

## I. PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman sebagai obat atau bahan baku obat sudah lama dilakukan. Bahkan pada era modern saat ini, pengobatan herbal banyak diminati oleh masyarakat luas. Sebagian besar senyawa kimia yang berkhasiat obat dihasilkan oleh tanaman berupa metabolit sekunder (Mainawati, 2017). Selain digunakan sebagai obat, metabolit sekunder dapat dimanfaatkan untuk bahan baku biopestisida, kosmetik, parfum, dan perasa makanan (Julianto, 2019). Metabolit sekunder umumnya tidak berperan langsung bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Beberapa metabolit sekunder berperan sebagai pertahanan tanaman dari cekaman biotik maupun abiotik (Perangin-Angin, 2019).

Salah satu tanaman yang menghasilkan metabolit sekunder adalah ciplukan (*Physalis angulata* L.), yang berasal dari famili *Solanaceae*. Selama ini ciplukan sering dianggap sebagai gulma (tumbuhan pengganggu), hanya sebagian orang saja yang memanfaatkan khasiat dari herba ini. Menurut Nuranda (2016), kandungan senyawa bioaktif ciplukan pada bagian daun adalah alkaloid, saponin, dan steroid; bagian batang adalah alkaloid, saponin, steroid dan flavonoid; dan pada buah adalah alkaloid, saponin dan triterpenoid. Mastuti (2020) menyatakan bahwa ciplukan banyak mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain *withanolide*, *physalin*, *calystegine*, dan alkaloid tropan nortropan yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri, antiinflamatori, analgesik dan antipiretik.

Metabolit sekunder dalam ciplukan yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah flavonoid. Flavonoid adalah metabolit sekunder dari kelompok polifenol, ditemukan luas pada tanaman dan memiliki efek bioaktif seperti antivirus, antiinflamasi (Wang dkk, 2016), kardioprotektif, antidiabetes, antikanker (Marzouk, 2016), anti penuaan, dan antioksidan (Vanessa dkk, 2014). Meningkatnya pemanfaatan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai obat, menyebabkan perlunya penyediaan bahan baku berjumlah besar dan dalam waktu yang singkat untuk meningkatkan kuantitas dan kualitas bahan baku obat tersebut.

Teknik peningkatan produksi metabolit sekunder, termasuk flavonoid, dapat dilakukan melalui teknik *in-vitro*, salah satunya dengan kultur kalus. Kalus merupakan kumpulan massa sel yang belum terorganisasi (*amorphous*) yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus (Fauziyyah, 2012). Keuntungan dari kultur kalus adalah kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan tanaman induknya (Sulichantini, 2015). Kalus dapat diperoleh dari eksplan berukuran kecil yang dapat berdiferensiasi. Menurut Mastuti (2020), eksplan hipokotil dan kotiledon dari kecambah ciplukan mampu diinduksi membentuk kalus secara *in vitro*. Penggunaan kalus untuk produksi metabolit sekunder memiliki keuntungan yaitu untuk mempermudah proses ekstraksi (Muhammady, esdfw2017), dan mengurangi pemakaian lahan sehingga bahan baku atau biomassa yang digunakan menjadi lebih sedikit (Sulichantini, 2015).

Produksi metabolit sekunder pada kultur kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah sumber eksplan, genetik, jenis kultur, dan komposisi media kultur (Sulichantini, 2015). Menurut Yuniardi (2019), faktor lingkungan yang dapat berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro*, antara lain adalah intensitas cahaya dan media tanam. Pertumbuhan organ atau jaringan tanaman dalam kultur *in-vitro* umumnya tidak dihambat oleh cahaya, namun pertumbuhan kalus umumnya dihambat oleh cahaya (Yuniardi, 2019). Intensitas cahaya juga dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder. Alwiyah, dkk (2015) menyatakan bahwa intensitas cahaya 4000 lux mampu meningkatkan biomassa dan kadar saponin kultur kalus ginseng jawa. Penelitian Anasori (2008) menyatakan bahwa produksi metabolit sekunder pada kalus jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dipengaruhi oleh cahaya. Penelitian Alvarenga (2015) menyatakan bahwa cahaya sangat penting untuk budidaya *in vitro* *Achillea millefolium* L., karena mempengaruhi pertumbuhan dan produksi senyawa volatil.

Media kultur jaringan mengandung nutrisi bagi tumbuhan. Salah satu media kultur jaringan yang banyak digunakan untuk kultur *in vitro* adalah Murashige dan Skoog (MS). Medium MS mengandung zat yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman baik makromineral, mikromineral, gula, dan vitamin (Mukaromah, 2013). Pertumbuhan dan perkembangan jaringan tumbuhan, termasuk kultur kalus, juga memerlukan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dengan konsentrasi yang berbeda-beda (Lestari, 2015). Oleh

karena itu, diperlukan pemilihan komposisi media kultur yang dapat memenuhi kebutuhan dari unsur hara tanaman.

