BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Riset

Asam benzoat adalah senyawa organik multifungsi yang memiliki peran besar dalam bidang farmasi, pangan, dan industri (Manuja *et al*., 2013; Mao *et al*., 2019). Kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, jamur, dan ragi melalui mekanisme pengganggguan fungsi sel mikroorganisme menjadikan asam benzoat sangat efektif untuk memperpanjang masa simpan produk, terutama pada makanan dan minuman dengan pH rendah, serta menjaga kualitas dan keamanannya. Selain itu, asam benzoat dan turunannya seperti parabens juga memiliki potensi antisickling, yaitu mampu membantu menstabilkan bentuk sel darah merah dan mencegah deformasi sel pada penderita anemia sel sabit, serta menunjukkan efek antidiabetes melalui aktivitas hipoglikemik yang dapat membantu menurunkan kadar gula darah dengan meningkatkan sensitivitas tubuh terhadap insulin dan menghambat penyerapan glukosa berlebih (Manuja *et al*., 2013). Dalam industri farmasi, asam benzoat berfungsi untuk menjaga stabilitas obat dan memperpanjang masa simpannya, baik dalam bentuk murni maupun turunannya seperti natrium benzoat (Issa & Mohammed, 2025). Selain itu, asam benzoat juga menjadi bahan penting dalam pembuatan senyawa turunan seperti benzil benzoat, resin alkid, dan plastik PET yang banyak digunakan di sektor industri (He *et al*., 2023; Nasution, 2025).

Senyawa ini secara alami ditemukan pada beberapa tanaman penghasil getah aromatik, salah satunya adalah Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*) (Sharif *et al*., 2016). Pada tanaman ini, asam benzoat merupakan salah satu komponen utama yang berperan penting dalam membentuk aroma khas serta aktivitas biologis getah kemenyan. Senyawa ini terbentuk bersama asam sinamat, vanilin, dan turunannya melalui jalur metabolisme fenilpropanoid yang berfungsi dalam sistem pertahanan alami tanaman terhadap mikroorganisme (Sianipar, 2023). Penelitian Susanti *et al*. (2024) menunjukkan bahwa hasil analisis GC-MS terhadap ekstrak etil asetat getah kemenyan mengandung berbagai senyawa dengan waktu retensi dan persentase area berbeda. Di antara komponen tersebut, beberapa senyawa dengan persentase

area tertinggi adalah asam benzoat, asam sinamat, dan vanilin. Ketiga senyawa ini menjadi komponen dominan yang berkontribusi terhadap karakteristik kimia dan aroma khas dari getah kemenyan. Kandungan tersebut menjadikan getah kemenyan banyak dimanfaatkan dalam industri parfum, kosmetik, farmasi, dan pangan karena kompleksitas dan multifungsinya (Mao *et al*., 2019; He *et al*., 2023; Nasution, 2025; Issa & Mohammed, 2025) Sumatera Utara sendiri merupakan pusat produksi kemenyan sebanyak 23,172 Ha dengan Tapanuli Utara dan Humbang Hasundutan sebagai kontributor utama (BPS, 2023).

Proses pengambilan getah kemenyan umumnya dilakukan melalui eksudasi patologis dari batang pohon yang dilukai. Getah akan keluar dan mengeras setelah kandungan airnya menguap, namun proses ini dapat menurunkan produktivitas dan mengancam kelestarian tanaman (Sharif *et al*., 2016; Paparella *et al*., 2025). Pohon Kemenyan Sumatra memerlukan waktu puluhan tahun untuk menghasilkan getah dalam jumlah signifikan. Eksploitasi berlebihan, perubahan iklim, dan alih fungsi lahan turut meningkatkan risiko kepunahan *Styrax benzoin* di Sumatra Utara pada tahun 2050 jika tidak ada upaya konservasi (Nurwahyuni *et al*., 2024; Paparella *et al*., 2025). Kondisi ini menyebabkan terbatasnya pasokan senyawa bioaktif bagi kebutuhan industri dan menegaskan pentingnya alternatif produksi yang berkelanjutan, salah satunya melalui teknik kultur jaringan.

