

Analisis Kandungan Senyawa Metabolite Sekunder Pada Akar Pule Pandak Dengan Metode Kultur In Vitro (Sebuah review)

Andri Mulyani

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar
Jl. H.M. Yasin Limpo No.36, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan 92113

ABSTRAK

Pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) merupakan salah satu tumbuhan yang berada pada iklim tropis yang sangat populer dikalangan masyarakat karena dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Akar pule pandak mengandung lebih dari 50 macam alkaloid, beberapa di antaranya sudah berhasil diisolasi seperti reserpina, resinamina, ajmalina, dan serpentina. Senyawa metabolite ini berkhasiat sebagai pencegah naiknya suhu badan, obat penenang, obat tekanan darah tinggi, dan menormalkan denyut jantung. Penemuan terakhir adalah diisolasinya tiga macam alkaloid baru yang tergolong dalam monoterpenoid indol alkaloid. Dalam proses kultur jaringan metode perbanyakan secara in vitro dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu pembentukan tunas adventif, proliferasi tunas lateral, dan embriogenesis somatik.

Kata Kunci: akar Pule Pandak, kultur in Vitro, metabolite sekunder

PENDAHULUAN

Pengembangan obat-obatan dimulai penggunaan ekstrak tumbuhan, pengelolaan senyawa kimia murni dimana strukturnya kokain, kofein, dan morfin. Seiring dengan perkembangan dan kecanggihan teknologi saat ini kebutuhan bahan baku simplisia Pule pandak masih dipenuhi dari hasil pemanenan langsung dari alam. Pengambilan bahan mentah dari habitat asli merupakan cara yang dilakukan oleh kebanyakan industri obat tradisional dan masyarakat untuk memenuhi permintaan Pule pandak (*R. serpentina*). Pengambilan bahan baku simplisia Pule pandak (*R. serpentina*) dari habitat aslinya tanpa tindakan budidaya yang intensif berdampak pada kelestarian sumberdaya hayati, sehingga mengakibatkan keberadaannya menjadi terancam kepunahan. Faktor lain yang menyebabkan kelangkaan jenis Pule pandak adalah bagian yang dimanfaatkan sebagai obat ialah akar. Ketersediaan bibit Pule pandak (*R. serpentina*) secara konvensional pun kurang memadai bahkan populasinya semakin jarang ditemukan. Pertumbuhan biji dan stek batang Pule pandak kurang dari 15%. Akar pule pandak mengandung lebih dari 50 macam alkaloid, beberapa di antaranya sudah berhasil diisolasi seperti reserpina, resinamina, ajmalina, dan serpentina. Bahan aktif ini berkhasiat sebagai pencegah naiknya suhu badan, obat penenang, obat tekanan darah tinggi, dan menormalkan denyut jantung. Penemuan terakhir adalah di isolasinya tiga

macam alkaloid baru yang tergolong dalam monoterpenoid indol alkaloid (Hendrian 2008; Sheludko et,al 2008). Dari segi ekonomi, pule pandak mempunyai nilai penting. Data menunjukkan bahwa penggunaan simplisia pule pandak dalam negeri tahun 2000 sebesar 6.898 kg dengan kecenderungan pertambahan sebesar 25,89% per tahun (Sarin dkk., 2008). Nilai pule pandak sebagai tanaman obat terletak pada kandungan alkaloidnya.

Keberadaan alkaloid dalam tumbuhan sangat tergantung pada lingkungan terutama faktor-faktor yang mempengaruhi proses enzimatik antara lain jenis tanah, unsur hara, curah hujan, temperatur, dan cahaya. Unsur hara sangat besar pengaruhnya, karena pada proses biosintesis metabolit sekunder, unsur hara bertindak sebagai prekursor (Sahid dan Nurhayati, 2012). Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman sela adalah pule pandak. Dalam hal ini, perlu diperhitungkan faktor-faktor asosiasi dalam populasi dan hubungannya dengan alelokemi yang mungkin dihasilkan oleh tanaman pokok. Senyawa yang menghambat pertumbuhan tersebut berupa fenol yang mudah larut dalam air dan terpen yang mudah menguap. Senyawa-senyawa ini telah berhasil diisolasi dari daun, kulit kayu dan akar tumbuhan ini (Sulandjari, 2014). Senyawa fenol dapat masuk ke dalam tanah melalui pelindian, daun, eksudat akar atau karena dekomposisi sisa-sisa tumbuhan (Zulkarnain, 2012). Fenol merupakan salah satu komponen senyawa

