

**Peningkatan Kandungan Alkaloid Kalus Mahkota Dewa
(*Phaleria macrocarpa* [Scheff.]Boerl.) Dengan Pemberian Prekursor Triptofan
pada Medium Murashige & skoog**

**Increasing Alkaloid-Contained Callus of Gods Crown
(*Phaleria macrocarpa* [Scheff.]Boerl.) using Tryptophan as Precursor in
Murashige & Skoog Media**

Wenny Rahma Gusni^{*}, Suwirnen dan Zozy Aneloi Noli

Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Padang - 25163

^{*}Koresponden: wennyrahma@gmail.com

Abstract

An experiment aimed to increase alkaloid content of *Phaleria macrocarpa* callus using tryptophan as a precursor in Murashige & Skoog media was done from September 2013 to January 2014 at the Laboratory of Plant Physiology, Faculty of Sciences, Andalas University. This experiment used Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments and 4 replications. The treatments were 6 concentrations of tryptophan *i.e.* 0 mg/L (control), 100 mg/L, 125 mg/L, 150 mg/L, 175 mg/L, 200 mg/L. The results showed that tryptophan 200 mg/L gave the best concentration in producing the highest alkaloid content of *Phaleria macrocarpa* callus.

Keywords: Alkaloid, *Phaleria macrocarpa*, Prekursor, Tryptophan

Pendahuluan

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) termasuk kedalam famili Thymelaeaceae merupakan salah satu tanaman potensial untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti kanker, jantung, diabetes dan liver (Wirawan, 2003). Dalam beberapa hasil penelitian diketahui daun dan kulit buah mahkota dewa mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid yang banyak dimanfaatkan dalam bidang industri farmasi (Gangga, 2007).

Pemanfaatan metabolit sekunder tumbuhan mahkota dewa sebagai bahan baku obat terus meningkat dalam bidang farmasi (Gangga, 2007), tetapi hal ini tidak diimbangi dengan budidaya dan pelestarian tanaman mahkota dewa ini. Tanaman mahkota dewa belum dibudidayakan dengan baik sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan pada tanaman yang terdapat dialam tergolong bermutu rendah. Menurut Lestari (1997), pembibitan mahkota dewa dengan biji memakan waktu

yang lama dan sering menghasilkan jumlah metabolit sekunder yang berbeda dengan tanaman induknya. Dengan adanya peraturan yang mengharuskan penggunaan bahan baku obat yang memenuhi standar mutu, terutama kandungan kimia atau metabolit sekunder maka perlu dilakukan budidaya tanaman mahkota dewa ini dengan menggunakan kultur kalus.

Sampai saat ini sebagian besar bahan baku tanaman obat masih dipanen dari alam (Lestari, 1997 *cit.* Dian, 2004). Sintesis senyawa obat secara alami ini belum mencukupi kebutuhan masyarakat karena produksinya masih sangat rendah. Oleh karena itu dibutuhkan suatu metode untuk meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder tanaman mahkota dewa yang berfungsi sebagai senyawa obat (Dian, 2004).

Teknik kultur jaringan dengan kultur kalus adalah salah satu metode yang berpotensi untuk menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder seperti alkaloid pada mahkota dewa dapat dihasilkan dalam waktu yang singkat dan

kadar yang tinggi dibandingkan tanaman yang tumbuh di alam. Salah satu cara meningkatkan kandungan metabolit sekunder tersebut adalah dengan pemberian prekursor (Hendaryono, 1994).

Penggunaan senyawa yang merupakan bahan pemula dalam reaksi pembentukan suatu metabolit yang dikenal sebagai prekursor, sering dilakukan dalam upaya peningkatan metabolit sekunder dalam tanaman. Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang disintesis melalui jalur sikimat dan asam amino sebagai prekursornya. Sebagian besar alkaloid dibentuk dari banyak asam amino, salah satunya adalah triptofan (Herbert, 1995). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kemampuan dan konsentrasi triptofan yang dapat meningkatkan senyawa alkaloid pada kultur kalus *Phaleria macrocarpa*.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2013 sampai bulan Januari 2014

di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Eksperimen ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 6 perlakuan dan 4 ulangan, yaitu tanpa triptofan, 100 mg/L (kontrol), 125 mg/L, 150 mg/L, 175 mg/L dan 200 mg/L. Analisis data dilakukan dengan membandingkan persentase hidup, tekstur dan warna, serta kandungan alkaloid kalus antara kontrol dengan masing-masing perlakuan, kemudian disajikan secara deskriptif. Sedangkan bobot basah kalus dibandingkan antara kontrol dengan masing-masing perlakuan menggunakan sidik ragam.

