

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara dengan tingkat keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Menurut *National Geographic Indonesia* (2019) Indonesia menempati urutan kedua setelah Brazil dalam kategori negara megabiodiversitas. Tercatat bahwa Indonesia memiliki kurang lebih 31.750 jenis tumbuhan yang telah berhasil diidentifikasi. Tahun 2021 Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) melaporkan bahwa sekitar 25.000 dari total tersebut merupakan tumbuhan berbunga, dan menyatakan bahwa sekitar 15.000 spesies tumbuhan yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat, namun baru sekitar 7.000 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan obat-obatan herbal maupun farmasi modern (Setiawan, 2022).

Tanaman obat merupakan jenis tumbuhan yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan polifenol. Senyawa-senyawa ini berperan penting dalam memberikan efek terapeutik yang berperan penting dalam memberikan efek farmakologis yang bermanfaat bagi kesehatan manusia mulai dari aktivitas antioksidan, antiinflamasi dan anti bakteri. Pemanfaatan tanaman obat telah menjadi bagian dari tradisi pengobatan masyarakat Indonesia secara turun temurun, dan tersebar luas di berbagai daerah dengan kearifan lokal masing-masing. Seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap efek samping dari obat sintesis, mendorong masyarakat mulai beralih dari pengobatan modern ke pengobatan herbal (*back to nature*) sebagai alternatif harga yang mahal dan obat herbal minim efek samping kimia. Salah satu tanaman yang telah banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional maupun sebagai objek penelitian ilmiah adalah ciplukan (*Physalis angulata* L.).

Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, pemanfaatan ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam bidang pengobatan semakin mendapatkan perhatian, khususnya dari kalangan peneliti dan praktisi medis di luar negeri. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman ini memiliki potensi besar dalam penanganan berbagai penyakit degeneratif.

Diperkirakan sekitar 60% senyawa anti-kanker berasal dari sumber alam, termasuk dari spesies *Physalis angulata* L yang diidentifikasi sebagai tumbuhan dengan potensi tinggi untuk dikembangkan sebagai agen terapi kanker. Analisis kandungan kimia menggunakan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) mengungkapkan bahwa ciplukan mengandung berbagai senyawa aktif penting seperti Curcumin dimer 1, Absintholide, Mytilin A, Ganoderic acid TQ Encecalin, Alnustone, serta Ginsenoside F1. Senyawa-senyawa tersebut diketahui berperan dalam menghambat perkembangan sel kanker melalui penghentian siklus sel, induksi apoptosis, dan efek anti-metastasis (Pillai *et al.*, 2024).

Menurut Yuniaswan (2022) *Physalis angulata* L. Menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan terhadap berbagai sitokin pro-inflamasi seperti interleukin-6 (IL-6), interferon gamma (INF- γ), tumor necrosis faktor-alpha (TNF- α), dan interleukin-1 alpha (IL-1 α), serta bersifat antioksidan yang membantu mencegah kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Selain itu tumbuhan ini juga terbukti memiliki potensi sebagai agen antibakteri dan antivirus, seperti virus herpes simpleks I, dan campak. Dalam bidang onkologi, ciplukan menunjukkan kemampuan untuk menghambat proses metastasis sel kanker. Sementara itu, dalam bidang dermatologi, senyawa aktif dalam ciplukan berkontribusi terhadap percepatan penyembuhan luka dan stimulasi regenerasi sel kulit, menjadikannya potensial sebagai bahan aktif dalam produk perawatan kulit dan terapi luka.

Umumnya produksi obat-obatan berbasis bahan alam bergantung pada proses ekstraksi senyawa aktif dari tanaman liar yang belum dibudidayakan secara khusus. Hal yang sama juga terjadi pada tanaman ciplukan yaitu saat ini pemanfaatannya sebagian besar masih berasal dari populasi liar di alam karena budidayanya belum banyak dikembangkan (Ngawit *et al.*, 2023). Salah satu tantangan dalam pengembangan obat herbal adalah ketidakstabilan pasokan bahan baku yang berdampak pada inkonsistensi kualitas dan kuantitas senyawa metabolit sekunder. Variabilitas ini dipengaruhi oleh berbagai faktor eksternal seperti perubahan iklim, kompetisi dengan spesies lain dan variasi kandungan nutrisi media tanam. Akibatnya, kandungan metabolit aktif dalam tanaman ciplukan dapat berbeda-beda tergantung pada lokasi dan kondisi lingkungan tempat tumbuhnya, sehingga menjadi kendala dalam standarisasi bahan baku untuk keperluan pengobatan.