alelopatik yang dapat ditemukan dalam jumlah cukup besar pada hampir semua tumbuhan, terutama tanaman-tanaman yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder lain, termasuk pule pandak (Singh, 2015). Senyawa fenol dapat masuk ke dalam tanah melalui eksudasi akar, dan dekomposisi sisa-sisa tumbuhan. Senyawa alelopati yang berada dalam tanah tidak mudah tercuci oleh air, namun akan mengalami penurunan konsentrasi dan pengurangan daya racun, karena menyatu dengan asam humat (Dalton, 2015). Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya budidaya tanaman Pule pandak (*R. serpentina*) untuk meningkatkan produksi tanaman dengan tetap mempertahankan keberadaannya di alam dan melestarikan keberadaannya. Pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) tanaman obat yang telah dinyatakan langka karena pengambilannya secara langsung di habitatnya tanpa memperhatikan daya regenerasinya, sehingga menurut CITES masuk pada appendix II atau menurut IUCN termasuk kategori genting (*endangered species*) (Prasetyorini, 2008). Tanaman ini termasuk familia Apocinaceae, tumbuh di India, Myanmar, Thailand, dan Indonesia (terutama Jawa). Di habitat alamnya, pule pandak tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 1.000 m dpl. Dengan tipe iklim C menurut Schmid-Ferguson. *R. serpentina* merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah dinyatakan langka dan sudah terancam punah. Siplisianya diperoleh dengan cara pengumpulan langsung dari alam (hutan) oleh karena permintaan yang cukup tinggi mengakibatkan pemanenan berlebihan, sehingga mengancam kelestariannya (Dalimartha, 2013).

Faktor lain penyebab kelangkaan *Rauvolfia serpentina* adalah bagian yang di manfaatkan sebagai bahan obat adalah akar, tanaman ini sulit di perbanyak secara konvensional dan penyebarannya terbatas. Oleh karena itu perlu segera dilakukan upaya pengembangannya. Kultur jaringan adalah suatu teknik budidaya tanaman dengan mengisolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga

bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Teknik kultur jaringan tanaman dapat memperbanyak klon secara cepat, menghasilkan keseragaman genetik, menyediakan bahan tanaman bebas patogen dalam jumlah besar, memproduksi tanaman sepanjang tahun, dan memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional terkhusus pada akar. Perbanyak Pule Pandak melalui teknik kultur jaringan telah dilakukan sebelumnya yang membuktikan adanya multiplikasi tunas yang terbaik pada medium MS + 0.5 mg/l BAP serta induksi perakaran terbaik pada medium MS + 1 mg/l IBA.

METODE

Pembuatan media dasar yang digunakan adalah media MS penuh dengan modifikasi. Medium dibuat dengan mencampurkan sejumlah larutan baku MS, lalu ditambah gula 30 gram/ L dan diaduk hingga homogen, dan dicampurkan dengan Thidiazuron (TDZ) 2 ml/L untuk merangsang pembelahan sel, benzyl amino purine (BAP) 4ml/ L untuk memicu pertumbuhan tunas, dan Plant Preservative Mixtur (PPM) 2 ml/L untuk mengurangi peluang terjadinya kontaminasi. Kemudian media diencerkan dengan aquades hingga volume media mencapai 1 liter. Pengaturan pH dilakukan hingga mencapai 5.8 dengan menambah HCN 1N atau NaOH 1N tetes demi tetes. Setelah itu ditambahkan agar 7 g/L dan diaduk sampai rata. Larutan dipanaskan menggunakan panci hingga mendidih sambil diaduk. Medium dituangkan ke dalam botol steril masing-masing sebanyak 20ml, lalu ditutup plastik bening dan diikat menggunakan karet. Media kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121oC dengan tekanan 1.5 bar selama 20 – 25 menit.. Medium steril disimpan dalam rak pada ruang steril sel ama 2-3 hari untuk mengetahi ada atau tidaknya kontaminasi. Subkultur Planlet yang berasal dari botol kultur disubkultur ke dalam 30 botol kultur dengan komposisi 5 tanaman per botol. Subkultur dilakukan di dalam laminar air flow cabinet di dalam ruang penanaman. Bahan hasil subkultur diletakkan

dalam ruang inkubasi selama 1 bulan untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminasi dan ada atau tidaknya kalus yang tumbuh sebagai sasaran utama proses iradiasi sinar gamma. Perlakuan Radiasi Sinar Gamma Setelah kultur berumur 1 bulan, dilakukan proses iradiasi sinar gamma dengan sumber radiasi isotop ^{60}Co dalam irradiator gamma cell 220. Dosis yang diberikan sebesar 5 Gy, 10 Gy, 15 Gy, 20 Gy, dan 25 Gy. Pada kontrol tidak dilakukan iradiasi. Dosis iradiasi diperoleh melalui pendekatan volume kromosom jenis Pule pandak yang telah didapatkan melalui penelitian yaitu sebesar $49.26\mu\text{m} - 63.12\mu\text{m}$. Maka, dosis iradiasi yang diberikan adalah sebesar 5 Gy, 10 Gy, 15 Gy, 20 Gy, dan 25 Gy.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam peubah pertumbuhan dan hasil akar pule pandak menunjukkan bahwa macam media berpengaruh sangat nyata/nyata terhadap semua peubah pertumbuhan dan hasil, kecuali panjang akar dan kadar reserpina. Asupan hara dari pupuk organik ataupun anorganik (NPK) berpengaruh nyata terhadap semua peubah pertumbuhan dan hasil. Analisis statistik perlakuan terhadap peubah pertumbuhan pule pandak menunjukkan bahwa pule pandak pada media bawah jati mengalami pertumbuhan yang lebih baik daripada media bawah akasia ataupun eukaliptus yang ditunjukkan pada tinggi tanaman, luas daun, dan ratio akar tajuk. May dan Ash (1990) melaporkan bahwa senyawa fenolik dapat menurunkan kandungan klorofil, sehingga menghambat fotosintesis yang dapat dilihat pada meningkatnya ratio akar tajuk, karena hasil fotosintesis digunakan untuk pertumbuhan akar. Selanjutnya ekstrak daun eukaliptus dapat menekan bobot kering tajuk. Pemberian pupuk organik pada masing-masing media meningkatkan tinggi tanaman, menambah jumlah daun, daun menjadi lebih luas dan meningkatkan ratio akar tajuk. Hal ini dimungkinkan karena KPK media bawah jati lebih tinggi daripada media bawah akasia dan eukaliptus sehingga unsur hara lebih mudah tersedia. Di samping itu senyawa alelopati pada konsentrasi tertentu dapat menurunkan kemampuan pertumbuhan tanaman karena