Hasil dan Pembahasan

Persentase Hidup, Tekstur dan Warna Kalus

Tekstur dan warna kalus mahkota dewa yang ditanam pada medium yang diperlakukan dengan prekursor triptofan dapat dilihat pada Tabel 1:

Tabel 1. Tekstur dan warna kalus mahkota dewa yang ditanam pada medium yang diperlakukan dengan prekursor triptofan

Perlakuan triptofan (mg/L)	Persentase kalus yang hidup (%)	Tekstur Kalus (n)	Warna Kalus (n)
A. Kontrol	100	Kompak (4)	putih (3), putih kecoklatan (1)
B. 100	100	kompak (3), friable (1)	putih (3), putih kecoklatan (1)
C. 125	100	kompak (4)	Putih (4)
D. 150	100	kompak (3), friable (1)	putih (4)
E. 175	100	kompak (3), friable (1)	putih (3), coklat (1)
F. 200	100	kompak (4)	putih (3), putih kecoklatan (1)

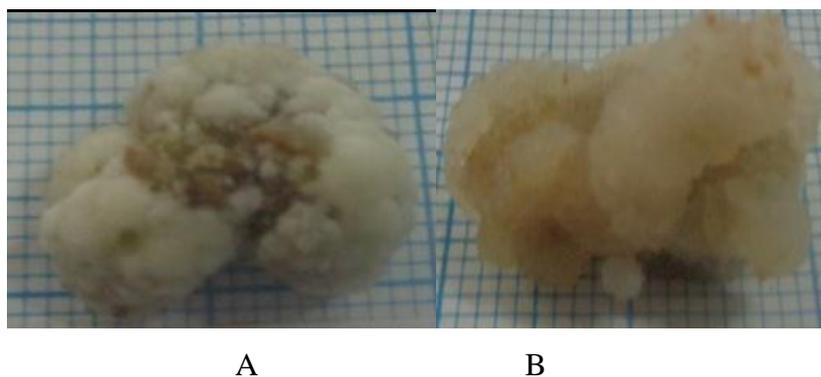
Dari Tabel. 1 dapat dilihat bahwa persentase hidup kalus mahkota dewa tanpa prekursor triptofan dan yang diberi prekursor triptofan adalah 100%. Tingginya persentase hidup kalus disebabkan karena kalus masih mampu mentoleransi triptofan yang diberikan sampai konsentrasi 200 ppm. Hal yang sama didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Pandiangan (2006) penambahan prekursor triptofan dengan konsentrasi 100 mg/L sampai 225 mg/L pada kultur *Catharanthus roseus*

pada awalnya tidak ada perbedaan antara kalus yang tidak diberi triptofan dengan kalus yang diberi prekursor triptofan. Kalus tampak tumbuh bersama-sama dan mengalami perbesaran secara bersama, namun keadaan ini hanya berlangsung sampai hari ke 20, setelah hari ke 21 kalus yang tidak diberi triptofan tampak sebagian mengalami kematian sel atau nekrotis dengan warna coklat kemerahan. Kalus yang diberi prekursor triptofan, masih tumbuh baik setelah 21 hari (kalus tidak

mengalami nekrosis) dan warnanya putih keabu-abuan.

Pada penelitian ini didapatkan tekstur kalus yang friable dengan pemberian prekursor triptofan 100 mg/L, 150 mg/L dan 175 mg/L dan tekstur yang kompak pada pemberian triptofan 200 mg/L (Gambar 1.). Menurut Yelnitis (2007) tekstur kalus yang friable ditandai dengan pertumbuhan yang cepat, mudah lepas dan warnanya putih kekuningan.

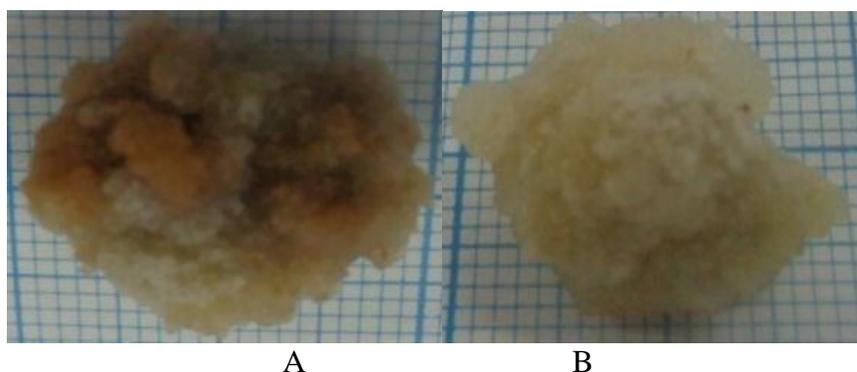
Kalus yang friable dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Tekstur pada kalus dapat bervariasi dari kompak hingga friable, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur. Selain itu, kompak atau renyahnya kalus dipengaruhi oleh kondisi kultur saat inisiasi dan pemeliharaan kalus.



