

# Biofarmasi

**Journal of Natural Products Biochemistry**

**VOLUME 3  
NOMOR 1  
PEBRUARI 2005  
ISSN: 1693-2242**

**PENERBIT:**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

**ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:**

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126  
Tel. & Fax. +62-271-663375  
E-mail: unsjournals@yahoo.com  
Online: www.biofarmasi.unsjournals.com

**TERBIT PERTAMA TAHUN:**

2003

**ISSN:**

1693-2242

**PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:**

S u t a r n o

**SEKRETARIS REDAKSI:**

Ahmad Dwi Setyawan

**PENYUNTING PELAKSANA:**

Djoko Santoso  
Ratna Setyaningsih  
Solichatun  
Suratman  
Soerya Dewi Marliana  
Tetri Widiyani  
Venty Suryanti

**PENYUNTING AHLI:**

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang  
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung  
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta  
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor  
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta  
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

**Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry** mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

## Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemik setelah Pemberian Ekstrak Metanol Akar Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

### *Blood glucose and total cholesterol content of hyperglycemic white male rat (Rattus norvegicus L.) after orally intakes of methanol meniran (Phyllanthus niruri L.) root extract*

CHASBI FAHRI, SUTARNO, SHANTI LISTYAWATI\*

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

\* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: shanti\_l@mipa.uns.ac.id

Diterima: 7 Juli 2004. Disetujui: 15 Januari 2005.

---

**Abstract.** The aims of this research were to study the effect of methanol meniran (*Phyllanthus niruri* L.) root extract given to the blood glucose and total cholesterol content, and which level of concentration giving significant effect alloxan treatment. Meniran root contains ellagic acid as antioxidant which provides hypoglycemic capability to reduce diabetic blood glucose. This research was done by using completely randomized design (CRD) including eight treatments as follow: negative control (CMC 1%, 2 mL/200 g bw), positive control (glibenclamide 0,126 mg/200 g bw), normal control, meniran root extract in various concentration (2; 4; 6; 8; 10 mg/200 g bw). Data were elucidated until 15 day of treatment and analyzed using ANOVA followed by DMRT at 5% confidence level. The result indicated that meniran root extract giving significant effect on the reduction of blood glucose, however, it does not appear to have the same result to total cholesterol content. At various concentration of meniran root extract, the total cholesterol of rat remains stable. The optimum concentration to provide hypoglycemic activity raised at 10 mg/200 b bw dose.

**Key words:** *Phyllanthus niruri* L., root extract meniran, blood glucose, total cholesterol content.

---

### PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) atau kencing manis adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah melebihi ukuran normal (Montgomery *et al.*, 1993). Penderita DM cenderung mengidap penyakit menahun seperti katarak, gagal ginjal dan penyakit jantung koroner (Murray *et al.*, 1999). Diabetes mellitus merupakan suatu masalah kesehatan di Indonesia, bahkan di seluruh dunia. Pada tahun 1995, terdapat 135 juta penderita DM dan diperkirakan akan naik menjadi 300 juta penderita pada tahun 2025 di seluruh dunia. Hal ini berarti akan terjadi kenaikan sebesar 122% (Liu *et al.*, 2001). Penderita penyakit DM di Indonesia terdapat minimal 2,5 juta orang pada tahun 1994, yang diperkirakan akan bertambah menjadi 4 Juta orang pada tahun 2000, dan pada tahun 2010 diprediksi akan berjumlah 5 Juta orang (Askandar, 1995 dalam Budijanto *et al.*, 1999).

Pengobatan yang biasa diberikan pada penderita DM bertujuan untuk mengendalikan kadar glukosa darah agar selalu berada dalam kondisi normal. Menurut Murray *et al.*, (1999) pemberian obat antidiabetik oral (glibenclamide, tolbutamid, biguanid, dan lain-lain) dapat menurunkan kadar glukosa darah penderita DM, sedangkan Baraas (1993), menyatakan bahwa pengaturan makanan dan olahraga juga dapat membantu penyembuhan

penderita DM. Pengobatan dengan agen hipoglikemik dapat dilakukan dengan menggunakan obat kimiawi sintetik maupun obat tradisional. Penggunaan obat tradisional merupakan budaya masyarakat di berbagai belahan dunia. Berdasarkan perkiraan WHO, lebih dari 80% penduduk negara-negara berkembang tergantung pada obat tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan (Khanna *et al.*, 2001).

Masyarakat Indonesia sudah tidak asing lagi dengan istilah obat tradisional, terlebih setelah krisis ekonomi melanda negeri ini, obat tradisional semakin diminati untuk pengobatan suatu penyakit atau bahkan untuk sekedar pencegahan. Pemanfaatan obat tradisional pun telah mendapatkan perhatian yang besar, baik dari masyarakat maupun pemerintah. Hal tersebut, dibuktikan dengan peningkatan jumlah industri obat tradisional dan fitofarmaka, serta dukungan dari pemerintah melalui Departemen Kesehatan RI dalam mengupayakan perluasan penggunaan obat tradisional di masyarakat (Rukmana, 1995).

Pendapat negara-negara maju tentang *back to nature* mengisyaratkan bahwa tanaman obat semakin berperan penting dalam pola makanan, minuman dan obat-obatan. Ini didukung oleh jumlah kekayaan flora wilayah nusantara yang memiliki sekitar 30.000 spesies dan diantaranya 940 spesies dikategorikan sebagai tanaman obat

(Rukmana, 1995). Dengan fakta tersebut, maka perlu dikembangkan lebih lanjut mengenai penelitian tanaman obat.

Salah satu jenis tumbuhan yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai Obat Asli Indonesia (OAI) adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang termasuk familia Euphorbiaceae (Backer dan Bakhuizen v.d. Brink, 1963). Di India, meniran dilaporkan memiliki aktivitas diuretik, hipotensif dan hipoglikemik pada manusia (Srividya and Periwal, 1995). Ekstrak air tumbuhan meniran disebutkan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada penderita Diabetes Tidak Tergantung Insulin (NIDDM) (Moshi *et al.*, 2001). Selain itu ekstrak meniran juga dapat digunakan sebagai ramuan anti kegemukan (Khanna, 2001). Namun di Indonesia, ekstrak tanaman meniran belum dimanfaatkan sebagai obat antidiabetik. Padahal, beberapa laporan penelitian menunjukkan potensi ekstrak meniran dalam menurunkan kadar glukosa darah penderita DM. Ayensu (1981), menyebutkan bahwa meniran dapat digunakan sebagai obat antidiabetes. Chairul *et al.* (2000), melaporkan bahwa ekstrak metanol tanaman meniran menunjukkan efek hipoglikemik pada kelinci putih jantan. Penelitian yang dilakukan oleh Shimizu *et al.* (1989), memberikan informasi mengenai mekanisme biokimiawi ekstrak meniran dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Diabetes Mellitus merupakan salah satu faktor resiko terjadinya aterosklerosis atau Penyakit Jantung Koroner (PJK). Tidak hanya serangan jantung, namun mortalitas akibat PJK pun ternyata lebih tinggi. Mortalitas PJK secara umum berkisar 20-30% tetapi pada orang-orang diabetik, angka kematian itu meningkat sampai 40-70% (Baraas, 1993). Penderita DM memiliki kecenderungan mengidap hiperkolesterolemia. Gula yang berlebihan akan merusak pembuluh darah, karena gula tidak dapat diproses menjadi energi, maka energi terpaksa dibuat dari sumber lain seperti lemak dan protein. Akibatnya, kolesterol yang terbentuk pada rantai metabolisme lemak dan protein bertambah. Prevalensi hiperkolesterolemia pada DM sangat tinggi yaitu 20-90%.

Dari penelitian-penelitian terdahulu, bagian herba meniran yang telah digunakan sebagai bahan penelitian untuk menurunkan kadar glukosa darah adalah keseluruhan bagian dari tumbuhan tersebut. Penelitian mengenai salah satu bagian tumbuhan meniran terutama akar belum banyak dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas penggunaan ekstrak akar meniran sebagai penurun kadar glukosa darah. Penderita DM beresiko mengalami hiperkolesterolemia. Pada studi ini peneliti mencoba mengamati penurunan kadar glukosa dan kolesterol darah (kolesterol total), serta mengetahui besar dosis pemberian ekstrak metanol akar meniran yang berpengaruh nyata terhadap kadar glukosa dan kolesterol total darah pada tikus putih diabetik setelah pemberian ekstrak akar herba meniran.

## BAHAN DAN METODE

### *Waktu dan tempat penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP), Sub Lab Pangan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) UGM Yogyakarta dan Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta pada bulan September-November 2003.

### *Bahan dan alat*

Dalam penelitian ini hewan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan Strain *Sprague Dawley* (SD) berumur 2-3 bulan dan berat tubuh 200-300 gram sebanyak 24 ekor. Akar meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diperoleh dari sekitar kampus UNS Surakarta. Untuk mengekstrak digunakan metanol dan akuades. Larutan CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) 1% digunakan untuk mensuspensikan ekstrak kasar dan Glibenclamide.

Alat ekstraksi mencakup timbangan analitik, timbangan elektrik, pisau, corong, blender, gelas ukur, gelas baker, pipet tetes, oven, kertas saring, *rotary evaporator* (*vacuum evaporator*), aluminium foil, spatula, vortex, tissue dan erlenmeyer. Alat perlakuan hiperglikemik dan pengambilan sampel darah mencakup jarum suntik, *canule*, gelas ukur, timbangan analitik, timbangan elektrik, tabung haematokrit, tabung effendorf.

### *Cara kerja*

#### **Persiapan**

Sebelum digunakan untuk percobaan, tikus putih jantan diadaptasikan (aklimasi) terlebih dahulu selama 7 hari. Akar meniran dibersihkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 37°-40° C. Setelah kering dipotong kecil-kecil dan digiling dengan blender hingga diperoleh serbuk halus kemudian diekstrak dengan metanol selama 24 jam. Filtrat ditampung sampai diperoleh tetesan terakhir (bening), dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60-70° C hingga diperoleh ekstrak kasar kemudian ekstrak disimpan dalam desikator hingga didapatkan ekstrak kering (Chairul *et al.*, 2000). Ekstrak akar meniran kemudian dibuat larutan percobaan dengan dosis 2 mg/200 g BB, 4 mg/200 g BB, 6 mg/200 g BB, 8 mg/200 g BB, 10 mg/ 200 g BB.

#### **Perlakuan**

**Perlakuan alloksan.** Dosis yang diberikan adalah 25 mg/200g BB tikus (Nugroho, 1998), diinjeksikan subkutan.

**Perlakuan ekstrak akar meniran.** Ekstrak akar meniran dibuat larutan dengan lima variasi dosis menurut Chairul *et al.*, (2000), yaitu 2 mg/200 g BB, 4 mg/200 g BB, 6 mg/200 g BB, 8 mg/200 g BB, 10 mg/ 200 g BB dan diberikan tiga hari setelah perlakuan alloksan. Sebelum diberi perlakuan hewan percobaan dipuaskan terlebih dahulu selama 12 jam, dengan tetap diberi minum *ad libitum*.

**Perlakuan kontrol negatif (plasebo) dan kontrol normal.** Pada kontrol negatif, hewan diabetik diberi bahan yang tidak mengandung obat yang diteliti yaitu larutan CMC 1% sebanyak 2 mL/hari/ekor. Pada kontrol normal hewan dibiarkan tanpa pemberian alloksan dan ekstrak.

**Perlakuan glibenclamide (kontrol positif).** Perlakuan Glibenclamide diberikan pada tikus dengan dosis 0,126 mg/200 g BB, 3 hari setelah perlakuan alloksan. Suspensi Glibenclamide dibuat dengan melarutkan 0,126 mg Glibenclamide dalam 1 mL larutan CMC 1% .

#### Teknik pengumpulan data

#### Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan 8 macam perlakuan, setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Kelompok perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

No	Klp	Perlakuan	
1.	I	Kontrol negatif	Suspensi CMC 1%, 2 mL/hari
2.	II	Kontrol positif	Glibenclamide 0,126 mg/200g BB/hari
3.	III	Kontrol normal	Non perlakuan alloksan dan ekstrak
4.	IV	Ekstrak 1	2 mg/200 g BB/hari
5.	V	Ekstrak 2	4 mg/200 g BB/hari
6.	VI	Ekstrak 3	6 mg/200 g BB/hari
7.	VII	Ekstrak 4	8 mg/200 g BB/hari
8.	VIII	Ekstrak 5	10 mg/200 g BB/hari

#### Analisis kadar glukosa dan kolesterol total darah

Pengambilan sampel darah dilakukan lewat sinus orbitalis, 3 hari sekali selama 15 hari. Dilakukan sebanyak 6 kali yaitu sebelum perlakuan (hari ke-1), selama perlakuan yaitu hari ke-3, 6, 9 dan hari ke-12 serta akhir perlakuan hari ke- 15 di Sub Lab Pangan Gizi PAU UGM Yogyakarta.

**Kadar glukosa darah:** Diperiksa dengan metode GOD-PAP dengan dasar glukosa dioksidasi oleh oksigen dengan katalis enzim glukosa oksidase (GOD) akan membentuk asam glukonik dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan fenol dengan katalis peroksidase (POD) membentuk quinoneimine dan air. Quinoneimine ini merupakan indikator yang menunjukkan kadar glukosa dalam darah (Barham dan Trinder, 1972).

$Glukosa + O_2 \text{ asam glukonat} + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O_2 + 4 \text{ Aminoantipirin} + \text{Fenol} \text{ Quinonemine} + 4 H_2O$

**Kadar kolesterol total dalam darah.** Diperiksa dengan metode CHOD-PAP. Prinsip yang digunakan adalah determinasi kolesterol total darah setelah hidrolisis secara enzimatis dan oksidasi. Indikator kolorimetrik yang digunakan adalah quinoneimine yang terbentuk dari 4-Aminoantipyrin dan fenol oleh hidrogen peroksida dibawah aksi katalitik dari peroksidase (Reaksi Trinder) (Barham dan Trinder, 1972).

$Ester \text{ Kolesterol} + H_2O \text{ Kolesterol} + \text{asam lemak} \rightarrow \text{Kolesterol} + O_2 \text{ Kolesterol} + 3 \text{ One} + H_2O_2$

$2 H_2O_2 + 4 \text{ Aminoantipirin} + \text{Fenol} \rightarrow \text{uinonemine} + 4 H_2O$

#### Teknik analisis data

Data dianalisis dengan menggunakan Anova (*Analysis of Variance*), dilanjutkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Akar meniran digunakan sebagai obyek dalam penelitian ini untuk memberi dukungan ilmiah terhadap informasi khasiat tanaman meniran sebagai obat anti-hiperglikemik. Data penelitian menunjukkan bahwa tanaman meniran dapat digunakan untuk pengobatan penyakit DM (Chairul *et al.*, 2000). Secara empiris (tradisional) tanaman meniran digunakan dalam pengobatan berbagai macam penyakit termasuk DM (Sudarsono, 1996).

Sebelum pemberian perlakuan, tikus dipuasakan selama 12 jam untuk menjaga agar kadar glukosa darah dan kolesterol total darah stabil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Plowman (1987), bahwa sebelum pengambilan darah, tikus perlu dipuasakan selama 10-14 jam. Tindakan ini dilakukan agar tidak terdapat perubahan kadar glukosa dan kolesterol total darah karena asupan makanan.

Status diabetik eksperimental pada penelitian ini diinduksi dengan pemberian alloksan. Kondisi diabetik permanen dihasilkan bila alloksan merusak hampir semua sel  $\beta$  pankreas, hal ini menyerupai kondisi hiperglikemik penderita NIDDM (*Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) atau tipe diabetes juvenil pada manusia (Chaerul *et al.*, 2000). Dalam penelitian ini keadaan hiperglikemik dicapai dua hari (48 jam) setelah injeksi alloksan. Hal ini sesuai dengan laporan Bondy dan Rosenberg (1980), bahwa diabetes eksperimental dapat diinduksi 24-48 jam setelah injeksi alloksan subkutan.

Keadaan hiperglikemik ditandai dengan kenaikan kadar glukosa darah diatas normal. Pada tikus putih galur SD kadar glukosa darah normal jenis kelamin jantan  $105,2 \pm 14,2$  mg/dl (Taguchi, 1985). Keadaan hiperglikemik pada penelitian dapat dilihat dari kadar glukosa darah kelompok perlakuan hiperglikemik (kelompok I) dibandingkan dengan perlakuan kelompok III (kontrol normal).

#### Kadar glukosa darah

Rata-rata kadar glukosa darah tikus putih setelah perlakuan ekstrak metanol akar meniran (EMAM) dapat dilihat pada Tabel 1. Dari Tabel 1. diketahui bahwa perlakuan CMC (1%) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah tikus yang tidak nyata pada sebagian besar waktu pengamatan. Perlakuan ini hanya digunakan sebagai *Plasebo*. Jadi CMC diduga tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar glukosa darah karena tidak dicernakan dan tidak diabsorpsi (Delgado, 1982). Penurunan kadar glukosa darah kontrol diabetik (16,99%) dalam perlakuan ini, lebih rendah dibandingkan dengan

**Tabel 1.** Rerata kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) pada hari pengamatan ke- 1, 3, 6, 9, 12, 15 setelah perlakuan dan persentase penurunannya.

Perlakuan	Kadar glukosa darah hari ke- (mg/dl)						Persentase penurunan
	1	3	6	9	12	15	
CMC 1%	194,26 <sup>c</sup>	181,45 <sup>c</sup>	166,37 <sup>c</sup>	165,78 <sup>g</sup>	164,89 <sup>f</sup>	161,24 <sup>f</sup>	16,99 <sup>b</sup>
Glibenclamide	192,18 <sup>bc</sup>	178,57 <sup>b</sup>	162,31 <sup>b</sup>	147,63 <sup>b</sup>	132,82 <sup>c</sup>	123,64 <sup>b</sup>	35,66 <sup>f</sup>
Normal	96,14 <sup>a</sup>	96,03 <sup>a</sup>	95,65 <sup>a</sup>	96,15 <sup>a</sup>	95,45 <sup>a</sup>	95,07 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>
EMAM 2 mg	191,59 <sup>bc</sup>	192,26 <sup>f</sup>	176,06 <sup>f</sup>	160,75 <sup>f</sup>	146,19 <sup>e</sup>	136,78 <sup>e</sup>	28,61 <sup>c</sup>
EMAM 4 mg	195,06 <sup>c</sup>	192,66 <sup>f</sup>	177,05 <sup>f</sup>	159,17 <sup>f</sup>	144,80 <sup>e</sup>	135,80 <sup>e</sup>	30,38 <sup>cd</sup>
EMAM 6 mg	190,59 <sup>b</sup>	188,79 <sup>e</sup>	173,10 <sup>e</sup>	157,00 <sup>e</sup>	144,01 <sup>e</sup>	134,52 <sup>e</sup>	29,43 <sup>c</sup>
EMAM 8 mg	192,48 <sup>bc</sup>	184,23 <sup>d</sup>	169,14 <sup>d</sup>	154,04 <sup>d</sup>	141,24 <sup>d</sup>	130,97 <sup>d</sup>	30,92 <sup>de</sup>
EMAM 10mg	192,58 <sup>bc</sup>	181,25 <sup>c</sup>	166,17 <sup>c</sup>	150,89 <sup>c</sup>	137,29 <sup>c</sup>	127,91 <sup>c</sup>	33,58 <sup>ef</sup>
Nilai p ANOVA	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ( $p > 0,05$ ).

perlakuan Glibenclamide (35,66%). Penurunan kadar glukosa darah diduga disebabkan stres dalam pemberian perlakuan yang meningkatkan hormon epinefrin (Murray *et al.*, 1999).

Berdasarkan analisis DMRT 5% ternyata perlakuan Glibenclamide berpengaruh nyata terhadap kadar glukosa darah tikus pada seluruh waktu pengamatan. Pada akhir perlakuan, Glibenclamide dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar 35,66%. Ganiswara (1995) dan Hardjasaputra *et al.*, (2002), menyatakan bahwa Glibenclamide merupakan salah satu obat turunan sulfonilurea dengan potensi penurunan kadar glukosa darah lebih tinggi dibanding sulfonilurea lain.

Perlakuan EMAM pada berbagai tingkat dosis diakhir pengamatan seluruhnya menunjukkan prosentase penurunan kadar glukosa darah yang berbeda nyata dan efek ekstrak sebanding dengan kenaikan dosis. Pada perlakuan EMAM 2 mg/200g BB prosentase penurunan diakhir perlakuan kelompok ini adalah sebesar 28,61%. Pemberian ekstrak dosis 4 mg/200 g BB juga menunjukkan prosentase penurunan diakhir perlakuan sebesar 30,38%. Kelompok perlakuan ekstrak dosis 6 mg/200 g BB mengalami penurunan kadar glukosa darah di akhir perlakuan sebesar 29,40%. Kelompok perlakuan 8 mg/200 g BB mengalami penurunan kadar glukosa darah di akhir perlakuan yang tidak berbeda nyata (30,92%) dengan perlakuan ekstrak dosis 10 mg/200g BB. Penurunan kadar glukosa darah terbesar pada akhir perlakuan ekstrak dicapai oleh perlakuan dosis 10 mg/200 g BB yaitu sebesar 33,58%.

Dosis yang paling efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah, pada penelitian ini, adalah 10 mg/200g BB. Perlakuan ini menunjukkan prosentase penurunan yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan glibenclamide. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis yang lebih tinggi diduga mengandung senyawa aktif yang lebih banyak, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa lebih besar.

Kemampuan EMAM dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetik berkaitan dengan aktivitas biologis senyawa dalam tanaman meniran. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa

aktif dalam tanaman meniran yang berpengaruh hipoglikemik termasuk dalam kelompok polifenol, yaitu ellagitanin jenis asam ellagat (Shimizu *et al.*, 1989; Taylor, 2003). Asam ellagat dapat menghambat kerja enzim aldosa reduktase. Menurut Shimizu *et al.*, (1989), ekstrak alkohol meniran

mengandung senyawa-senyawa asam ellagat, asam brevivolin karbosiklik dan enzim etil brevivolin karboksilase yang dapat menghambat kerja enzim aldosa reduktase (AR). Diantara ketiga senyawa tersebut asam ellagat memberikan aktivitas paling kuat yaitu enam kali lebih besar daripada paten quercitrin yang juga dikenal sebagai penghambat enzim AR (Shimizu *et al.*, 1989).

Aktivitas hipoglikemik EMAM terjadi melalui peningkatan penggunaan glukosa dalam hati. Pada penderita DM, proses perubahan glukosa menjadi fruktosa (jalur *polyol*) mengalami peningkatan, sehingga keseimbangan metabolisme terganggu (Hernawan, 2000). Proses peningkatan penggunaan glukosa tersebut terjadi, diperkirakan melalui penghambatan laju aliran jalur *polyol* dan peningkatan glikolisis sehingga meningkatkan pemasukan glukosa ke dalam siklus TCA. Hal ini didasarkan pada penelitian yang menunjukkan bahwa kerja enzim AR pada jalur *polyol* dapat dihambat oleh senyawa *Zopolrestat* (Trueblood dan Ramasamy, 1998).

Secara umum, aktifitas hipoglikemik EMAM diduga melalui cara sebagai berikut:

#### **Meningkatkan kelarutan glukosa darah.**

Mekanisme aktifitas hipoglikemik EMAM diduga karena adanya kandungan senyawa glikosida flavonoid. Mekanisme hipoglikemik EMAM diduga disebabkan senyawa glikosida flavonoid yang terabsorpsi dalam darah dan meningkatkan kelarutan glukosa darah sehingga mudah untuk diekresikan melalui urin (Chairul *et al.*, 2000).

#### **Menghambat kerusakan oksidatif pada sel $\beta$ pankreas.**

Okamoto (1996), melaporkan bahwa allokans merusak sel  $\beta$  pankreas dengan menginduksi pembentukan radikal bebas hidroksil. Radikal bebas hidroksil menyerang substansi esensial sel  $\beta$  pankreas (seperti membran plasma sel, lisosom, mitokondria dan DNA) dan mengawali kerusakan sel  $\beta$  pankreas.

Terapi dengan EMAM diduga memiliki mekanisme hipoglikemik melalui inaktivasi radikal bebas hidroksil yang menyerang sel  $\beta$  pankreas, sehingga sel  $\beta$  dapat mensekresi insulin secara lebih baik. Tanaman meniran mengandung berbagai antioksidan terutama golongan flavonoid (Sugati dan Johnny, 1991). Hal ini sejalan dengan

**Tabel 2.** Rerata berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari pengamatan ke- 1, 3, 6, 9, 12, 15 setelah perlakuan dan persentase penurunannya.

Perlakuan	Berat badan tikus putih pada hari ke- (mg/dl)						Persentase penurunan
	1	3	6	9	12	15	
CMC 1%	235,6 <sup>c</sup>	236,7 <sup>b</sup>	241,5 <sup>d</sup>	251,7 <sup>d</sup>	246 <sup>c</sup>	263,9 <sup>d</sup>	10,72 <sup>d</sup>
Glibenclamide	220,4 <sup>b</sup>	244 <sup>d</sup>	228,4 <sup>b</sup>	241,7 <sup>b</sup>	243,3 <sup>b</sup>	245,7 <sup>a</sup>	10,3 <sup>de</sup>
Normal	204,7 <sup>a</sup>	208,9 <sup>a</sup>	216,4 <sup>a</sup>	232,7 <sup>a</sup>	234,4 <sup>a</sup>	249,2 <sup>b</sup>	17,76 <sup>f</sup>
EMAM 2 mg	235,2 <sup>c</sup>	237,9 <sup>c</sup>	240 <sup>c</sup>	249,4 <sup>c</sup>	258,5 <sup>d</sup>	260,2 <sup>c</sup>	9,61 <sup>d</sup>
EMAM 4 mg	258,6 <sup>b</sup>	257,2 <sup>g</sup>	259,2 <sup>e</sup>	267,5 <sup>e</sup>	279,8 <sup>f</sup>	269,6 <sup>e</sup>	4,0 <sup>b</sup>
EMAM 6 mg	268,5 <sup>e</sup>	256 <sup>f</sup>	273,4 <sup>g</sup>	282,9 <sup>f</sup>	265,2 <sup>e</sup>	294,3 <sup>g</sup>	8,77 <sup>c</sup>
EMAM 8 mg	257,7 <sup>d</sup>	253,4 <sup>e</sup>	260,5 <sup>f</sup>	268,4 <sup>e</sup>	298,3 <sup>g</sup>	285,9 <sup>f</sup>	9,86 <sup>d</sup>
EMAM 10mg	296,7 <sup>f</sup>	290,2 <sup>h</sup>	291,7 <sup>h</sup>	297,9 <sup>g</sup>	301,6 <sup>h</sup>	306 <sup>h</sup>	3,03 <sup>a</sup>
Nilai p ANOVA	0,000	0,000	0,000	251,7	0,000	0,000	0,000

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ( $p>0,05$ ).

**Tabel 3.** Rerata kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari pengamatan ke- 1, 3, 6, 9, 12, 15 setelah perlakuan dan persentase penurunannya.

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Darah Hari ke- (mg/dl)						Persentase penurunan
	1	3	6	9	12	15	
CMC 1%	116,74 <sup>b</sup>	116,52 <sup>b</sup>	112,52 <sup>b</sup>	111,78 <sup>b</sup>	111,81 <sup>b</sup>	110,21 <sup>b</sup>	5,59 <sup>a</sup>
Glibenclamide	114,63 <sup>b</sup>	113,51 <sup>b</sup>	110,11 <sup>b</sup>	110,57 <sup>b</sup>	110,01 <sup>b</sup>	108,71 <sup>b</sup>	5,16 <sup>a</sup>
Normal	97,44 <sup>a</sup>	96,99 <sup>a</sup>	98,94 <sup>a</sup>	100,63 <sup>a</sup>	101,64 <sup>a</sup>	102,40 <sup>a</sup>	5,09 <sup>a</sup>
EMAM 2 mg	113,42 <sup>b</sup>	112,61 <sup>b</sup>	108,30 <sup>ab</sup>	108,11 <sup>ab</sup>	107,92 <sup>ab</sup>	106,91 <sup>ab</sup>	5,74 <sup>a</sup>
EMAM 4 mg	123,98 <sup>b</sup>	115,62 <sup>b</sup>	112,22 <sup>b</sup>	112,01 <sup>b</sup>	111,51 <sup>b</sup>	109,61 <sup>b</sup>	11,59 <sup>a</sup>
EMAM 6 mg	115,23 <sup>b</sup>	112,31 <sup>b</sup>	109,50 <sup>b</sup>	108,71 <sup>ab</sup>	108,82 <sup>ab</sup>	105,71 <sup>ab</sup>	8,26 <sup>a</sup>
EMAM 8 mg	115,84 <sup>b</sup>	114,11 <sup>b</sup>	110,41 <sup>b</sup>	108,41 <sup>ab</sup>	109,12 <sup>ab</sup>	108,11 <sup>ab</sup>	6,67 <sup>a</sup>
EMAM 10 mg	116,74 <sup>b</sup>	114,11 <sup>b</sup>	110,71 <sup>b</sup>	109,91 <sup>b</sup>	109,72 <sup>b</sup>	108,11 <sup>ab</sup>	7,39 <sup>a</sup>
Nilai p ANOVA	0,005	0,024	0,165	0,141	0,166	0,198	0,280

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ( $p>0,05$ ).

namun dalam prosentase kecil dan tidak berbeda nyata. Penurunan tertinggi hanya sebesar 11,59%, tidak berbeda nyata dengan penurunan terendah 5,09%. Berbagai dosis perlakuan EMAM ternyata juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Dapat disimpulkan bahwa EMAM pada berbagai tingkat dosis ternyata belum dapat menurunkan kadar kolesterol total diabetik secara signifikan.

Perlakuan glibenclamide tidak menunjukkan aktivitas penurunan kolesterol total yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetik dan kontrol normal. Hal ini sesuai dengan sifat efek metabolik

Glibenclamide yang tidak mempengaruhi metabolisme lemak penderita diabetes (Tjokropawiro, 2000). Di samping itu, adanya mekanisme feedback negatif menyebabkan kadar kolesterol selalu dijaga pada kondisi mantap.

Hasil penelitian ini tidak menunjukkan penurunan kadar kolesterol total yang berbeda nyata. Hal ini diduga disebabkan oleh tingkat dosis yang terlampaui rendah (dosis tertinggi 10 mg/200g BB atau 50 mg/Kg BB), yang digunakan dalam penelitian ini, belum dapat menunjukkan aktivitas penurunan lemak. Pernyataan ini sejalan dengan yang dilakukan Khanna *et al.* (20012), dengan perlakuan ekstrak meniran dosis tinggi (250 mg/Kg BB dan 100 mg/Kg BB) dan waktu pengamatan yang lebih lama (30 Hari).

## KESIMPULAN

Ekstrak metanol akar meniran menunjukkan aktivitas penurunan kadar glukosa darah pada seluruh dosis perlakuan yaitu 2 mg/200g BB, 4 mg/200g BB, 6 mg/200g BB, 8 mg/200g BB dan 10 mg/200g BB. Perlakuan ekstrak dosis 10 mg/200 g BB menunjukkan penurunan kadar glukosa darah (33,58%) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan Glibenclamide (35,66%). Dosis ekstrak metanol akar meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang paling efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) diabetik

pernyataan Palmer dan Paulson (1997), bahwa konsumsi senyawa flavonoid dapat mengurangi radikal hidroksil dan radikal peroksil, namun macam senyawa yang berpengaruh dan mekanisme hipoglikemik EMAM belum diketahui.

Hasil penelitian ini mencoba mendukung pernyataan bahwa pada keadaan diabetik berat badan mengalami penurunan. Data hasil penimbangan berat badan diharapkan dapat mendukung pengaruh perlakuan EMAM terhadap kadar glukosa darah. Rerata berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 2.

Berat badan tikus putih sejak awal hingga akhir perlakuan mengalami peningkatan yang bervariasi. Peningkatan berat badan diduga karena tikus mengalami kehilangan kalori yang cukup besar pada keadaan diabetik. Ini menyebabkan tikus mengalami gejala kelaparan dan meningkatkan asupan makanan (Murray *et al.*, 1999). Perbedaan kenaikan berat badan terjadi karena tikus putih tersebut memiliki perbedaan secara genetis sehingga menimbulkan respon yang berbeda terhadap perlakuan yang diberikan.

### Kadar kolesterol total darah

Pengaruh pemberian Glibenclamide dan EMAM terhadap kadar kolesterol total darah tikus diabetik dapat dilihat pada Tabel 3.

Perlakuan EMAM pada semua tingkat dosis tetap menunjukan penurunan kadar kolesterol total,

dalam penelitian ini adalah 10 mg/200g BB. Ekstrak metanol akar meniran tidak menunjukkan aktivitas penurunan kadar kolesterol total darah pada seluruh dosis perlakuan yaitu 2 mg/200g BB, 4 mg/200g BB, 6 mg/200g BB, 8 mg/200g BB dan 10 mg/200g BB.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Budijanto, D., D. Astuti, W. Anggraeni, dan Rahayu. 1999. Analisis kecenderungan diabetes mellitus dalam kaitannya dengan kadar kolesterol darah. *Majalah Kedokteran Unibraw* 15 (1): 1-6
- Ayensu, E.S. 1981. *Medicinal Plants of The West Indies*. New Delhi: Government of India.
- Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen van den Brink. 1963. *Flora of Java (Spermathophytes Only)*. Vol. 1. Netherlands: Nordhoff-Groningen.
- Baraas, F. 1993. *Mencegah Serangan Jantung Dengan Menekan Kolesterol*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Barham, D. and D. Trinder. 1972. An improved color reagen for determination of blood glucose by the oxydase system. *Analist* 97: 142-145.
- Bondy, P.K. and Rosenberg. 1980. *Metabolic Control and Disease*. 8<sup>th</sup> ed. Tokyo: Saunders Company.
- Chairul, Y. Jamal, dan Z. Zainul. 2000. Efek Hipoglikemik Ekstrak Herba Meniran (**Phyllanthus niruri** L.) pada Kelinci Putih Jantan. *Berita Biologi* 5 (1): 93-100.
- Delgado, J.N. 1982. *Karbohidrat, Buku Teks Wilson dan Gisvold. Kimia Farmasi dan Medisinal Organik I*. Penerjemah: Fattah, A.M. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI.
- Harjasaputra, S.L.P., G. Budipranoto, S.U. Sembiring, I. Kamil. 2002. *Data Obat Indonesia*. Edisi 10. Jakarta: Grafidian Media Press.
- Hernawan, U.E. 2003. *Aktivitas Hipoglikemik dan Hipolipidemik Ekstrak Air Daun Bungur (Lagerstroemia speciosa [L.] Pers.) pada Tikus Diabetik*. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS.
- Khanna A.K., F. Rizfi and R. Chander 2001. Lipid lowering activity of **Phyllanthus niruri** in hiperlipidemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 82 (1): 19-22.
- Liu, F., J. Kim, Y. Li, X. Liu, J. Li, and X. Chen. 2001. An extract of **Lagerstremia speciosa** L. has insulin like glucose uptake stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-14Cells. *Journal of Nutrition* 131: 2242-2247.
- Montgomery, R., R.L. Dryer, T.W. Conway, dan A.A. Spector. 1993. *Biokimia Studi Pendekatan Berorientasi Kasus*. Yogyakarta: UGM Press.
- Moshi M.J., J.J. Lutalle, G.H. Rimoy, Z.G. Abbas, R.M. Josiah, and A.B. Swai 2001. The Effect of **Phyllanthus amarus** Aqueous Extract On Blood Glucose In Non-Insulin Diabetic Patients. *Phytother Research* 15 (7): 577-580.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Penerjemah: Hartono, A. Jakarta: EGC.
- Nugroho, A.P. 1998. *Pengaruh Pemberian Sari Buah Buncis (Phaseolus vulgaris L.) per oral Terhadap Kadar Glukosa Darah Hiperglikemik*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Okamoto, H. 1996. *Okamoto Model For  $\beta$ -Cell Damage. Recent Advances Lesson From Animal Diabetes VI. 75<sup>th</sup> Anniversary of The Insulin Discovery*. Birkhauser, Berlin: Elcazar Shafir.
- Palmer H.J., and K.E. Paulson. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutritional Review* 55 (10): 353-361.
- Plowman, P.N. 1987. *Endocrinology and Metabolic Disease*. Toronto: John Wiley and Sons.
- Rukmana, R. 1995. *Temulawak-Tanaman Rempah dan Obat*. Yogyakarta: Kanisius.
- Shimizu, M., S. Horie, S. Terashima, H. Ueno, T. Hayashi, S. Suzuki, M. Yoshizaki, and N. Morita. 1989. Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. II. aktif component of a paraguayan crude drug parai-parai, **Phyllanthus niruri**. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37 (9): 2531-2532.
- Srividya, N and Periwal. 1995. Diuretic, Hypotensive and Hipoglycaemic Effect of **Phyllanthus amarus** (Syn. **Phyllanthus niruri**). *Indian Journal of Experimental Biology* 33 (11): 861-864.
- Sudarsono, 1996. *Tumbuhan Obat (Hasil Penelitian, Sifat-Sifat dan Penggunaan)*. Yogyakarta: PPOT UGM.
- Sugati, S., dan R.H. Johnny. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Taguchi, Y. 1985. *Experimental Animals*. Tokyo: Clea Japan, Inc.
- Taylor, L. 2003. *Herbal Secret of The Rainforest*. 2nd ed. Austin: Sage Press Inc.
- Tjokroprawiro, A. 2000. *Diabetes Mellitus: Klasifikasi, Diagnosis dan Terapi*. Edisi ke-3. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Trueblood, N., and R. Ramasamy. 1998. Aldose reductase inhibition improves altered glucose metabolism of isolated diabetic rat hearts. *The American Physiological Society* 1 (1): 175-183.

## Pertumbuhan, Kandungan Nitrogen, Klorofil dan Karotenoid Daun *Gynura procumbens* (Lour) Merr. pada Tingkat Naungan Berbeda

### *Growth, nitrogen, chlorophyll, and carotenoid content of Gynura procumbens (Lour) Merr. leaves at different shade*

SRI WAHYUDYANA HURIP PRADNYAWAN, WIDYA MUDYANTINI\*, MARSUSI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 11 Mei 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

---

**Abstract.** The objectives of this research were to find out the influence and optimal different shading on growth, nitrogen, carotenoid, and chlorophyll content of *Gynura procumbens* leaf. Research was carried out in the greenhouse of Faculty of Agriculture Sebelas Maret University and Central Laboratory Sebelas Maret University Surakarta, in June until October 2003. Completely randomized design with single factor was used as follow: 0%, 40%, and 70% shading with 10 replications each treatment. Observation including growth parameters (plant height, surface leaf's area, dry weight) and the contents of nitrogen, chlorophyll, and carotenoid. Data collected were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by DMRT test at 5% confidence level and regression test. The result indicated that 40% shading had proven to increase growth parameters, 70% shading giving significant effect on nitrogen and chlorophyll content, while 0% shading showed to increase carotenoid content.

**Keywords:** shade, growth, nitrogen, chlorophyll, carotenoid.

---

### PENDAHULUAN

Dewasa ini minat masyarakat untuk memanfaatkan kekayaan alam yang berupa tumbuh-tumbuhan sebagai ramuan obat, seperti telah dilakukan nenek moyang pada masa lampau, semakin meluas. Kenyataan ini didorong oleh keadaan semakin mahalnya obat-obat sintetik, melemahnya daya beli masyarakat serta kebutuhan dasar di bidang kesehatan yang meningkat. Hal ini mengakibatkan permintaan masyarakat akan tanaman obat juga meningkat, salah satunya adalah tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*).

*G. procumbens* menurut Backer dalam Veenman (1927) memiliki khasiat untuk obat ambeien, maag, kolesterol tinggi, tumor, liver, kencing manis dan sebagai obat penurun panas. Adapun kandungan senyawa kimia sambung nyawa meliputi: flavonoid, triterpen, poliferol, sterol tak jenuh, minyak atsiri, asam p-hidroksi benzoat, saponin, tanin dan asam klorogenat. Menurut Sastroamidjojo (1962) sambung nyawa adalah jenis tanaman yang memiliki fleksibilitas tinggi dalam hal adaptasi dan memiliki khasiat yang beragam. Oleh karena itu pada saat ini banyak yang menanam sambung nyawa sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). Namun hal itu belum mampu memenuhi permintaan masyarakat akan kebutuhan sambung nyawa, sehingga diperlukan cara-cara budidaya untuk meningkatkan produksinya. Faktor lingkungan yang optimal diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sambung nyawa, dengan

demikian produksi sambung nyawa akan meningkat dan kebutuhan masyarakat terpenuhi.

Salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman sambung nyawa adalah cahaya. Menurut Fitter dan Hay (1991) pada tanaman yang menggunakan cahaya sebagai sumber energi utamanya, intensitas cahaya mempengaruhi proses metabolisme melalui proses fotosintesis yang selanjutnya akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Intensitas cahaya yang optimal akan meningkatkan pertumbuhan tanaman sambung nyawa. Menurut Salisbury dan Ross (1995), intensitas cahaya yang tinggi meningkatkan kadar karotenoid serta kandungan nitrogen, sehingga mengakibatkan permukaan daun menjadi lebih terbuka. Namun di sisi lain, intensitas cahaya yang sangat tinggi dapat menurunkan kadar klorofil daun. Beberapa teknik budidaya yang menyangkut faktor cahaya adalah pengetahuan tanaman dan jaraknya, sistem tanaman ganda, penggunaan penaungan dan pohon pelindung, penambahan cahaya dan pengaturan *estage-bouw* di pekarangan. Pada penelitian ini dipilih penggunaan variasi penaungan untuk mengetahui respon fisiologis tanaman *G. procumbens*.

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut maka penelitian ini diarahkan untuk mengkaji pengaruh intensitas cahaya yang berbeda pada pertumbuhan, kandungan N, klorofil dan karotenoid daun *G. procumbens*. Hasil dari penelitian ini diharapkan akan diperoleh intensitas cahaya yang optimal sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sambung nyawa.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan alat

Stek bibit tanaman *G. procumbens* [Lour] Merr. diambil pada ujung apikal cabang dengan panjang 15-20 cm dari tanaman yang seragam dengan umur yang sama. Stek diadaptasikan selama 2 minggu.

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah: polybag 2 kg, cangkul, sekop, plastik, timbangan analitik, timbangan O. Hauss, oven, lux meter, paranet 30% dan 60%, spektrofotometer, labu Kjedadahl, alat distilasi dan gelas beker.

### Cara kerja

Penelitian dilaksanakan pada bulan April–September 2003, di Laboratorium MIPA Pusat UNS dan rumah kaca Fakultas Pertanian UNS. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal, yaitu tingkat naungan 0%, 40% dan 70% dengan 10 ulangan. Parameter yang diamati meliputi: parameter pertumbuhan (tinggi tanaman, luas daun, berat kering tanaman), parameter kandungan nitrogen, kandungan klorofil dan karotenoid daun. Data yang diambil setelah tiga bulan perlakuan, dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) dan analisis regresi, untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur. Kemudian dilanjutkan dengan DMRT pada taraf uji 5% untuk mengetahui beda nyata diantara perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan, yaitu: perlakuan dengan naungan 0% yang menghasilkan 1000-30000 lux cahaya, naungan 40% yang menghasilkan 400-15000 lux cahaya dan naungan 70% yang menghasilkan 200-7000 lux cahaya. Menurut Salisbury dan Ross (1995) kisaran intensitas cahaya yang tinggi antara 1000-40000 lux. Ini berarti perlakuan dengan naungan 0% dan 40% memberikan intensitas cahaya matahari yang tinggi bagi tanaman *G. procumbens*. Sedangkan pada naungan 70% memberikan intensitas cahaya matahari yang rendah. Oleh karena itu, pembahasan penelitian ini meliputi pengaruh intensitas cahaya yang berbeda tersebut pada pertumbuhan tanaman, kandungan nitrogen, klorofil dan karotenoid daun *G. procumbens*.

### Pertumbuhan

Data rata-rata pertumbuhan tanaman *G. procumbens* disajikan pada Tabel 1.

### Tinggi tanaman

Tinggi tanaman terbesar terdapat pada naungan 40% dan terendah pada naungan 70%. Hasil uji DMRT menunjukkan data tinggi tanaman tidak berbeda nyata. Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 40% lebih optimal dalam meningkatkan tinggi tanaman bila dibandingkan dengan naungan 70% maupun 0%.

**Tabel 1.** Pertumbuhan, kandungan nitrogen, klorofil dan karotenoid daun *G. procumbens* selama 3 bulan dengan perlakuan naungan 0%, 40% dan 70%.

Perlakuan (rata-rata)	Naungan		
	0%	40%	70%
Tinggi tanaman (cm)	38,14 <sup>a</sup>	44,70 <sup>a</sup>	32,36 <sup>a</sup>
Jumlah daun	27,80 <sup>a</sup>	30,20 <sup>a</sup>	24,40 <sup>a</sup>
Luas daun	23,373 <sup>b</sup>	28,061 <sup>a</sup>	29,462 <sup>a</sup>
Berat kering (g)	6,903 <sup>a</sup>	8,208 <sup>a</sup>	2,622 <sup>b</sup>
Kandungan nitrogen (%)	1,499 <sup>b</sup>	1,806 <sup>ab</sup>	1,944 <sup>a</sup>
Kandungan klorofil a (%)	3,393 <sup>b</sup>	3,928 <sup>a</sup>	4,126 <sup>a</sup>
Kandungan klorofil b (%)	1,860 <sup>b</sup>	1,153 <sup>c</sup>	2,496 <sup>a</sup>
Kandungan klorofil total (%)	4,719 <sup>b</sup>	5,078 <sup>b</sup>	6,128 <sup>a</sup>
Kandungan karotenoid (%)	0,05011 <sup>a</sup>	0,04379 <sup>b</sup>	0,04319 <sup>b</sup>

Keterangan: angka yang diikuti huruf berbeda pada baris menunjukkan beda nyata pada taraf uji 5%.

Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa perlakuan naungan 40% mengakibatkan tanaman mendapatkan cahaya yang dapat meningkatkan kapasitas fotosintesisnya. Materi organik hasil fotosintesis tersebut dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan tinggi tanaman. Sebaliknya pada perlakuan naungan 70% cahaya yang dihasilkan mengakibatkan menurunnya kapasitas fotosintesis sehingga materi organik hasil fotosintesis digunakan untuk respirasi dan tidak digunakan untuk meningkatkan tinggi tanaman (Salisbury dan Ross, 1995).

### Jumlah daun

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan dengan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap jumlah daun *Gynura procumbens*. Data rata-rata jumlah daun *Gynura procumbens* selama 3 bulan teruji pada Tabel 1. Jumlah daun terbanyak terdapat pada naungan 40% dan terendah pada naungan 70%. Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 40% lebih optimal dalam meningkatkan jumlah daun bila dibandingkan dengan naungan 70% maupun 0%.

### Luas daun

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan dengan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap luas daun *G. procumbens*. Data rata-rata luas daun *G. procumbens* selama 3 bulan teruji pada Tabel 1. Luas daun terbesar terdapat pada naungan 70% dan terendah pada naungan 0%. Hasil uji DMRT unjukkan data luas daun berbeda nyata.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa penggunaan naungan 70% mengakibatkan meningkatnya luas daun. Sedangkan pada penggunaan naungan 0% menghasilkan luas daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hasil tersebut sesuai dengan teori bahwa pada tumbuhan dikotil, daun di bawah kondisi ternaungi berukuran lebih besar dan lebih tipis di bandingkan dengan daun pada intensitas cahaya penuh (Salisbury dan Ross, 1995). Hal tersebut, menurut Fitter dan Hay (1991), tanaman di bawah naungan 70% melakukan adaptasi pada kondisi intensitas cahaya rendah dengan meningkatkan luas daun untuk memperoleh suatu permukaan yang lebih besar bagi absorpsi cahaya.

