

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, keberadaan obat-obatan kimiawi juga semakin meningkat. Kemajuan dalam dunia modern ini dirasa baik, namun keberadaan obat-obatan kimiawi ini tentu saja tidak selamanya baik bagi penggunaannya. Penggunaan Obat-obatan kimiawi dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh apabila dikonsumsi secara terus-menerus. Kesadaran mengenai efek negatif inilah menyebabkan mulai dibudidayakan kembali mengenai konsep “*Back to Nature*” yaitu penggunaan obat-obatan tradisional dari berbagai tanaman obat yang terdapat di lingkungan sekitar (Kadiman, 2006).

Saat ini pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat terus meningkat. Peningkatan kebutuhan akan bahan baku tersebut sejalan dengan kembalinya masyarakat memanfaatkan tumbuhan sebagai bahan obat alami (Amzu dan Haryanto (1990) dalam Lestari dan Mariska, 1997). Kebutuhan akan bahan baku tanaman obat yang semakin meningkat membuka peluang masyarakat mencari tanaman-tanaman baru yang memiliki khasiat pengobatan multifungsi yaitu tanaman yang dapat mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu tanaman yang dikembangkan dari tanaman hias menjadi tanaman obat adalah sirih merah.

Daun sirih merah mengandung senyawa-senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, polifenol, tannin, dan minyak atsiri. Senyawa flavonoid

dan polevenolad bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Senyawa alkaloid di dalam daun sirih bersifat antineoplastik yang juga mampu menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Sudewo, 2005). Menurut Winarto (2007), daun sirih mengandung minyak atsiri 1-4,2%, hidrosikavikol, kavikol 7,2-16,7%, kavibetol 2,7-6,2%, allilfikatekol 0-9,6%, karvakrol 2,2-5,6%, eugenol 26,8-42,5%, eugenol metileter 4,2-15,8%, p-simen 1,2-2,5%, sineol 2,4-15,8%, karyofilen 3-9,8%, kadinen 2,4-15,8%, estragol, terpen, seskuiterpen, fenilpropana, tanin, diastase 0,8-1,8%, gula, pati. Menurut penelitian Nurhidayati dkk. (2012) kadar eugenol dalam minyak atsiri daun sirih merah adalah 10,1129%.

Kandungan senyawa eugenol yang tinggi pada sirih merah dapat dimanfaatkan sebagai sumber senyawa eugenol selain dari tanaman cengkeh. Menurut Kardinan (2003), Metil eugenol merupakan zat yang bersifat *volatile* atau menguap dan melepaskan aroma wangi. Rumus kimia metil eugenol adalah $C_{12}H_{24}O_2$. Salah satu bahan penghasil eugenol adalah tanaman cengkeh. Eugenol dari tanaman cengkeh ini harus diproses lagi agar bisa menjadi metil eugenol. Proses perubahan eugenol menjadi metil eugenol ini disebut proses metilasi dan membutuhkan proses yang panjang. Biaya yang diperlukan untuk menghasilkan metil eugenol dari bahan sintesis juga lebih tinggi, sebagai gambaran harga metil eugenol dari bahan sintesis yang ada di pasaran saat ini adalah Rp. 1.200.000/liter, sementara harga metil eugenol alami Rp.300.000-Rp.400.000/liter. Menurut Kurniawati (2010), zat ini memiliki fungsi antiseptik dan anestetik sehingga digunakan oleh dokter gigi untuk mematikan saraf gigi.

Oleh karena itu, pemanfaatan sirih merah untuk memperoleh metabolit sekunder eugenol sangat bergantung terhadap keterbatasan bahan baku yaitu tanaman sirih merah, sehingga diperlukan waktu yang cukup lama untuk memperoleh metabolit sekunder. Menurut Fowler (1983), keuntungan kultur *in vitro* dibandingkan dengan cara konvensional adalah kemampuan dalam menghasilkan senyawa kimia dalam waktu yang relatif singkat dan kemampuan untuk memproduksi senyawa yang sukar diperoleh secara alami. Hal ini didasari oleh sifat totipotensi sel tanaman.

Kultur *in vitro* tumbuhan menjadi suatu alternatif yang dilakukan untuk tujuan meningkatkan produk-produk metabolit sekunder yang mempunyai nilai komersial tinggi yang sulit untuk diperoleh secara pertanian konvensional. Keberhasilan kultur *in vitro* dalam meningkatkan produk-produk metabolit sekunder, memiliki banyak faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan seperti inisiasi, proliferasi dan sintesis metabolit sekunder di dalam kultur kalus dan suspensi sel, misalnya genotipe tumbuhan, komposisi medium dan faktor-faktor fisik dalam pertumbuhan sel seperti cahaya dan suhu (Siregar dkk., 2006).

