

BAB I

PENGANTAR

1.1. Latar Belakang Penelitian

Minyak atsiri merupakan minyak nabati yang menghasilkan aroma khas, dapat diperoleh dari berbagai tanaman berbunga di Indonesia, satu di antaranya berasal dari bunga mawar. Di Indonesia berkembang aneka jenis tanaman bunga mawar yang berasal dari Belanda. Tanaman ini berkembang menyesuaikan kondisi lingkungan Indonesia, sehingga mawar ini menjadi jenis mawar lokal, yang berasal dari varietas *hybride tea*. Mawar ini memiliki variasi warna bunga cukup banyak, mulai putih sampai merah dengan tingkat produktivitas tinggi : $12 - 28 \times 10^5$ kuntum bunga/ha/tahun. Kelebihan varietas mawar ini terletak pada daya tahan bunganya dan warnanya menarik (Ercisli, 2005).

Ekstraksi minyak atsiri bunga mawar selama ini dilakukan melalui proses penyulingan mahkota bunga. Berdasarkan teori totipotensi, seluruh organ mawar biasanya mengandung minyak atsiri, tetapi kadarnya relatif sangat rendah (kurang dari 0,31 %) bila dibandingkan mahkota bunga mawar. Hasil analisis KG-SM kandungan *citronellol* pada daun mawar lokal 0,096 %. Minyak atsiri bunga mawar yang dimanfaatkan dalam industri parfum pada umumnya hanya berasal dari mahkota bunga mawar. Kandungan minyak atsiri mawar tersusun atas 75 % terdiri atas *geraniol* dan *citronellol* yang dominan menentukan aroma wangi bunga mawar serta *rose champor* (atau parafin tanpa bau), sisanya 25 % mengandung senyawa *nerol*, *linalool*, *phenyl ethyl alcohol*, *farnesol*, *stearoptene*, *α -pinene*, *β -pinene*, *α -terpinene*, *limonene*, *p-cymene*, *camphene*, *β -caryophyllene*, *neral*, *citronellyl acetate*, *geranyl acetate*, *neryl acetate*, *eugenol*, *methyl eugenol*, *rose oxide*, *α -damascenone*, *β -damascenone*, *benzaldehyde*, *benzyl alcohol*, *rhodinyl acetate*, *phenyl ethyl formate* (Yulianingsih *et al.*, 2006; Shawl and Adams, 2009). Kebutuhan mahkota bunga sebagai bahan baku minyak atsiri bersaing dengan kebutuhan mawar sebagai bunga potong. Untuk memenuhi kebutuhan bunga mawar biasanya terkendala, terkait kondisi lingkungan, musim/cuaca yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan produktivitas bunga.

Mengingat kebutuhan akan mahkota bunga yang beragam maka peneliti menggunakan daun pucuk sebagai bahan tanam, disamping itu daun pucuk merupakan bagian yang meristematis juga merupakan tempat produksi minyak atsiri.

Yulianingsih *et al.*, (2006) menyatakan bahwa mawar merah lokal Cipanas Jawa Barat mengandung *citronellol* 27,23 % dan *geraniol* 16,18 %. Hasil penelitian Ribkahwati *dkk.*, (2013) mendapatkan bahwa mawar varietas *hybride tea purple* di Seleka kota Batu mengandung *citronellol* 21,73 % dan *geraniol* 0,18 % dari total komponen minyak atsiri. Menurut Baydar (2006) kadar ini sangat rendah jika dibandingkan *citronellol* (35,1 %) dan *geraniol* (17,9 %) dari *Rosa damascena* Mill. Salah satu terobosan untuk mengatasi kesulitan memperoleh bunga mawar dengan kandungan *citronellol* dan *geraniol* sesuai standar mutu minyak mawar dilakukan melalui pengembangan teknik kultur jaringan (KJ) dan teknik elisitasi. Penelitian tentang KJ tanaman mawar untuk memperoleh kondisi tanaman yang mudah dikendalikan spesifikasinya telah dilakukan (Hameed *et al.*, 2006; Baig *et al.*, 2011). Pengembangan kalus dari daun pucuk mawar untuk optimasi produksi minyak atsiri dan elisitasi belum pernah dilaporkan. Kandungan minyak atsiri mawar untuk Indonesia belum ada standarnya. Standar Nasional Indonesia yang ada hanyalah untuk mutu mawar sebagai bunga potong. Standar bunga potong (SNI 01-4492-1998) : 1). Berasal dari tanaman yang berumur 3-4 bulan setelah okulasi yang ditumbuhkan pada lahan dengan pH tanah 5,6-6,5 pada dataran tinggi 900-1400 m dpl dengan suhu minimal 16-18°C dan maksimal 28-30°C, kelembapan 70-80 %, serta curah hujan 1500-3000 mm/th; 2). Panjang tangkai 2-3 mata tunas, diameter bunga, jumlah kuntum pertangkai, warna, kesegaran dan keseragaman bunga potong mekar 80 % (Wediyanto *et al.*, 2009).