Menurut Kadapi *et al.*(2024), penerapan teknik budidaya berperan penting dalam mendukung pengembangan tanaman obat, khususnya dalam aspek perbanyakan dan konservasi, serta optimalisasi produksi senyawa metabolit sekunder. Salah satu pendekatan yang efektif untuk tujuan tersebut adalah dengan kultur *in vitro*, yang memungkinkan produksi tanaman obat secara efisien dan terkendali, terutama dalam meningkatkan akumulasi senyawa bioaktif. Keunggulan utama dari metode kultur *in vitro* terletak pada lingkungan kultur yang steril dan terkontrol, sehingga proses metabolisme tanaman tidak terganggu oleh faktor luar seperti perubahan iklim, patogen maupun kompetisi antar tanaman. Salah satu teknik kultur *in vitro* yang banyak dimanfaatkan untuk produksi metabolit sekunder adalah kultur kalus.

Andrea (2024) menjelaskan bahwa kultur kalus terbukti mampu menghasilkan kandungan metabolit yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil ekstraksi langsung dari tanaman utuh, karena proses biosintesis senyawa aktif berlangsung lebih optimal pada media yang diformulasikan khusus. Peningkatan kadar metabolit sekunder dalam sistem kultur dapat dipengaruhi oleh penambahan agen penginduksi ke dalam media. Hal ini didukung oleh penelitian oleh Dena *et al.* (2021) yang menunjukkan bahwa kultur *in vitro* pada ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*) mampu membentuk kalus dan menghasilkan kandungan saponin yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional, setelah diberikan perlakuan tertentu dan di uji menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis(KLT). Peningkatan ini berkaitan dengan kandungan nutrisi dalam media kultur, seperti ekstrak ragi yang kaya akan asam amino, peptida, karbohidrat, garam, serta vitamin yang mendukung aktivitas metabolisme sekunder secara optimal.

Kalus merupakan kumpulan sel yang bersifat amorf yang terbentuk sebagai respons dari perlukaan jaringan tanaman seperti pemotongan atau pengirisan pada eksplan. Proses pembentukan dan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya jenis eksplan, komposisi media, serta keberadaan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Lutfiani *et al.*, 2022). Perbedaan jenis eksplan yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap induksi kalus (Weslinata & Mata, 2024). Dalam teknik kultur jaringan, salah satu media yang paling umum digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS), karena media ini mengandung banyak mengandung nitrat dan garam mineral dengan konsentrasi lebih tinggi yang mendukung

pertumbuhan jaringan tanaman (Saepudin *et al.*, 2020). ZPT merupakan senyawa organik non-hara yang berperan penting dalam pengaturan aktivitas fisiologis tumbuhan, meskipun dibutuhkan hanya dalam konsentrasi rendah. ZPT dapat merangsang maupun menghambat proses biologis sel tanaman termasuk pembelahan sel, diferensiasi jaringan dan pembentukan organ. Dalam kultur kalus, dua jenis ZPT yang sering digunakan adalah auksin dan sitokinin, karena mampu merangsang morfogenesis pada tingkat seluler dan jaringan (Dewi *et al.*, 2023).

Salah satu jenis auksin yang banyak digunakan dalam kultur kalus adalah 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid). Senyawa ini dikenal sebagai auksin sintetik yang sangat stabil secara kimia dan tidak mudah terurai oleh enzim tanaman, sehingga efektif dalam merangsang pembentukan kalus (Wulannanda *et al.*, 2023). Sedangkan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) merupakan salah satu jenis sitokinin yang berperan merangsang pembelahan dan pemanjangan sel, serta mendukung proses pembentukan kalus (Setiawati *et al.*, 2024). Rasio antara auksin dan sitokinin menjadi faktor penting dalam pembentukan kalus. Jika kandungan sitokinin lebih tinggi dari auksin, maka proses pertumbuhan cenderung mengarah pada pembentukan tunas. Sebaliknya, rasio auksin yang lebih tinggi akan merangsang pembentukan akar (Fathillah *et al.*, 2024).

