*, 2017; Setyowati dan Setyani, 2019). Akar *T.*

*paniculatum* juga mengandung glikosida saponin yang dapat ditemukan di akar ginseng Korea (Wijaya, *et al.*, 2020).

Banyaknya manfaat yang diperoleh dari senyawa saponin yang terakumulasi pada organ akar *T. paniculatum* mendorong manusia untuk melakukan kegiatan eksplorasi tanaman secara berkelanjutan. Akan tetapi, eksplorasi yang dilakukan dapat mengancam ketersediaan tanaman di alam. Di samping itu, pertumbuhan akar *T. paniculatum* sangat lambat di habitat aslinya yaitu sekitar 2-3 tahun untuk memperoleh lebih dari 100 g akar per tanaman. Selain itu, diketahui bahwa kadar saponin akar *T. paniculatum* umur 3 bulan yang dibudidayakan secara konvensional lebih rendah dibandingkan akar yang ditanam secara *in vitro* selama 28 hari (Manuhara, *et al.*, 2015). Oleh karena itu, diperlukan teknologi kultur akar yang bertujuan untuk menjaga kelestarian tanaman dan meningkatkan senyawa berkhasiat terutama senyawa saponin yang terakumulasi dalam organ akar.

Teknik budidaya tanaman untuk mendapatkan biomassa dan metabolit sekunder yang melimpah dalam waktu yang relatif lebih cepat, yaitu dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan (Nartop, 2018). Beberapa keuntungan teknik kultur jaringan, di antaranya senyawa tertentu dapat diproduksi di bawah kondisi yang terkontrol; senyawa lebih mudah direproduksi; produk senyawa menjadi lebih konsisten, baik kualitas dan kuantitas; senyawa dapat dikembangkan melalui teknik tertentu untuk membentuk senyawa baru yang tidak ditemukan di tanaman induk; dan senyawa diproduksi tidak tergantung pada kondisi lingkungan seperti geografi, iklim dan musim (Nurokhman, *et al.*, 2019). Metabolit sekunder dapat ditingkatkan dengan memanipulasi lingkungan, salah satunya dengan penambahan suatu sinyal asing yang disebut elisitor. Penggunaan elisitor mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder dalam jumlah besar dengan meminimalkan

biaya produksi. Strategi ini dapat menjadi alternatif untuk produksi senyawa obat dalam skala besar (El-Mekawy, *et al.*, 2018).

Salah satu jenis elisitor yang dapat menstimulasi produksi biomassa dan peningkatan kandungan saponin yang tinggi adalah metil jasmonat. Metil jasmonat adalah senyawa alami yang diproduksi tanaman yang berperan dalam mengatur penuaan dan mampu menginduksi terbentuknya protein yang menghambat proteinase saat tanaman mengalami luka akibat serangan dari patogen (Manuhara, 2014). Metil jasmonat banyak digunakan untuk memodulasi proses fisiologi tanaman seperti respon pembungaan, penuaan dan pertahanan serta sebagai senyawa sinyal dalam proses elisitasi yang mengarah ke akumulasi metabolit sekunder. Lambert, *et al.* (2011) menambahkan bahwa metil jasmonat merupakan elisitor yang paling penting digunakan sebagai *inducer* dalam produksi triterpen saponin.

Beberapa penelitian telah dilakukan terkait aplikasi metil jasmonat untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder. Penggunaan metil jasmonat sebagai elisitor mampu meningkatkan akumulasi metabolit sekunder, di antaranya senyawa dopamin pada kultur akar rambut *Portulaca oleracea* (Moghadam, *et al.*, 2013), artemisin pada kultur suspensi sel *Artemisia absinthium* (Ali, *et al.*, 2015), dan kombinasi metil jasmonat bersama  $\beta$ -siklodekstrin dapat meningkatkan akumulasi ajmalisin pada kultur suspensi sel *Catharanthus roseus* (Almagro, *et al.*, 2011) dan meregulasi biosintesis TIA atau *terpenoid indole alkaloid* pada kultur sel meristem kambium *C. roseus* (Zhou, *et al.*, 2015). Pada penelitian yang menggunakan beberapa jenis elisitor, seperti putresin, spermin, spermidin, kalsium klorida dihidrat, kasein hidrolisat, *malt extract*, *pineapple extract*, *yeast extract*, air kelapa, asam jasmonat, titanium askorbat, dan titanium sitrat telah membuktikan

bahwa hasil terbaik diperoleh dari penggunaan asam jasmonat 50 mg/L yang dapat meningkatkan akumulasi senyawa bioaktif utama pada *Panax ginseng* berupa triterpen saponin yang disebut ginsenosida Rb1 di bagian akar adventifnya saat dikultur selama 28 hari (Marsik, *et al.*, 2014). Penelitian lain penggunaan metil jasmonat dilaporkan oleh Kochan, *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa kandungan total saponin tertinggi pada kultur akar rambut *Panax quinquefolium* diperoleh pada perlakuan metil jasmonat 250  $\mu$ M/L selama 7 hari. Penelitian pada kultur akar adventif *T. paniculatum* yang dilakukan oleh Faizal dan Sari (2019) menyatakan bahwa jumlah saponin tertinggi diperoleh dari perlakuan 0,2 mM metil jasmonat selama 15 hari yakni sebesar 30 mg/g.