Produksi metabolit sekunder dalam kultur kalus dapat ditingkatkan dengan melakukan modifikasi media. Modifikasi media dapat dilakukan dengan mengubah salah satu komponen nutrisi, antara lain adalah senyawa yang mengandung nitrogen. Nitrogen merupakan unsur hara makro yang berperan dalam pembentukan asam amino, protein, asam nukleat sel – sel tumbuhan. Nitrogen juga berperan dalam pembentukan protoplasma dan bagian dari pembelahan sel, semua reaksi enzimatik pada tumbuhan, pembentukan klorofil dan fotosintesis (Rudiyanto, 2018). Menurut Kumianjani (2015), nitrogen adalah unsur penyusun asam amino yang merupakan prekursor dalam jalur metabolisme metabolit sekunder. Unsur nitrogen dalam media MS adalah  $KNO_3$  dan  $NH_4NO_3$ .

Beberapa penelitian telah dilakukan dengan modifikasi unsur nitrogen tersebut. Pertumbuhan dan perbanyakan *in vitro* tunas mikro singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) terbaik diperoleh pada 1,5 kali dari formulasi normal media MS (Yuliadi, 2011). Penelitian Mukaromah (2013) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi sumber nitrogen (ammonium dan nitrat) dengan konsentrasi terendah (63,75 mg/L), menghasilkan total persentase pertumbuhan biji *Dendrobium laxiflorum* secara *in vitro* tertinggi dibandingkan perlakuan ammonium nitrat secara tunggal. Menurut Merindasya (2018), unsur nitrogen mempengaruhi produksi biomassa dan kandungan flavonoid *Gynura procumbens* (Lour) Merr secara *in vitro*. Biomassa tertinggi

diperoleh dari perlakuan rasio  $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3$  1:2 dan kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari rasio  $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3$  0:3.

Perbanyak tanaman ciplukan secara *in vitro* telah dilakukan dengan modifikasi media tumbuhnya dengan menggunakan ZPT Benzyladenin (BA) dikombinasikan dengan kinetin yang menghasilkan planlet dan dapat dipindahkan ke media tumbuh alami (Romo-Paz *et al*, 2020). Penelitian Azlan (2002) melaporkan bahwa hasil kultur akar rambut (*hairy roots*) ciplukan tumbuh dengan cepat pada media B5, kandungan physalin kultur akar rambut pada kondisi gelap lebih tinggi dibandingkan kultur akar. Penelitian Falah (2008) melaporkan bahwa diperoleh hasil ekstrak etanol kultur akar ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media MS dengan hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Rohman (2008), melaporkan ekstrak etanol kultur akar ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media MS dengan pengurangan konsentrasi fosfat dari komponen  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Penelitian mengenai pengaruh perbedaan intensitas cahaya yang dikombinasikan dengan konsentrasi nitrogen dalam media MS terhadap produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan belum banyak dilaporkan. Hal ini penting dilakukan mengingat manfaat ciplukan sebagai tumbuhan obat, sehingga diperlukan teknik yang dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder, khususnya flavonoid.

## 1.2.Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang dipaparkan, maka rumusan masalah yang akan dikaji adalah sebagai berikut:

- 1.2.1. Bagaimanakah pengaruh perbedaan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan?
- 1.2.2. Bagaimanakah pengaruh perbedaan konsentrasi nitrogen dalam medium MS terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan?
- 1.2.3. Adakah interaksi antara intensitas cahaya dan konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan?
- 1.2.4. Kombinasi perlakuan intensitas cahaya dan konsentrasi nitrogen manakah yang menghasilkan pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan yang optimal?

## 1.3.Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang dipaparkan, maka tujuan yang dapat dikaji adalah sebagai berikut:

- 1.3.1. Mengkaji pengaruh perbedaan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan
- 1.3.2. Mengkaji pengaruh perbedaan konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan

1.3.3. Mengkaji interaksi antara intensitas cahaya dan konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan

1.3.4. Mengkaji perlakuan intensitas cahaya dan konsentrasi nitrogen berapakah yang menghasilkan pertumbuhan dan produksi flavonoid pada kultur kalus ciplukan yang optimal

#### 1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Memberikan inspirasi bagi penelitian selanjutnya dengan mengoptimalkan produksi kalus dan flavonoid melalui modifikasi unsur hara yang lain.

1.4.2. Memperoleh metode produksi senyawa flavonoid dari kalus ciplukan dalam waktu singkat dengan penggunaan biomassa yang minimal, sehingga dapat meningkatkan nilai jual serta membantu penyedia bahan baku obat di industri farmasi.

1.4.3. Menjadi pertimbangan pengambilan kebijakan bagi pemerintah dalam pemenuhan bahan baku obat.