I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Daun pohpohan merupakan bagian tanaman yang digunakan sebagai lalapan karena memiliki cita rasa yang khas. Daun muda pohpohan memiliki aktivitas antioksidan yang besar, selain itu kandungan gizi seperti serat dan vitamin pada sayuran segar lebih besar dibandingkan dengan sayur yang telah dimasak (Dwiyani, 2008). Pohpohan sendiri banyak di tanam di dataran tinggi Jawa Barat, khususnya di kaki gunung Salak.

Pembibitan pohpohan selama ini dilakukan oleh para petani hanya menggunakan biji atau stek batang, oleh karena itu Kultur Jaringan Tanaman (KJT) merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, yang memiliki sifat fisiologi dan morfologi sama persis dengan tanaman induknya, selain itu pengembangan dari kultur jaringan tanaman dapat digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder.

Kultur jaringan merupakan salah satu metode untuk produksi senyawa bioaktif dari tumbuhan yang telah lama digunakan. Kelebihan dari kultur jaringan dalam produksi senyawa bioaktif adalah tidak ada keterbatasan iklim, tidak memerlukan lahan yang luas dan metabolit sekunder dapat diproduksi secara terus-menerus dalam keadaan yang terkontrol (Collin & Edward 1998).

Pohpohan merupakan salah satu tanaman sayuran yang hingga kini belum pernah dilakukan penelitian tentang teknik kultur jaringan tanaman,

oleh karena itu penelitian ini akan diawali dengn optimasi metode sterilisasi eksplan. Steril yang berarti terbebas dari mikroorganisma merupakan salah satu ukuran keberhasilan dari metode KJT, semakin steril semakin baik hasil yang didapatkan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Komposisi medium merupakan salah satu masalah yang banyak diteliti oleh para pakar KJT. Media tumbuh memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta kalus yang akan dihasilkannya (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Medium yang akan digunakan pada penelitian ini adalah medium Murashige Skoog (MS). Medium MS merupakan salah satu medium umum digunakan dalam penelitian KJT karena mengandung komposisi garam yang lengkap dan dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur tanaman (Razdan, 2002).

Zat tambahan yang yang biasanya digunakan adalah zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Zat pengatur tumbuh yang paling sering ditambahkan dalam medium adalah 2,4 Diklorofeniksiasetat (2,4 D) dari golongan auksin dan kinetin dari golongan sitokinin (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Penelitian ini menggunakan 2,4 D dan kinetin sebagai ZPT yang akan divariasi konsentrasinya maupun kombinasi dari kedua ZPT tersebut.

Menurut Amalia dkk. (2006), kandungan fitokimia yang terkandung dalam daun pohpohan adalah steroid atau triterpenoid, alkaloid, dan

flavonoid. Ekstraksi yang digunakan dalam analisis fitokimia adalah ekstraksi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol. Kandungan fitokimia inilah yang membuat pohpohan baik untuk dikonsumsi dan dipercaya dapat menyembuhkan sakit perut. Sebagai salah satu tanaman konsumsi yang cukup digemari dan memiliki khasiat bagi kesehatan penelitian tentang kultur jaringan tanaman *Pilea trinervia* perlu dilakukan.

Pada umumnya untuk mempelajari tentang sintesis metabolit sekunder secara *in vitro* yang sering digunakan adalah kultur organ, kultur suspensi sel dan kultur kalus (Manthell dan Smith, 1983). Kultur yang lebih berpotensi untuk digunakan dalam produksi metabolit sekunder adalah kultur suspensi sel dan kultur kalus (Anggraeni, dkk., 2007). Adanya perbedaan kondisi lingkungan pertumbuhan antara kultur *in vitro* dan tumbuhan asalnya, memungkinkan suatu kultur jaringan tanaman mempunyai kandungan metabolit sekunder yang berbeda dengan tanaman asal, baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Gunawan, 1992).

Analisis kandungan metabolit sekunder yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan polaritas. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan.

Larutan atau campuran larutan yang digunakan dinamakan eluen (Skoog, dkk., 1996).

Kemangi memiliki kemiripan fungsi dan kegunaan dengan pohpohan, yaitu digunakan sebagai sayuran mentah yang dapat dikonsumsi (lalapan), selain itu juga kandungan metabolit sekunder pada daun kemangi dan pohpohan memiliki kemiripan. Kemiripan lain yang terdapat antara kemangi dan pohpohan, secara morfologi kemangi dan pohpohan memiliki bulu halus dipermukaan daun, sehingga memungkinkan metode sterilisasi yang akan digunakan adalah mirip.