Pemanfaatan elisitor lebih banyak diaplikasikan pada teknik budidaya secara *in vitro* menggunakan kultur jaringan atau organ. Adapun teknologi yang digunakan dalam sistem budidaya secara *in vitro*, di antaranya penggunaan bioreaktor. Aplikasi kultur pada bioreaktor merupakan suatu terobosan dari teknologi yang lebih efisien dalam memproduksi metabolit sekunder yang mana kultur ditempatkan dalam suatu bejana dengan sistem yang mengatur durasi asupan nutrisi yang mengenai eksplan sehingga eksplan tidak mengalami vitrifikasi maupun hiperhidrisitas (Cui, *et al.*, 2010; Manuhara, *et al.*, 2017). Penggunaan bioreaktor pada sistem kultur sel dan kultur organ tanaman memberikan banyak keuntungan dibandingkan kultur jaringan pada umumnya. Hal ini dikarenakan kondisi kultur dalam bioreaktor dapat dioptimalkan dengan memanipulasi suhu, pH, konsentrasi oksigen, karbon dioksida dan nutrisi dalam media dengan waktu yang ditentukan. Selain itu, produksi bioreaktor di seluruh dunia telah meningkat lebih dari 2 kali lipat selama dekade terakhir dan saat ini menyuplai sepertiga dari metabolit sekunder yang dikonsumsi di seluruh dunia (Sivakumar, *et al.*, 2005; Wang, *et al.*, 2013).

Bioreaktor memiliki jenis yang bermacam-macam, salah satu di antaranya adalah bioreaktor bergelembung tipe balon (BBTB). Jenis bioreaktor ini didesain efektif untuk diaplikasikan pada kultur akar adventif karena memberikan banyak keuntungan dibandingkan dengan sistem kultur jaringan secara tradisional, di antaranya mampu mengontrol parameter kondisi kultur, dan dapat mengoptimisasi konsentrasi dan penyerapan nutrisi pada kultur akar adventif (Baque, *et al.*, 2012). Penelitian terkait aplikasi BBTB untuk produksi biomassa dan metabolit sekunder telah dilakukan pada kultur akar adventif tanaman *Hypericum perforatum* (Cui, *et al.*, 2010), *Astragalus membranaceus* (Wu, *et al.*, 2011), *Panax ginseng* (Marsik, *et al.*, 2014), *Talinum paniculatum* (Manuhara, *et al.*, 2015), dan *Gynura procumbens* (Faizah, *et al.*, 2018).

Riset mengenai kultur tanaman *T. paniculatum* dengan aplikasi pemanfaatan elisitor untuk peningkatan biomassa dan kadar saponin telah dilakukan oleh beberapa peneliti, di antaranya penggunaan elisitor ekstrak *Saccharomyces cerevisiae* dan  $\text{CuSO}_4$  pada kultur kalus menggunakan media padat (Santoso, 2012), elisitor ekstrak *S. cerevisiae* pada kultur akar adventif menggunakan media padat (Rohman, 2015), elisitor  $\text{CuSO}_4$  pada kultur akar adventif menggunakan media padat (Laraswati, 2013), elisitor  $\text{CuSO}_4$  pada kultur akar adventif menggunakan media cair (Illah, 2019), elisitor metil jasmonat pada kultur akar adventif menggunakan media padat (Larasati, 2019), serta elisitor metil jasmonat dan asam salisilat pada media cair (Faizal dan Sari, 2019).

Perlakuan elisitasi yang diberikan pada tanaman akan direspon sebagai bentuk sinyal cekaman sehingga tanaman akan melakukan mekanisme pertahanan untuk dapat beradaptasi pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan akibat dari adanya elisitor. Adapun respon yang ditunjukkan oleh tanaman akibat dari pemberian elisitor

berupa kandungan biomassa, kadar metabolit sekunder, respon morfologi dan respon fisiologi. Biomassa tanaman merupakan parameter yang menunjukkan bahwa tanaman mengalami pertumbuhan sehingga menghasilkan akumulasi massa. Biomassa dapat diukur dari berat segar dan berat kering tanaman (Nartop, 2018). Tanaman yang diberi perlakuan elisitasi memperlihatkan respon stres dengan mengalami peningkatan atau penurunan biomasanya. Selain biomassa, tanaman juga melakukan mekanisme pertahanan terhadap pemberian elisitor dengan memproduksi metabolit sekunder. Tujuannya adalah untuk mempertahankan diri dari cekaman lingkungan. Adapun peningkatan kadar metabolit sekunder dengan perlakuan menggunakan elisitor dapat ditinjau dari beberapa faktor, di antaranya jenis elisitor, konsentrasi elisitor, waktu penambahan elisitor, dan lama waktu elisitasi yang menunjukkan perbedaan pengaruh dibandingkan dengan kontrol (Patel dan Krishnamurthy, 2013). Dari beberapa faktor di atas, pemberian elisitor yang optimal dapat menyebabkan akumulasi metabolit sekunder semakin tinggi.

