

ANALISIS KUALITATIF KANDUNGAN KIMIA KALUS *Sonchus arvensis* L. HASIL PERTUMBUHAN SECARA KULTUR JARINGAN

Katno, Yuli Widiyastuti *

Abstract

Plant tissue culture technique can be used to produce chemical compound or secondary metabolites from medicinal plant. The chemical compound of medicinal plants sometime produced locally within the callus. These compounds are generally identical with the one produced by medicinal plant growth in the field.

Sonchus arvensis (tempuyung) used as diuretic and anti-kidney stone. The flavonoid compound of Sonchus arvensis related to such activities are Apigenin 7-glucoside and Luteolin 7-glucoside. The both compounds of Sonchus arvensis are active as anti-kidney stone and diuretic by plant tissue culture. The reseach was carried out in plants tissue culture laboratory at BPTO Tawangmangu from June to July 2002.

The callus of Sonchus arvensis aged of 50 days was analized with spot test and TLC metode. The result was compared to the chemical compounds from Sonchus arvensis which growth in the field. The result showed that chemical compound from the callus and the plant growth in the field were identical.

Pendahuluan

Isolasi berbagai senyawa kimia yang berasal dari tanaman banyak dilakukan untuk mendapatkan bahan baku obat. Hal ini menimbulkan permasalahan serius karena terbatasnya jumlah tanaman sebagai sumber bahan baku sehingga pada akhirnya mengganggu kelestarian alam. Untuk mengatasi permasalahan itu dilakukan teknik kultur jaringan, karena proses-proses biokimia yang terjadi secara alami di lahan juga terjadi pada pertumbuhan yang dilakukan secara in vitro melalui teknik kultur jaringan tanaman (KJT). Pada kultur jaringan tanaman, persenyawaan kimia tersebut terdapat pada kalus atau bagian lain.¹ Untuk memproduksi metabolit sekunder terutama senyawa obat, kultur sel tanaman secara in-vitro dianggap merupakan teknik yang tepat karena dapat menghasilkan senyawa kimia sepanjang tahun pada kondisi lingkungan yang diatur.²

Keberhasilan pembentukan metabolit sekunder melalui kultur jaringan dipengaruhi beberapa hal, diantaranya keceratan hubungan Pem-

bentukannya dengan proses diferensiasi sel.³ Terjadinya metabolit sekunder pada kultur jaringan merupakan hasil sampingan dari proses diferensiasi tersebut. Ada 4 kategori pembentukan metabolit sekunder melalui kultur jaringan, yaitu :

- Senyawa yang pembentukannya tidak terkait pada diferensiasi sel tertentu. Senyawa ini kadang kala terdapat pada kalus, misalnya golongan kumarin, flavonoid dan fitosterol.
- Senyawa yang pembentukannya terkait dengan diferensiasi sel tertentu dan lebih sering dijumpai pada kalus, misalnya tanin dan lignin.
- Senyawa yang distribusinya hanya sedikit terkandung dalam tanaman sehingga jumlahnya sulit diperkirakan, tetapi bagian yang membentuk dan mengakumulasikan tidak terlihat pada sel tertentu, misalnya aliin pada *Alium cepa*
- Senyawa yang disintesis dan diakumulasikan oleh sel yang terkait dengan kumpulan sel tertentu dan sering dijumpai pada kultur

* BPTO Tawangmangu, Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional, Badan Litbangkes

kalus atau suspensi, misalnya senyawa minyak atsiri, lateks dan resin.⁴

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang cukup banyak dimanfaatkan masyarakat, tetapi belum banyak dilakukan isolasi kandungannya melalui teknik KJT. Tanaman ini dinyatakan berkhasiat sebagai peluruh batu ginjal serta dapat melarutkan kolesterol, kalsium oksalat dan asam urat dari batu ginjal. Kandungan kimia anorganik yang ditemukan pada tanaman tempuyung berupa kalium, natrium, kalsium, klorida dan oksalat; sedangkan kandungan kimia organik berupa flavonoid dan polifenol.⁵ Mekanisme pelarutan batu ginjal diduga melalui pembentukan kompleks antara 2 senyawa flavonoid daun tempuyung dengan kalsium yang menyusun batu ginjal tersebut. Adapun 2 senyawa flavonoid tersebut adalah *Apigenin 7-glukosida* dan *Luteolin 7-glukosida*.⁶ Mengingat senyawa aktif pada tanaman tempuyung cukup potensial untuk dimanfaatkan sebagai obat, maka perlu dikembangkan metode produksinya melalui teknik KJT sehingga dapat diperoleh dalam waktu singkat dan kondisi yang dapat diatur. Hasil produksi melalui metode KJT diharapkan identik dengan kandungan senyawa kimia pada tanaman yang tumbuh di lahan.

Berdasarkan latar belakang tersebut dilakukan analisis kandungan senyawa kimia dari kalus tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) hasil pertumbuhan *in vitro* di laboratorium kultur jaringan BPTO Tawangmangu dan dibandingkan dengan tempuyung yang tumbuh di lahan koleksi.