### Berat kering tanaman

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan dengan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap berat kering tanaman *G. procumbens*. Data rata-rata berat kering tanaman *G. procumbens* teruji pada Tabel 1. Berat kering tanaman terbesar terdapat pada naungan 40% dan terendah pada naungan 70%. Hasil uji DMRT menunjukkan data berat kering berbeda nyata antar perlakuan.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 40% lebih optimal dalam meningkatkan berat kering tanaman bila dibandingkan dengan naungan 70% maupun 0%. Hasil tersebut sesuai dengan teori bahwa penurunan intensitas cahaya yang diterima tanaman, mengakibatkan menurunnya nisbah berat kering pada semua organ tanaman. Produksi berat kering total tanaman yang ditanam di bawah naungan yang tinggi, jauh lebih rendah dari yang ditanam di bawah naungan yang rendah. Intensitas cahaya rendah yang dihasilkan naungan 70%, mengakibatkan tanaman melakukan aktivitas respirasi yang lebih besar dari pada fotosintesis. Jika respirasi lebih besar dari fotosintesis maka akan mengurangi berat kering tanaman, sebab hasil berat kering merupakan keseimbangan antara pengambilan CO<sub>2</sub> (fotosintesis) dan pengeluaran CO<sub>2</sub> (respirasi) (Gardner, 1995).

### Kandungan nitrogen daun

Kandungan nitrogen daun merupakan parameter yang dapat menunjukkan sintesis protein dan asam nukleat yang berperan dalam pembentukan sel baru sebagai indikator pertumbuhan. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap kandungan nitrogen daun *G. procumbens*. Data rata-rata kandungan nitrogen daun tersaji pada Tabel 1.

Kandungan nitrogen terbesar terdapat pada perlakuan naungan 70% dan terendah pada perlakuan naungan 0%.

Hasil analisis varian menunjukkan data kandungan nitrogen daun berbeda nyata. Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 70% mengakibatkan meningkatnya kandungan nitrogen daun. Sedangkan pada naungan 0% menghasilkan kandungan nitrogen daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal tersebut menurut Bonner (1965) terjadi karena pada tanaman dengan perlakuan naungan 70% terjadi penumpukan NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dan NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (sumber nitrogen utama) dalam glutamin. Cahaya yang dihasilkan naungan 70% tidak cukup untuk mengubah sumber nitrogen utama tersebut menjadi nitrogen organik yang akan dimanfaatkan untuk berbagai proses metabolisme tanaman.

### Kandungan klorofil

#### Kandungan klorofil a

Kandungan klorofil a merupakan parameter yang menunjukkan kandungan klorofil yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a daun *G. procumbens*. Data rata-rata kandungan klorofil a teruji pada Tabel 1. Kandungan klorofil a terbesar terdapat pada perlakuan naungan 70% dan terendah pada perlakuan naungan 0%. Hasil analisis varian menunjukkan data kandungan klorofil a daun berbeda nyata.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 70% mengakibatkan meningkatnya kandungan klorofil a daun. Sedangkan pada naungan 0% menghasilkan kandungan klorofil a daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa tanaman di bawah intensitas cahaya penuh menunjukkan kandungan klorofil minimal, kondisi ini berlaku untuk klorofil a dan b (Ermawati, 1990). Sebaliknya, pada kondisi ternaungi akan bekerja cahaya merah jauh yang akan mendorong produksi klorofil a (ditelaah oleh Kasemir, 1983; Hooper, 1987; Beale, 1990; dalam Salisbury dan Ross, 1995).

#### Kandungan klorofil b

Kandungan klorofil b merupakan parameter yang menunjukkan kandungan klorofil yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil b daun *G. procumbens*. Data rata-rata kandungan klorofil b tersaji pada Tabel 1. Kandungan klorofil b terbesar terdapat pada perlakuan naungan 70% dan terendah pada perlakuan naungan 0%. Hasil menunjukkan data kandungan klorofil b daun berbeda nyata.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 70% mengakibatkan meningkatnya kandungan klorofil b daun. Sedangkan pada naungan 0% menghasilkan kandungan klorofil b

daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa proporsi klorofil b dalam tanaman di tempat ternaungi lebih tinggi daripada tanaman yang berada di daerah terik matahari (Amini dkk., 1990). Klorofil b terjadi akibat adaptasi klorofil a pada kondisi ternaungi. Menurut Bidwell (1979) klorofil b terjadi dari klorofil a yang mengalami oksidasi sehingga gugus  $\text{CH}_3$  pada cincin II dalam klorofil a berubah menjadi gugus aldehida pada molekul klorofil b.

### Kandungan klorofil total

Parameter ini menunjukkan kandungan klorofil yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil total daun *G. procumbens*. Data rata-rata kandungan klorofil total teruji pada Tabel 1. Kandungan klorofil total terbesar terdapat pada perlakuan naungan 70% dan terendah pada perlakuan naungan 0%. Hasil menunjukkan data kandungan nitrogen daun berbeda nyata.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 70% mengakibatkan meningkatnya kandungan klorofil total daun. Sedangkan pada naungan 0% menghasilkan kandungan klorofil total daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa berdasarkan bobot, daun pada kondisi ternaungi umumnya mempunyai klorofil yang lebih banyak (Salisbury dan Ross, 1995). Jumlah klorofil yang lebih banyak pada tanaman di bawah naungan 70% berfungsi untuk memaksimalkan penyerapan cahaya pada kondisi cahaya rendah. Klorofil pada tanaman ternaungi tersusun dalam keadaan fototaksis (Salisbury dan Ross, 1995).

### Kandungan karotenoid

Kandungan karotenoid merupakan parameter yang menunjukkan kandungan karotenoid yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan naungan 0%, 40% dan 70% berpengaruh nyata terhadap kandungan karotenoid daun *G. procumbens*. Data rata-rata kandungan karotenoid teruji pada Tabel 1. Kandungan karotenoid terbesar terdapat pada perlakuan naungan 0% dan terendah pada perlakuan naungan 70%. Hasil uji DMRT menunjukkan data kandungan karotenoid daun berbeda nyata.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa naungan 0% mengakibatkan meningkatnya kandungan karotenoid daun. Sedangkan pada naungan 70% menghasilkan kandungan karotenoid daun yang lebih kecil dibandingkan perlakuan yang lainnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa karotenoid berfungsi melindungi klorofil dari kerusakan akibat oksidasi oleh  $\text{O}_2$  saat tingkat penyinaran tinggi (Kimball, 1994; Dwidjoseputro, 1994; Schooley, 1996; Mowli *et al.* dalam Nastiti, 1999). Ini berarti kandungan karotenoid tinggi pada tanaman di bawah intensitas cahaya tinggi.

### KESIMPULAN

Perlakuan dengan menggunakan naungan 40% berpengaruh nyata dalam meningkatkan pertumbuhan *G. procumbens*, yaitu pada luas daun, dan berat kering. Perlakuan dengan menggunakan naungan 70% berpengaruh nyata dalam meningkatkan kandungan nitrogen dan klorofil. Perlakuan naungan 0% meningkatkan kandungan karotenoid daun *G. procumbens*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. Pramono, C.J. Soegihardjo, dan H. Hartiko. 1990. *Biokimia Tumbuhan*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.
- Bidwell, R.G.S. 1979. *Plant Physiology*. 2nd ed. New York: Macmillan Publishing Co. Inc.
- Bonner, J. 1965. *Plant Biochemistry*. New York: Academic Press.
- Ermawati, R. 1990. *Kandungan Klorofil Daun Pinus merkusii yang Tumbuh di sekitar Sumur Eksplorasi Panas Bumi Kamojang Jawa Barat*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Fitter, A.H. and R.K.M. Hay. 1991. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Gardner, F.P. 1995. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta: UI Press.
- Nastiti, W.K. 1999. Klorofil daun angkana dan mahoni sebagai bioindikator pencemaran udara. *Dalam: Lingkungan dan Pembangunan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. Bandung: Penerbit ITB.
- Sastroamidjojo, S.A. 1962. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: PT. Pustaka Rakyat.
- Veenman, N. 1927. *De Nuttige Planten van Indonesia I*. Jakarta: Ruggrok and Co.

## Pertumbuhan, Kadar Saponin dan Nitrogen Jaringan Tanaman Daun Sendok (*Plantago major* L.) pada Pemberian Asam Gibberelat ( $GA_3$ )

### *Growth, saponin and nitrogen content of common plantain (*Plantago major* L.) tissue with gibberellic acid application ( $GA_3$ )*

LYA KHRISTYANA, ENDANG ANGGARWULAN\*, MARSUSI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

\* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: biology@mipa.uns.ac.id

Diterima: 16 Juli 2004. Disetujui: 15 Januari 2005.

**Abstract.** The aims of this research were to study application effect on growth, saponin content and tissue nitrogen of common plantain (*Plantago major* L.). *P. major* was one of plant which has potency as a medicinal plant. The addition of  $GA_3$  exogenous to the plant would cause  $GA_3$  binding with receptor protein in the plasma membrane region, which caused specific gene activation, so that specific RNA molecule formed, and would trigger one or more enzyme forming which regulate plant growth and influence protein synthesis also plant secondary metabolite production. Data elicited by completely randomized design (CRD) with single factor ( $GA_3$  application). The application of  $GA_3$  was done once a week for two months, with following concentrations: 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and 100 ppm, each treatment with five replications. The measurement of leaves width, dry weight, saponin content and nitrogen tissue were done after harvest. Data obtained were analyzed by using analysis of variance (ANOVA), and followed by DMRT 5% confidence level. The result showed that  $GA_3$  application giving significant effect to dry weight and saponin content, but was not give significant effect to leaves width and tissue nitrogen content. The highest  $GA_3$  concentration for increased leaves width was 50 ppm. The highest dry weight and saponin content was on 75 ppm  $GA_3$  application, whereas for the highest tissue nitrogen was on 25 ppm  $GA_3$  treatment.

**Keywords:** gibberellic acid, *Plantago major*, growth, saponin, tissue nitrogen.

### PENDAHULUAN

Beberapa tahun terakhir ini, industri obat-obatan tradisional berkembang dengan pesat. Pengobatan yang selama ini dilakukan adalah menggunakan obat-obatan modern, yang biasanya mempunyai efek samping yang berbahaya dan harganya relatif mahal. Diperlukan alternatif antara lain dengan penggunaan obat tradisional (Kusumaatmaja, 1995). Salah satu spesies tumbuhan obat yang banyak dimanfaatkan, tetapi belum banyak dibudidayakan adalah *Plantago major* L.. Tumbuhan dari familia Plantaginaceae ini diketahui dapat menyembuhkan beberapa macam penyakit, seperti batu ginjal atau kandung kemih, disentri, mata serta luka akibat gigitan serangga dan ular (Tampubolon, 1995). Menurut Wijayakusuma dkk. (1994), *P. major* dapat digunakan sebagai anti radang (anti *inflammatory*) untuk mengobati bengkak akibat radang ginjal (*nephritis oedem*) serta radang saluran pernafasan (*bronchitis*).

Beberapa kandungan *P. major* adalah saponin, flavonoid dan polifenol (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder. Menurut Herbert (1995) beberapa produk metabolit sekunder ini merupakan bahan obat yang berguna, salah satunya adalah saponin. Osbourn (2003) menjelaskan bahwa saponin memiliki aktivitas

antifungi dan pertahanan terhadap serangan mikroba patogen. Nilai ekonomi lain dari saponin terletak pada penggunaan senyawa tersebut sebagai bahan dasar industri hormon seks, kortikosteroid, dan turunan steroid (Manitto, 1992).

Mengingat khasiatnya sebagai alternatif obat tradisional, diduga penggunaan dan kebutuhan akan tumbuhan ini semakin meningkat. Pengambilan tumbuhan *P. major* untuk obat yang langsung diambil dari alam, khususnya yang tumbuh secara liar di pinggir jalan, dikhawatirkan dapat berdampak negatif. Hal ini disebabkan tumbuhan tersebut dapat saja mengandung logam berat seperti timah hitam dan kadmium. Kedua logam berat tersebut merupakan bahan pencemar yang dikeluarkan kendaraan bermotor (Kusumaatmaja, 1995). Di samping itu, pengambilan *P. major* dari alam secara berlebihan, diduga merupakan salah satu faktor yang mengancam kelestarian tumbuhan obat ini. Dalam rangka memenuhi kebutuhan dan mendapatkan tumbuhan obat yang bebas bahan pencemar serta tidak membahayakan kelestariannya, perlu dilakukan budidaya secara terarah, sehingga didapat-an tanaman dengan kadar metabolit sekunder yang tinggi dan berkualitas. Kadar metabolit sekunder tanaman tersebut antara lain dapat ditingkatkan dengan aplikasi zat pengatur tumbuh.

Zat pengatur tumbuh yang dikenal juga sebagai hormon tumbuhan (fitohormon) dapat menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis dan morfologis, salah satunya adalah giberelin (GA). GA, khususnya GA<sub>3</sub> dilaporkan banyak digunakan untuk meningkatkan kualitas tumbuhan, diantaranya adalah untuk meningkatkan hasil dan juga untuk memperbesar kadar bahan aktif pada pepermin (*Mentha piperita* L.). Aplikasi GA<sub>3</sub> dengan konsentrasi 50 ppm berpengaruh baik dalam meningkatkan biomassa daun tanaman *Mentha piperita* L. (Chairani, 1988). Widiastuti *et al.* (1993) juga melaporkan bahwa penyemprotan GA<sub>3</sub> dengan konsentrasi 50 ppm pada *Phyllanthus niruri* L. dapat meningkatkan hasil herba.

Abidin (1994) menjelaskan bahwa hormon dapat mengatur proses-proses fisiologi tanaman, karena hormon mempengaruhi sintesis protein dan mengatur aktivitas enzim. Adanya peningkatan sintesis protein sebagai bahan baku penyusunan enzim dapat memacu kerja enzim dalam proses metabolisme tanaman. Hal ini dapat meningkatkan pertumbuhan yang nantinya dapat meningkatkan biosintesis metabolit sekunder (Taiz dan Zeiger, 1998). Mengingat pentingnya manfaat *P. major* sebagai alternatif tumbuhan obat tradisional, dan selama ini belum dibudidayakan secara luas, maka dirasa perlu dilakukan penelitian yang bertujuan mempelajari pengaruh pemberian GA<sub>3</sub> terhadap pertumbuhan, kadar saponin dan nitrogen jaringan tanaman *P. major*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Oktober 2003, bertempat di rumah kaca, Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat MIPA, Universitas Sebelas Maret. Analisis nitrogen jaringan dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: biji tanaman *Plantago major*, tanah, ZPT GA<sub>3</sub> (masing-masing dengan konsentrasi 0, 25, 50, 75 dan 100 ppm), aquades, etanol 70 %, pupuk kompos. Untuk penentuan kadar saponin digunakan etanol 70 % dan saponin Merck. Untuk penentuan N-jaringan digunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, NaOH pekat, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, Se, asam borat, indikator methyl merah-BCG, HCl 0,02 N dan aquades.

Alat-alat yang digunakan meliputi: polibag, *hand sprayer*, gelas beker, pipet, batang pengaduk, timbangan analitik, oven, gelas ukur, gunting, kertas payung, ayakan tanah, termometer, labu Kjeldahl, lemari asam, alat destilasi, kertas label, penangas air, tabung reaksi, mortal, perangkat spektrofotometer dan tudung plastik.

### Cara kerja

#### Rancangan percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal, yaitu

pemberian GA<sub>3</sub> dengan lima taraf, yaitu 0, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Masing-masing perlakuan dengan lima ulangan.

### Pelaksanaan penelitian

**Persiapan tanaman *P. major*.** Dipilih biji *P. major* yang akan digunakan yang masih baik, tidak pecah dan ukurannya seragam. Biji disemai dalam kotak persemaian, dilaksanakan pada pagi hari. Setelah tumbuh 3-5 helai daun, dipindah ke polibag. Untuk pemeliharaan dilakukan penyiraman sekali sehari pada waktu pagi hari.

**Media tanam.** Tanah yang sudah dikeringanginkan diayak dengan ayakan yang berukuran 2 mm. Tanah dicampur dengan pupuk kompos, sebanyak 3 kg untuk masing-masing polibag, dengan perbandingan 2:1.

**Perlakuan.** Disiapkan larutan GA<sub>3</sub> dengan konsentrasi masing-masing 25, 50, 75 dan 100 ppm, yang dibuat dengan cara melarutkan GA ke dalam aquades. Perlakuan diberikan mulai 2 minggu setelah tanam sampai pemanenan yaitu 2 bulan. Pada helaian daun secara merata disemprot dengan GA<sub>3</sub> sesuai dengan perlakuan masing-masing. Penyemprotan dilakukan tiap 1 minggu sekali pada waktu pagi hari. Pada masing-masing tanaman disemprot sebanyak 5 ml GA<sub>3</sub> (5 kali penyemprotan dengan tekanan yang sama) dengan digunakan *hand sprayer* dan tanaman ditutup dengan tudung plastik. Jarak antar tanaman 10 cm (Chairani, 1988).

**Pengamatan.** Luas daun dihitung dengan metode gravimetri (Sitompul dan Guritno, 1995)

$$LD = W_r \times \frac{LK}{W_t}$$

LD = luas daun

W<sub>r</sub> = berat kertas replika daun

W<sub>t</sub> = berat total kertas

LK = luas total kertas

Berat kering tanaman diukur dengan cara seluruh tanaman dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C sampai dicapai berat kering yang konstan, yakni selama lima hari.

Analisis kadar saponin dengan metode spektrofotometer-uv, dengan langkah sebagai berikut: 0,1 g daun yang telah dikeringkan hingga mencapai berat konstan digerus dengan mortal hingga menjadi serbuk halus, kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 70% dalam tabung reaksi. Serbuk tersebut diekstraksi di atas penangas air pada suhu 80°C selama 15 menit. Absorbansi dari hasil ekstraksi diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 365 nm dan digunakan saponin Merck sebagai larutan standar. Nilai konsentrasi yang terbaca adalah kadar saponin (Stahl, 1985). Analisis kadar nitrogen (N) jaringan dengan metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1981)

### Analisis data

Data yang diperoleh diuji dengan analisis varian (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur. Jika terdapat beda nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

*Luas dan jumlah daun*

Pengamatan pada luas daun didasarkan atas fungsinya sebagai alat fotosintesis. Hal ini karena laju fotosintesis per satuan tanaman ditentukan sebagian besar oleh luas daun. Oleh karena itu pengamatan pada luas daun sangat diperlukan sebagai indikator pertumbuhan juga sebagai data penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi (Sitompul dan Guritno, 1995).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata yang disebabkan oleh perlakuan. Data pengaruh GA<sub>3</sub> terhadap luas daun *P. major* dapat dilihat pada Tabel 1. Luas daun terbesar tampak pada tanaman yang diberi perlakuan GA<sub>3</sub> konsentrasi 50 ppm, sedangkan pada konsentrasi 75 ppm dan 100 ppm luas permukaan daun lebih kecil. Nilai luas daun selain dipengaruhi oleh giberelin juga dipengaruhi oleh faktor genetik yang berperan dalam menentukan jumlah dan ukuran daun. Giberelin dapat meningkatkan pembelahan dan pertumbuhan sel yang kemudian mengarah pada perkembangan daun muda (Salisbury dan Ross, 1995a, b). Wattimena (1991) juga melaporkan bahwa giberelin dapat memperbesar luas daun dari berbagai jenis tanaman. Pemberian giberelin langsung pada daun diketahui dapat memacu pertumbuhan dan mempengaruhi bentuknya.

Pada Tabel 1 tampak bahwa tanaman dengan jumlah daun yang banyak memiliki luas daun yang kecil, sedangkan tanaman yang mempunyai jumlah daun sedikit dapat menghasilkan luas daun yang besar. Hal ini dapat terjadi karena, pada tanaman dengan jumlah daun yang banyak, ukuran tiap helaian daunnya kecil, sehingga dihasilkan luas daun total yang tidak begitu besar. Keadaan sebaliknya terjadi pada tanaman dengan jumlah daun yang sedikit yaitu, ukuran tiap helaian daunnya besar, sehingga dihasilkan luas daun total yang besar.

*Berat kering tanaman*

Bahan atau biomassa tanaman dapat digunakan untuk menggambarkan dan mempelajari pertumbuhan tanaman. Hal ini disebabkan biomassa tanaman relatif mudah diukur dan merupakan indikator pertumbuhan yang paling representatif

untuk mendapatkan penampilan keseluruhan pertumbuhan tanaman (Sitompul dan Guritno, 1995). Pengukuran biomassa tanaman dapat juga dilakukan menggunakan berat kering tanaman. Pertambahan ukuran maupun berat kering tanaman mencerminkan bertambahnya protoplasma, yang terjadi karena bertambahnya ukuran dan jumlah sel (Harjadi, 1993; Hopkins, 1999). Gardner *et al.* (1991) menyebutkan bahwa dari berat kering dapat diketahui hasil fotosintesis yang terdapat pada tanaman. Hasil berat kering tanaman adalah keseimbangan antara pengambilan CO<sub>2</sub> (fotosintesis) dan pengeluaran CO<sub>2</sub> (respirasi). Fotosintesis mengakibatkan meningkatnya berat kering tanaman karena pengambilan CO<sub>2</sub>, sedangkan respirasi menyebabkan pengeluaran CO<sub>2</sub> dan mengurangi berat kering.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa GA<sub>3</sub> memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat kering tanaman *P. major*. Pengaruh antar perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Tanaman kontrol menunjukkan adanya beda nyata dengan perlakuan GA<sub>3</sub> konsentrasi 75 ppm, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi yang lainnya. Semakin tinggi konsentrasi GA<sub>3</sub>, berat kering tanaman semakin meningkat, akan tetapi pada konsentrasi 100 ppm, berat kering tanaman mengalami penurunan.

GA<sub>3</sub> yang diberikan akan memberikan efek pada pertumbuhan tanaman, dalam hal ini berat kering tanaman. Penurunan pada perlakuan 100 ppm merupakan efek kejenuhan terhadap hormon. Sebagaimana dikemukakan Salisbury dan Ross (1995a, b) bahwa respon tanaman terhadap GA akan terus meningkat sampai mencapai titik jenuh pada konsentrasi GA yang optimum. Pada saat konsentrasi hormon yang diberikan terus meningkat, pertumbuhan tanaman akan mulai menurun, karena hormon yang diberikan menjadi bersifat menghambat. Mekanisme penghambatan GA<sub>3</sub> ini terjadi karena adanya pengaturan umpan balik (*feedback control*). Taiz dan Zeiger (1998) menjelaskan bahwa pemberian GA<sub>3</sub> yang tinggi akan menyebabkan terjadinya penurunan transkripsi GA<sub>20</sub> oksidase. GA<sub>20</sub> oksidase merupakan target utama dalam pengaturan umpan balik. Apabila transkripsi GA<sub>20</sub> oksidase menurun, maka akan terjadi pengeblokan biosintesis GA<sub>3</sub>, yang akan menyebabkan aktivitas GA<sub>3</sub> menjadi menurun.

Hasil penelitian ini berbeda dengan laporan Chairani (1988) bahwa aplikasi GA<sub>3</sub> dengan konsentrasi 50 ppm berpengaruh baik dalam meningkatkan biomassa daun tanaman *Mentha piperita* L.. Pada konsentrasi 50 ppm, bobot kering daun 56% lebih tinggi daripada kontrol. Perbedaan ini disebabkan pengaruh GA<sub>3</sub> bersifat variatif, tergantung jenis tanamannya.