B. Keaslian Penelitian

Terdapat aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pohpohan menggunakan pelarut metanol dengan dan tanpa tambahan karbon aktif. Pada metode penghambatan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidraszil (DPPH) dan mengukur serapan pada panjang gelombang 515 nm, diketahui bahwa ekstrak tanpa karbon aktif menunjukkan aktivitas antioksidan paling besar. Setelah diisolasi menggunakan metode kromatografi kilas diketahui hasil terbaik pada fraksi 1 dengan nilai 30,39% pada konsentrasi 150 ppm, dan 55,39% pada konsentrasi 350 ppm, yang merupakan senyawa steroid dan triterpenoid (Dwiyani (2008).

Menurut Endrini (2011), ektrak metanol daun pohpohan memiliki kemampuan antioksidan walaupun tidak sebesar sampel lainnya, yaitu rumput mutiara. Ekstrak daun pohpohan tidak memiliki kemampuan sebagai

antikarsinogenik terhadap aktivitas kanker payudara yang dipengaruhi hormon (MCF-7) menggunakan metode MTT (*microculture tetrazolium*)

Ekstrak daun Pohpohan menggunakan 3 pelarut yang berbeda yaitu metanol, etil setat, dan n-heksana mengandung metabolit sekunder, yaitu alkaloid dan steroid. Pengujian kandungan metabolit sekunder ini menggunakan pereaksi yang direaksikan dengan ekstrak daun Pohpohan. Pereaksi yang digunakan adalah reagen Mayer, Dragendroff, Wagner, dan Liberman Burchard. Selain itu, juga ekstrak daun Pohpohan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Khudry, 2014).

Eskplan daun kemangi dapat ditumbuhkan pada medium *Murashige Skoog*. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk kemangi adalah 2,4 D dan Kinetin. Pertumbuhan kalus kemangi terbaik diperoleh pada medium MS dengan variasi ZPT, yaitu 1 ppm 2,4 D dan 0,1 ppm Kinetin. Kalus daun kemangi diekstrak menggunakan metanol secara maserasi kemudian dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui golongan kandungan kimia menggunakan kromatografi lapis tipis. Ekstrak metanol kalus daun kemangi mengandung senyawa terpenoid, saponin, polifenol, dan flavonoid. Selain itu juga pengujian daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak kalus daun kemangi terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus,* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Astuti, 2004).

Eksplan daun kemangi ditanam pada media *Murashige-Skoog* (MS), kalus terbaik yang terbentuk adalah pada penggunaan variasi ZPT, yaitu 1 ppm NAA dan 0,5 ppm Kinetin. Kalus terbaik yang terbentuk kemudian dikeringkan, dibuat serbuk dan diekstraksi menggunakan metanol. Ekstrak kalus kemangi digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi. Hasil yang didapat adalah zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak kalus lebih besar pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan zona hambat dari ekstrak daun kemangi. Selain itu ekstrak kalus kemangi digunakan untuk analisis kandungan kimia menggunakan metode KLT. Hasil yang didapat dari analisis ini adalah kalus daun kemangi mengandung terpenoid, flavonoid, saponin, dan polifenol (Puspitasari, 2004).

C. Perumusan Masalah

1. Bagaimana cara sterilisasi eksplan daun pohpohan?
2. Kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4 D pada medium MS manakah yang menghasilkan kalus daun pohpohan terbaik?
3. Apakah kalus daun pohpohan mengandung metabolit sekunder alkaloida, flavonoida dan steroida atau triterpenoida?

D. Tujuan

1. Mengetahui cara setrilisasi eksplan daun pohpohan .
2. Mengetahui kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin dan 2,4 D pada medium MS yang tepat untuk menghasilkan kalus daun pohpohan yang terbaik.

3. Mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder alkaloida, flavonoida dan steroida atau triterpenoida pada kalus daun pohpohan.

E. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi yang berguna baik bagi komunitas ilmiah maupun masyarakat umum. Secara aplikatif, penelitian ini dapat memberi informasi untuk penelitian selanjutnya yang menggunakan tanaman pohpohan khususnya untuk produksi metabolit sekunder.