Pemberian elisitor juga memberikan dampak pada kondisi morfologi tanaman di antaranya diameter akar, ada tidaknya rambut akar, calon akar dan percabangan akar lateral. Diameter akar memegang peranan penting dalam perkembangan dan fungsi akar. Adanya pertumbuhan dan perkembangan akar diindikasikan dengan panjang akar tertentu yang akan mempengaruhi diameter akar. Laju pertumbuhan akar yang tinggi akan mengakibatkan akar menjadi lebih panjang dengan diameter yang lebih besar. Diameter akar juga berhubungan dengan penyimpanan biomassa tanaman yang terletak di akarnya. Semakin besar diameter akar akan menunjukkan biomassa yang tersimpan pada akar juga lebih tinggi (Wu, *et al.*, 2016). Asupan nutrisi yang banyak juga dapat mempengaruhi diameter akar yang semakin besar (Lynch, *et al.*, 2014). Selain itu, pertumbuhan akar yang

baik ditunjukkan pada penyerapan nutrisi oleh rambut akar yang tumbuh mengelilingi permukaan akar dan nutrisi tersebut dapat diproses menjadi produk bagi sel atau jaringan akar sehingga terbentuk calon akar dan percabangan akar lateral. Pertumbuhan calon akar dan akar lateral menunjukkan bahwa akar tumbuh dan mampu merespon adanya nutrisi dan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media pertumbuhan (Kim, *et al.*, 2003).

Perlakuan elisitasi juga berpengaruh pada respon fisiologi tanaman. Adanya stres akibat elisitor berhubungan dengan kadar malondialdehid (MDA) dan kadar prolin pada sel tanaman. Dalam kondisi stres, sel tanaman akan memproduksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang dapat meningkatkan peroksidasi lipid serta menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Adapun hasil dari peroksidasi lipid adalah kadar MDA pada sel. Semakin tinggi kadar MDA, semakin buruk kerusakan pada sel tanaman (Niu dan Liao, 2016). Ketika kondisi sel tanaman mengalami kerusakan, maka sel akan memproduksi asam amino prolin sebagai bentuk pertahanan jaringan. Prolin mampu menetralkan, menghilangkan atau mengubah ROS, mengelola homeostasis ROS dan keseimbangan redoks seluler (Soares, *et al.*, 2019). Tingginya kadar prolin sebagai kompensasi untuk menyeimbangkan kondisi sel akibat kerusakan sel yang ditandai oleh tingginya kadar MDA.

Dari uraian di atas, penelitian terkait pengaruh lama waktu elisitasi metil jasmonat terhadap biomassa dan produksi senyawa saponin dari kultur akar adventif *T. paniculatum* dalam BBTB belum dilakukan. Untuk itu, dirancang penelitian dengan tahapan sebagai berikut: pertama-tama akar adventif *T. paniculatum* dikultur pada media cair di erlenmeyer sistem *shake flask*. Pada usia 4 minggu kultivasi, akar adventif dipindahkan ke BBTB skala 1 L berisi media MS yang ditambah IBA 2 mg/L, sukrosa 30 g/L dan metil jasmonat 0,2

mM. Akar adventif diberi perlakuan variasi lama waktu elisitasi metil jasmonat (0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu). Akar adventif dipanen dan dilakukan pengamatan biomassa segar, biomassa kering, morfologi akar, kadar saponin, kadar MDA dan kadar prolin. Pengukuran kadar saponin, MDA dan prolin dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

## 1.2. Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan berikut.

1. Bagaimana pengaruh lama waktu elisitasi metil jasmonat terhadap biomassa dan kadar saponin kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dalam bioreaktor bergelembung tipe balon?
2. Bagaimana pengaruh lama waktu elisitasi metil jasmonat terhadap kondisi morfologi dan fisiologi kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dalam bioreaktor bergelembung tipe balon?

## 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh lama waktu elisitasi metil jasmonat terhadap biomassa dan kadar saponin kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dalam bioreaktor bergelembung tipe balon.
2. Mengetahui pengaruh lama waktu elisitasi metil jasmonat terhadap kondisi morfologi dan fisiologi kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dalam bioreaktor bergelembung tipe balon.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pertumbuhan biomassa, kondisi morfologi dan fisiologi, serta produksi saponin kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dan menganalisis peningkatan kadar saponin sebagai salah satu senyawa utama yang terdapat pada akar adventif *T. paniculatum* dengan pemanfaatan elisitor metil jasmonat dalam bioreaktor bergelembung tipe balon.

### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) dengan pemanfaatan elisitor metil jasmonat dalam bioreaktor bergelembung tipe balon dapat menjadi salah satu teknik produksi senyawa metabolit khususnya saponin pada akar *T. paniculatum* untuk keperluan bahan obat, sehingga dapat bermanfaat bagi pengembangan produksi skala besar dan peningkatan nilai komersial akar tanaman *T. paniculatum* di masa yang akan datang.