Standarisasi ini sangat penting untuk menghasilkan karakteristik produk dan penentu mutu (kualitas dan kuantitas) minyak atsiri mawar, sehingga mampu bersaing secara internasional. Dalam penelitian ini belum dapat dilakukan standarisasi karena kandungan minyak atsiri mawar yang dihasilkan sangat sedikit sehingga hanya mampu dilakukan profil menggunakan analisis KG-SM.

Kromatografi gas-spektrometer massa adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analit/sampel (Hites, 2015).

Kelemahan budidaya mawar secara konvensional yang selama ini menjadi kendala adalah : kondisi kesuburan tanah, pH tanah, ketinggian tempat, suhu, kelembaban, curah hujan dan musim yang ada di Indonesia. Di samping itu kandungan *citronellol* dan *geraniol* yang rendah pada mahkota bunga dan bersaing dengan kebutuhan bunga potong.

Dalam upaya meningkatkan kandungan minyak atsiri mawar di Indonesia dilakukan penelitian teknik Kultur Jaringan (KJ) dengan memanfaatkan daun pucuk tanaman mawar. Untuk peningkatan kandungan minyak atsiri dilakukan melalui teknik elisitasi menggunakan cahaya. Diharapkan melalui teknik elisitasi ini peningkatan kandungan minyak atsiri mawar dapat menyamai bahkan melebihi kandungan dari mahkota bunga mawar.

Budidaya tanaman melalui KJ terutama untuk tujuan produksi mempunyai keuntungan dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder, bahkan dari metabolit yang semula tidak ditemukan dalam tanaman induknya, dapat terbentuk melalui teknik kultur jaringan dengan penambahan senyawa-senyawa yang merupakan prekursor pembentuk senyawa metabolit sekunder tersebut (Taji *et al.*, 2002).

Produksi metabolit sekunder dengan teknik KJ tanaman sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor (Harnelly *et al.*, 2006; Ghasemzadeh *et al.*, 2010; Pudyastuti *et al.*, 2012) antara lain faktor genetik dan faktor lingkungan (cahaya, suhu, pH media, aerasi, tekanan osmotik, jenis dan jumlah nutrisi). Faktor-faktor ini dapat dimanipulasi untuk menghasilkan produk KJ dan senyawa yang diinginkan dalam jumlah maksimal (Namdeo, 2007; Karmawan and Souhuwat, 2010). Ekspresi senyawa metabolit sekunder tergantung pada tahap-tahap perkembangan organisme yang menghasilkan senyawa tersebut. Diferensiasi sel menentukan hasil sintesis senyawa metabolit sekunder (Ramawat, 2008).

Pada kultur *in vitro*, produksi metabolit sekunder berhubungan dengan diferensiasi sel atau jaringan yang dikulturkan. Meskipun metabolit sekunder berhasil diproduksi

oleh sel dan seluruh bagian tanaman, tetapi jumlah senyawa tersebut variatif, bahkan kadang-kadang lebih rendah dari pada hasil penanaman secara konvensional di alam terbuka. Sebagai contoh, kandungan senyawa *vinblastin* dan *vincristin* pada daun *Cataranthus roseus* lebih tinggi bila dihasilkan melalui kultur jaringan dibandingkan cara konvensional (Namdeo, 2007).

