

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sambung nyawa (*Gynura procumbens* Lour. (Merr)) merupakan tanaman famili Asteraceae yang penting dan digunakan secara luas di kawasan Indonesia, Malaysia, Thailand, dan daerah Asia Tenggara lainnya (Keng *et al.*, 2009; Puangpronpitag *et al.*, 2010). Bagian tanaman sambung nyawa yang sering digunakan untuk obat ialah daun dan akar (Susiarti dkk, 2009; Dai *et al.*, 2007). Menurut Akowuah *et al.* dalam Puangpronpitag *et al.* (2010), sambung nyawa memiliki kandungan flavonoid, saponin, tannin, terpenoid dan sterol glikosida, dan menurut Widhianto dan Kurniawati (2010) juga terdapat antosianin di dalamnya. Daun dan akar sambung nyawa digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit demam, kolesterol, tumor jinak, ginjal, terkena bisa ular, disentri, penghilang rasa sakit (Dalimartha, 2006; Dai *et al.*, 2007).

Metabolit sekunder tanaman ialah senyawa yang terkandung dalam tanaman yang tidak berperan dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan, tetapi bertanggung jawab dalam interaksinya dengan lingkungan. Salah satu senyawa metabolit sekunder tanaman ialah flavonoid (Taiz dan Zeiger, 2003). Flavonoid bermanfaat sebagai bahan baku obat yang memiliki banyak manfaat. Salah satu contoh obat yang mengandung flavonoid tumbuhan ialah Flavocoxid yang digunakan sebagai obat terapi untuk penyakit osteoarthritis (Salim *et al.*, 2008). Manfaat lain dari flavonoid untuk kesehatan antara lain, sebagai anti oksidan, anti inflamasi, peningkat sistem imun, pelancar sirkulasi darah, anti kanker, peregang otot, anti tumor, anti virus, anti bakteri, pencegah penyakit

asma dan liver (Fraschini *et al.* 2002; Harborne dan Williams, 2000; Tanaka dan Takahashi, 2013). Berdasarkan fungsinya yang beragam, identifikasi jenis flavonoid pada tanaman yang berpotensi menghasilkan senyawa flavonoid penting dilakukan. Di samping itu juga perlu dilakukan pengembangan tanaman dalam menghasilkan flavonoid untuk diproduksi dalam skala yang besar. Sambung nyawa merupakan tanaman yang diduga mengandung flavonoid dan berpotensi untuk diproduksi melalui teknik kultur jaringan menggunakan bioreaktor.

Kultur jaringan merupakan teknik yang potensial untuk memproduksi tanaman atau senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya dalam skala besar. Teknik ini memiliki beberapa keuntungan, yaitu dapat dilakukan produksi sepanjang tahun, tidak terkendala oleh musim, hasil produksi dapat diprediksi, kondisi lingkungan kultur terkendali, dan mampu menyediakan senyawa metabolit sekunder dalam sel tanaman dengan kualitas yang seragam (Karuppusamy, 2009; Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Rekayasa jalur biosintesis flavonoid dengan tujuan meningkatkan akumulasi senyawa flavonoid telah banyak digunakan dalam industri menggunakan sistem kultur jaringan secara *in vitro* (Tanaka *et al.* 2008; Jedinak *et al.* 2004). Beberapa penelitian telah dilakukan sebagai usaha dalam meningkatkan dan menghasilkan flavonoid pada beberapa jenis tanaman secara *in vitro* melalui kultur jaringan (Akashi *et al.*, 2005; Baque *et al.*, 2012^a; Baque *et al.* 2012^b). Beberapa penelitian lainnya melaporkan bahwa penelitian pada beberapa tanaman genus *Gynura* menghasilkan beberapa jenis flavonoid pada organ tanaman yang dikultur secara *in vitro*. Penelitian Shimizu *et al.* (2010) menghasilkan produksi antosianin di dalam daun dan akar adventif *Gynura bicolor* DC. Saiman *et al.* (2012) mengkarakterisasi senyawa yang terdapat pada akar adventif *Gynura procumbens* sebagai asam kafeat, asam klorogenik, dan asam 3,5-di-O-caffeoilquinic, senyawa tersebut diduga menjadi bagian dari biosintesis fenilpropanoid.

Kultur organ dan penggunaan medium cair dalam kultur jaringan merupakan cara yang baik untuk menghasilkan biomassa dan produksi senyawa metabolit sekunder secara *in vitro* (Manuhara, 2014; Van Ket *et al.*, 2012; Yeoman dan Yeoman, 1996; Cui *et al.*, 2010). Kultur akar adventif dalam bioreaktor merupakan suatu cara yang menjanjikan untuk produksi senyawa metabolit sekunder tanaman dalam skala besar (Baque *et al.*, 2012^c; Bais *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 1999). Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa akar adventif dapat digunakan untuk menghasilkan produksi metabolit sekunder khususnya senyawa jenis flavonoid. Cui *et al.* (2010) menggunakan akar adventif *Hypericum perforatum* (L.) untuk menghasilkan senyawa flavonoid. Wu *et al.* (2008) menggunakan kultur akar adventif dari *Echianacea purpurea* (L.) untuk menghasilkan asam kafeat. Betsui *et al.* (2004) menggunakan akar adventif *Raphanus sativus* (L.) cv. Peking Koushin untuk menghasilkan antosianin. Akashi *et al.* (2005) menghasilkan isoflavonoid melalui kultur akar adventif dari *Iris germanica*.

