

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Radikal bebas menjadi suatu ancaman bagi kesehatan manusia. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif, dan dapat bereaksi dengan berbagai molekul, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA. Oleh karena itu, radikal bebas akan merusak molekul stabil dan dapat merusak sel (Droge, 2002).

Upaya mengurangi dampak dari radikal bebas alternatifnya diperlukan antioksidan. Tubuh manusia sebenarnya menghasilkan antioksidan namun dengan jumlah sedikit. Oleh karena itu dibutuhkan asupan antioksidan dari luar berupa makanan maupun suplemen (Rahardji dan Hernani, 2005). Menurut Winarsi (2007), senyawa antioksidan digolongkan kedalam dua kelompok, yaitu antioksidan alami seperti superoksida dismutase, polifenol, flavonoid, dan vitamin, serta antioksidan sintetis diantaranya adalah BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan BHT (*butylate hydroxytoluene*). Antioksidan alami biasanya dihasilkan secara alami oleh tanaman melalui metabolisme sekundernya.

Salah satu tanaman yang memiliki antioksidan adalah tanaman pohpohan (*Pilea trinervia* W.) (Endrini, 2011). Tanaman pohpohan merupakan tanaman yang daunnya dapat digunakan sebagai lalapan yang memiliki cita rasa yang khas. Tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi serta mengandung beberapa vitamin, serat dan mineral penting yaitu kalsium (Ca), besi (Fe), dan fosfor (P) (Dwiyani, 2008).

Menurut Amalia dkk, (2006), kandungan fitokimia pada daun segar pohpohan adalah steroid atau triterpenoid, alkaloid dan flavonoid. Kandungan antioksidan ini biasanya diperoleh dari sintesis metabolit sekunder tanaman pohpohan.

Tahapan analisis kandungan fitokimia pada tanaman pohpohan dilakukan dengan metode ekstraksi refluks dan *cold finger*. Selanjutnya dilakukan analisis kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki prinsip kerja memisahkan komponen sesuai kepolaritasnya (Putra, 2015). Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (*High Performance Liquid Chromatography*) yang akan menganalisis senyawa tertentu berdasarkan sifat kepolarannya terhadap fase diam dan fase gerak.

Secara *in vitro*, metabolit sekunder dapat diperoleh dengan beberapa metode diantaranya kultur organ, kultur suspensi sel dan kultur kalus (Manthell dan Smith, 1983). Kultur *in vitro* biasanya digunakan untuk produksi metabolit sekunder karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya kecepatan pertumbuhan sel yang cepat serta material yang dibutuhkan sedikit (Babu dkk., 2011). Metode ini akan menghasilkan tanaman dengan sifat fisiologi dan morfologi yang sama dengan induknya. Teknik kultur *in vitro* terus dikembangkan terutama dalam penyediaan metabolit sekunder secara optimal (Singh dkk., 2010).

Pertumbuhan kalus pohpohan dilakukan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terdapat dalam eksplan kalus pohpohan. Beberapa penelitian

menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan dengan menggunakan teknik kultur jaringan lebih tinggi daripada tanaman asalnya. Menurut Siregar (2006) dalam penelitiannya mengenai metabolit sekunder *Eurycoma longifolia* J. menyatakan bahwa melalui kultur kalus didapatkan kandungan fitokimia yang lebih tinggi dari tanaman induknya, yaitu sekitar 0,007-0,071% lebih tinggi dengan eksplan daun daripada tanaman aslinya dengan induksi hidroksi-kantin-6-on. Hasil yang sama juga diperoleh dari penelitian Zhao dkk., (2001) yang melaporkan bahwa kalus yang berasal dari eksplan daun *Saussurea medusa* dalam medium padat MS + 0,2 mg/l BAP + 2 mg/l NAA menghasilkan senyawa jaseosidin yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan induk. Penambahan sitokinin dilakukan untuk pembentukan tunas sedangkan auksin digunakan untuk pembentukan kalus dan akar. Kedua zat ini sering dikombinasikan pada perbandingan tertentu untuk memacu perkembangan kalus (Lestari, 2011).

## **B. Keaslian Penelitian**

Amalia dkk., (2006) melakukan penelitian analisis kandungan fitokimia terhadap daun segar tanaman pohpohan. Dalam penelitian tersebut digunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol dalam ekstraksi bertingkat. Hasil kandungan fitokimia yang didapatkan yaitu terdiri dari golongan stereroid atau triterpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Menurut penelitian Desmiati (2001), daun segar pohpohan mengandung asam askorbat, senyawa fenol,  $\alpha$ -tokoferol, dan  $\beta$ -karoten yang merupakan antioksidan.

Andarwulan dkk., (2010) mengungkapkan bahwa terdapat kandungan flavonoid dalam sayuran Indonesia termasuk pohpohan yang terdiri dari kuersetin, kaempferol, myricetin, luteolin, spigenin, dan senyawa flavonoid lainnya yang dianalisis dari daun segarnya. Dwiyani (2008), dalam penelitiannya melaporkan adanya aktivitas antioksidan ekstrak daun pohpohan menggunakan pelarut metanol dan ekstraksi metanol dengan tambahan karbon aktif pada konsentrasi 350 ppm, yang merupakan senyawa steroid dan triterpenoid.

Penelitian ini melanjutkan penelitian Putra (2015) yang melakukan penelitian analisis kualitatif dari kalus dari eksplan daun tanaman pohpohan yang diinduksi dengan kinetin dan 2,4-D. Analisis pada kalus menunjukkan adanya metabolit sekunder, yaitu alkaloid, dan flavonoid. Penelitian ini akan menganalisis kadar fitokimia khususnya alkaloid dan flavonoid yang terdapat pada kalus dari eksplan daun yang diinduksi dengan kinetin dan 2,4-D.

### **C. Perumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh kinetin dan 2,4 D terhadap induksi pembentukan kalus dari eksplan daun tanaman pohpohan (*Pilea trinervia* W.)?
2. Bagaimana pola pertumbuhan kalus terbaik dengan metode kultur suspensi sel pada medium cair Murashige & Skoog dengan penambahan hormon kinetin dan 2,4-D?
3. Bagaimana kandungan flavonoid dan alkaloid kalus tanaman pohpohan?

#### **D. Tujuan**

1. Mengetahui pengaruh kinetin dan 2,4 D terhadap induksi pertumbuhan kalus eksplan daun tanaman pohpohan (*Pilea trinervia* W.)
2. Mengetahui pola pertumbuhan kalus terbaik dengan metode kultur suspensi sel pada medium cair Murashige & Skoog dengan penambahan hormon kinetin dan 2,4 diklorofenoksiasetat
3. Mengetahui kadar flavonoid dan alkaloid kalus tanaman pohpohan

#### **E. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai kandungan fitokimia yang terdapat pada tanaman pohpohan. Secara aplikatif, penelitian ini mampu memberi informasi untuk penelitian selanjutnya khususnya untuk pemanfaatan metabolit sekunder untuk kesehatan manusia. Selanjutnya, penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi awal tentang pertumbuhan kalus dengan metode kultur suspensi sehingga nantinya dapat dimanfaatkan lebih lanjut dalam pengembangan produksi metabolit sekunder khususnya pada tanaman pohpohan.