Elisitasi adalah suatu metode untuk menginduksi pembentukan fitoaleksin, metabolit sekunder yang telah ada atau metabolit sekunder lain yang secara normal tidak terakumulasi di dalam tanaman (Pereira *et al.*, 2000). Menurut Ramawat (2008), elisitasi merupakan proses penambahan elisitor dengan tujuan untuk menginduksi dan meningkatkan pembentukan metabolit sekunder.

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan ataupun untuk elisitasi. Komposisi media yang digunakan tergantung pada jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan umumnya terdiri dari garam-garam mineral, vitamin dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Media Murashige and Skoog (MS) sering digunakan dalam kultur jaringan, karena kandungan yang memenuhi kebutuhan unsur hara makro, mikro dan vitamin dalam media selama dua sampai tiga bulan (Marlina, 2004). Hasil penelitian Vu *et al.* (2006) diketahui bahwa kebutuhan ZPT bagi pertumbuhan kalus *Rosa hybrida tea* adalah 0,1 ppm NAA dan 3 ppm BAP.

Penelitian ini menggunakan elisitor cahaya (waktu dan intensitas) dengan tujuan untuk meningkatkan metabolit sekunder pada kalus daun pucuk mawar yang selama ini belum pernah dilakukan. Penggunaan elisitor cahaya pernah dilakukan oleh beberapa peneliti pada beberapa jenis tanaman. Hasil penelitian Samsumaharto (2009) menunjukkan adanya peningkatan kandungan *saponin* pada kalus tembakau lebih banyak pada perlakuan terang dibandingkan dengan kondisi gelap. Muzaki *et al.* (2008) berhasil meningkatkan kandungan *astaxantin* yang berasal dari kultur mikro alga *Haematococcus pluvialis* dengan induksi UV selama 3 jam dan dilanjutkan dengan intensitas cahaya tinggi. Siregar *et al.* (2010) berhasil meningkatkan kandungan alkaloid *canthinone* dalam kultur suspensi sel pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dengan intensitas cahaya 1525 lux. Menurut Taji *et al.* (2002) penyinaran kultur biasanya

membutuhkan panjang atau lama penyinaran berkisar 10–24 jam. Lama penyinaran optimal adalah 16 jam.

Secara alami, hubungan antara pencahayaan sangat erat dengan produktivitas dan kualitas bunga mawar. Produktivitas fotosintesis akan meningkat apabila diberikan pencahayaan 100 % (12 jam pencahayaan), hasil fotosintesis ini akan digunakan untuk pertumbuhan generatif (fase pembungaan). Kualitas bunga mawar akan mencapai komoditas ekspor sesuai SNI 01–4492–1998. Derajat keharuman bunga mawar ditentukan oleh *performance citronellol* dan *geraniol* (Wedyanto *et. al.*, 2009).

Kajian untuk meningkatkan produktivitas *citronellol* dan *geraniol* pada kalus pucuk daun tanaman mawar varietas *hybride tea purple* yang masih bewarna merah sangat penting dilakukan, terutama berasal dari tunas pucuk yang berukuran 2 cm (Vu *et al.* 2006), dengan elisitor cahaya. Penelitian ini mengkaji pengaruh elisitor abiotik menggunakan lama pencahayaan dan intensitas cahaya terhadap kemampuan produktivitas kalus menghasilkan *citronellol* dan *geraniol*, dengan pertimbangan kebutuhan cahaya pada tanaman bunga mawar menurut standar operasional prosedur harus penuh 12 jam atau 100 % (Wedyanto *et al.*, 2009). Dengan pengurangan total cahaya yang diterima, diharapkan kalus mengalami *stress* sehingga akan mempengaruhi pola metabolit sekunder di dalam kalus, maka produksi *citronellol* dan *geraniol* diharapkan meningkat. Cahaya yang diterima mempengaruhi jumlah energi yang tersedia untuk menghasilkan produk fotosintesis serta mempengaruhi pengaturan produksi metabolit primer (seperti enzim, karbohidrat, lipida dan asam amino) maupun metabolit sekunder. Aktivitas enzim ini berpengaruh pada biosintesa metabolit sekunder (Ramawat, 2008).