Gambar 1. Tekstur kalus mahkota dewa dengan pemberian triptofan, A. kalus dengan tekstur kompak (200 mg/L); B. kalus dengan tekstur friable (100 mg/L)

Pada Tabel. 1 dapat dilihat warna kalus mahkota yang ditanam pada medium yang diberi prekursor triptofan pada penelitian ini berkisar antara putih dan putih kecoklatan. Warna kalus yang coklat terdapat pada kalus yang tidak diberi

prekursor triptofan (kontrol) dan pada pemberian prekursor 100 mg/L, 175 mg/L dan 200 mg/L. Warna kalus yang semakin gelap (menjadi coklat) mengindikasikan pertumbuhan kalus yang hampir mati (Gambar 2.).



Gambar 2. Kalus mahkota dewa dengan pemberian triptofan, A. kalus dengan warna coklat (tanpa triptofan); B. kalus dengan warna putih (150 mg/L)

Berat basah kalus

Hasil pengukuran berat basah kalus dan kandungan alkaloid kalus mahkota dewa

yang ditanam pada medium yang diberi prekursor triptofan dapat dilihat pada Tabel.2.

Tabel.2 Berat basah dan kandungan alkaloid kalus mahkota dewa dengan pemberian prekursor triptofan pada medium MS

Perlakuan (mg/L)	Rata-rata berat basah kalus (g)	Kandungan Alkaloid
A. Kontrol (tanpa triptofan)	0,67 a	+
B. 100	0,86 a	+
C. 125	0,50 a	+
D. 150	0,64 a	+
E. 175	0,63 a	++
F. 200	0,56 a	+++

Keterangan: + (rendah), ++ (sedang), +++ (tinggi)

Dari Tabel.2 dapat dilihat bahwa rata-rata bobot basah kalus mahkota dewa pada kontrol dan yang ditanam pada medium yang diberi prekursor triptofan tidak berbeda nyata. Hal ini diduga karena masa pemeliharaan kalus pada medium perlakuan yang singkat, sehingga pemberian triptofan dengan konsentrasi 100 mg/L sampai 200 mg/L tidak meningkatkan berat basah kalus mahkota dewa. Dalam hal ini terjadi mekanisme perubahan asam amino yang merupakan sumber protein menjadi alkaloid, triptofan mengalami desiminasi dan dekarboksilasi sehingga berat basah kalus tidak meningkat. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan Pandiangan (2012) tanpa pemberian triptofan (kontrol) dan dengan pemberian triptofan pada medium dengan konsentrasi 100 mg/L sampai dengan 225 mg/L pada pada kultur *Catharanthus roseus*, tidak meningkatkan berat basah kalus. Tetapi pada penelitian Pandiangan (2006) berat basah kalus meningkat dengan pemberian prekursor triptofan setelah 40 hari.

Menurut Wareing dan Philips (1981) keberadaan triptofan didalam sel diperlukan untuk pembentukan IAA yang merupakan auksin alami, sebelumnya triptofan lebih dulu mengalami desiminasi dan dekarboksilasi. Triptofan merupakan salah satu asam amino penyusun protein, sedangkan protein tersebut dibutuhkan oleh sel sebagai penyusun membran dan inti sel. Meningkatnya auksin alami yang mengatur pertumbuhan sel serta tersediannya protein yang tinggi didalam sel akan meningkatkan pertumbuhan dan pembentukan sel-sel baru sehingga didapatkan rata-rata bobot kalus yang tinggi (Weier, 1985).

Dari Tabel.2 dapat dilihat bahwa pemberian prekursor triptofan pada kalus mahkota dewa setelah 21 hari dengan konsentrasi 100 mg/L sampai 150 mg/L belum memperlihatkan peningkatan kandungan alkaloid. Pada konsentrasi tersebut alkaloid sudah terdeteksi tetapi tidak berbeda dengan kontrol. Diduga karena konsentrasi triptofan yang diberikan belum efektif untuk meningkatkan kandungan alkaloid kalus mahkota dewa. Sementara itu, pemberian triptofan mulai dari 175 mg/L sampai dengan 200 mg/L pada medium dapat meningkatkan kandungan alkaloid kalus mahkota dewa setelah 21 hari.