Berdasarkan teori totipotensi biokimia, setiap sel tanaman memiliki kemampuan genetik untuk mensintesis metabolit sekunder baik secara in vivo maupun *in vitro*. Artinya, sel yang dikulturkan secara *in vitro* tetap berpotensi menghasilkan senyawa yang sama dengan jaringan asalnya (Sulichantini, 2015). Melalui metode kultur kallus dengan media Murashige dan Skoog (MS) serta penggunaan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin, jaringan tanaman dapat dirangsang untuk menghasilkan metabolit sekunder seperti asam benzoat dalam waktu yang jauh lebih singkat dibandingkan tanaman dewasa. Hal ini sejalan dengan Marzuki (2023) yang menegaskan bahwa berbagai bagian tanaman termasuk pucuk daun, akar, maupun jaringan yang telah terinduksi menjadi kalus dan suspensi sel dapat dimanfaatkan untuk produksi metabolit sekunder. Pada kondisi *in vitro,* eksplan akan membentuk massa sel tidak terorganisir berupa kalus yang mampu mensintesis metabolit secara independen dari bagian asalnya,

sehingga senyawa yang secara alami terkonsentrasi pada getah pun tetap dapat diproduksi melalui kultur kalus. Efferth (2019) juga menegaskan bahwa kalus merupakan fase sel baru yang bersifat non-spesifik, sehingga berpotensi menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan jaringan asalnya. Bahkan, kultur kalus dinilai lebih dapat diandalkan daripada pengumpulan bahan langsung dari alam karena memungkinkan manipulasi jalur biosintesis secara terkontrol dan berkelanjutan. Penelitian sebelumnya pada kultur kallus kemenyan juga melaporkan bahwa hasil skrining dan analisis GC-MS mendeteksi senyawa bioaktif, salah satunya vanilin. Temuan tersebut menunjukkan bahwa kultur kalus memang memiliki kemampuan menghasilkan metabolit penting tersebut, Kultur kalus perlu dieksplorasi untuk metabolit sekunder lain karena memungkinkan manipulasi jalur biosintesis secara terkontrol dan berkelanjutan (Nurwahyuni *et al*., 2025). Dengan demikian, kultur kallus menjadi pendekatan yang kuat, stabil, dan ramah lingkungan untuk memproduksi senyawa bernilai tinggi dari tanaman kemenyan.

Efektivitas pendekatan ini juga telah dibuktikan melalui berbagai penelitian terhadap tanaman obat lainnya, yang menunjukkan kemampuan kultur *in vitro* dalam menghasilkan metabolit sekunder bernilai ekonomi tinggi. Indah & Ermavitalini (2013) menemukan piranokumarin pada kultur kalus nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.). Sementara Anjani *et al*. (2022) menemukan fenol dan metabolit lain pada kultur kalus lakum (*Causonis trifolia* (L.) Mabb. & J. Wen.). Selain itu, Nazir *et al*. (2020) melaporkan produksi asam rosmarinat dan asam sikorat dari kultur kalus *Ocimum basilicum* L.Temuan-temuan tersebut memperkuat bahwa teknik kultur *in vitro* berpotensi besar dalam menghasilkan metabolit sekunder bernilai tinggi yang dapat menjadi bahan baku farmasi alami.

Melihat keberhasilan pada berbagai spesies tersebut, maka kemenyan yang secara alami kaya akan senyawa aromatik dan fenolik termasuk asam benzoat juga memiliki peluang besar untuk menghasilkan metabolit yang sama melalui pendekatan kultur jaringan. Hal ini semakin relevan karena penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa getah kemenyan mengandung beragam senyawa bioaktif bernilai tinggi. Sharif *et al*. (2016) melaporkan keberadaan asam benzoat, asam sinamat, benzaldehida, benzil benzoat, vanilin, dan stilena pada getah kemenyan.

Bahkan, penelitian Pangoloi (2023) berhasil mengisolasi asam benzoat dari getah kemenyan sebesar 15,2% dengan tingkat kemurnian tinggi berdasarkan analisis GC-MS. Kekuatan data tersebut mendukung dugaan bahwa sel kemenyan yang dikultur secara *in vitro* juga mampu mensintesis asam benzoat sebagaimana jaringan alaminya. Dengan demikian, kultur jaringan menjadi pendekatan yang sangat menjanjikan untuk mengeksplorasi dan memproduksi senyawa bioaktif utama dari tanaman kemenyan secara terkontrol dan berkelanjutan.