Penelitian ini mengkaji hasil optimasi pembentukan kalus dari daun pucuk tanaman mawar, optimasi umur kalus yang mampu menghasilkan kandungan minyak atsiri maksimal menggunakan *citronellol* dan *geraniol* sebagai indikator penghasil aroma wangi, berdasarkan profil kromatogram KG-SM minyak atsiri. Sampai saat ini belum ditemukan adanya penetapan umur kalus menggunakan daun pucuk tanaman mawar *Rosa hybrida* varietas *hybride tea pulple* sebagai eksplan yang optimal mampu menghasilkan minyak atsiri dengan elisitasi cahaya baik dilihat dari profil secara

keseluruhan, maupun kandungan *citronellol* dan *geraniol* berdasarkan kromatogram KG-SM.

Kebaruan penelitian ini diperoleh : (1) metode pengembangan kalus dilakukan dengan elisitasi cahaya terhadap eksplan daun pucuk tanaman mawar (*Rosa hybrid L. Varietas hybrid tea purple*) pada media *Murashige and Skoog* (MS). Metode ini menghasilkan umur optimal 2 bulan kalus daun pucuk tanaman mawar (*Rosa hybrid L. Varietas hybrid tea purple*) berdasarkan pada karakteristik yang meliputi bentuk, warna, tekstur, dan berat basah kalus serta kandungan minyak atsirinya. Pada kalus umur 2 bulan ini optimal untuk dilakukan teknik elisitasi dengan paparan cahaya pada intensitas dan lama pencahayaan. Pada perlakuan gelap mampu menghasilkan kandungan *citronellol* lebih tinggi 36,629 % dari total komponen minyak atsiri. (2) mendapatkan konsep fisiologi peranan elisitor cahaya dalam menstimulasi produksi *citronellol* dan *geraniol* melalui teknik kultur jaringan dan teknik elisitasi dari kalus daun pucuk bunga mawar *Roda hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu serta dapat diperoleh senyawa marker dari berbagai perlakuan kondisi pencahayaan.

Untuk menguatkan pentingnya informasi dan kebaruan penelitian ini, maka luaran penelitian telah dipublikasikan pada seminar Nasional “Nutrasetikal dan Kosmetikal di Univ. Muhamadiyah Surakarta pada 8 Juni 2013; dipublikasikan pada *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2015. 7 (4) : 496 – 499; terdaftar pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia RI Direktorat Jendral Hak Kekayaan Intelektual untuk mendapatkan paten dengan nomor permohonan : P00201503612.

1.2.Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut:

- 1) Apakah daun pucuk mawar mampu menumbuhkan kalus?
- 2) Berapa umur kalus yang optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder ?
- 3) Apakah kalus daun pucuk mawar mampu menghasilkan minyak atsiri yang sama dengan minyak atsiri dari mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu)?

- 4) Apakah ada perbedaan profil antara minyak atsiri yang dihasilkan dari kalus daun pucuk mawar dengan mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu)?
- 5) Apakah ada senyawa marker yang ditemukan pada minyak atsiri dari kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu) pada berbagai kondisi perlakuan?
- 6) Apakah elisitor cahaya berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus serta produksi *citronellol* dan *geraniol* dalam kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu)?
- 7) Apakah elisitor cahaya mampu meningkatkan kandungan *citronellol* dan *geraniol* pada kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan fungsional

Tujuan fungsional penelitian ini sebagai berikut :

- 1) Untuk membuktikan bahwa daun pucuk mawar mampu menumbuhkan kalus.
- 2) Untuk mendapatkan umur kalus yang optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder.
- 3) Untuk membuktikan bahwa kalus daun pucuk mawar mampu menghasilkan minyak atsiri yang sama dengan minyak atsiri dari mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 4) Untuk membuktikan adanya perbedaan antara profil minyak atsiri yang dihasilkan dari kalus daun pucuk mawar dengan mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 5) Untuk mendapatkan senyawa marker yang ditemukan pada minyak atsiri dari kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 6) Untuk membuktikan bahwa elisitor cahaya berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus dan produksi *citronellol* dan *geraniol* dalam kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).