Hal ini sama dengan hasil penelitian Pandiangan (2006) pada kultur kalus *C. roseus* dengan pemberian triptofan pada medium 100 mg/L sampai 225 mg/L dapat meningkatkan kandungan katarantin pada semua kalus perlakuan triptofan, dengan peningkatan tertinggi 125% pada kalus (200 mg/L). Sedangkan penelitian Zhao (2001), melaporkan bahwa kandungan katarantin meningkat dengan penambahan triptofan 300 mg/L dan 500 mg/L pada kultur kalus *C. roseus*. Pengaruh triptofan terhadap kultur itu bisa meningkatkan atau menurunkan kandungan alkaloid tergantung tipe kultur dan spesies yang digunakan. Kalau pada kalus meningkatkan tapi pada kultur lain bisa saja menurunkan atau sebaliknya.

Berbeda dengan penelitian Alam (2002) penambahan L-Triptofan sebanyak 10 mg/L pada medium pada kultur *Brucea javanica* meningkatkan kadar alkaloid sampai 63% dibanding tanpa L-triptofan.

Tetapi penambahan L-triptopan di atas 20 mg/L pada medium, menurunkan kadar alkaloid. Hal ini dapat disebabkan karena penambahan L-triptopan di atas 20 mg/L sudah sangat berlebihan sehingga tidak semua L-triptopan dapat dirubah menjadi alkaloid. Akibatnya pertumbuhan sel terganggu dan menjadi toksik. Kemungkinan ini menyebabkan bobot sel yang cenderung menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi L-triptopan di atas 20 mg/L.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian prekursor triptofan dapat meningkatkan kandungan alkaloid yang dihasilkan kalus mahkota dewa. Konsentrasi triptofan terbaik untuk meningkatkan alkaloid adalah 200 mg/L.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada M. Idris, M. Si, Dr. Tesri Maideliza, Dr. Anthoni Agustien, Dr. Resti Rahayu yang telah memberikan saran untuk penelitian dan penulisan artikel.

Daftar Pustaka

- Alam, G. Wiryowidagdo, S. Soegihardjo, Sudarsono dan R. B. Gobel. 2002. Peningkatan Produksi alkaloid Indol kantina-6-On didalam kultur suspense *Brucea javanica* (L.) Merr. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* . 1(1):1412-2855.
- Dian, P. Solichatun, Achmad. D.S. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Jurnal Biofarmasi* 2 (1): 35-43.
- Gangga E, H, Asriani dan L. Novita. 2007. Analisis Pendahuluan Metabolit Sekunder Dari Kalus Mahkota Dewa (*Phaleria macropora* [Scheff.] Boerl.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*: 17-22.
- Hendaryono, D., Ari Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Herbert, R.B. 1995. *The biosynthesis of Secondary Metabolites*. Chapman & Hall. New York.
- Lestari, E.G. dan I. Mariska. 1997. Kultur in vitro sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. *Buletin plasma nufah* 2(1): 298-305.
- Pandiangan, D. D. Heroike Rompas, H. F. Aritonang, R. R. Esyanti dan E. Marwani. 2006. Pengaruh Triptofan pada pertumbuhan dan Kandungan katarantin *Catharanthus roseus*. *Jurnal Matematika dan Sains*. 11 (4).
- Pandiangan, D. 2012. Perubahan Morfologi dan Anatomi Kalus *Catharanthus roseus* dengan Perlakuan Triptofan. *Jurnal Biologos*. 2 (1).
- Wareing, P. F. and I. D. J. Philips. 1981. *Growth and Differentiation in plants*. Third Edition. Pergamon Press. New York.
- Weier, T. E., M. G. Barbour, C. R. Stocking and T. L. Rost. 1985. *Botany an Introduction to Plant Biology*. Sixth Edition. John Wiley & Sons Publishing. New York.
- Wirawan, D. 2003. *Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzylaminopurin) terhadap Pertumbuhan (kultur in vitro) mahkota dewa (Phaleria macropora Scheff.Boerl)*. Skripsi sarjana Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yelnititis. 2007. Induksi embrio somatik *Shorea pinanga* Sheff dengan 2,4-D dan NAA. *Jurnal Penelitian Tanaman Hutan* 4 (1):235 – 243.