Melihat potensi kimiawi dan landasan teori tersebut, pengembangan kultur *in vitro* Kemenyan Sumatra menjadi langkah strategis untuk melihat ada atau tidaknya asam benzoat yang dihasilkan dalam kondisi terkontrol sebagai eksplorasi potensi kultur dalam memperoleh metabolit sekunder. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan judul: "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Asam Benzoat dari Hasil Kultur *In vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*)".

1.2 Batasan Masalah

Batasan Penelitian ini dibatasi pada isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif asam benzoat dari sampel hasil kultur *in vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*) yang telah tersedia dari laboratorium kultur jaringan, sehingga peneliti tidak melakukan proses kultur jaringan sendiri dan penelitian ini tidak mencakup pembuatan kalus, optimasi media, pemilihan eksplan, maupun manipulasi zat pengatur tumbuh. Fokus penelitian meliputi tahap preparasi sampel, ekstraksi senyawa, identifikasi, dan penentuan kadar asam benzoat. Preparasi sampel dilakukan dengan mencuci, mengeringkan, menggiling, dan menyaring hasil kultur hingga diperoleh serbuk halus. Ekstraksi awal dilakukan dengan metode refluks menggunakan pelarut dengan polaritas berbeda (n-heksana, etil asetat, dan etanol), kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi cair-cair (*liquid–liquid extraction*) untuk memisahkan asam benzoat dari larutan pekat. Analisis kualitatif dilakukan melalui uji fitokimia ($FeCl_3$) untuk mendeteksi keberadaan senyawa fenolik, sedangkan analisis spektroskopi menggunakan FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa. Analisis kuantitatif menggunakan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan dan menghitung kadar asam benzoat berdasarkan luas puncak kromatogram. Penelitian

ini tidak membahas faktor-faktor yang memengaruhi produksi metabolit sekunder, tidak membandingkan hasil kultur dengan getah kemenyan alami, dan tidak mengisolasi senyawa lain selain asam benzoat, sehingga sepenuhnya berfokus pada tahap isolasi, identifikasi, dan penentuan kadar asam benzoat dari hasil kultur *in vitro*.

1.3 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang terdapat dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana strategi mengisolasi asam benzoat yang terdapat di dalam hasil kultur *In vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*)?
2. Berapa konsentrasi/kuantitas senyawa asam benzoat yang terkandung di dalam hasil kultur *In vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*)?
3. Bagaimana sifat-sifat fisik dan kimia senyawa asam benzoat yang diperoleh dari hasil kultur *in vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*)?

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan strategi yang baik untuk asam benzoat yang terdapat di dalam hasil kultur *In vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*).
2. Menentukan konsentrasi/kuantitas senyawa asam benzoat yang terkandung di dalam hasil kultur *In vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*).
3. Mengetahui sifat-sifat fisik dan kimia senyawa asam benzoat yang diperoleh dari hasil kultur *in vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin).*

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat secara teoritis dan praktis. Secara teoritis, penelitian ini memberikan tambahan pengetahuan mengenai kandungan, konsentrasi, dan karakteristik senyawa bioaktif asam benzoat yang dihasilkan dari hasil kultur *in vitro* Kemenyan Sumatra (*Styrax benzoin*), serta memperkaya literatur tentang potensi teknik kultur jaringan sebagai metode alternatif produksi metabolit sekunder secara berkelanjutan. Selain itu, hasil penelitian ini berkontribusi terhadap pengembangan ilmu bioteknologi tanaman, khususnya dalam kajian biosintesis dan akumulasi metabolit sekunder melalui

pendekatan kultur jaringan. Secara praktis, penelitian ini menyediakan dasar ilmiah bagi pemanfaatan kultur jaringan kemenyan sebagai sumber alternatif produksi asam benzoat yang lebih cepat, konsisten, dan ramah lingkungan tanpa bergantung pada pohon kemenyan berumur panjang. Hasil penelitian ini juga diharapkan mendukung industri farmasi, pangan, dan kosmetik melalui penyediaan bahan baku alami yang berkelanjutan, sekaligus mengurangi eksploitasi berlebihan terhadap pohon kemenyan di alam. Dengan demikian, penelitian ini turut mendukung upaya konservasi keanekaragaman hayati Indonesia dan sejalan dengan tujuan pembangunan berkelanjutan (SDGs), khususnya pelestarian ekosistem darat (SDG 15).

UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
UNIMED
THE Character Building UNIVERSITY