Kalus adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi. Massa sel ini terbentuk di seluruh permukaan irisan eksplan, sehingga semakin luas permukaan irisan eksplan semakin cepat dan banyak kalus yang terbentuk (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Pembentukan kalus dalam kultur *in vitro* dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi, yaitu meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan

kalus serta penggunaan medium yang cocok. Prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem, misalnya daun muda, ujung batang, keping biji, dan sebagainya (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Menurut Sulistyawati (2011), keseimbangan kandungan hormon endogen yang diproduksi tanaman, terutama dari kelompok auksin dan sitokinin akan mempengaruhi sintesis senyawa-senyawa di dalam tanaman termasuk sintesa metabolit sekunder. Pemberian hormon eksogen diasumsikan dapat mempengaruhi sintesa metabolit sekunder. Penelitian Anggraeni dkk. (2007) menghasilkan metabolit sekunder pada kalus mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang menggunakan medium MS dengan penambahan ZPT 2,4-D 0,1 mg/L dan kinetin dengan rentang 0,3 mg/L dan dengan penambahan $5 \cdot 10^{-5}$ M NAA dalam medium B-5.

B. Keaslian Penelitian

Penelitian kultur *in vitro* pada sirih merah masih sangat jarang. Penelitian yang telah banyak dilakukan terhadap sirih merah merupakan penelitian terhadap pengaruh ekstrak sirih merah tersebut sebagai antibakteri seperti pada penelitian Wardani dkk. (2012) yaitu meneliti pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* penyebab *septicemia*, dan penelitian Fitriyani dkk. (2011) antiinflamasi ekstrak methanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) pada tikus putih.

Penelitian Ahmad dkk. (2011), menginduksi kalus untuk regenerasi tanaman *piperaceae* yaitu *Piper nigrum* L. (*Black pepper*) dari eksplan tangkai daun. Medium MS ditambahkan ZPT BA untuk induksi kalus dengan berkonsentrasi 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, dan 2 mg/L. Hasil terbaik adalah konsentrasi 0,5 mg/L BA untuk induksi kalus. Penelitian Domiguez dkk. (2006) melakukan proliferasi kalus dan daun dari eksplan daun *Piper auritum* Kunth. pada medium MS. Medium MS ditambahkan 2,4-D (0; 0,5; 1; 2 mg/L) dan kinetin (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/L). Kombinasi terbaik 0,5 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L Kinetin untuk 72% induksi kalus dan pembentukan 49,6 tunas/eksplan. Penelitian Hussain dkk. (2011) mengkulturkan eksplan ujung batang, daun dan tunas *Black Pepper* (*Piper nigrum* L.) pada medium MS yang ditambah ZPT dengan konsentrasi yang berbeda (2,4-D, BA, dan IBA). Kalus terbaik pada eksplan daun dalam medium MS dengan konsentrasi BA 0,5 mg/L dengan formasi kalus $70,00 \pm 0,47$ (%Avg \pm SD). Kalus terbaik pada eksplan daun pada medium MS dengan konsentrasi 2,4-D 2,5 mg/L dengan formasi kalus $66,67 \pm 0,48$ (%Avg \pm SD).

Penelitian Kelkar dkk., (1996) meregenerasikan tunas melalui kalus eksplan daun *Pepper colubrinum* Link. Induksi kalus dalam medium $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan sitokinin berupa BA atau kinetin (0,5; 1; 2; 3 mg/L), atau dikombinasikan auksin NAA atau 2,4-D (0,5; 1 mg/L). Hasil terbaik diperoleh pada kombinasi BA dengan hormon-hormon auksin yaitu; BA 0,5 mg/L dengan NAA 1 mg/L $100,0 \pm 0,0$ GW; BA 1 mg/L dengan 2,4-D 0,5 mg/L $100,0 \pm 0,0$ G; BA 1 mg/L dengan NAA 0,5 mg/L $100,0 \pm 0,0$ GW; BA 2 mg/L

dengan 2,4-D 0,5 mg/L 100,0 ± 0,0 G; BA 2 mg/L dengan NAA 0,5 mg/L 100,0 ± 0,0 G; dan BA 3 mg/L dengan 2,4-D 1 mg/L 100,0 ± 0,0.

Berbeda dari penelitian-penelitian sebelumnya, penelitian ini akan dilakukan induksi kalus Sirih Merah dari eksplan daun muda dalam medium $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan sitokinin berupa BA 2 mg/L yang dikombinasikan dengan auksin 2,4-D, atau NAA, atau IAA (0,5; 1 mg/L). Variasi auksin dan sitokinin diharapkan dapat menginduksi kalus dan memaksimalkan produksi senyawa eugenol pada kalus Sirih Merah.

C. Rumusan Masalah

1. Apakah induksi kalus dari sirih merah dapat menghasilkan senyawa eugenol?
2. Berapakah konsentrasi penambahan ZPT dalam medium $\frac{1}{2}$ MS yang efektif menginduksi kalus dan produksi eugenol dari sirih merah?

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah induksi kalus dari sirih merah dapat menghasilkan senyawa eugenol.
2. Mengetahui konsentrasi penambahan ZPT terbaik dalam medium $\frac{1}{2}$ MS yang efektif menginduksi kalus dan produksi eugenol.

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam memberikan informasi ilmiah mengenai konsentrasi BA, 2,4-D, NAA, dan IAA yang merupakan dalam medium $\frac{1}{2}$ MS terbaik untuk menghasilkan senyawa eugenol secara maksimal dan cepat sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk menghasilkan senyawa eugenol dalam kapasitas industri.