**Tabel 1.** Luas daun, berat kering tanaman, kadar saponin, dan kadar nitrogen jaringan *P. major* pada perlakuan GA<sub>3</sub>.

Rerata	Konsentrasi GA <sub>3</sub> (ppm)				
	0	25	50	75	100
Luas daun (cm <sup>2</sup> )	308,6352	349,2639	448,8602	372,5847	335,7307
Jumlah daun	8.71 <sup>a</sup>	7.31 <sup>ab</sup>	7.13 <sup>ab</sup>	6.56 <sup>b</sup>	8.20 <sup>ab</sup>
Berat kering (g)	2,6877 <sup>b</sup>	3,2885 <sup>ab</sup>	3,3051 <sup>ab</sup>	4,2998 <sup>a</sup>	3,8710 <sup>ab</sup>
Kadar saponin (µg/ml)	27,5690 <sup>b</sup>	28,3048 <sup>ab</sup>	28,6346 <sup>ab</sup>	30,1102 <sup>a</sup>	29,2414 <sup>ab</sup>
Kadar nitrogen jaringan (%)	2,68	2,94	1,93	2,30	2,24

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata dalam uji DMRT pada taraf uji 5%.

Peningkatan berat kering tanaman ini juga disebabkan oleh luas daun. Adanya peningkatan pada luas daun diikuti juga oleh peningkatan berat kering tanaman.

#### Kadar saponin

Penelitian tanaman obat tradisional, dalam bentuk zat kimia murni yang dihasilkan dengan pemisahan dari bahan tanaman obat tradisional tersebut, sudah banyak dilakukan. Zat kimia murni ini merupakan suatu senyawa metabolit sekunder hasil metabolisme lebih lanjut dari metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak dan asam nukleat (Herbert, 1995). Salah satu golongan metabolit sekunder yang banyak diteliti adalah saponin. Menurut Manitto (1992) nilai ekonomi yang lain dari saponin selain sebagai bahan baku obat tradisional adalah penggunaan senyawa tersebut sebagai bahan dasar industri hormon seks, kortikosteroid dan turunan steroid.

Hasil analisis sidik ragam tanaman *P. major* menunjukkan bahwa GA<sub>3</sub> memberikan kadar saponin yang berbeda nyata pada taraf uji 5%. Data pengaruh GA<sub>3</sub> terhadap kadar saponin tersaji pada Tabel 1. Semakin tinggi konsentrasi GA<sub>3</sub> yang diberikan menyebabkan kadar saponin dalam tanaman semakin meningkat, hanya pada konsentrasi GA<sub>3</sub> 100 ppm kadar saponin tanaman mengalami penurunan. Kadar saponin tertinggi diperoleh dari perlakuan GA<sub>3</sub> 75 ppm.

Fitohormon, dalam hal ini GA<sub>3</sub>, mempengaruhi metabolisme asam nukleat yang berperan dalam sintesis protein dan mengatur aktivitas enzim untuk pertumbuhan tanaman. Adanya peningkatan sintesis protein sebagai bahan baku penyusun enzim dapat memacu kerja enzim dalam proses metabolisme tanaman. Hal ini dapat meningkatkan laju pertumbuhan yang nantinya dapat meningkatkan biosintesis metabolit sekunder, salah satunya adalah saponin.

Penambahan GA<sub>3</sub> dapat menyebabkan peningkatan pembelahan sel yang diikuti perbanyakan diri, sehingga terjadi peningkatan laju pertumbuhan tanaman, diikuti dengan peningkatan kadar saponin tanaman. Hal ini kemungkinan karena senyawa skualen yang dihasilkan tanaman langsung diubah menjadi saponin. Skualen ini merupakan senyawa antara sintesis terpenoid yang dihasilkan melalui jalur asam mevalonat. Wattimena (1991) mengemukakan bahwa enzim memegang peranan penting dalam setiap proses metabolisme, maka setiap proses yang dapat mengatur sintesis, aktivasi, perombakan dan inaktivasi dari enzim mempunyai pengaruh yang nyata terhadap proses fisiologi dan biokimia tanaman. Hormon tanaman berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini mengaktifkan enzim tersebut dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru ini selanjutnya menyebabkan serentetan reaksi-reaksi sekunder, yang salah satunya adalah pembentukan metabolit sekunder.

Pengendalian beberapa enzim tertentu sesudah terjadi penerimaan hormon eksogen, pada awalnya

dapat mempengaruhi ekspresi gen yang dapat menyebabkan serangkaian proses-proses metabolisme. Dalam Manitto (1992) dijelaskan bahwa tahap awal pembentukan saponin berasal dari proses glikolisis membentuk asam piruvat. Asam piruvat yang terbentuk dioksidasi membentuk asetil ko-A. Asetil ko-A merupakan sumber atom karbon dalam sintesis saponin. Sedangkan dalam Murray *et al.* (1996) dan Hopkins (1999) dijelaskan bahwa biosintesis saponin dapat dibagi menjadi lima tahap yaitu (1) asam mevalonat, yang merupakan senyawa enam karbon disintesis dari asetil ko-A, (2) unit isoprenoid dibentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO<sub>2</sub>, (3) enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa antara yaitu skualen, (4) skualen mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa terpenoid, (5) senyawa terpenoid ini akan berikatan dengan glukosa membentuk saponin. Berdasarkan uraian di atas diketahui bahwa terdapat kesamaan jalur pembentukan saponin dan giberelin, yaitu keduanya disintesis dari asetil ko-A melalui asam mevalonat sebagai prekursor. Penambahan GA eksogen akan memenuhi kebutuhan hormon dalam tumbuhan, sehingga asam mevalonat yang terbentuk lebih diarahkan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu saponin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi saponin akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi GA<sub>3</sub>, tetapi ketika mencapai konsentrasi GA<sub>3</sub> 100 ppm, produksi saponin mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan disebabkan konsentrasi GA<sub>3</sub> di atas 75 ppm yaitu 100 ppm merupakan respon kejenuhan. Pada saat GA<sub>3</sub> diberikan, dapat mempengaruhi sintesis saponin; setelah itu sintesis saponin akan terus meningkat sampai mencapai titik jenuh yaitu pada konsentrasi yang optimum dari GA<sub>3</sub>. Pemberian GA<sub>3</sub> dengan konsentrasi yang terus meningkat menyebabkan sintesis saponin terganggu, karena GA<sub>3</sub> menjadi bersifat racun atau menghambat sintesis saponin, sehingga terjadi penurunan kadar saponin (Salisbury dan Ross, 1995a, b). Produksi saponin *P. major* juga berkaitan dengan luas daun tanaman (Tabel 1). Pada luas daun tanaman yang besar, saponin yang disintesis juga tinggi.

#### Kadar nitrogen jaringan

Nitrogen (N) pada umumnya merupakan faktor pembatas utama dalam produksi biomassa tanaman. Biomassa tanaman rata-rata mengandung nitrogen sebesar 1-2% dan bahkan mungkin sebesar 4-6% (Gardner *et al.*, 1991). Pada tanaman, nitrogen pada prinsipnya dibutuhkan untuk sintesis protein, baik struktural maupun enzimatik. Enzim bertanggungjawab untuk sintesis, baik itu protein, lemak, pigmen, maupun komponen struktur sel lainnya. Senyawa-senyawa ini nantinya akan menyusun tubuh tanaman dan dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan organ, termasuk produksi biomassa tanaman (Lawlor *et al.*, 2001).

Analisis sidik ragam pada tanaman *P. major* menunjukkan bahwa perlakuan GA<sub>3</sub> tidak memberikan pengaruh yang nyata pada kadar

nitrogen jaringan. Pada Tabel 1 terlihat bahwa kadar nitrogen jaringan tertinggi diperoleh pada perlakuan GA<sub>3</sub> konsentrasi 25 ppm, dan kadar terendah diperoleh pada konsentrasi 50 ppm.

Pada penelitian ini diperoleh hasil, pada saat aktivitas nitrogen reduktase tinggi, kadar nitrogen jaringannya rendah. Hal ini kemungkinan karena kandungan nitrogennya telah diangkut ke organ reproduktifnya, dalam hal ini diangkut ke buah dan biji. Menurut Salisbury dan Ross (1995a, b) pada tumbuhan herba tahunan, sebagian besar nitrogen dan unsur lain yang bergerak di floem akan diangkut menuju tajuk dan akar setelah kebutuhan nitrogen biji terpenuhi. Rendahnya nitrogen jaringan pada pengukuran kemungkinan juga disebabkan karena nitrogen merupakan unsur yang sifatnya mobil, nitrogen akan berpindah dari jaringan tua ke jaringan muda, sehingga defisiensi nitrogen akan tampak pertama kali pada daun-daun yang lebih tua (Gardner *et al.*, 1991).

### KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan yaitu pemberian GA<sub>3</sub> berpengaruh secara nyata terhadap berat kering dan kadar saponin, tetapi tidak berbeda nyata terhadap luas daun dan kadar nitrogen jaringan. Konsentrasi GA<sub>3</sub> yang tertinggi untuk meningkatkan luas daun adalah 50 ppm. Kadar saponin dan berat kering yang tertinggi yaitu pada pemberian GA<sub>3</sub> 75 ppm, sedangkan untuk nitrogen jaringan tertinggi pada perlakuan GA<sub>3</sub> 25 ppm.

Dengan melihat hasil penelitian, disarankan untuk melakukan penelitian dengan menggunakan konsentrasi GA<sub>3</sub> yang lebih dipersempit yaitu pada kisaran antara 50-75 ppm. Diharapkan pada konsentrasi ini dapat diperoleh hasil yang lebih optimal.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1994. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Chairani, F. 1988. Pengaruh aplikasi fitohormon asam giberelat terhadap biomassa tajuk dan koefisien partisi fotosintat tanaman peppermin. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* 14 (1-2): 28-33.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta: UI Press.
- Harjadi, S.S. 1993. *Pengantar Agronomi*. Jakarta: P.T. Gramedia.
- Herbert, R.B. 1995a. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Penerjemah: Srigandono, B. Semarang: IKIP Press.
- Hopkins, W.G. 1999. *Introduction to Plant Physiology*, 2nd edition. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Kusumaatmaja, S. 1995b. *Atlas Keanekaragaman di Indonesia*. Jakarta: Kantor Menteri Negara Lingkungan Hidup dan KONPHALINDO.
- Lawlor, D.W., G. Lemaire, and F. Gastal. 2001. Nitrogen, plant growth and crop yield. In: Lea, P.J. and J.F. Gaudry (eds.). *Plant Nitrogen*. Berlin, Heidelberg, Jerman: Springer-Verlag.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Penerjemah: Koensoemardiyah. Semarang: IKIP Press.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, dan V.M. Rodwell. 1996. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Hartono, A. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Osborn, A.E. 2003. Saponin in cereals. *Phytochemistry* 62 (1). <http://www.sciencedirect.com/science>. [22 Mei 2003].
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Biokimia Tumbuhan*. Jilid 2. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Biokimia Tumbuhan*. Jilid 3. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Sitompul, S.M. dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Yogyakarta: UGM Press.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro. Bandung: Penerbit ITB.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1981. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Pusat Penelitian Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Tampubolon, O.T. 1995. *Tumbuhan Obat*. Jakarta: Penerbit Bhatara.
- Wattimena, G.A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.
- Widiastuti, Y., J.R. Hutapea, dan Suhadi. 1993. Usaha peningkatan hasil biomassa *Phyllanthus niruri* L. melalui pemberian asam giberelat. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 2 (4): 1-37.
- Wijayakusuma, H.M.H., A.S. Wirian, I. Yaputra, S. Dalimartha, dan B. Wibowo. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Pustaka Kartini.

## Pengaruh Asam Indol Asetat terhadap Pertumbuhan, Jumlah dan Diameter Sel Sekretori Rimpang Tanaman Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)

### *The influence of indol acetic acid on growth, quantity and diameter of secretory cells of turmeric rhizome (Curcuma domestica Val.)*

ARTA WIJAYATI, SOLICHAUN\*, SUGIYARTO

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

\* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: shanti\_l@mipa.uns.ac.id

Diterima: 22 Juli 2004. Disetujui: 15 Januari 2005.

---

**Abstract.** The aims the research were to study the influence of indol acetic acid (IAA) on growth, quantity and diameter of secretory cells of *Curcuma domestica* rhizome. Indol acetic acid has ability to stimulate division, enlargement and differentiation of parenchymal cell. Completely randomized design (CRD) with one factor of IAA application with concentration of 0, 100, 200, and 300 ppm subsequently in with triplicate was used in this study. The first application given when the plant was one month age, and then given once every two weeks until the plant was four months age. Parameters of growth including height, quantity and width of leaves were observed once every two weeks. The last observation was done for wet and dry weight of plant and rhizome. Anatomical parameter was done by preparing a semi-permanent preparat, and continued with observation of quantity and diameter of the secretory cells. Data were then analyzed statistically by Anova followed with DMRT in 5% confidence level. The results indicated that IAA significantly influences plant height, leave width, plant weight at 200 ppm. Higher concentration of IAA raised the quantities of secretory cells, but decrease secretory cells diameters.

**Keywords:** indol acetic acid, *Curcuma domestica*, growth, secretory cell.

---

### PENDAHULUAN

Tanaman empon-empon mempunyai nilai penting dalam menunjang perekonomian Indonesia dari sektor non migas. Simplisia dari rimpang empon-empon cukup laku dan banyak diminati terutama sebagai bahan baku obat-obatan tradisional. Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) merupakan jenis tanaman empon-empon yang paling terkenal, sering digunakan, dan paling tinggi harganya (Heyne, 1987). Nilai ekonomis kunyit terletak pada rimpangnya. Rimpang kunyit mengandung minyak atsiri sebagai senyawa hasil metabolisme sekunder yang mempunyai sifat mudah menguap pada suhu ruang dan larut dalam pelarut organik. Minyak atsiri diproduksi oleh sel sekretori yang berasal dari parenkim dasar yang mengalami diferensiasi. Sel ini mempunyai kemampuan tinggi untuk membelah dan setelah dewasa dapat bersifat meristematik lagi bila lingkungan memungkinkan misalnya ketika terjadi pelukaan (Soeradikoesoema, 1993; Hidayat, 1995; Sudarsono, 1996).

Bertambahnya sel sekretori menurut Atmono (1999) sejalan dengan kegiatan pembelahan sel. Penambahan ukuran sel sekretori sejalan dengan pertumbuhan yang meliputi proses pembentangan sel dan jaringan. Soeradikoesoema (1993) mengemukakan bahwa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan antara lain adalah faktor genetik, lingkungan dan hormon. IAA merupakan salah satu

hormon tumbuh yang berperan untuk memacu pertumbuhan sepanjang sumbu longitudinal. Hal spesifik yang terlihat berupa peningkatan pembesaran sel yang berlangsung ke segala arah secara isodiametrik. Auksin juga berperan dalam pembelahan dan pembentangan sel (Wattimena, 1991).

Kajian dengan menggunakan hormon tumbuh IAA untuk memacu pertumbuhan dan perkembangan sel sekretori pada kunyit belum dilakukan. Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Azhar (1991) pada tanaman tembakau. Perlakuan pemberian IAA akan berpengaruh terhadap fisiologi sel daun meliputi perubahan jumlah trakea, jumlah stomata, kadar air, kadar nikotin, dan tinggi tanaman. Berdasarkan uraian di atas, perlakuan IAA pada penelitian ini diharapkan mampu mempengaruhi pertumbuhan, jumlah dan diameter sel sekretori rimpang tanaman kunyit.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Nopember 2003. Tempat penelitian di rumah kaca dan Sub Lab Biologi, Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: rimpang tanaman kunyit umur 9 bulan

dipilih yang seragam, larutan IAA dengan berbagai konsentrasi, alkohol 70%, kloralhidrat, safranin 1%, akuades, cat kuku bening, pupuk kompos, tanah tipe regosol, plastik, pasir kali yang sudah dicuci bersih dan diayak.

#### Cara kerja

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan faktor tunggal IAA (I) yaitu:  $I_0$  = konsentrasi IAA 0 ppm,  $I_1$  = konsentrasi IAA 100 ppm,  $I_2$  = konsentrasi IAA 200 ppm,  $I_3$  = konsentrasi IAA 300 ppm. Masing-masing perlakuan dengan tiga ulangan.

**Persiapan media**, meliputi media pertunasan yang terdiri dari pasir kali, dan media penanaman yang terdiri dari campuran tanah: kompos dengan perbandingan 1: 1 (Pudjiasmanto, 2000).

**Persiapan bibit**, bibit dipilih yang seragam berumur 9 bulan, kemudian dipotong dan ditimbang dengan berat yang sama. Bibit ditunaskan pada media pertunasan dan disiram dua kali sehari pagi dan sore. Setelah tanaman bertunas setinggi 5 cm dipindahkan ke dalam polybag (Pudjiasmanto, 2000).

**Pemberian IAA**, dilakukan saat tanaman berumur satu bulan, dengan cara menyemprotkan larutan hormon tumbuh tersebut secara merata pada daun sebanyak 5 ml. Penyemprotan dilakukan dua minggu sekali sampai tanaman berumur 4 bulan (Azhar, 1991).

**Pemeliharaan tanaman**, dilakukan dengan cara menyiramkan air ledeng sebanyak 100 ml tiap polybag sehari satu kali. Penyirangan dan penggemburan dilakukan tiap satu minggu sekali.

**Pengamatan parameter pertumbuhan**, meliputi:

- (i) Pengamatan tinggi tanaman.
- (ii) Jumlah dan luas daun, jumlah daun dihitung secara manual, luas daun dihitung dengan metode gravimetri.
- (iii) Berat basah tanaman dan rimpang.
- (iv) Berat kering tanaman dan rimpang.

**Pembuatan dan pengamatan preparat anatomi**. Pengamatan anatomi rimpang dilakukan dengan cara membuat terlebih dahulu preparat semi permanen rimpang kunyit umur 4 bulan dengan metode dari Sass (1958). Pengamatan diameter dan jumlah sel sekretori dilakukan pada perbesaran 100 kali dengan luas bidang pandang 2,6867 mm<sup>2</sup>. Pengamatan dilakukan dengan tiga

ulangan dan masing-masing ulangan diamati dengan sepuluh bidang pandang. Langkah terakhir dilakukan pemotretan menggunakan kamera digital.

#### Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan DMRT taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Pertumbuhan tanaman

Perlakuan IAA dengan berbagai konsentrasi pada penelitian ini diberikan pada tanaman kunyit berumur satu bulan sampai saat panen muda yaitu umur 4 bulan. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

#### Tinggi tanaman

Berdasarkan Tabel 1 di atas dapat diketahui bahwa perlakuan akan memberikan pengaruh yang nyata pada konsentrasi 200 ppm. Secara keseluruhan pemberian IAA akan meningkatkan tinggi tanaman, kecuali pada konsentrasi 100 ppm. Hal ini dimungkinkan konsentrasi IAA yang diberikan tidak optimal sehingga pemberian ini justru akan menghambat pertumbuhan tanaman itu sendiri (Hopkins, 1995). Noggle dan Fritz (1983) menambahkan bahwa pemberian IAA akan meningkatkan pemanjangan sel terutama ke arah vertikal sehingga akan meningkatkan tinggi tanaman, seperti pada konsentrasi 200 dan 300 ppm.

Auksin (IAA) berperan terhadap pelonggaran dinding sel dengan melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat pada dinding sel. Ikatan hidrogen dapat dipengaruhi suhu, tetapi terutama oleh ion proton (H<sup>+</sup>). Untuk pemanjangan suatu jaringan diperlukan pH sekitar 4,0. Telah diketahui bahwa kation dan anion termasuk H<sup>+</sup> bergerak melalui membran plasma oleh suatu proses yang dikenal dengan istilah pompa ion. Peranan IAA adalah akan mengaktifkan pompa ion pada plasma membran yang akan menyebabkan tertimbunnya ion H<sup>+</sup> pada dinding sel, sehingga terjadilah pelonggaran pada dinding sel (Noggle dan Fritz, 1983; Wattimena, 1991).

Mekanisme pelonggaran dinding sel dipengaruhi oleh proses pengaktifan gen yang terlibat dalam sintesis protein. Pengontrolan sintesis protein

**Tabel 1.** Pengaruh berbagai konsentrasi IAA terhadap pertumbuhan tanaman kunyit sampai umur 4 bulan.

Konsentrasi IAA (ppm)	Rata-rata						
	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah daun	Luas daun (cm <sup>2</sup> )	Berat basah tanaman (g)	Berat kering tanaman (g)	Berat basah rimpang (g)	Berat kering rimpang (g)
0	24,957 <sup>a</sup>	3,857 <sup>a</sup>	106,40 <sup>a</sup>	5,608 <sup>a</sup>	0,659 <sup>a</sup>	4,525 <sup>a</sup>	0,489 <sup>a</sup>
100	24,100 <sup>a</sup>	3,762 <sup>a</sup>	115,43 <sup>a</sup>	6,112 <sup>a</sup>	0,697 <sup>a</sup>	2,843 <sup>a</sup>	0,289 <sup>a</sup>
200	32,619 <sup>b</sup>	3,810 <sup>a</sup>	211,10 <sup>b</sup>	15,455 <sup>b</sup>	1,671 <sup>b</sup>	4,755 <sup>a</sup>	0,960 <sup>a</sup>
300	26,119 <sup>a</sup>	3,762 <sup>a</sup>	144,12 <sup>a</sup>	10,029 <sup>ab</sup>	1,180 <sup>ab</sup>	4,011 <sup>a</sup>	0,453 <sup>a</sup>

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak menunjukkan beda nyata pada analisis DMRT taraf 5%.

sendiri diatur oleh gen pengatur, gen operator dan gen struktural. Kombinasi antara gen struktural dan gen operator disebut operon. Gen pengatur berperan dalam membentuk protein pengatur yang disebut represor. Represor ini berperan dalam menjaga gen operon dalam keadaan tertutup dan keadaan ini menandakan operon tidak aktif. Molekul induser dalam hal ini IAA apabila bergabung dengan operon yang tidak aktif akan menonaktifkan represor sehingga akan mengaktifkan operon. Operon yang aktif menandakan dapat terjadinya transkripsi mRNA yang kemudian akan mengarahkan translasi protein enzim ATP-ase. Pemberian IAA dapat meningkatkan sintesis enzim ini sehingga  $H^+$  akan dipompakan keluar. Peristiwa ini akan menyebabkan lingkungan menjadi asam. Pada kondisi asam enzim-enzim yang dapat memotong ikatan antara dinding sel akan teraktifkan, di antaranya glukonase yang akan menghidrolisis rantai utama hemiselulosa, xylosidase berperan dalam rantai cabang dari rantai utama xyloglukan, transglukosidase yang dapat memotong dan menggabungkan selulase, dan pektinase yang akan menghidrolisis rantai penyusun pektin. Proses ini menyebabkan pelonggaran dinding sel, sehingga air dapat masuk dan tekanan turgor akan naik. Tekanan turgor yang naik akan menyebabkan sel mengembang dan apabila pengembangan sel berlangsung searah misal ke arah vertikal akan menyebabkan pemanjangan sel. Hal ini dapat terlihat dari peningkatan tinggi tanaman pada penelitian ini (Taiz dan Zeiger, 1998).

Proses pembentangan dinding sel ini diakhiri dengan pembentukan dinding sel yang baru. Enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel adalah XET (*xyloglucans endotrans glikoxylase*) yang mempunyai kemampuan untuk memotong *backbone* dari xyloglukan serta penggabungan salah satu ujungnya dengan ujung bebas pertama pada reseptor xyloglukan. Enzim yang lain adalah glukosidase, pektin esterase dan berbagai oksidase (Taiz dan Zeiger, 1998).