- 7) Untuk membuktikan bahwa elisitor cahaya mampu meningkatkan kandungan *citronellol* dan *geraniol* pada kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid* L. varietas *hybride tea purple* lokal Batu).

1.3.2. Tujuan operasional

Tujuan operasional dari penelitian ini, sebagai berikut.

- 1) Untuk mengetahui kemampuan daun pucuk mawar membentuk kalus. Untuk mencapai tujuan tersebut harus dilakukan dengan kultur jaringan daun pucuk mawar
- 2) Untuk mengetahui umur kalus yang optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder. Untuk mencapai tujuan tersebut kalus yang dihasilkan harus dideteksi dengan KG-SM
- 3) Untuk mengetahui kemampuan kalus daun pucuk mawar menghasilkan minyak atsiri yang sama dengan minyak atsiri dari mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid* L. varietas *hybride tea purple* lokal Batu). Untuk mencapai tujuan tersebut harus mendeteksi kandungan minyak atsiri yang dihasilkan dari kalus dan mahkota bunga mawar dengan KG-SM.
- 4) Untuk mengetahui perbedaan antara profil minyak atsiri yang dihasilkan dari kalus daun pucuk mawar dengan mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid* L. varietas *hybride tea purple* lokal Batu). Untuk mencapai tujuan tersebut harus dibandingkan profil minyak atsiri dari kalus daun pucuk mawar dengan yang berasal dari mahkota bunga mawar.
- 5) Untuk menemukan senyawa marker pada minyak atsiri dari kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid* L. varietas *hybride tea purple* lokal Batu) untuk tujuan tersebut dilihat komposisi senyawa minyak atsiri yang dihasilkan dan senyawa yang selalu muncul pada semua kondisi .
- 6) Untuk mengetahui pengaruh elisitor cahaya terhadap pertumbuhan kalus serta produksi *citronellol* dan *geraniol* dalam kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid* L. varietas *hybride tea purple* lokal Batu). Untuk mencapai tujuan tersebut harus

melakukan elisitasi abiotik dengan lama pencahayaan dan intensitas cahaya dengan melihat kualitas dan kuantitas kalus yang terbentuk.

- 7) Untuk mengetahui kemampuan elisitor cahaya meningkatkan kandungan *citronellol* dan *geraniol* pada kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu). Untuk mencapai tujuan tersebut harus dilakukan profiling kandungan minyak atsiri pada kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu) dengan analisis KG-SM.

1.4 . Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain ;

- 1) Mendapatkan bahwa daun pucuk mawar mampu menumbuhkan kalus.
- 2) Mendapatkan umur kalus yang optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder.
- 3) Mendapatkan kandungan minyak atsiri kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu) yang sama dengan minyak atsiri dari mahkota bunga mawar.
- 4) Mendapatkan perbedaan antara profil minyak atsiri yang dihasilkan dari kalus daun pucuk mawar dengan mahkota bunga mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 5) Mendapatkan senyawa marker pada minyak atsiri dari kalus daun pucuk mawar (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 6) Mendapatkan konsep tentang peranan elisitor abiotik (Lama pencahayaan dan intensitas cahaya) terhadap pertumbuhan kalus dan produksi *citronellol* dan *geraniol* dalam kalus daun pucuk (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).
- 7) Mendapatkan lama pencahayaan dan intensitas cahaya yang mempengaruhi peningkatan kandungan *citronellol* dan *geraniol* pada kalus daun pucuk (*Rosa hybrid L. varietas hybride tea purple* lokal Batu).