transport asam amino dan pembentukan protein terhambat. Pemupukan NPK kurang meningkatkan pertumbuhan sesuai pernyataan (Lisanework dan Michelsen, 1993) bahwa alelopati dapat menghambat penyerapan hara mineral seperti terlihat pada kandungan unsur NPK di daun pada media bawah akasia dan eukaliptus lebih rendah dibandingkan dengan media bawah jati. Pengaruh macam media terhadap komponen akar menunjukkan bahwa senyawa alelopati pada media akasia menekan jumlah dan diameter akar sedangkan pada media bawah eukaliptus hanya menekan jumlah akar. Pada media bawah jati tidak ada perubahan yang berarti. Lisanework dan Michelsen (1993) menyatakan bahwa alelopati sangat menghambat perpanjangan sel, perbanyakan, sel dan pertumbuhan akar kacang-kacangan dan jagung. Pemberian pupuk organik meningkatkan bobot kering akar lebih tinggi dibandingkan pupuk anorganik (NPK) pada ketiga media. Hal ini dimungkinkan karena pupuk organik banyak mengandung asam humat yang dapat menurunkan daya racun senyawa alelopati, karena senyawa tersebut mengalami transformasi rantai samping atau termodifikasi sewaktu struktur cincinnya terpotong, sehingga akan terikat kuat dan tidak tersedia dalam larutan (Dalton et al., 1983). Lambers et al. (2000) menyatakan bahwa penghambatan oleh senyawa fenolik terjadi pada proses pembentukan ATP yang dapat menekan hampir semua proses metabolisme dalam sel. ATP merupakan salah satu komponen yang berperan dalam mengikat CO_2 , sehingga penghambatan ini menyebabkan jumlah karbohidrat yang berfungsi sebagai bahan bakar dan bahan penyusun struktur sel berkurang. Senyawa fenolik juga dapat menurunkan kandungan klorofil, sehingga menghambat fotosintesis yang dapat dilihat pada reduksi berat kering tanaman (Tabel 7.). Selanjutnya Li et al. (1994) menyatakan bahwa, kalau pertumbuhan akar dibatasi oleh persediaan zat yang kurang, maka pertumbuhan tunas relatif akan lebih terbatas dibandingkan daun, sehingga kendala dalam penyerapan hara oleh akar akan berpengaruh rasio akar tajuk.

KESIMPULAN

Akar pule pandak mengandung lebih dari 50 macam alkaloid. Penemuan terakhir adalah diisolasinya tiga macam alkaloid baru yang tergolong dalam monoterpenoid indol alkaloid. Dalam proses kultur jaringan metode perbanyakkan secara *in vitro* dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu pembentukan tunas adventif, proliferasi tunas lateral, dan embriogenesis somatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalton, B.R.U, and S.B. Weed. 2015. Allelopathic substances in ecosystems: Effectiveness of sterile soil components in altering recovery of fenolic acid. *Journal of Chemical Ecology* 9: 1185-1199.
- Dalimartha, S. 2013. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 1. Jakarta;PT. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara.
- Lestari, dan R. Purnamaningsih, 1994. *Mikropropagasi daun dewa melalui kultur in vitro. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VII*. Bogor, 24-25 November 2008.
- Sheludko Y, I. Gerasimenko, H. Kolskorn, and J. Stockigt. 2008. New alkaloids of the sarpagine group from *Rauvolfia serpentina* hairy root culture. *Journal of Natural Products* 65 (7):1006-1010.
- Sahid, D., R.K. Kohli, and D.B. Saxena. 2008. Effect of Eucalyptus oil on germination and growth of *Phaseolus aureus* Roxb. *Plant Soil* 137: 223-227.
- Hendrian, R. 2008. Seleksi *in vitro* tanaman padi untuk ketahanan terhadap aluminium. Intitut Pertanian Bogor. 59 hlm
- Prasetyorini, 2008. Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada Pule pandak (*Rauvolfia serpentina* L.) Malang (ID) : Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sandra E dan Kemala S. 2013. Tinjauan Permintaan Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia dalam Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia. Bogor (ID) : IPB dan Lembaga Alam Tropika Indonesia.
- Sarin, Y.K. 1982. Cultivation And Utilization of Medicinal Plants. Regional Research Laboratory Council of Scientific & Industrial Research JammuTawi.
- Mulliken ,T. and P. Crofton, 2008. Review of the Status, Harvest, Trade and Management of Seven Asian CITES-listed Medicinal and Aromatic Plant Species. Federal Agency for Nature Conservation. Bonn, Germany.p 93-112.