### Jumlah dan luas daun

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa pemberian IAA tidak memberikan beda yang nyata terhadap jumlah daun yang terbentuk. Jumlah daun menurut Goldsworthy dan Fisher (1992) sangat ditentukan oleh faktor genetik. Pada percobaan ini terlihat bahwa faktor genetik berperan lebih dominan dibandingkan dengan adanya perlakuan IAA. Jumlah daun tanaman kunyit secara umum adalah 3-8 buah (Sudarsono, 1996). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan jumlah daun berkisar 3-4 buah.

Pemberian IAA justru menghambat pembentukan daun. Hal ini dapat diketahui dari jumlah rata-rata kontrol yang lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata jumlah daun dengan perlakuan. Semakin tinggi konsentrasi IAA yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah daun yang terbentuk. Calon daun pertama kali dibentuk pada daerah apeks batang, tempat pertumbuhan dan perkembangan akan

dimulai dari pembelahan, pembesaran dan diferensiasi sel. Ketiga proses ini dipengaruhi oleh keberadaan hormon tumbuh seperti IAA. Hasil percobaan sejalan dengan pendapat Noggle dan Fritz (1983) bahwa pemberian IAA eksogen berperan dalam menghambat pertumbuhan dari ibu tulang daun. Penghambatan pembentukan ibu tulang daun tersebut juga akan menghambat pembentukan dari daun itu sendiri.

Berdasarkan rerata hasil penelitian dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa luas daun tertinggi dicapai pada konsentrasi 200 ppm dan luas daun terendah pada konsentrasi 0 ppm. Hasil analisis varian yang dilanjutkan DMRT taraf 5% menunjukkan bahwa pemberian IAA pada konsentrasi 200 ppm memberikan beda yang nyata antar perlakuan lainnya. Pemberian IAA akan meningkatkan luas daun yang terbentuk. IAA berperan dalam pembentukan jaringan mesofil daun. Pemberian IAA akan memacu pembentukan jaringan ini sehingga luas daun yang terbentuk juga akan semakin bertambah (Noggle dan Fritz, 1983).

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa secara keseluruhan pemberian IAA akan meningkatkan luas daun yang terbentuk, dibandingkan dengan kontrol terlihat dari nilainya yang lebih tinggi. Luas daun mengalami peningkatan setiap pengamatan dan sampai pada titik optimum lalu mengalami penurunan pada minggu kesepuluh. Pertambahan luas daun secara pesat terjadi pada fase awal dari pertumbuhan suatu tanaman. Pertambahan luas daun ini akan berangsur-angsur naik sampai ke suatu titik lalu akan menurun perlahan-lahan. Penurunan luas daun ini disebut sebagai luas daun kritis (Gardner *et al.*, 1991).

### Berat basah dan berat kering tanaman

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa pemberian IAA berpengaruh nyata terhadap berat basah tanaman, yaitu pada konsentrasi 200 ppm menunjukkan adanya beda nyata dibandingkan dengan konsentrasi 0 dan 100 ppm, tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 300 ppm. Pemberian IAA secara keseluruhan akan meningkatkan berat basah tanaman, tetapi tidak berpengaruh terhadap berat basah dan berat basah rimpang. Hal ini dimungkinkan karena rimpang yang dipanen masih berada dalam kondisi panen muda, jadi belum mencapai hasil pertumbuhan yang optimal.

IAA berperan dalam pemanjangan sel. Pemanjangan sel ini terutama terjadi pada arah vertikal. Pemanjangan ini akan diikuti dengan pembesaran sel dan meningkatnya bobot basah. Peningkatan bobot basah terutama disebabkan oleh meningkatnya pengambilan air oleh sel tersebut (Noggle dan Fritz, 1983). Auksin (IAA) dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan berkurangnya tekanan dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1982). Plastisitas dan pengembangan dinding sel didorong

oleh pemberian auksin, karena auksin mengeluarkan  $H^+$  ke dalam dinding sel dan  $H^+$  ini menyebabkan pH dinding sel menurun, sehingga terjadi pelonggaran struktur dinding sel dan terjadilah pertumbuhan. Lakitan (1996) mengemukakan bahwa pelonggaran dinding sel yang terjadi karena pH yang rendah akan mengaktifkan enzim yang mematahkan ikatan antara polisakarida pembentuk dinding sel, kemudian sel akan tumbuh lebih cepat karena kenaikan turgor.

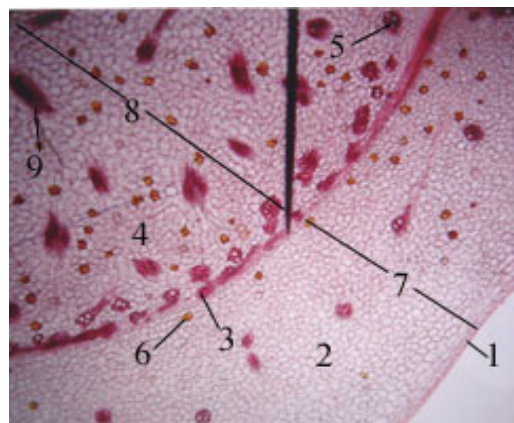
Pertumbuhan juga memerlukan pembentukan senyawa bahan baku dinding sel. Pembuatan komponen-komponen ini dan penyusunan kembali ke dalam suatu matriks yang utuh dipengaruhi oleh auksin, dengan jalan mengaktifkan enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel (Wattimena, 1991). Sel dapat mengembang dengan berbagai cara. Beberapa bahan osmotik seperti gula, dapat diangkut masuk ke vakuola. Air akan masuk ke sel dan dinding sel akan mengembang sampai suatu tekanan dinding sel tertentu yang dapat menghalangi masuknya air selanjutnya. Dinding sel yang retak oleh pengembangan sel ini diperbaiki dengan penambahan atau pembentukan bahan dinding sel yang baru (Noggle dan Fritz, 1983).

Pertumbuhan berkaitan dengan pertambahan volume dan jumlah sel, pembentukan protoplasma, pertambahan berat dan selanjutnya terjadi pertambahan berat kering. Pengerinan bertujuan untuk menghentikan metabolisme sel dari bahan tersebut (Sitompul dan Guritno, 1995). Gunawan dkk. (1992) mengemukakan bahwa berat kering yang dihasilkan dalam hal ini berat kering kalus tergantung dari kecepatan sel-sel tersebut untuk membelah diri, memperbanyak diri, yang dilanjutkan dengan pembesaran sel. Kecepatan sel membelah ini dapat dipengaruhi oleh adanya hormon tumbuh seperti auksin dan sitokinin. Hal ini diduga dengan penambahan kedua hormon tersebut dapat mempengaruhi metabolisme RNA yang berperan dalam sintesis protein melalui proses transkripsi molekul RNA. Kenaikan sintesis protein sebagai sumber tenaga dapat digunakan untuk pertumbuhan sehingga dapat meningkatkan berat kering dari tanaman.

#### Anatomi rimpang

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa struktur sel penyusun rimpang *C. domestica* dari luar ke dalam adalah epidermis, parenkim korteks, endodermis, parenkim stele, berkas pengangkut dan sel sekretori yang tersebar, serta jaringan penguat. Hasil pengamatan anatomi rimpang *C. domestica* dapat dilihat dari Gambar 1.

Pengamatan terhadap anatomi rimpang ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh IAA terhadap diferensiasi jaringan parenkim meliputi jumlah dan diameter sel sekretori yang terbentuk. Hasil penelitian disajikan dalam Tabel 2, dan gambar penampang melintang kunyit dengan berbagai perlakuan konsentrasi IAA dapat diperiksa dari Gambar 5.



**Gambar 1.** Penampang melintang rimpang *C. domestica* pada perbesaran 40 X. Keterangan: 1. epidermis, 2. parenkim korteks, 3. endodermis, 4. parenkim stele, 5. sel sekretori, 6. jaringan penguat, 7. korteks, 8. stele.

**Tabel 2.** Pengaruh IAA terhadap jumlah dan diameter sel sekretori dari penampang lintang *C. domestica* umur 4 bulan.

Konsentrasi (ppm)	Jumlah sel sekretori	Diameter sel sekretori $\mu m$
0	10 <sup>a</sup>	5,071 <sup>a</sup>
100	11,167 <sup>a</sup>	5,041 <sup>a</sup>
200	21,367 <sup>b</sup>	4,979 <sup>a</sup>
300	46,73 <sup>c</sup>	4,331 <sup>a</sup>

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak menunjukkan beda nyata pada analisis DMRT taraf 5%.

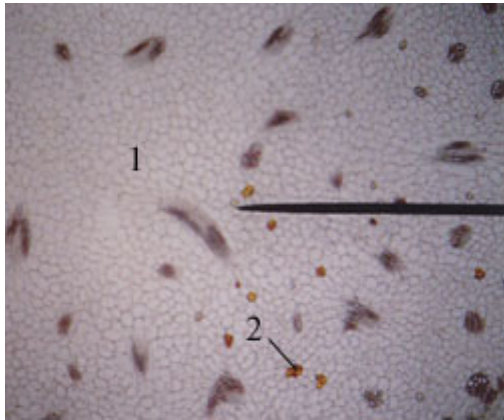
#### Jumlah sel sekretori

Sel sekretori pada penampang lintang rimpang *C. domestica* terletak menyebar baik di antara jaringan dasar dari parenkim korteks maupun dari jaringan dasar stele. Sel sekretori ini lebih besar dibandingkan dengan sel disekitarnya, ataupun memanjang sehingga lebih cocok disebut dengan kantong (Hidayat, 1995). Jumlah sel sangat bervariasi tergantung oleh faktor genetik, maupun zat tumbuh seperti IAA.

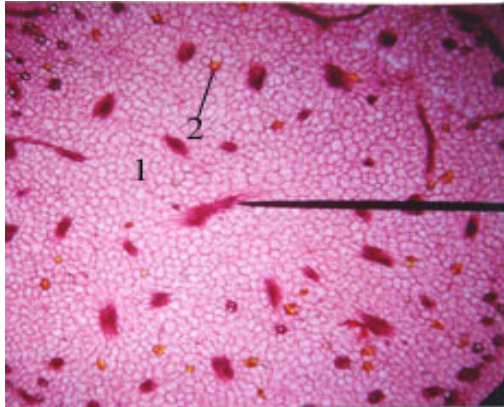
Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa jumlah sel sekretori tertinggi yang terbentuk pada konsentrasi 300 ppm, sedangkan yang terendah pada konsentrasi 0 ppm (kontrol). Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, semakin tinggi jumlah sel sekretori yang terbentuk. Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa IAA pada konsentrasi 100 ppm menunjukkan beda nyata dibandingkan dengan konsentrasi 200 dan 300 ppm, tetapi tidak menunjukkan beda nyata dibanding dengan 0 ppm. Pada konsentrasi masing-masing 200 dan 300 ppm menunjukkan adanya beda nyata bila dibandingkan dengan perlakuan lain.

#### Diameter sel sekretori

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai variasi konsentrasi terhadap diameter sel sekretori pada preparat penampang lintang *C. domestica* umur 4 bulan.



A



B



C



D

**Gambar 2.** Penampang melintang rimpang *C. domestica* dengan berbagai perlakuan konsentrasi IAA (ppm). Keterangan: A. Perlakuan IAA 0 ppm, B. Perlakuan IAA 100 ppm, C. Perlakuan IAA 200 ppm, D. Perlakuan IAA 300 ppm.

Berdasarkan rerata diameter sel sekretori yang terbentuk dapat diketahui bahwa hasil tertinggi dicapai pada konsentrasi 0 ppm, dan hasil terendah pada konsentrasi 300 ppm. Semakin tinggi konsentrasi IAA yang diberikan akan semakin kecil diameter sel sekretori yang terbentuk. Berdasarkan analisis varian (Tabel 2) dapat diketahui bahwa pemberian IAA tidak memberikan beda yang nyata antar perlakuan.

Hal ini mungkin disebabkan oleh terlalu tingginya konsentrasi IAA yang diberikan, sehingga pemberian IAA tidak lagi memacu pembentangan sel tetapi menghambat karena melampaui batas optimum (Hopkins 1995). Peristiwa ini berhubungan dengan terhambatnya pemasukan air ke dalam sel karena konsentrasi IAA yang terlalu tinggi menyebabkan pH dinding sel berubah, sehingga air tidak dapat terserap secara maksimal. Dengan terhambatnya pemasukan air ini, maka sel menjadi tidak dapat mengembang dan membesar. Hal ini kurang sesuai dengan fungsi dari IAA itu sendiri yaitu meningkatkan tekanan osmotik sel yang diatur oleh gradien potensial pada plasma membran (Cleland, 1995). Penambahan luas area dinding sel (pembesaran sel), disebabkan oleh tekanan turgor yang sangat dipengaruhi oleh kehadiran IAA.

Proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman selalu melibatkan interaksi dari berbagai jenis hormon tumbuh. Asam absisat (ABA) merupakan salah satu jenis hormon tumbuh yang bersifat antagonis (menghambat). Dalam hal ini IAA berperan untuk mendorong pembesaran sel sekretori, tetapi keberadaan hormon absisat akan menghambat proses pembesaran sel. Peristiwa ini sebenarnya dapat diatasi dengan penambahan jumlah IAA yang diberikan, sehingga pengaruh asam absisat dapat dihilangkan (Wattimena, 1991).

Perlakuan IAA memberikan pengaruh yang berbeda terhadap setiap variabel yang diamati. Hal ini membuktikan bahwa IAA tidak memberikan respon yang sama pada tempat (organ tanaman) yang berbeda. Selain itu kerja dari IAA sangat erat kaitannya dengan keberadaan hormon tumbuh lainnya baik yang sinergis maupun yang antagonis, yang terdapat dalam tubuh tanaman itu sendiri. Pertumbuhan tanaman erat kaitannya dengan pembelahan sel yang berarti peningkatan dalam jumlah sel yang dalam penelitian ini adalah jumlah dari sel sekretori. Sedangkan pembesaran sel erat kaitannya dengan ukuran sel yang dalam penelitian ini adalah diameter sel sekretori. Pertumbuhan dan peningkatan berat kering (Gardner *et al.*, 1991). Oleh karena itu jumlah dan ukuran sel sekretori berhubungan erat dengan berat kering rimpang yang dihasilkan. Pada penelitian ini berat kering rimpang tidak berbeda nyata, artinya pemberian IAA tidak memberikan peningkatan berat kering yang signifikan sehingga bisa diasumsikan tetap. Dengan berat rimpang yang tetap, maka ketika jumlah sel yang terbentuk semakin banyak akan diimbangi dengan ukuran sel yang semakin kecil.

## KESIMPULAN

IAA pada konsentrasi 200 ppm berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman kunyit terutama untuk variabel tinggi tanaman, luas daun, berat basah dan berat kering tanaman, sedangkan jumlah daun tertinggi diperoleh pada kontrol. IAA berpengaruh nyata terhadap jumlah dan diameter sel sekretori. Semakin tinggi konsentrasi IAA yang diberikan, maka semakin banyak jumlah sel sekretori yang terbentuk, tetapi akan semakin kecil diameternya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1982. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Atmono, S.D. 1999. *Penentuan Produktivitas Sekresi Daun Berdasarkan Kerapatan Kelenjar pada Daun Kayu Putih (*Melaleuca* spp.) yang Tumbuh Alami di Hutan Taman Nasional Wasur Merauke Irian Jaya*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Azhar, M. 1991. *Struktur Anatomi dan Kadar Nikotin Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L. Var. **Bligon**) karena Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Asam Indol Asetat ataupun Asam Giberelat*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Cleland, R.E. 1995. Auxin and cell elongation. In Davies, P.J. (ed) *Plant Hormones*. Boston: Kluwer Academic Publisher.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, and R.I. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta: UI Press.
- Goldsworthy, P.R. dan N.M. Fisher. 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Penerjemah: Tohari. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Gunawan, L.W., G.A. Wattimena, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, and N.M.A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: PAU Bioteknologi IPB.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid I*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hopkins, W. G. 1995. *Introduction to Plant Physiology Second Edition*. New York: John Wiley & Son, Inc.
- Lakitan, B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo.
- Noggle, G.R. and G.J. Fritz. 1983. *Introductory Plant Physiology*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.
- Pudjiasmanto, B. 2000. *Kajian Perlakuan Kasting dan Macam Rimpang Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kunyit*. Laporan Penelitian. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Sass, J.E. 1958. *Botanical Microtechnique*. 3rd edition. Ames: IOWA State University Press.
- Sitompul, S.M. dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Soerodikoesoemo, W. 1993. *Anatomi dan Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Depdikbud.
- Sudarsono. 1996. *Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian Sifat-sifat dan Penggunaan*. Yogyakarta: PPOT-UGM.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. *Plant Physiology*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Wattimena, G. A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.

## Analisis Minyak Atsiri pada Tumbuhan Paku (Pteridophyta) di Kawasan Air Terjun Pangajaran Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang

### *Volatile oils analysis of fern (Pteridophyte) around Pangajaran waterfalls, Wonosalam, Jombang*

YUYUN MARINI, SUTARNO, AHMAD DWI SETYAWAN\*

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: uns\_journals@yahoo.com.

Diterima: 11 Mei 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

**Abstract.** The aims of the research were: to know species diversity of fern (Pteridophyte) from Pangajaran, Wonosalam, Jombang, to know fern species containing volatile oil, to know concentration and percentage similarity of substances and characteristics of the substances containing in the oil, and to know the structure of cell producing volatile oil in trees and leaf of the fern. Fern diversity was studied by field survey, volatile oil concentration measured by hydro-distillation followed with gas chromatography to further know the components in the oil, while structure of the cell producing volatile oil was detected cross section of the trees and leaf for microscopic analysis. Based on the data and analysis result can be concluded that there were 13 fern species in Pangajaran. Two of the 13 species were confirmed as producing volatile oil, *Pteris beaurita* Linn. and *Cyathea contaminans*, that were produced volatile on their leaf only. Concentration of volatile oil of leaf *P. beaurita* was 0,005%, while in *C. contaminans* 0,01%. Percentage similarity of the volatile oil between two species based on its *Retention Time* (RT) was 2,5%, at the RT point of 21.247 in *P. beaurita* and at RT point of 21.294 in *C. contaminans*. Percentage similarity of both species based on morphological characters was 36.36%. Location of volatile oil producing cells in both species of fern was spreadly dispersed in schlerenchyma tissue and in mesophyll tissue of the leaf.

**Keywords:** volatile oils, fern diversity, Wonosalam, Jombang.

## PENDAHULUAN

Tumbuhan paku merupakan kelompok tumbuhan yang banyak jenisnya di Indonesia. Di muka bumi tumbuh sekitar 10.000 jenis tumbuhan paku. Dari jumlah tersebut kawasan Malaesia yang sebagian besar terdiri atas kepulauan Indonesia diperkirakan memiliki 1.300 jenis (LBN-LIPI, 1979). Kawasan air terjun Pangajaran di Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang merupakan kawasan yang secara umum dikelilingi oleh hutan alami dan tanaman budidaya. Kawasan ini merupakan daerah lembab dengan curah hujan rata-rata 1488 mm<sup>3</sup>/tahun, sehingga merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan paku, baik tumbuhan paku terestrial maupun epifit. Sebagian penduduk di sekitar kawasan air terjun tersebut memanfaatkan daun cengkeh untuk diolah sebagai minyak cengkeh yang berkhasiat obat (Pemerintah Kabupaten Jombang, 2002). Bertolak dari hal ini tidak menutup kemungkinan pemanfaatan tumbuhan paku yang banyak tumbuh di kawasan tersebut untuk dimanfaatkan oleh penduduk setempat, antara lain sebagai bahan obat-obatan. Agar kekayaan hutan yang mungkin mempunyai potensi di masa depan dapat lebih diperhitungkan dan meningkatkan potensi obat tradisional dari tumbuhan paku, maka penulis melakukan penelitian ini dengan tujuan

untuk mengetahui (i) keanekaragaman jenis tumbuhan paku (Pteridophyta) di air terjun Pangajaran, Wonosalam, Jombang, (ii) jenis tumbuhan paku yang mengandung minyak atsiri, (iii) kadar dan persentase kesamaan minyak atsiri di antara jenis tumbuhan paku tersebut, dan (iv) struktur sel penghasil minyak atsiri pada tumbuhan paku.

## BAHAN DAN METODE

### *Lokasi dan waktu penelitian*

Penelitian ini dilakukan di kawasan air terjun Pangajaran, Desa Galengdowo, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang, Propinsi Jawa Timur. Kawasan ini berada pada ketinggian 692 m dpl, dengan suhu rata-rata 18°C dan luas wilayah sekitar 500.000 m<sup>2</sup> (BPS dan Bappeda Kabupaten Jombang, 2001) Sedangkan untuk analisis GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2003.

### *Bahan dan alat*

Bahan penelitian ini adalah jenis-jenis tumbuhan paku yang diperoleh dari hasil inventarisasi di lapangan. Sedangkan bahan kimia yang digunakan

adalah: aquades, safranin 1% dalam alkohol 70%, FAA dalam alkohol 70%, alkohol 70%, 80% dan 90% serta alkohol absolut. Campuran alkohol xylo 3:1, 1:1, 1:3. Campuran parafin dengan xylo 9:1, parafin murni, gliserin, campuran gliserin, albumin dan balsem kanada.

Alat yang digunakan di lapangan antara lain: sasak, kertas koran, lup, pisau, buku, pensil, bolpen dan etiket gantung. Sedangkan alat yang digunakan di laboratorium antara lain: gelas ukur, Erlenmeyer, alat destilasi, selang air, timbangan analitik, labu ukur, labu didih, botol flakon, kompor listrik, silet, jarum preparat, pteridis, kertas hisap, pipet tetes, gelas benda, gelas penutup, kuas, lampu, spiritus, mikrotom, steleding, thermostat, dan oven.

#### Cara kerja

**Inventarisasi.** Untuk mengenal jenis-jenis tumbuhan paku, dilakukan inventarisasi dengan cara menjelajahi (survei) area, diutamakan pada tempat yang relatif ditumbuhi lebih banyak tumbuhan paku (*purposive random*) (Oosting, 1956). Identifikasi dilakukan secara langsung di lapangan untuk jenis tumbuhan paku yang sudah dikenal, sedangkan untuk jenis yang belum dikenal diidentifikasi di laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS dan Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.

**Ekstraksi minyak atsiri.** Ada tidaknya minyak atsiri pada setiap jenis tumbuhan paku hasil inventarisasi, ditentukan dengan metode distilasi air (*hydrodistillation*). Caranya sebagai berikut: Bahan dikeringkan lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sebanyak 200 g (50 g x 4) serbuk batang atau daun secara terpisah dimasukkan dalam labu penyulingan dan diisi air hingga  $\frac{3}{4}$  bagian dari labu (500 ml). Kemudian labu dipanaskan di atas kompor listrik dengan nyala diatur hingga penyulingan berlangsung secara lambat dan teratur selama kurang lebih lima jam. Volume minyak atsiri yang keluar dari buret dicatat (Guenther, 1987).

**Analisis komponen minyak atsiri.** Untuk menganalisis komponen minyak atsiri agar mendapat hasil yang cepat, akurat dan memisahkan campuran rumit digunakan metode GC-MS (kromatografi gas - spektrometri massa). Adapun kondisi kromatografi GC-MS adalah sebagai berikut: Cuplikan: minyak atsiri pada tumbuhan paku, jenis pengionan: EI (*Electron Impact*), gas pembawa: He, jenis kolom: CPSIL 5 CB dengan panjang 25 meter, suhu awal kolom: 60°C, suhu akhir kolom: 300°C, kenaikan suhu kolom: 10°C, waktu awal kolom: 5 menit, suhu detektor: 300°C, dan suhu injektor: 300°C.

**Pembuatan preparat.** Untuk mengetahui susunan anatomi batang dan daun dari jenis paku yang mengandung minyak atsiri khususnya ada tidaknya sel ekskresi yang kemungkinan sebagai penghasil minyak atsiri tersebut, maka dibuat penampang melintang dari batang dan daun. Caranya bahan difiksasi, dehidrasi, dealkoholisasi, infiltrasi parafin, penanaman dalam parafin, penyayatan (*section*), penempelan, pewarnaan, penutupan dan pelabelan (Soerodikoesoemo, 1987).

#### Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Kadar minyak atsiri tumbuhan paku dihitung dengan rumus (Guenther, 1987):

$$\frac{\text{Volume minyak atsiri (ml)} \times 100\%}{\text{Berat bahan yang diuji (g)}}$$

Hasil minyak yang diperoleh dari penyulingan dianalisis dengan CG-MS yang dilengkapi dengan kepustakaan senyawa *NIST Library*, ditabulasikan dan ditulis dalam bentuk angka untuk mengetahui persentase persamaan minyak baik berdasarkan nilai RT (*retention time*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Jenis-jenis tumbuhan paku

Dari hasil inventarisasi diperoleh 13 jenis tumbuhan paku yang tergolong dalam 5 famili. Dari berbagai jenis tumbuhan paku yang diperoleh terdapat paku epifit, paku air, dan paku tanah (terrestrial). Jenis-jenis tumbuhan paku tersebut disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Jenis-jenis tumbuhan paku di kawasan air terjun Pangajaran, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang, Jawa Timur.

Nama jenis	Famili
1. <i>Adiantum polyphyllum</i> Willd.	Polipodiaceae
2. <i>Asplenium belangeri</i>	Polipodiaceae
3. <i>Cyathea contaminans</i> (Hook) Copel*)	Cyatheaceae
4. <i>Drynaria sporsisora</i> Moora	Polipodiaceae
5. <i>Drynaria quersifolia</i> J. Sm.	Polipodiaceae
6. <i>Marsilea crenata</i> Presl.	Marsileaceae
7. <i>Neprolepis hirsutula</i> (korst) Pr.	Polipodiaceae
8. <i>Polypodium membranaceum</i> Don.	Polipodiaceae
9. <i>Pteris beaurita</i> Linn. *)	Polipodiaceae
10. <i>Pyrrosia numularifolia</i> (sw) Ching.	Polipodiaceae
11. <i>Selaginella ornata</i> Spring.	Selaginellaceae
12. <i>Thelypteris paleata</i> (copel) Holtt.	Thelyptericeae
13. <i>Thelypteris singalanensis</i> (Bak) Ching Bull.	Thelyptericeae

Keterangan: \*) mengandung minyak atsiri.

#### Kadar minyak atsiri

Hasil proses penyulingan air (hidrodestilasi) yang telah dilakukan terhadap batang dan daun dari berbagai jenis tumbuhan paku hasil inventarisasi di kawasan air terjun Pangajaran, Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang, diperoleh dua jenis tumbuhan paku yang mengandung minyak atsiri yaitu *P. beaurita* dan *C. contaminans*. Kadar minyak atsiri dari kedua jenis tumbuhan paku tersebut disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2. terlihat jelas adanya perbedaan kadar minyak atsiri yang dihasilkan oleh

**Tabel 2.** Kadar minyak atsiri batang dan daun pada *P. beaurita* dan *C. contaminans*.

Jenis tumbuhan paku	Rata-rata kadar minyak atsiri (%)		Warna minyak atsiri	
	Batang	Daun	Batang	Daun
<i>P. beaurita</i>	0	0,005	-	Keruh kekuningan
<i>C. contaminans</i>	0	0,01	-	Jernih kekuningan

**Tabel 3.** Nilai *retention time* pada *P. beaurita* dan *C. contaminans*.

	<i>P. beaurita</i>	<i>C. contaminans</i>	Nama dan rumus senyawa
1	9.576	-	Heptanal (C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O)
2	12.138	-	
3	13.240	-	Naphthalene,decahidro-,trans (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> )
4	13.474	-	
5	15.018	-	
6	15.367	-	
7	15.809	-	Beta,-Ionone (C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O)
8	16.251	-	
9	18.722	-	
10	20.193	-	Hexahydropseudoionone (C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O)
11	20.867	-	
12	20.941	-	3-Heptyne,7-iodo-2,2-dimethyl (C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> I)
13	21.094	-	
14	21.247	21.294	1H-Inden-1-one,5-2,3-dihydro-3,3-dimethyl (C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O)
15	21.484*)	-	Pentadecanoic acid (C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> )
16	21.611	-	Alpha,-Farnesene (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )
17	22.036	-	
18	-	22.603	
19	-	22.811	
20	22.963	-	1-Hexacosanol (C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> O)
21	-	23.061	Heptadecanoic acid (C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> )
22	23.170	-	Hexadecanoic acid (C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> )
23	-	23.435	
24	23.642*)	-	
25	-	24.253	
26	24.623	-	
27	-	24.703	
28	-	25.072*)	1-Iodo-2-methylundecane (C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> I)
29	-	25.303	
30	-	25.685	
31	-	25.862	Heptadecane,2,6-dimethyl (C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> )
32	-	26.634	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
33	-	27.385	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
34	-	28.101	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
35	-	28.794	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
36	-	29.486	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
37	-	30.240	
38	-	31.072	Hexatriacontane (C <sub>36</sub> H <sub>74</sub> )
39	-	32.025	
40	-	33.118	

Keterangan: \*) senyawa utama (kadar > 10%) (Data selengkapnya tidak ditunjukkan).

masing-masing tumbuhan paku. Dapat diketahui bahwa organ yang paling potensial dalam menghasilkan minyak atsiri adalah daun. Daun *P. beaurita* dengan metode penyulingan air menghasilkan kadar minyak atsiri sebesar 0,005% dengan lama waktu penyulingan 5 jam. Sedangkan

untuk batang kedua tumbuhan paku tersebut tidak terdeteksi adanya minyak. Daun *C. contaminans* dengan metode penyulingan yang sama menghasilkan kadar minyak atsiri sebesar 0,01% dengan lama waktu penyulingan 5 jam. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jumlah sel dan ukuran sel penghasil minyak atsiri, besarnya kecepatan penguapan minyak pada waktu proses penyulingan, sifat alami bahan itu sendiri yang mudah menguap, dan suhu yang tidak selalu stabil.

*Komponen penyusun minyak atsiri P. beaurita dan C. contaminans*

Jumlah atau macam komponen penyusun minyak atsiri pada daun *P. beaurita* dengan kromatografi gas adalah sebanyak 21 komponen, sedangkan pada *C. contaminans* dengan kromatografi gas adalah sebanyak 20 komponen. Berdasarkan pola kromatogram yang terbentuk terlihat adanya senyawa utama yaitu senyawa yang mempunyai kandungan persentase tinggi (> 10%). Pada *P. beaurita* senyawa utama tersebut memiliki nilai *retention time* 21.484 (36,33%) dan 23.642 (11,20%), sedangkan pada *C. contaminans* memiliki nilai *retention time* 25.072 (12,02%). Nama dan rumus kimia senyawa-senyawa yang teridentifikasi dengan kepustakaan *NIST Library* disajikan pada Tabel 3.

Daun *C. contaminans* yang memiliki jumlah komponen penyusun minyak atsiri lebih sedikit (20 komponen) dibanding dengan daun *P. beaurita* (21 komponen), namun memiliki kadar minyak atsiri lebih tinggi. Data kualitatif pada daun dari *P. beaurita* dan *C. contaminans* berdasarkan nilai RT (menit) disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan data kualitatif pada tabel tersebut diketahui bahwa secara keseluruhan terdapat 40 komponen minyak atsiri pada daun *P. beaurita* dan *C. contaminans* yang terdeteksi, dengan prosentase persamaan 2,5%, yakni hanya 1 senyawa yang sama. Komponen tersebut terdapat pada *retention time* 21.247 dan 21.294.

*Struktur anatomi batang dan daun*

Pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya sel-sel penghasil minyak atsiri yang terletak menyebar pada batang dan daun tumbuhan *P. beaurita* dan *C. contaminans*. Sel penghasil minyak atsiri pada batang *P. beaurita* dan *C. contaminans* terletak menyebar pada jaringan sklerenkim, sedangkan pada daun terletak pada jaringan mesofil. Sel-sel minyak tersebut tampak sebagai butiran-butiran

yang paling kuat menyerap zat warna, karena dalam jaringan tanaman setelah diberi pewarnaan minyak atsiri akan lebih aktif mengikat zat warna. Sekresi minyak dari kedua tumbuhan tersebut tampak di dalam sel kelenjar internal. Pada batang *P. beaurita* dan *C. contaminans* letak sel minyak atsiri menyebar pada jaringan sklerenkim, sedangkan pada daun sel tersebut terletak pada jaringan mesofil (Guenther, 1987).

Pada penelitian ini, setelah proses penyulingan ternyata kedua tumbuhan tersebut menghasilkan minyak atsiri hanya pada daunnya saja. Sedangkan untuk batang tidak terdeteksi adanya minyak atsiri. Hal ini sangat bertolak belakang dengan hasil pengamatan mikroskopis yang menunjukkan adanya sel-sel penghasil minyak atsiri pada batang dan daun *P. beaurita* dan *C. contaminans*. Tidak terdeteksinya minyak atsiri pada batang kedua tumbuhan paku tersebut kemungkinan disebabkan menguapnya minyak atsiri selama pra-perlakuan penyulingan, yaitu selama periode pengeringan bahan. Hilangnya minyak selama penyimpanan (dikeringanginkan) juga tergantung kondisi bahan serta komposisi kimia minyak dalam bahan itu sendiri (Guenther, 1987). Menurut Agusta (2000), minyak atsiri dalam suatu tumbuhan mudah mengalami perubahan walaupun sudah dipanen, karena proses pembentukan senyawa kimia minyak atsiri dalam jaringan tumbuhan berlangsung melalui reaksi enzimatik yang prosesnya juga tergantung pada proses penyimpanan. Pada pengamatan mikroskopis, tampak intensitas sel-sel penghasil minyak atsiri batang tumbuhan *P. beaurita* dalam mengikat zat warna, jauh lebih lemah dibandingkan dengan daun. Pada daun, sel-selnya kelihatan lebih jelas mengikat zat warna, hal ini disebabkan karena ukuran sel yang lebih besar.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: (i) Jenis tumbuhan paku di kawasan air terjun Pangajaran Kecamatan

Wonosalam, Kabupaten Jombang, berjumlah 13 jenis (5 famili) yaitu: *Adiantum polyphyllum* Willd., *Asplenium belangeri*, *Cyathea contaminans* (Hook) Copel., *Drynaria sporsisora* Moora., *Drynaria quersifolia* J.Sm., *Marsilea crenata* Presl., *Neprolepis hirsutula* (korst) Pr., *Polypodium membranaceum* Don. *Pteris biaurita* Linn., *Pyrrosia numularifolia* (Sw) Ching., *Selaginella ornata* Spring., *Thelypteris paleata* (Copel) Holtt., *Thelypteris singalanensis* (Bak) Ching Bull. (ii) Tumbuhan paku yang mengandung minyak atsiri sebanyak dua jenis yaitu *P. beaurita* dan *C. contaminans*. (iii) Kadar minyak atsiri pada daun *P. beaurita* adalah 0,005% sedangkan untuk batang tidak terdeteksi. Adapun kadar minyak atsiri pada daun *C. contaminans* adalah 0,01%, untuk batang juga tidak terdeteksi. Persentase persamaan komponen-komponen penyusun minyak atsiri daun antara *P. beaurita* dan *C. contaminans* adalah 2,5%. (iv) Sel penghasil minyak atsiri pada batang *P. beaurita* dan *C. contaminans* terletak menyebar pada jaringan sklerenkim, sedangkan pada daun terletak pada jaringan mesofil.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB Press.
- BPS dan Bappeda Jombang. 2001. *Kabupaten Jombang dalam Angka 2001*. Jombang: BPS dan Bappeda.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Penerjemah: Ketaren, S. Jakarta: UI Press.
- Lembaga Biologi Nasional-LIPI (LBN-LIPI). 1979. *Jenis Paku Indonesia*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Oosting, J.H. 1956. *Study of Plant Communities*, Second Edition, London: W.H. Freeman and Co.
- Pemerintah Kabupaten Jombang. 2002. *Monografi Kecamatan Wonosalam 2002*. Jombang: Pemerintah Kabupaten Jombang.
- Soeradikoesoemo, W. 1987. *Petunjuk Praktikum Mikroteknik Tumbuhan*. Yogyakarta: Laboratorium Embriologi dan Mikroteknik Tumbuhan Fakultas Biologi UGM.

## Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol

### *The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (Sechium edule Jacq. Swartz.)*

SOERYA DEWI MARLIANA\*, VENTY SURYANTI, SUYONO

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126.

\* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: soerya\_dewi@mipa.uns.ac.id.

Diterima: 3 Januari 2005. Disetujui: 15 Januari 2005.

**Abstract.** The phytochemical screenings and analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) with Thin Layer Chromatography (TLC) has been carried out. Isolation was done by Soxhlet extraction for 6 hours with petroleum ether and the residue was extracted by maceration during 24 hours with ethanol. The isolated compounds in ethanol extract were identified by phytochemical screenings method and TLC. The result showed the presence of alkaloid, saponin, cardenolin/bufadienol and flavonoid.

**Keywords:** phytochemistry, TLC, *Sechium edule* Jacq. Swartz.

### PENDAHULUAN

Famili Cucurbitaceae merupakan salah satu ragam tanaman yang banyak terdapat di Indonesia. Famili ini mencakup lebih dari 750 jenis yang terbagi dalam 100 genus. Selain itu famili Cucurbitaceae telah cukup diketahui mempunyai potensi sebagai obat pada beberapa penyakit. Menurut Duke (2003) tanaman pada famili ini mengandung beberapa senyawa seperti saponin yang berguna sebagai anti tumor pada paru-paru dan rahim, senyawa betasitosterol sebagai antioksidan dan mencegah kanker payudara serta senyawa spinasterol dan stigmasterol berguna sebagai pencegah radang tenggorokan dan obat peresa nyeri.

Salah satu spesies tanaman dalam famili Cucurbitaceae yang biasa digunakan untuk mengobati penyakit adalah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). Spesies ini merupakan satu-satunya spesies dalam genus *Sechium* (Tjitrosoepomo, 1989). Kebanyakan orang mengenal labu siam sebagai sayuran, namun sejak lama bagian daun dari tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit batu ginjal, arteriosclerosis dan tekanan darah tinggi. Sedangkan bagian buahnya biasa digunakan untuk mengurangi retensi urin (Hernando dan Leon, 1994). Namun pengetahuan tentang kandungan kimia yang sudah dipelajari pada labu siam masih sedikit sekali diantaranya adalah citrulline, asam alfa amino ureido butirrat, asam oksalat, dan asam gamma amino butirrat (Duke, 2003).

Melihat banyaknya khasiat tanaman dari labu siam tersebut diperkirakan tanaman tersebut mengandung bermacam-macam senyawa kimia

yang berguna bagi kesehatan. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan analisis komponen kimia buah labu siam dalam ekstrak etanol.

### BAHAN DAN METODE

#### Alat dan bahan

Seperangkat alat ekstraksi Soxhlet, seperangkat evaporator buhii, alat-alat gelas, oven, plat KLT, bejana KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm. Labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) petroleum eter p.a (E. merck), etanol p.a (E. merck), HCl p.a (E. merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a (E. merck), NH<sub>3</sub> p.a (E. merck), NaCl p.a (E. merck), kloroform p.a (E. merck), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat p.a (E. merck), asam asetat glasial p.a (E. merck), benzena p.a (E. merck), logam Mg (Reidel de Haen), pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, AlCl<sub>3</sub> p.a (E. merck), FeCl<sub>3</sub> (E. merck), pereaksi gelatin, aseton p.a (E. merck) dan akuades.

#### Cara kerja

##### Persiapan sampel buah labu siam

Buah labu siam dicuci, dikupas kulitnya, dibuang bijinya, dipotong tipis-tipis kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 3-4 jam. Selanjutnya labu siam kering diblender sampai berbentuk serbuk.

##### Ekstraksi sampel labu siam

Sebanyak 35 g serbuk labu siam diekstraksi Soxhlet menggunakan 350 mL petroleum eter selama 6 jam. Residunya dikeringkan untuk proses selanjutnya.

Residu kemudian dimaserasi (direndam dalam etanol selama 24 jam disertai dengan pengadukan). Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan buchner untuk memisahkan ekstrak etanol dari ampasnya. Filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan destilasi biasa.

### **Analisis skrining fitokimia**

**Uji alkaloid.** Uji Alkaloid dilakukan dengan metode Mayer, Wagner dan Dragendorff. Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselin kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 M, diaduk dan kemudian didinginkan pada temperatur ruangan. Setelah sampel dingin ditambahkan 0,5 g NaCl lalu diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian dipisahkan menjadi 4 bagian A, B, C, D. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, filtrat C ditambah pereaksi Wagner, sedangkan filtrat D digunakan untuk uji penegasan. Apabila terbentuk endapan pada penambahan pereaksi Mayer dan Wagner maka identifikasi menunjukkan adanya alkaloid. Uji penegasan dilakukan dengan menambahkan amonia 25% pada filtrat D hingga PH 8-9. Kemudian ditambahkan kloroform, dan diuapkan diatas waterbath. Selanjutnya ditambahkan HCl 2M, diaduk dan disaring. Filtratnya dibagi menjadi 3 bagian. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B diuji dengan pereaksi Mayer, sedangkan filtrat C diuji dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid.

**Uji tanin dan polifenol.** Sebanyak 3 mL sampel diekstraksi akuades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi  $FeCl_3$ , dan ke dalam filtrat C ditambah garam gelatin. Kemudian diamati perubahan yang terjadi.

**Uji saponin.** Uji Saponin dilakukan dengan metode Forth yaitu dengan cara memasukkan 2 mL sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL akuades lalu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin. Uji penegasan saponin dilakukan dengan menguapkan sampel sampai kering kemudian mencucinya dengan heksana sampai filtrat jernih. Residu yang tertinggal ditambahkan kloroform, diaduk 5 menit, kemudian ditambahkan  $Na_2SO_4$  anhidrat dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditetesi anhidrat asetat, diaduk perlahan, kemudian ditambah  $H_2SO_4$  pekat dan diaduk kembali. Terbentuknya cincin merah sampai coklat menunjukkan adanya saponin.

**Uji Kardenolin dan bufadienol.** Uji Kardenolin dan Bufadienol menggunakan 3 metode yaitu metode Keller Killiani, metode Lieberman-Burchard dan metode Kedde.

(i) Metode Keller-Killiani yaitu dengan menguapkan 2 mL sampel, dan mencucinya dengan heksana

sampai heksana jernih. Residu yang tertinggal dipanaskan diatas penangas air kemudian ditambahkan 3 mL pereaksi  $FeCl_3$  dan 1 mL  $H_2SO_4$  pekat. Jika terlihat cincin merah bata menjadi biru atau ungu maka identifikasi menunjukkan adanya kardenolin dan bufadienol.

(ii) Metode Lieberman-Burchard yaitu dengan cara menguapkan sampel sampai kering. Kemudian ditambahkan kedalamnya 10 mL heksana, diaduk selama beberapa menit lalu biarkan. Selanjutnya diuapkan diatas penangas air dan ditambahkan 0,1 g  $Na_2SO_4$  anhidrat lalu diaduk. Larutan disaring sehingga diperoleh filtrat. Kemudian filtrat dipisahkan menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A sebagai blangko dan filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi asam asetat glasial dan  $H_2SO_4$ , senyawa kardenolin dan bufadienol akan menunjukkan warna merah sampai ungu.

(iii) Metode Kedde yaitu dengan cara menguapkan sampel sampai kering kemudian menambahkan 2 mL kloroform, lalu dikocok dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A sebagai blangko, dan filtrat B ditambah 4 tetes reagen Kedde. Senyawa kardenolin dan bufadienol akan menunjukkan warna ungu

**Uji flavonoid.** Sebanyak 3 mL sampel diuapkan, dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 mL etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 4 bagian A, B, dan C. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 0,5 mL HCl pekat kemudian dipanaskan pada penangas air, jika terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu menunjukkan hasil yang positif (metode Bate Smith-Metchalf). Filtrat C ditambahkan 0,5 mL HCl dan logam Mg kemudian diamati perubahan warna yang terjadi (metode Wilstater). Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida. Filtrat D digunakan untuk uji KLT.

**Uji antrakuinon.** Uji antrakuinon dilakukan dengan uji Brontrager dan uji Brontrager termodifikasi. Uji Brontrager dilakukan dengan cara melarutkan 2 mL sampel dengan 10 mL akuades kemudian disaring, filtrat diekstrak dengan 5 mL benzena. Hasil ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A digunakan sebagai blangko dan filtrat B ditambahkan 5 mL ammonia kemudian dikocok, bila terdapat warna merah berarti hasil positif.

Uji Brontrager termodifikasi dilakukan dengan melarutkan 2 mL sampel dengan 10 mL 0,5 N KOH dan 1 mL larutan hidrogen peroksida. Kemudian dipanaskan pada waterbath selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Pada filtratnya ditambahkan asam asetat bertetes-tetes sampai pada kertas lakmus menunjukkan asam. Selanjutnya diekstrak dengan 5 mL benzena. Hasil ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Larutan A digunakan sebagai blangko, sedangkan larutan B dibuat basa dengan 2-5 mL larutan amonia. Perubahan warna pada lapisan basa diamati. Warna merah atau merah muda menunjukkan adanya antrakuinon.

### Analisis kromatografi lapis tipis (KLT)

**Uji alkaloid.** Filtrat D pada skrining fitokimia ditambah amonia 25% hingga PH 8-9. Kemudian ditambahkan kloroform, dan dipekatkan diatas waterbath. Fase kloroform ditotolkan pada plat silika gel G<sub>60</sub>. Elusi dilakukan dengan metanol : NH<sub>4</sub>OH pekat = 200 : 3. Plat dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff, dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm.

**Uji saponin.** Sampel ditambah dengan HCl 2M, diaduk, direfluks 6 jam diatas waterbath, kemudian didinginkan. Setelah itu dinetralkan dengan amonia, diuapkan diatas waterbath, ditambah n-heksana kemudian disaring. Filtratnya kemudian diuapkan diatas waterbath, ditambah 5 tetes kloroform, dan ditotolkan pada plat silika gel G<sub>60</sub>. Elusi dilakukan dengan kloroform : aseton = 4 : 1. Plat dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian plat disemprot dengan SbCl<sub>3</sub> dioven pada suhu 110°C selama 10 menit, dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm.

**Uji kardenolin/bufadienol.** Sampel ditotolkan pada plat silika gel G<sub>60</sub>. Dielusi menggunakan CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 1:1. Plat dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya disemprot dengan pereaksi kedde, dikeringkan di udara, dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Noda biru sampai ungu mengindikasikan adanya lakton tak jenuh.