Bahan dan Metode

Percobaan dilakukan di laboratorium kultur jaringan BPTO Tawangmangu, pada bulan Juni hingga Juli 2002. Bahan yang digunakan adalah daun *Sonchus arvensis* L. (dari kebun koleksi BPTO Tawangmangu), media dasar "Murashige & Skoog" (MSO), sukrosa, dan zat pengatur tumbuh *Benzilaminopurin* (BAP), bayclean 30%, aquadest steril dan reagensia (kualitas pa.) untuk analisis spot test dan KLT. Pelaksanaan penelitian meliputi penyiapan media MS dan sterilisasi alat serta proses penanaman eksplan dan inkubasinya.

Daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) sebagai eksplan dicuci bersih dan dipotong-potong, disterilkan dengan cara direndam bayclean 30% selama 20 menit. Eksplan yang telah steril ditanam pada media dasar MS dengan hormon pengatur *Benzilaminopurin* (BAP) 1mg per liter.⁷ Penanaman dilakukan secara aseptik pada *Laminar Air Flow* (LAF) kemudian diinkubasi pada ruangan tertentu dengan penyinaran yang berlangsung secara terus-menerus. Setelah 50 hari, eksplan tumbuh menjadi kalus, dipanen, dibersihkan dari medium, dikeringkan dan dibuat serbuk. Kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan alat Soxhlet. Ekstrak yang diperoleh dipekatan dengan cara diputar menggunakan *Rotavapor*, hingga pelarut dapat dihilangkan. Terhadap ekstrak kental yang bebas etanol dilakukan analisis kandungan senyawa kimia secara kualitatif. Analisis dilakukan menggunakan metode *spot tes*, meliputi uji alkaloid, saponin, cardenolin dan bufadienol, flavonoid, tanin dan polifenol serta antrakinon. Kemudian dilanjutkan dengan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) untuk kandungan senyawa flavonoid.⁸

Dari hasil uji konfirmasi di atas, ternyata secara kualitatif kandungan senyawa kimia pada daun tempuyung yang tumbuh di lahan dan kalus hasil pertumbuhan secara KJT tampak identik. Pada percobaan ini ditemukan bahwa keduanya (daun dan kalus) mengandung senyawa flavonoid dan polifenol. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa senyawa aktif tanaman tersebut adalah senyawa flavonoid. Analisis kualitatif secara KLT terhadap senyawa flavonoid tersebut sebagai konfirmasi atau penegasan dan identifikasi selanjutnya. Hasil analisis KLT disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Pembahasan

Senyawa flavonoid pada kalus tempuyung pada percobaan ini telah terbentuk relatif sempurna, terbukti dengan hasil identifikasi yang sangat mirip dengan kandungan senyawa kimia pada daun tanaman yang tumbuh normal di lahan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa flavonoid pada kultur jaringan merupakan senyawa kimia yang pembentukannya tidak selalu terkait dengan diferensiasi sel tertentu.³

Hasil

Dari percobaan ini didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Kalus dan Daun *Sonchus arvensis* L

No	Identifikasi Golongan Kimia	Metode Pengujian	Hasil	
			Daun	Kalus
1.	Alakloid	Tes Mayer	-	-
		Tes Wagner	-	-
		Tes Dragendorf	-	-
2.	Saponin	Tes Forth	-	-
		Tes Liberman-Burchard	-	-
3.	Cardenolin dan Bufadienol	Tes Kiler-Kiliani	-	-
		Tes Liberman-Burchard	+	-
4.	Flavonoid	Tes Bate Smith & Metcalfe	+	+
		Tes Wilstater	+	+
5.	Tanin & Polifenol	Tes Gellatin	-	-
		Tes Ferri Klorida	+	+
6.	Antrakinon	Tes Borntrager	-	-
		Tes Modifikasi Borntrager	-	-

Tabel 2. Hasil Analisis Flavonoid secara KLT

No	Fase Diam	Fase gerak	Visualisasi	Hasil (Rf dan warna)	
				daun	kalus
1	Silikagel GF 254	Heksan-etilasetat – asam formiat – air = 100:88:6:6	UV. λ 254 UV. λ 366 uap ammonia	-	-
				0,4 / biru 0,47 / merah	0,4 / biru 0,47 / pink
2	Silikagel GF 254	Butanol-as.asetat-air = 4:1:1 Asam asetat 50%	UV. λ 254 UV. λ 366 Uap ammonia	-	-
				0,7/ birumuda 0,7 / kuning	0,7/hijau md 0,7 / kuning
3	Sellulose mikrokristalin	Asam asetat 25%	UV. λ 254	0,67 / hijau	0,73 / hijau
				0,53/violet	0,67/violet
				0,47/hijau	0,50/hijau
				0,33/biru	0,43/biru md
			UV. λ 366	0,67 / hijau	0,73 / hijau
				0,53/violet	0,67/violet
				0,47/hijau	0,50/hijau
				0,77/kuning	0,80/kuning
Uap ammonia	0,67/ merah	0,73/ merah			
	0,63/pink 0,43/merah	0,67/pink 0,47/merah			

Beberapa tahun terakhir telah banyak dipublikasikan hasil studi tentang kandungan kimia atau metabolit sekunder dan berbagai jenis enzim yang teridentifikasi melalui kultur jaringan. Bila diperhatikan pada beberapa publikasi tersebut, ternyata sistem KJT mampu memproduksi persenyawaan kimia atau metabolit sekunder yang sama dengan tanaman asalnya,

walaupun dapat juga berbeda bahkan ada sistem KJT yang tidak mampu memproduksi senyawa spesifik seperti pada tanaman asalnya. Hal ini karena kondisi lingkungan yang berbeda bila sel-sel tanaman ditumbuhkan secara in vitro dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh secara alami di lahan; dan mungkin menyebabkan KJT dapat memproduksi senyawa yang sama

sekali berbeda dan tidak pernah ditemukan pada tanaman asalnya.

Jadi perbedaan kandungan senyawa kimia antara kalus (hasil KJT) dan tanaman utuh (hasil pertumbuhan alami) mungkin saja terjadi, karena pembentukan metabolit sekunder oleh tumbuhan (baik yang tumbuh di alam maupun melalui KJT) dipengaruhi oleh berbagai faktor. Kondisi lingkungan pertumbuhan kedua bahan berbeda dalam hal intensitas cahaya, temperatur, komposisi nutrisi dan lain-lain. Pada kalus (pertumbuhan in vitro) cahaya berlangsung terus menerus selama 24 jam, sedangkan pada tanaman yang di lahan sesuai fluktuasi cahaya dan temperatur alam.

Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap produksi metabolit sekunder pada sistem KJT antara lain : komposisi media, pH media, temperatur, cahaya, kecepatan agitasi (pada kultur suspensi) dan faktor-faktor lain. Faktor cahaya juga berpengaruh terhadap stimulasi karotenoid, polifenol atau plastokinon.¹ Di samping itu sel-sel kalus masih merupakan sel parenkimatis yang belum mengalami diferensiasi ke arah organologi. Sedangkan pembentukan metabolit sekunder selain merupakan hasil sampingan proses diferensiasi sel, umumnya terjadi pada tanaman yang telah tua yang akan diakumulasikan pada sel-sel tertentu,³ sehingga adanya salah satu komponen senyawa kimia yang terdapat pada tanaman utuh dan tidak dapat ditemukan pada kalus mungkin karena belum terbentuk atau sistem KJT yang dilakukan memang tidak mampu membentuk persenyawaan tersebut. Namun pada sistem KJT sangat mungkin merubah komposisi media, menambah atau mengurangi zat-zat tertentu untuk memacu agar menghasilkan persenyawaan kimia atau metabolit sekunder lebih banyak, disamping variasi perlakuan lain yang bisa diatur sedemikian rupa sehingga dihasilkan jenis produk metabolit sekunder yang diharapkan. Dengan teknik KJT untuk menghasilkan metabolit sekunder banyak keuntungannya di samping waktunya relatif singkat juga dapat dihasilkan pada kondisi yang terkendali, bebas virus atau serangga, dapat menghasilkan senyawa spesifik, jumlah senyawa yang didapat bisa lebih banyak daripada tanaman utuh dan bagi daerah sub tropik memudahkan untuk mendapatkan metabolit sekunder dari tanaman tropik.¹

Kesimpulan

Dari percobaan tersebut dapat disimpulkan : Senyawa flavonoid pada daun *Sonchus arvensis* L. dapat dihasilkan melalui teknik kultur jaringan tanaman (KJT) dan kandungan senyawa kimia pada kalus dan daun tanaman yang tumbuh normal di lahan adalah identik.

Saran

Kandungan senyawa kimia pada kalus *Sonchus arvensis* L kemungkinan masih bisa ditingkatkan dengan melakukan kultur suspensi sel dan pemberian senyawa prekursor atau dengan ragam perlakuan lainnya, sehingga disarankan penelitian lebih lanjut dari berbagai faktor yang dapat meningkatkan kadar flavonoid sebagai senyawa aktif tanaman tersebut.

Daftar Pustaka

1. Pramono S, Gunawan D, Sugiharjo CJ, Risalah Seminar Nasional Metabolit Sekunder, PAU, Bioteknologi, UGM, Yogyakarta, 1987
2. Wetter LR, Constabel F, Metode Kultur Jaringan Tanaman (terjemahan), Edisi kedua, ITB, Bandung, 1991
3. Luckner ML, Scondary Metabolism and Cell Differentiation, Springer-Verlag, Berlin, 1985
4. Dixon RA, Plant Cell Culture, IRL Press, Washington, 1985
5. Sri Sugati S, Warta Tumbuhan Obat Indonesia, , Puslitbang Farmasi, Jakarta, 1987, 2 (3)
6. Depkes RI, Acuan Sediaan Herbal, Ditjen POM, Depkes RI, Jakarta, 2000
7. Dodds JH, Experiment in Plants Tissue Culture, Cambridge, University Press, London., 1985
8. Pedrosa C, Phytochemical Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants, UST Research Center, University of Santo Thomas, Philipines, 1985