Beberapa faktor yang berpengaruh dalam kultur akar adventif dan produksi flavonoid secara *in vitro* yaitu jenis medium dan kandungan mineralnya, sumber karbon, kondisi lingkungan internal seperti zat pengatur tumbuh, dan cahaya (Hahn *et al.*, 2003; Yeoman dan Yeoman, 1996; Ahmadian *et al.*, 2013). Medium Murashige dan Skoog (MS) digunakan sebagai medium dasar untuk kultur akar adventif (Cui *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011; Akashi *et al.*, 2005; Sreeranjini dan Siril, 2013; Wu *et al.*, 2006; Betsui *et al.*, 2004; Saiman *et al.*, 2012). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa sukrosa perlu ditambahkan dalam medium kultur untuk produksi metabolit sekunder termasuk flavonoid (George dan de Klerk, 2008; Hatier dan Gould, 2009; Nishiyama dan Yamakawa, 2004; Shimizu *et al.*, 2010; See *et al.*, 2010; Baque *et al.*, 2012^b). Di sisi lain, zat pengatur tumbuh *Indole-3-butyric acid* (IBA) digunakan dalam kultur jaringan untuk meningkatkan biomassa akar adventif dan juga metabolit sekunder yang

dikandungnya (Cui *et al.*, 2010; Betsui *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2006; Paz *et al.*, 2013). Cahaya dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder seperti jenis flavonoid dan antosianin pada kultur sel dan akar adventif (Mancinelli, 1985; Zhang *et al.*, 2002; Curtin *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2007).

Di dalam kultur cair sering terjadi masalah *Asphyxia* (kekurangan oksigen) dan hiperhidrisitas (cacat morfologis) yang terjadi akibat kekurangan oksigen karena perendaman (Mehrotra *et al.*, 2007; Puchooa *et al.*, 1999; Berthouly dan Etienne, 2005). *Temporary immersion system* (TIS) atau sistem perendaman sementara pada medium cair digunakan untuk mengatasi kelemahan tersebut (Sankar-Thomas, 2009; Berthouly dan Etienne, 2005). Durasi dan interval perendaman terbaik diusulkan berkisar antara 5 – 10 menit dengan interval setiap 1 – 12 jam (Berthouly and Etienne, 2005; Watt, 2012). Bioreaktor perendaman sementara (BPS) RITA[®] mempunyai sistem kerja memperbarui atmosfer bioreaktor, menambahkan aerasi, serta agitasi medium menggunakan tekanan udara (Berthouly and Etienne, 2005; Alvard *et al.*, 1993; Teisson and Alvard, 1995). Bioreaktor perendaman sementara digunakan untuk meningkatkan biomassa dan kadar metabolit sekunder pada kultur akar adventif, seperti saponin dalam *Panax ginseng* (Langhansova *et al.*, 2012), saponin dalam *Talinum paniculatum* (Manuhara *et al.*, 2014), betalains dalam *Beta vulgaris* (Pavlov dan Bley, 2006), dan sekoiridoid glikosida dalam *Centaurium maritimum* (Mišić *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai teknik kultur jaringan dalam produksi biomassa dan profil flavonoid yang diproduksi di dalam akar adventif sambung nyawa setelah dikultur di dalam bioreaktor perendaman sementara (BPS). Selain itu, diharapkan dalam penelitian ini akan diperoleh kondisi yang optimal untuk meningkatkan biomassa dan sintesis flavonoid pada akar adventif sambung nyawa.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimanakah pengaruh variasi konsentrasi sukrosa dan variasi kombinasi durasi dan interval perendaman terhadap biomassa akar adventif sambung nyawa dalam BPS ?
2. Bagaimanakah pengaruh variasi konsentrasi sukrosa dan variasi kombinasi durasi dan interval perendaman terhadap profil flavonoid yang disintesis pada akar adventif sambung nyawa dalam BPS ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan konsentrasi sukrosa dan kombinasi durasi dan interval perendaman yang optimal untuk meningkatkan biomassa akar adventif sambung nyawa dalam BPS.
2. Mendapatkan konsentrasi sukrosa dan kombinasi durasi dan interval perendaman yang optimal untuk meningkatkan sintesis senyawa golongan flavonoid pada akar adventif sambung nyawa dalam BPS.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai konsentrasi sukrosa dan kombinasi perendaman sementara (kombinasi durasi dan interval perendaman) yang optimal untuk meningkatkan sintesis senyawa golongan flavonoid pada akar adventif sambung nyawa dalam bioreaktor perendaman sementara. Selanjutnya mampu memberikan informasi ilmiah untuk penelitian lebih lanjut tentang persiapan produksi dan isolasi senyawa flavonoid dalam skala yang lebih besar. Untuk manfaat lebih luas diharapkan bahwa senyawa flavonoid dari kultur akar sambung nyawa dapat memenuhi kebutuhan bahan baku produk farmakologi.