**Uji flavonoid.** Filtrat C pada skrining fitokimia ditotolkan pada plat silika gel G<sub>60</sub>. Dielusi dengan butanol : asam asetat : air = 3:1:1, kemudian dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya plat disemprot dengan amonia, dikeringkan dan diamati kembali pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi sampel labu siam

Hasil ekstraksi Soxhlet 35 gram serbuk labu siam dengan 350 ml petroleum eter diperoleh ekstrak encer berwarna hijau muda. Ekstraksi ini dilakukan untuk mengambil komponen non polar dari sampel buah labu siam. Residu dari ekstraksi Soxhlet kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol selama

**Tabel1.** Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol labu siam.

Kandungan kimia	Metode pengujian	Hasil	Ket.
Alkaloid	Pendahuluan		
	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Endapan coklat muda	+
	Dragendorff	Endapan coklat muda	+
	Penegasan		
	Fraksi CHCl <sub>3</sub>		
	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Endapan kuning	+
	Dragendorff	Endapan kuning	+
	Fraksi air		
Mayer	Endapan putih	+	
Wagner	Endapan putih kekuningan	+	
Dragendorff	Endapan putih kekuningan	+	
Tanin & Polifenol	+ FeCl <sub>3</sub>	Tidak ada perubahan	-
	+ Gelatin	Tidak ada perubahan	-
Saponin	Pendahuluan		
	-Uji Forth	Membentuk buih	+
	Penegasan		
	-Uji Lieberman Burchard	Cincin warna hijau	+
Kardenolin/ Bufadienol	Uji Lieberman Burchard	Cincin hijau	+
	Uji Keller Killiani	Merah	+
	Uji Kedde	Merah jambu muda	+
Flavonoid	Uji Bate Smith & Mertcalf	Orange	+
	Uji Wilstater sianidin	Merah	+
Antraquinon	Uji Borntreger	Tidak ada perubahan	-
	Uji Brontrager termodifikasi	Tidak ada perubahan	-

Keterangan: (+) = ada, (-) = tidak ada

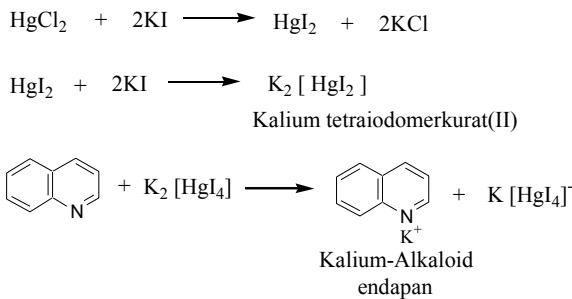
24 jam dan disertai pengadukan. Hasil ekstrak etanol diperoleh cairan berwarna kuning. Ekstrak etanol ini selanjutnya digunakan untuk analisis berikutnya.

### Analisis skrining fitokimia

Komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol labu siam dianalisis golongan senyawanya dengan tes uji warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, kardenolin dan bufadienol, flavonoid, dan antrakuinon. Pereaksi-pereaksi spesifik yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip 'like dissolve like'. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol disajikan pada Tabel 1.

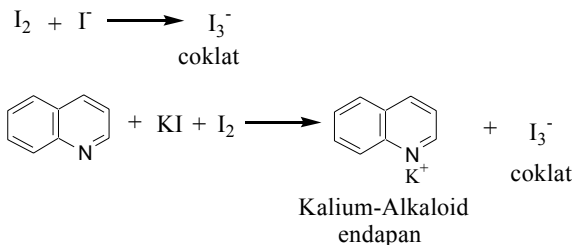
Terbentuknya endapan pada uji Mayer, Wagner dan Dragendorff berarti dalam ekstrak etanol labu siam terdapat alkaloid. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1996). Perlakuan ekstrak dengan NaCl sebelum penambahan pereaksi dilakukan untuk menghilangkan protein. Adanya protein yang mengendap pada penambahan pereaksi yang mengandung logam berat (pereaksi Mayer) dapat memberikan reaksi positif palsu pada beberapa senyawa (Santos *et al.*, 1998).

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K<sup>+</sup> dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 1.



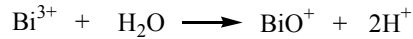
**Gambar 1.** Perkiraan reaksi uji Mayer

Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodine bereaksi dengan ion I<sup>-</sup> dari kalium iodida menghasilkan ion I<sub>3</sub><sup>-</sup> yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K<sup>+</sup> akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Wagner ditunjukkan pada Gambar 2.



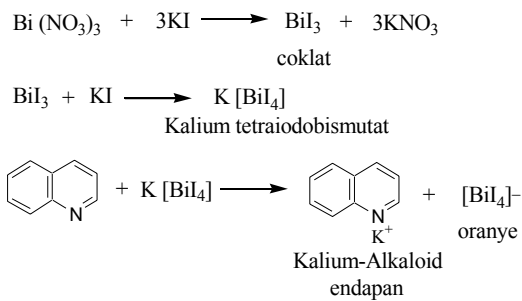
**Gambar 2.** Perkiraan reaksi uji Wagner.

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutit (BiO<sup>+</sup>), yang reaksinya ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Reaksi hidrolisis bismut

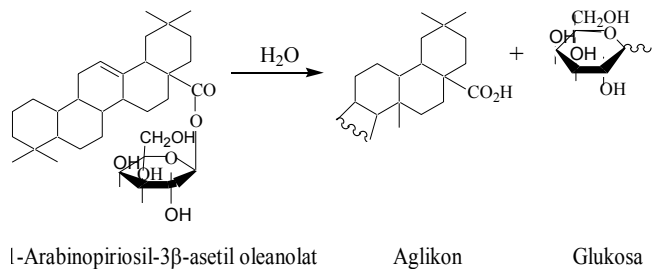
Agar ion Bi<sup>3+</sup> tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi<sup>3+</sup> dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K<sup>+</sup> yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4 (Miroslav, 1971). Untuk menegaskan hasil positif alkaloid yang didapatkan, dilakukan uji Mayer, Wagner dan Dragendorff pada fraksi CHCl<sub>3</sub> dan fraksi air dari sampel.



**Gambar 4.** Reaksi uji Dragendorff

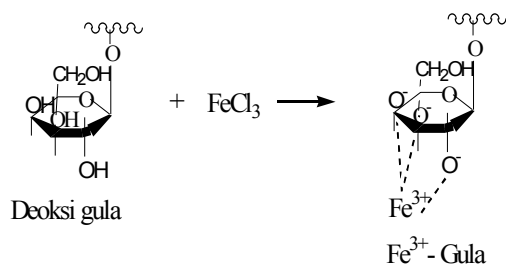
Pada uji tanin diperoleh hasil negatif, adanya tanin akan mengendapkan protein pada gelatin. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1996). Reaksi ini lebih sensitif dengan penambahan NaCl untuk mempertinggi penggaraman dari tanin-gelatin.

Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Rusdi, 1990). Reaksi pembentukan busa pada uji saponin ditunjukkan pada Gambar 5. Selain uji Forth juga dilakukan uji Lieberman-Burchard yang merupakan uji karakteristik untuk sterol tidak jenuh dan triterpen (Santos *et al.*, 1978).



**Gambar 5.** Reaksi hidrolisis saponin dalam air.

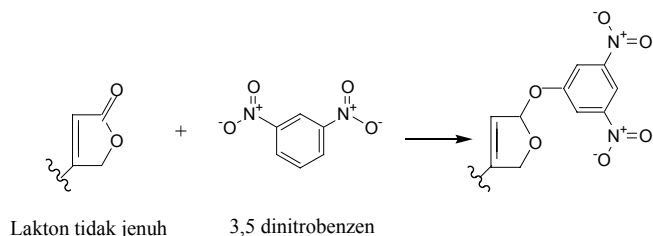
Hasil positif pada uji Keller Killiani menunjukkan adanya deoksi gula untuk glikosida (Santos *et al.*, 1978). Warna merah yang terbentuk kemungkinan disebabkan terbentuknya kompleks. Atom oksigen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada gugus gula bisa mendonorkan elektronnya pada  $Fe^{3+}$  membentuk kompleks. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Keller Killiani ditunjukkan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Perkiraan reaksi uji Keller Killiani.

Adanya kardenolin/bufadienol dapat dilakukan juga uji Lieberman-Burchard yang merupakan uji karakteristik untuk sterol tidak jenuh dan triterpen (Santos *et al.*, 1978). Hasil positif pada uji Lieberman-Burchard ditandai dengan terbentuknya cincin hijau yang berasal dari reaksi antara sterol tidak jenuh atau triterpen dengan asam ( $CH_3COOH$  dan  $H_2SO_4$ ).

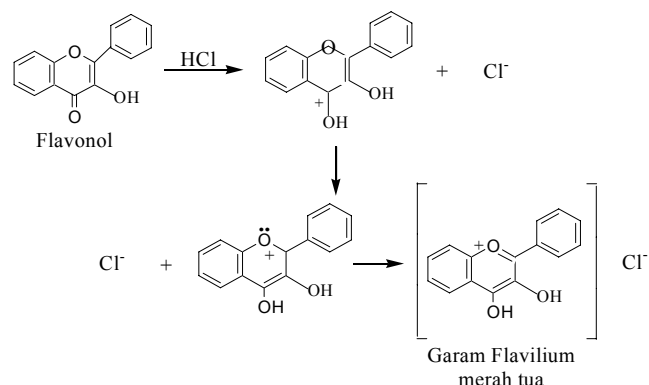
Uji Kedde dilakukan untuk menunjukkan adanya lakton tidak jenuh (Santos, 1978). Hasil positif pada uji Kedde diperkirakan karena terjadi reaksi antara lakton tidak jenuh pada kardenolin/bufadienol dengan 3,5 dinitrobenzen (pereaksi Kedde). Karbonil ( $C=O$ ) pada lakton tidak jenuh memiliki ikatan  $\pi$  yang mudah putus dan membentuk ikatan baru dengan senyawa 3,5 dinitrobenzen. Karena gugus nitro pada senyawa 3,5 dinitrobenzen merupakan gugus pengarah meta maka diperkirakan ikatan yang terjadi adalah antara atom oksigen pada gugus karbonil dengan atom karbon posisi meta pada 3,5 dinitrobenzen. Perkiraan senyawa yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 7. Hasil positif dengan semua pereaksi tersebut baru menunjukkan adanya gula jantung (kardenolin dan bufadienol).



**Gambar 7.** Perkiraan mekanisme reaksi pada uji Kedde

Uji Wilstater cyanidin biasa digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti  $\alpha$ -benzopyron. Warna orange yang terbentuk pada uji Bate Smith-Mertcalff dan warna merah pada uji

Wilstater disebabkan karena terbentuknya garam flavilium (Achmad, 1986) seperti pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium (Achmad, 1986).

Uji Brontrager bisa mendeteksi antrakuinon namun uji ini akan menunjukkan negatif untuk glikosida antrakuinon yang sangat stabil atau turunan tereduksi dari tipe antranol. Karena itu uji Brontrager dimodifikasi dengan sebelumnya menghidrolisis dan mengoksidasi senyawa ini. Antrakuinon akan memberikan karakteristik warna merah, violet, hijau atau ungu dengan basa. Tidak terjadinya perubahan warna pada uji Brontrager dan uji Brontrager termodifikasi menunjukkan tidak adanya antrakuinon pada ekstrak etanol labu siam.

Skrining fitokimia tidak dikerjakan untuk terpenoid karena tidak ada pereaksi yang spesifik untuk terpenoid. Uji Lieberman-Burchard yang biasa dikerjakan untuk terpenoid hanya mendeteksi gugus steroid, padahal selain terdapat pada terpenoid, gugus ini juga terdapat pada saponin, kardenolin dan bufadienol. Hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam sampel ekstrak etanol labu siam mengandung alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, kardenolin/bufadienol, dan flavonoid, namun tidak mengandung antrakuinon.

#### Analisis kromatografi lapis tipis (KLT)

Prosedur uji dengan KLT dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Karena berfungsi sebagai penegasan, maka uji KLT hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia (alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid). Uji KLT pada tanin dan polifenol tidak dilakukan karena tidak ditemukan prosedur yang tepat. Hasil uji KLT ditunjukkan pada Tabel 2.

Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk alkaloid adalah etil asetat : metanol : air (100:16,5:13,5). Setelah plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff akan menunjukkan bercak coklat jingga berlatar belakang kuning (Harborne, 1996). Timbulnya noda dengan Rf 0,9 berwarna kuning muda pada pengamatan dengan sinar tampak, berwarna kuning pada UV 254 nm dan

**Tabel 2.** Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etanol labu siam.

Kandungan kimia	Rf	Sinar tampak		UV 254		UV 366		Ket.
		Tanpa pereaksi	Tambah pereaksi	Tanpa pereaksi	Tambah pereaksi	Tanpa pereaksi	Tambah pereaksi	
Alkaloid	0,9	Kuning muda	Merah	Kuning	Kuning	Hijau muda	Hijau kekuningan	+
Saponin	0,84	-	Merah jambu	-	-	Kuning	Kuning	+
	0,79	-	Merah jambu	-	-	Kuning	Kuning	+
Kardenolin/ Bufadienol	0,41	Hijau muda	Kuning merah	-	-	Merah	Merah biru	+
Flavonoid	0,92	-	Kuning muda	-	-	Biru	Biru	+
	0,54	-	Kuning muda	-	-	Biru	Biru	+

berwarna hijau muda pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan alkaloid pada ekstrak etanol labu siam.

Salah satu pelarut pengembang yang biasa digunakan untuk uji KLT saponin adalah heksana: aseton (4:1). Setelah penyemprotan dengan  $SbCl_3$  dalam asam asetat, saponin terdeteksi sebagai noda berwarna merah jambu sampai ungu (Santos et al, 1978). Timbulnya noda dengan Rf 0,84 dan 0,79 yang berwarna merah jambu pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna kuning pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak etanol labu siam.

Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk kardenolin/bufadienol adalah  $CHCl_3$  : metanol (1:1). Setelah penyemprotan dengan pereaksi Kedde, noda biru violet mengindikasikan adanya lakton tidak jenuh yang terdapat pada kardenolin/bufadienol (Harborne, 1996). Timbulnya noda dengan Rf 0,41 yang berwarna kuning kemerahan pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan kardenolin/bufadienol pada ekstrak etanol labu siam.

Pelarut pengembang yang digunakan pada uji KLT flavonoid adalah butanol : asam asetat : air (3:1:1). Setelah disemprot dengan amonia, timbul noda dengan Rf 0,92 dan 0,54 yang berwarna kuning muda setelah disemprot dengan amonia pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak etanol labu siam. Hasil uji KLT menegaskan bahwa dalam sampel ekstrak etanol labu siam mengandung alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid.

## KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) mengandung alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid. Hasil analisis KLT ekstrak buah labu siam mengandung alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karnunika.
- Duke, J.A. 2003. *Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. Agricultural Research Service. [Online Database] National Germplasm Resources Laboratory. Beltsville, Maryland. (<http://www.ars-grin.gov/duke>)
- Harborne, J., 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hernando, J.E. and J. Leon. 1992. *Plant Production and Protection Series. No. 26*. Rome: FAO. Italy.
- McMurry, J. and R.C. Fay. 2004. *McMurry Fay Chemistry*. 4th edition. Belmont, CA.: Pearson Education International.
- Miroslav, V. 1971. *Detection and Identification of Organic Compound*. New York: Planum Publishing Corporation and SNTC Publishers of Technical Literatur.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Santos, A.F., B.Q. Guevera, A.M. Mascardo, and C.Q. Estrada. 1978. *Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants*. Manila: Research Center University of Santo Thomas.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka.
- Tjitrosoepomo, G. 1989. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

## Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

### Isolation and identification of flavonoid compounds from *Curcuma's* rhizome (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

KHOIRINA DWI NUGRAHANINGTYAS\*, SABIRIN MATSJEH, TUTIK DWI WAHYUNI

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

\* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: khoirinadwi@yahoo.com

Diterima: 5 Januari 2005. Disetujui: 15 Januari 2005.

**Abstract.** This research was aimed to isolate and identify the flavonoid compounds from curcuma' rhizome (*Curcuma aeruginosa* Roxb: Zingiberaceae). The extraction was carried out by Soxhlet method using petroleum eter, chloroform, n-butanol and methanol as the solvent agent. Those extract then qualitatively tested to identify the presence of flavonoid. Flavonoid then isolated from the extract of petroleum eter by column chromatography. The fraction resulted from chromatographic was analyzed by thin layer chromatography (TLC) method. Flavonoid identification was tested by color test, spectrophotometer UV-Vis, IR and GC-MS. The color test result showed that extract of petroleum eter, chloroform and n-butanol contain flavonoid. The analyzed single fraction from column chromatography showed that f2 contains isoflavone with 2 methoxy and 1 ethyl substitutes, f4 contains isoflavone with 2 methoxy substitutes, then f9 contains isoflavone with 1 hydroxy and 2 methoxy substitutes.

**Keywords:** isolation, identification, flavonoid, rizhome, *Curcuma aeruginosa* Roxb.

### PENDAHULUAN

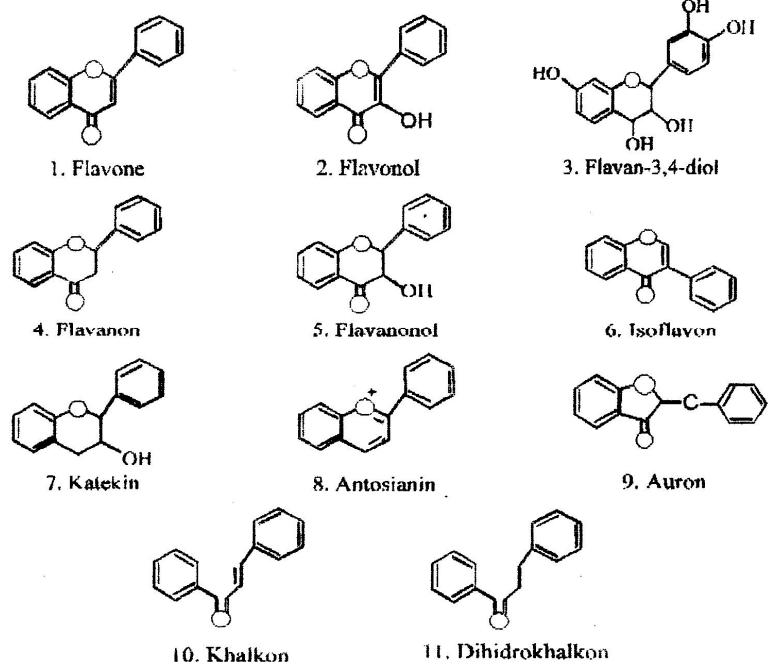
Akhir-akhir ini obat tradisional mulai digemari dan dicari masyarakat modern (kota). Hal ini karena obat tradisional tak ada (sangat kurang) efek sampingnya dibandingkan obat-obatan dari bahan kimia murni, relatif mudah diperoleh dan dapat diramu sendiri. Salah satu kelemahan obat-obatan tradisional adalah belum banyaknya informasi mengenai kandungan kimia dan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas biologisnya. Depkes RI (1981) mendefinisikan bahwa obat tradisional bahan-bahan obat yang berasal dari alam baik dari tumbuhan, hewan, maupun bahan-bahan mineral.

Tanaman temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dari famili Zingiberaceae merupakan salah satu dari sekian banyak tanaman obat tradisional yang ada di Indonesia. Tumbuhan ini menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol, disamping minyak atsiri.

Ikan (1969) menggolongkan flavonoid menjadi 11 kelas seperti ditunjukkan Gambar 1. Semua kelas ini mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.

Perbedaan tingkat oksidasi -C<sub>3</sub>- penghubung inilah yang menjadi menjadi dasar penggolongan jenis flavonoid.

Modifikasi flavonoid lebih lanjut mungkin terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan penambahan (atau pengurangan) hidroksilasi, metilasi gugus hidroksi inti flavonoid, isoprenilasi gugus hidroksi atau inti flavonoid, metililasi gugus



Gambar 1. Kelas Falvonoid berdasarkan oksidasi rantai C<sub>3</sub> (Ikan, 1969).

orto-hidroksi, dimerisasi (pembentukan) biflavonoid, pembentukan bisulfat, dan terpenting glikosilasi gugus hidroksi (pembentukan flavonoid O-glikosida) atau inti flavonoid (pembentukan flavonoid C-glikosida)(Markham, 1988).

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti pada: akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah. Sedangkan pada hewan hanya dijumpai pada kelenjar bau berang-berang, "sekresi lebah" (propolis) dan dalam sayap kupu-kupu (Harborne, 1987). Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak, antara lain sebagai reduktor. Beberapa flavonoid dalam makanan mempunyai efek antihipertensi. Isoflavan tertentu merangsang pembentukan estrogen pada mamalia (Robinson, 1995). Isoflavon juga dapat berfungsi sebagai antifungal dan insektisidal (Geissman, 1962)

## BAHAN DAN METODE

### *Bahan dan alat*

Bahan penelitian yang digunakan adalah rimpang temu ireng yang berasal dari Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Sedangkan pelarut yang digunakan adalah petroleum eter p.a (E Merck), kloroform p. a (BDH), n-butanol, p.a. (E Merck), dan metanol p.a (E Merck). Untuk uji warna digunakan ammonium hidroksida (*Baker analyzed reagent*), vanilin, HCl (E Merck), AlCl<sub>3</sub> (E Merck), FeCl<sub>3</sub>(E Merck), dan Shinoda test. Selain itu digunakan bahan lain yaitu: plat TLC SG 60 F<sub>254</sub>(E Merck), Silika Gel Kieselgel 60, 43-60 µm (230-400 mesh ASTM: E Merck).

Alat yang digunakan untuk penelitian ini berupa seperangkat alat ekstraksi Soxhlet, pemanas mantel, evaporator Buchii, kolom kromatografi, lampu UV (Camac UV-cabinet II), bejana pengembang, spektrofotometer UV-Vis (UV, Milton Roy-Spectronic-300-Array), spektrofotometer infra merah (IR, Shimadzu FTIR-8201 PC) dan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS, Shimadzu QP-5000).

### *Isolasi flavonoid*

Rimpang temu ireng sebanyak 1 g dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambah etanol 25 mL, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan dilanjutkan dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh diuapkan, sampai volume pelarut tinggal setengahnya. Adanya flavonoid diuji dengan Shinoda Tes.

Tahap selanjutnya adalah mengangin-anginkan rimpang temu ireng pada suhu kamar sampai kering. Rimpang kering dihaluskan, kemudian dimasukkan ke dalam alat ekstraktor Soxhlet. Ekstraksi dilakukan secara berturut-turut menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform, n-butanol dan metanol masing-masing selama 8 jam.

Hasil ekstraksi berupa ekstrak petroleum eter, kloroform, n-butanol dan metanol masing-masing dilakukan uji warna untuk flavonoid. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid kemudian ditentukan

eluen yang sesuai untuk langkah selanjutnya yaitu kromatografi kolom.

Penentuan eluen pada ekstrak petroleum eter (PE) dilakukan dengan menggunakan eluen PE-kloroform pada berbagai perbandingan volume. Untuk ekstrak kloroform, eluen yang digunakan adalah kloroform-etil asetat pada berbagai perbandingan volume. Sedangkan pada ekstrak n-butanol digunakan eluen etil asetat-metanol pada berbagai perbandingan volume. Ekstrak metanol tidak dicari eluen yang sesuai.

Persiapan pertama kromatografi kolom adalah memanaskan silika gel pada suhu 160<sup>o</sup>C selama 3 jam kemudian didinginkan. Setelah dingin, silika dibuat bubuk dan dimasukkan dalam kolom, lalu dibiarkan semalam.

Ekstrak pekat dilarutkan dalam eluen yang kurang polar dan dimasukkan kolom menggunakan pipet. Sampel dibiarkan turun sampai permukaannya hampir "terbuka", kemudian ditambah eluen pelan-pelan sampai mendapat eluen yang tidak berwarna pada permukaan penyerap. Langkah selanjutnya ditambah eluen, dengan laju elusi 20 tetes/menit. Setiap 2 mL eluat, ditampung dalam botol sampel.

Untuk pembagian fraksi, masing-masing botol dianalisis secara fisika menggunakan sinar UV-VIS pada λ = 254 nm dan λ = 366 nm dan TLC, serta secara kimia menggunakan uji warna. Fraksi tunggal yang mempunyai harga Rf sama dan uji fisika serta kimia sama dikumpulkan, dan pelarutnya diuapkan. Selanjutnya dilakukan identifikasi struktur untuk menggunakan spektrofotometer UV-VIS, IR dan GC-MS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Isolasi flavonoid*

Persiapan awal ekstraksi adalah mengangin-anginkan rimpang temu ireng yang bertujuan untuk mengurangi kadar air. Penghancuran rimpang temu ireng berguna untuk memperbesar luas permukaan rimpang temu ireng, sehingga interaksi pelarut dengan senyawa yang akan diambil dapat lebih efektif. Hasil penjarangan flavonoid untuk masing-masing ekstrak yaitu ekstrak petroleum eter (PE), kloroform, n-butanol dan metanol disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil penjarangan flavonoid masing-masing ekstrak rimpang temu ireng.