Konsentrasi ZPT yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya oleh Mastuti *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa kombinasi BAP 2 mg/L dengan IAA 1, 2, dan 4 mg/L menyebabkan penurunan massa kalus pada eksplan hipokotil *P. angulata* L. Kombinasi kedua ZPT tersebut juga kurang efektif dalam mempertahankan pertumbuhan kalus. Sehingga pada penelitian ini memilih menggunakan kombinasi ZPT 2,4-D (1, 3, dan 4 mg/L) dan BAP (0,5, 1, dan 2 mg/L) sebagai perlakuan.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kombinasi ZPT 2,4-D dan BAP yang dimodifikasi dalam media kultur dapat merangsang pembentukan kalus secara efektif. Misalnya, pada tanaman *Stevia rebaudiana*, kombinasi 2,4-D 2 mg/L dan BAP 0,5 mg/L berhasil menginisiasi kalus dengan tekstur kompak, yang menunjukkan kondisi kultur yang optimal (Busarif *et al.*, 2021). Selain itu, Yanti & Wardana (2023) menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 2 mg/L + BAP 1,5 mg/L mampu mempercepat waktu munculnya kalus hingga 6 hari setelah inisiasi (HSI), sekaligus menghasilkan kalus dengan bobot dan tekstur yang baik.

Potensi kalus sebagai sumber metabolit sekunder yang memiliki nilai terapeutik tinggi menjadikannya alternatif penting dalam produksi senyawa bioaktif untuk keperluan pengobatan. Teknik kultur *in vitro* merupakan pendekatan yang relevan karena memungkinkan sintesis metabolit sekunder secara efisien tanpa perlu mengekstraksi langsung dari tanaman ciplukan yang tumbuh di alam. Sehingga penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-D dan BAP, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi, terhadap pembentukan kalus dari eksplan daun *Physalis angulata L.* melalui teknik kultur *in vitro*.

1.2. Identifikasi Masalah

1. Produksi metabolit pada tanaman ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang dihasilkan langsung dari alam seringkali terbatas ketersediaannya dan kualitasnya tidak seragam akibat pengaruh lingkungan.
2. Belum diketahui konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP yang optimal untuk pertumbuhan kalus induksi ciplukan.

1.3. Ruang Lingkup

1. Objek penelitian yang digunakan adalah tanaman ciplukan (*Physalis angulata L.*). Eksplan yang digunakan berasal dari daun muda yang telah berkecambah.
2. Media kultur yang digunakan adalah media dasar MS (*Murashige and Skoog*) dengan tambahan dua jenis zat pengatur tumbuh, yaitu 2,4-D pada konsentrasi 0; 1; 2 dan 4 mg/L dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) pada konsentrasi 0; 0.5; 1 dan 2 mg/L.
3. Parameter yang diamati meliputi waktu munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, berat, diameter, tekstur dan warna kalus.

1.4. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada pengamatan induksi kalus dari eksplan daun ciplukan yang dikulturkan di media MS (*Murashige and Skoog*) yang ditambahkan kombinasi ZPT 2,4-D dan BAP pada berbagai konsentrasi.

1.3. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-*Diclorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) terhadap induksi kalus pada *Physalis angulata* L. secara *in vitro* ?
2. Bagaimana pengaruh pemberian 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) sebagai zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus *Physalis angulata* L. secara *in vitro* ?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi antara 2,4-*Diclorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) sebagai zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus *Physalis angulata* L. secara *in vitro* ?

1.4. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-*Diclorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) terhadap proses induksi kalus pada *Physalis angulata* L. secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) sebagai zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus *Physalis angulata* L. secara *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh kombinasi antara 2,4-*Diclorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) sebagai zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus *Physalis angulata* L. secara *in vitro*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Penelitian diharapkan bisa menjadi sumber referensi ilmiah terkait pengaruh kombinasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap pembentukan kalus pada tanaman *Physalis angulata* L. melalui kultur *in vitro*.
2. Sebagai acuan dalam pengembangan metode produksi senyawa metabolit *Physalis angulata* L. melalui kultur kalus.
3. Sebagai referensi dan sebagai dasar untuk penelitian berikutnya, khususnya dalam optimalisasi produksi senyawa metabolit dari *Physalis angulata* L. melalui teknik kultur *in vitro* dan penentuan kombinasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif.