

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi penyebab kematian terbesar di dunia. Pada tahun 2018 terdapat 219 juta kasus dengan 435 ribu kematian secara global dan diperkirakan 300-500 juta orang terinfeksi per tahunnya (WHO, 2018). Penyakit malaria disebabkan oleh infeksi *Plasmodium falciparum* sebagai parasit protozoa yang didistribusikan oleh nyamuk malaria. Salah satu negara endemik wabah malaria di dunia adalah Indonesia. Berdasarkan Riskesdas (2013) disebutkan prevalensi nasional malaria yaitu 0,6% dimana masih terdapat 11 provinsi dengan API (*Annual Parasite Incidence*) di atas angka rata-rata nasional. Tingkat prevalensi tertinggi ditemukan di wilayah timur Indonesia, yaitu di Papua Barat (10,6%), Papua (10,1%) dan Nusa Tenggara Timur (4,4%).

Kasus resistensi zat anti-malaria dari zat klorokuin dan artemisin meningkatkan upaya untuk menemukan senyawa baru untuk mengatasi malaria (Cammack, 2011). Berdasarkan penelitian terbaru, malaria dapat diatasi oleh zat metabolit sekunder dari sirih hutan (*Piper aduncum*). Tanaman ini tersebar dan tumbuh dengan baik di wilayah Sumatera dan Jawa (Munawaroh, 2017). Data menunjukkan bahwa aktivitas biologis dari zat kimia pada *P. aduncum* efektif menghambat kerja *P. falciparum* menginfeksi *Red Blood Cell* (RBC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antiplasmodial ekstrak *P. aduncum* dengan IC_{50} berkisar antara 26,5 dan 8,67 untuk sitotoksitas (CC_{50}) (Vanegas, 2012). Diketahui senyawa yang efektif sebagai anti-plasmodium pada tanaman ini adalah senyawa alkaloid piperine yang ditemukan pada identifikasi komponen kimia tanaman dari genus Piper (Mgbeahuruike *et al.*, 2017).

Piperine merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang tergolong dalam kelompok alkaloid. Kandungan senyawa piperine pada daun *P. aduncum* masih tergolong rendah yaitu berkisar 0,8% - 1% sehingga dibutuhkan upaya untuk memperoleh senyawa piperine yang lebih tinggi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk penyediaan senyawa piperine adalah secara *in vitro* dengan teknik kultur jaringan melalui induksi kalus. Kalus adalah kumpulan masa sel yang belum terdiferensiasi dan mampu dimodifikasi dengan berbagai faktor lingkungan. Induksi kalus merupakan salah satu teknik kultur jaringan yang efektif menghasilkan kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi (Sulichantini, 2015; Ikeuchi *et al.*, 2019).

Pemanfaatan kultur kalus untuk produksi metabolit sekunder masih terus dikembangkan hingga tiga dekade terakhir. Kultur kalus dapat menjadi salah satu cara yang efektif dalam produksi metabolit sekunder pada tumbuhan. Diantara keuntungan yang diperoleh dari kultur kalus adalah menjaga eksistensi spesies di alam, dapat dimanfaatkan secara terkontrol dan berkelanjutan (Ariati *et al.*, 2012; Sulichantini, 2015). Kalus adalah sekelompok sel meristematis yang memiliki sejumlah kecil vakuola dan kandungan kloroplas yang rendah untuk berfotosintesis, sehingga perkembangannya dapat dimodifikasi dan diarahkan sesuai dengan kebutuhan tergantung stimulus yang diberikan seperti zat pengatur tumbuh (ZPT) dan komposisi media (Efferth, 2019; Rivai & Hendra, 2015). Teknik ini juga telah dimanfaatkan untuk produksi berbagai kelompok senyawa dari beragam spesies tumbuhan dengan kondisi kultur yang ideal dan metode lainnya (Benjamin *et al.*, 2019).

Berbagai faktor internal dan eksternal diketahui mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada kultur kalus salah satunya adalah dengan elisitasi. Teknik elisitasi telah digunakan dalam peningkatan produksi metabolit sekunder sel dan

organ tumbuhan dari berbagai jenis tanaman (Naik & Jameel, 2016). Elisitor merupakan suatu faktor stress biotik maupun abiotik yang mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder yang komposisinya dapat dikontrol melalui teknik *in vitro* (Ajungla, 2009).

Diantara jenis elisitor abiotik adalah penambahan logam berat. Logam berat merupakan salah satu agen utama yang menyebabkan stress pada tanaman dan memicu peningkatan kadar metabolit sekunder (Cai *et al.*, 2013). Cobalt merupakan mikronutrien yang dibutuhkan oleh sel tanaman dalam proses metabolisme yang pada konsentrasi tinggi dapat bersifat racun dan menjadi cekaman (Liu, 1998). Pemberian elisitor CoCl_2 pada tanaman *Melissa officinalis* selama 72 jam mampu meningkatkan kandungan fenolik pada konsentrasi 100 $\mu\text{mol/l}$ (Urdova *et al.*, 2015). Selain itu ion Co^{2+} mampu memberikan efek terhadap peningkatan kadar metabolit sekunder golongan alkaloid pada tanaman *Catharanthus roseus* dengan meningkatkan ekspresi gen CrMPK3 (Fouad & Rehab, 2018). Sedangkan percobaan lainnya menggunakan elisitor CoCl_2 dengan konsentrasi 6,7 μM pada *Celosia cristata* menunjukkan adanya peningkatan kandungan betaxantine dari 0,13 μM menjadi 0,18 μM (Warhade & Rupesh, 2018). Penambahan elisitor kobalt dengan konsentrasi 5 mg/L pada kalus tanaman *Artemisia annua* juga menunjukkan adanya peningkatan kandungan 2,25 kali lipat dibandingkan dengan kontrol (Ghasemi *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada *Piper betle*, didapatkan bahwa penambahan elisitor abiotik CoCl_2 pada konsentrasi 1 mg/L pada kalus usia tiga minggu mampu menghasilkan peningkatan terpenoid sebesar 5,95 % dengan berat segar dan kering yang lebih tinggi masing-masing pada $916,4 \pm 162,3$ mg dan $93,3 \pm 11,7$ mg (Junairiah, 2020).

Berdasarkan informasi diatas maka perlu dilakukan penelitian sekarang yaitu mengenai respon pemberian elisitor CoCl_2 terhadap akumulasi senyawa piperine kalus *P. aduncum*.

B. Rumusan masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimanakah pengaruh beberapa konsentrasi elisitor CoCl_2 terhadap kandungan piperine pada kalus *P. aduncum* L?
2. Berapa konsentrasi optimum elisitor CoCl_2 terhadap peningkatan kandungan piperine pada kalus *P. aduncum* L?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan permasalahan di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi elisitor CoCl_2 terhadap morfologi kalus *P. aduncum* L.
2. Mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi elisitor CoCl_2 terhadap persentase hidup dan pertumbuhan kalus *P. aduncum* L.
3. Mendapatkan konsentrasi elisitor CoCl_2 terbaik terhadap peningkatan kandungan piperine kalus *P. aduncum* L.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Dapat memberikan informasi mengenai konsentrasi elisitor CoCl_2 yang optimal terhadap kandungan piperine terbesar pada kalus *P. aduncum* L secara *in vitro*.

Diharapkan menjadi alternatif untuk mendapatkan bahan bioaktif berbasis alkaloid (terutama piperine) dalam skala besar.