Pereaksi	Ekstrak petroleum eter	Ekstrak kloroform	Ekstrak n-butanol	Ekstrak metanol
Vanilin-HCl	mj/+	mj/+	km/+	-
Mg/HCl	m/+	-	-	-
FeCl <sub>3</sub> 5%	Ha/+	ha/+	ch-ha/+	-
AlCl <sub>3</sub> 5%	kf/+	kf/+	oc	-

Keterangan: mj: merah jambu, ha: hitam/abu-abu, m: merah, ch: coklat kehijauan, kf: kuning flurosense, oc: orange-coklat, km: kemerahan, +: positif uji flavonoid.

Dari hasil uji warna terlihat bahwa ekstrak yang mengandung flavonoid adalah ekstrak PE, kloroform, dan n-butanol. Ekstrak metanol tidak positif terhadap uji warna untuk flavonoid, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol tidak mengandung flavonoid. Pemisahan flavonoid dari campuran dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Sebelum masuk ke kromatografi kolom perlu dilakukan penentuan eluen yang sesuai, yaitu yang dapat memisahkan setiap komponen dengan baik. Penentuan eluen ini dilakukan dengan TLC untuk ekstrak PE, kloroform, dan n-butanol. Eluen yang memberikan hasil pemisahan terbaik, ditentukan harga Rf-nya dan dianalisis dengan sinar UV-VIS pada  $\lambda = 254$  nm dan  $\lambda = 366$  nm seperti ditunjukkan pada Tabel 2, 3 dan 4.

**Tabel 2.** Hasil TLC ekstrak petroleum eter dengan eluen PE-Kloroform (1:9).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	95	hitam	-
2	79	-	biru muda
3	7	hitam	-
4	55	hitam	-
5	45	hitam	-
6	28	hitam	-
7	21	hitam	-
8	15	hitam	-
9	9	hitam	kuning
10	1	hitam	kuning

**Tabel 3.** Hasil TLC ekstrak kloroform dengan eluen kloroform-etil asetat(1:2).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	95	hitam	-
2	83	hitam	-
3	68	hitam	-
4	60	hitam	-
5	44	hitam	-
6	31	hitam	-
7	21	hitam	-
8	13	hitam	-
9	4	hitam	-
10	0	hitam	-

**Tabel 4.** Hasil TLC ekstrak n-butanol dengan eluen etil asetat-metanol (1:1).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	93	hitam	-
2	53	hitam	-
3	40	hitam	-
4	0	hitam	-

Untuk langkah selanjutnya, yaitu kromatografi kolom, digunakan ekstrak PE sebagai sampel yang akan dipisahkan komponen-komponennya. Hal ini dengan pertimbangan bahwa ekstrak PE memberikan hasil uji warna positif terhadap adanya flavonoid

yang paling banyak dibandingkan ekstrak kloroform dan ekstrak n-butanol. Larutan pengelusi yang akan digunakan adalah campuran pelarut PE-kloroform (1:9; v/v).

Hasil dari kromatografi kolom dibedakan berdasarkan harga Rf. Botol yang berisi fraksi tunggal dengan Rf sama dikelompokkan menjadi satu, sehingga diperoleh 9 fraksi tunggal (Tabel 5). Setelah itu dilakukan identifikasi menggunakan uji warna dan dilihat kenampakannya dibawah sinar UV-VIS pada  $\lambda = 254$  nm dan  $\lambda = 366$  nm .

**Tabel 5.** Hasil uji warna eluen dari kromatografi kolom.

Fraksi	No. botol	Rf	UV 366 nm	Pereaksi					
				FeCl <sub>3</sub>	V-HCl	AlCl <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub> (UV)	Mg-HCl	
1	1-4	0,95	-	ha	mj	-	kf	-	mm
2	5,6	0,79	bm	ha	-	-	kf	-	mj
3	7	0,7	-	ha	mj	-	kf	-	m
4	8,	0,55	-	ha	mj	-	kf	-	c
5	10,11	0,45	-	ha	mj	-	kf	-	c
6	15-17	0,28	-	ha	mj	-	-	-	-
7	27	0,21	-	-	mj	-	-	-	-
8	18-26	0,09	-	ha	mj	-	kf	-	kc
9	28-34								
	35-40	0,01	k	ha	mj	-	kf	-	c

keterangan: bm: biru muda, ha: hitam/abu-abu, -: tidak berwarna, mm: merah muda, kf: kuning fluoresense, m: merah, mj: merah jambu, kc: kuning kecoklatan, c: coklat, Mg/HCl: Mg dalam HCl, V-HCl: Vanilin dalam HCl.

Flavonoid adalah turunan senyawa fenolat, sehingga untuk identifikasi awal dapat digunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Pereaksi FeCl<sub>3</sub>, bereaksi dengan ion fenolat. membentuk ion kompleks [Fe(Oar)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>. Test fenolat memberikan hasil positif jika setelah beberapa saat terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat (Harborne, 1987). Pereaksi lain untuk identifikasi fenol adalah larutan vanilin-HCl. Test positif memberikan warna merah jambu biru, merah bata atau merah beberapa saat setelah penambahan pereaksi (Harborne *et al.*, 1975).

Analisis dengan uji warna menunjukkan bahwa f7 bukan flavonoid, karena tidak bereaksi positif terhadap pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Pereaksi ini spesifik untuk senyawa yang merupakan turunan dari fenol, dan flavonoid yang merupakan turunan dari fenol seharusnya memberikan uji positif. Fraksi f7 memberi test positif terhadap pereaksi vanilin-HCl, yang berarti bahwa f7 merupakan senyawa fenol sederhana atau turunannya. Adapun kedelapan fraksi yang lain memberikan hasil positif turunan fenol.

Harborne *et al.* (1975) menyatakan bahwa pelarut PE bersifat kurang polar, sehingga hanya dapat melarutkan flavonoid yang bersifat kurang polar. Dilain pihak hasil uji ammonia terhadap kedelapan fraksi yang diduga flavonoid bereaksi negatif. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa jenis flavonoid yang bersifat kurang polar yang mungkin terdapat pada kedelapan fraksi adalah leucoantosianidin (flavan-3,4-diol), flavanon, isoflavon atau katekin (Geissman, 1962)

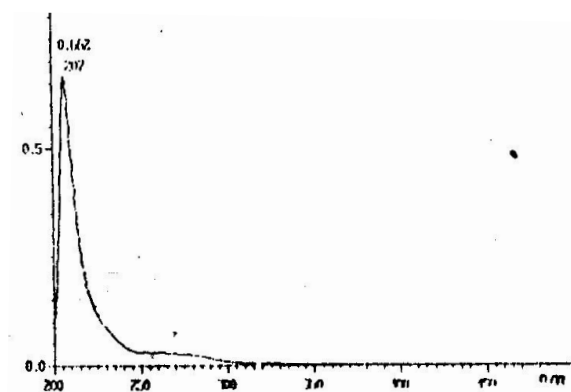
Uji warna menggunakan Mg/HCl untuk fraksi f1, f2 dan f3 menghasilkan warna merah, sehingga diduga bahwa ketiga fraksi tersebut mengandung flavonoid golongan flavan-3,4-diol, flavanon atau isoflavon. Sedangkan fraksi f4, f5 dan f8 menghasilkan warna coklat, sehingga diduga f4, f5 dan f9 mengandung flavonoid golongan isoflavon. Uji warna dengan pereaksi Mg/HCl terhadap fraksi f6 dan f8 tidak menunjukkan perubahan warna, sehingga diduga kedua fraksi tersebut mengandung flavonoid golongan katekin.

*Identifikasi struktur flavonoid*

Identifikasi struktur flavonoid yang terkandung dalam ekstrak PE dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis, IR dan GC-MS. Analisis dengan spektrofotometer UV-VIS berguna dalam menentukan golongan senyawa flavonoid. Analisis penting lainnya adalah menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus fungsional dalam suatu senyawa, dilanjutkan analisis spektra GC-MS untuk menentukan struktur senyawa tersebut. Hasil analisis dengan spektrofotometer UV dan IR menunjukkan bahwa hanya f2, f4 dan f9 yang merupakan isoflavon. Karena diduga bahwa senyawa aktif dalam rimpang temu ireng adalah isoflavon, maka identifikasi struktur lebih lanjut hanya dilakukan pada fraksi f2, f4 dan f9.

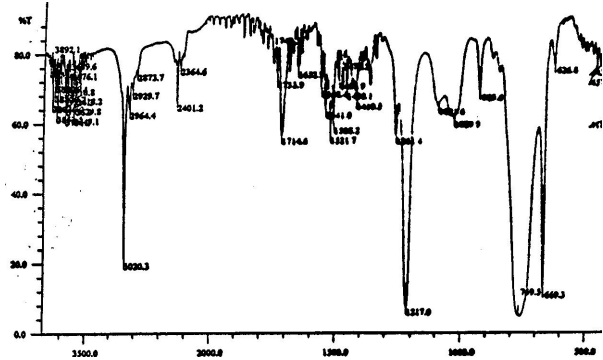
*Identifikasi struktur flavonoid fraksi f2*

Spektrum UV-VIS fraksi f2 seperti pada Gambar 2 bentuknya sama dengan bentuk spektrum isoflavon (Markham, 1988). Gambar spektrum UV-Vis ini memperlihatkan adanya panjang gelombang maksimum pada 207 nm dan bahu pada 250 nm-300 nm. Adanya satu puncak serapan maksimum dan bahu memberi petunjuk bahwa fraksi f2 mengandung senyawa isoflavon



**Gambar 2.** Spektrum UV-VIS fraksi f2.

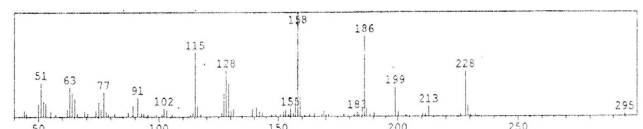
Analisis selanjutnya menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus-gugus fungsional senyawa yang berada pada fraksi f2 ditunjukkan oleh Gambar 3.



**Gambar 3.** Spektrum infra merah fraksi f2

Berdasarkan Gambar 3 tersebut dapat dilihat adanya pitakuat pada 1714,6 cm<sup>-1</sup> yang spesifik untuk gugus karbonil. Serapan tajam pada 1261,4 cm<sup>-1</sup> dan 1217,0 muncul dari vibrasi gugus C-O yang terkonjugasi. Pita pada 1091,6 dan 1029,9 cm<sup>-1</sup> merupakan serapan dari gugus metoksi. Pita pada 3020,3 cm<sup>-1</sup> berasal dari =C-H str dengan didukung oleh pita-pita antara 1600 cm<sup>-1</sup> dan 1500 cm<sup>-1</sup> menunjukkan keberadaan inti aromatis. Pita kecil lemah yaitu pada 1652,9 cm<sup>-1</sup> berasal dari gugus vinyl. Pita-pita pada daerah dibawah 3000 cm<sup>-1</sup> dan diperkuat oleh pita-pita disekitar 1450 cm<sup>-1</sup> menyatakan adanya alkyl yaitu metilen. Berdasarkan analisis terhadap spektrum pada Gambar 3, dapat disimpulkan bahwa f2 mengandung senyawa aromatis, gugus C=O, C-O, vinyl, -CH<sub>2</sub>- dan gugus metoksi.

Untuk penentuan struktur senyawa pada fraksi f2, maka dilakukan analisis dengan alat kromatografi gas dilanjutkan dengan spektra massa. Analisis flavonoid dengan MS fraksi f2 ini dilakukan terhadap 1 puncak utama dan didapat hasil seperti disajikan pada Gambar 4.

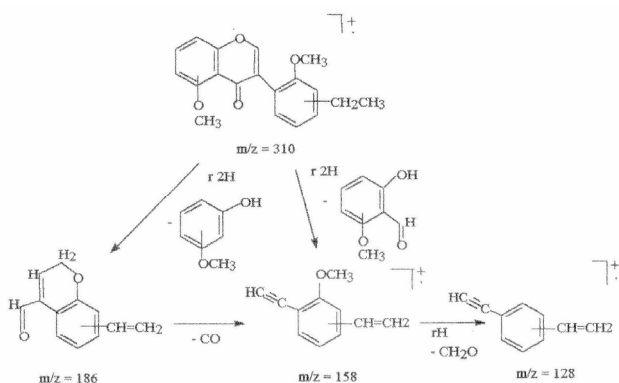


**Gambar 4.** Spektra massa puncak fraksi f2.

Spektra fraksi f2 menunjukkan adanya puncak dasar pada m/z = 158 dan puncak-puncak lain pada m/z = 295, 186 dan 128. Puncak dengan limpahan kecil pada m/z = 295 berasal dari ion molekul yang melepaskan metal (M<sup>+</sup>- 15). Ion molekulnya sendiri yaitu pada m/z = 310 tidak terlihat sebagai puncak, karena ion molekulnya kurang stabil.

Lepasnya radikal C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub> diikuti oleh penatan ulang 2H dan lepasnya H<sub>2</sub> dari ion molekul ditunjukkan oleh limpahan pada m/z = 186 (M<sup>+</sup>-125). Isoflavon ini mengalami pemecahan karakteristik menjadi 2 bagian yaitu pada m/z = 160 dan pada m/z = 150. Puncak-puncak ini tidak terlihat karena tidak stabil. Keberadaan m/z = 150 dapat dilihat dari adanya limpahan pada m/z = 149 yang berasal dari lepasnya 1H dari puncak karakteristik (M<sup>+</sup>- 150).

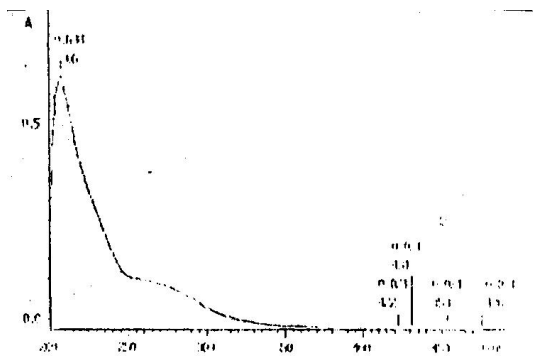
Puncak dasar yaitu puncak dengan limpahan terbesar mempunyai  $m/z = 159$  berasal dari pecahan karakteristik untuk isoflavon dari ion molekulnya yang telah melepaskan  $H_2$ . Puncak pada  $m/z = 158$  ini juga dapat terjadi dari puncak  $m/z = 186$  yang melepaskan gugus karbon monoksida (CO) yang diikuti oleh penataan ulang dari 1 H. Lepasnya gugus  $CH_2O$  dari puncak dasar terlihat pada limpahan yang cukup besar pada  $m/z = 128$ . Berdasarkan analisis tersebut, serta didukung oleh analisis dengan uji warna, spektrofotometer UV-Vis, dan IR, maka dapat dibuat fragmentasi dari fraksi f2 seperti disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Fragmentasi spektra massa fraksi f2.

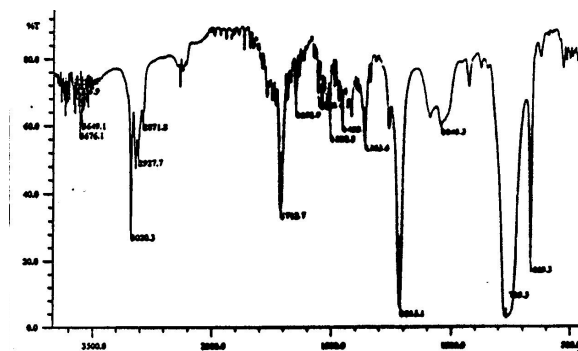
Identifikasi struktur flavonoid fraksi f4

Identifikasi struktur flavonoid fraksi f4 pertama kali dengan spektrofotometer UV-Vis disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrum UV-VIS fraksi f4.

Hal yang menarik adalah bahwa spektrum UV-VIS fraksi f4 juga sesuai dengan spektrum UV-VIS untuk isoflavon, hanya ada sedikit perbedaan bentuk spektrum dan panjang gelombangnya. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan gugus substituenya. Berdasarkan keterangan ini, maka disimpulkan bahwa fraksi f4 mengandung isoflavon dengan substituen gugus yang menyebabkan terjadinya pergeseran hipsokromik, dengan perbedaan jenis ataupun jumlah gugus hipsokromiknya. Analisis selanjutnya adalah menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus-gugus fungsional yang ada pada fraksi f4 seperti disajikan Gambar 7.

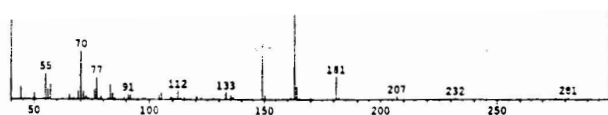


Gambar 7. Spektrum infra merah fraksi f4.

Spektrum infra merah f4, seperti ditunjukkan oleh Gambar 7 dapat diterangkan sebagai berikut: Pita kuat tajam pada  $1712,7\text{ cm}^{-1}$  adalah karakteristik untuk gugus karbonil. Pita pada  $3020,3\text{ cm}^{-1}$  dari  $=C-H$  str diperkuat oleh pita-pita pada  $1558,4\text{ cm}^{-1}$  memberi petunjuk adanya gugus aromatis, sedangkan serapan tajam pada  $1652,9\text{ cm}^{-1}$  berasal dari gugus vinyl. Serapan berupa pita pada  $2927,7\text{ cm}^{-1}$  dan  $2871,8\text{ cm}^{-1}$  diperkuat oleh pita pada  $1458\text{ cm}^{-1}$  dan  $1363,6\text{ cm}^{-1}$  yang berasal dari gugus alkyl yaitu metal. Pita yang paling kuat yaitu pada  $1215,1\text{ cm}^{-1}$  memberi keterangan yang jelas tentang adanya gugus C-O.

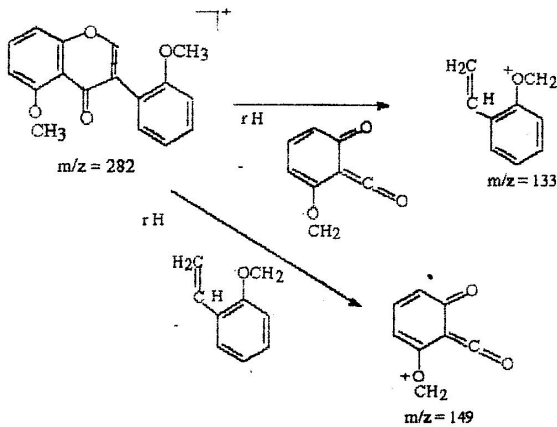
Dari seluruh keterangan yang diperoleh dalam analisis spektrum infra merah f4 dapat disimpulkan bahwa senyawa mempunyai gugus aromatis, C=O, -C-O dan paling sedikit satu gugus  $-CH_3$ .

Analisis struktur lebih lanjut dilakukan dengan alat GC-MS, diperoleh kromatogram fraksi f4. Identifikasi struktur dilakukan terhadap 1 puncak utama yang diperkirakan berasal dari flavonoid. Hasil spektra massa fraksi f4 disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Spektra massa fraksi f4.

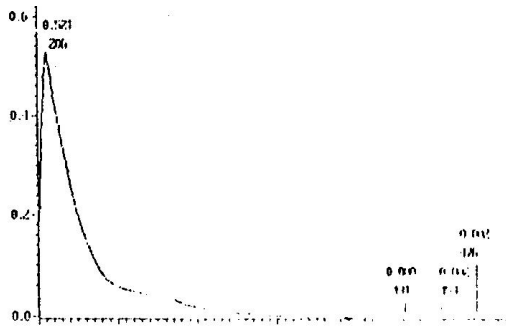
Dari spektra Gambar 8 terlihat bahwa  $m/z$  terbesar adalah 281, yang berarti bukan ion molekul, karena  $m/z$ -nya ganjil. Berdasarkan hasil analisis sebelumnya, maka spektra ini berasal dari isoflavon dengan substituen 2 gugus metoksi. Ion molekul tidak terdeteksi karena tidak stabil. Spektra mempunyai puncak dasar pada  $m/z = 163$ , dengan puncak-puncak lain pada  $m/z$  281, 232, 149, 133, dan lain-lain. Fragmentasi senyawa ini disajikan Gambar 9.



Gambar 9. Fragmentasi fraksi f4.

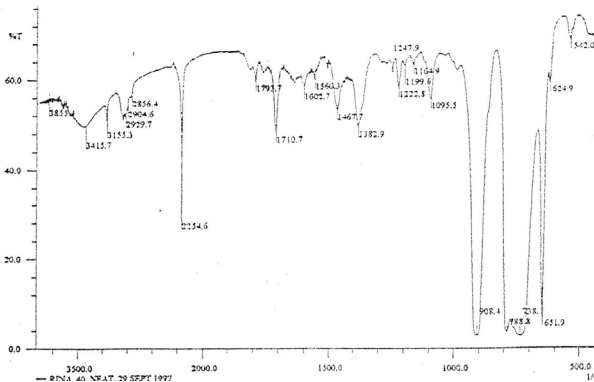
Identifikasi struktur flavonoid fraksi f9

Analisis terhadap spektrum UV-Vis fraksi f9 memperlihatkan serapan maksimum dan bahu seperti disajikan Gambar 10, sehingga diduga fraksi f9 adalah isoflavan.



Gambar 10. Spektrum UV-Vis fraksi f9.

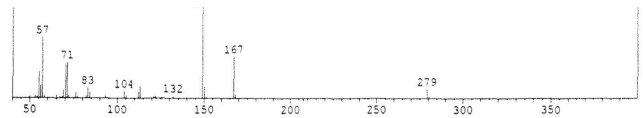
Analisis lebih lanjut dilakukan dengan spektra infra merah ditunjukkan Gambar 11. Berdasarkan spektrum tersebut diperoleh keterangan sebagai berikut: Pita kuat dan tajam pada 1710,7 cm<sup>-1</sup> karakteristik gugus karbonil. Serapan berupa pita melebar pada 3415,7 cm<sup>-1</sup> menyatakan adanya gugus hidroksi (-OH) diperkuat oleh gugus -C=O pada 1300 cm<sup>-1</sup> - 1000 cm<sup>-1</sup>, yang juga berasal dari gugus eter.



Gambar 11. Spektrum infra merah fraksi f9.

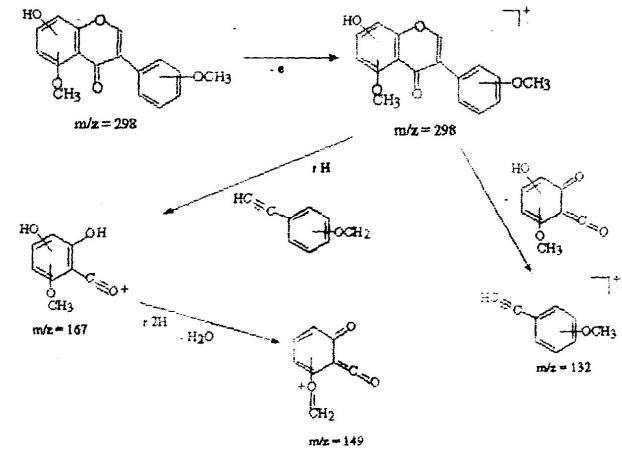
Pita pada 3155,3 cm<sup>-1</sup> berasal dari C<sub>sp</sub>2-H str aromatic, yang didukung oleh pita-pita antara 1600 cm<sup>-1</sup> dan 1500 cm<sup>-1</sup>. Sedangkan pita-pita antara 3000 cm<sup>-1</sup> dan 2800 cm<sup>-1</sup> adalah berasal dari gugus alkyl. Adanya pita-pita pada 1467,7 cm<sup>-1</sup> dan 1382,9 cm<sup>-1</sup> menyatakan bahwa gugus tersebut adalah metal. Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi f9 mempunyai gugus aromatik, -OH, eter dan -CH<sub>3</sub>.

Hasil kromatogram GC-MS fraksi f9 menunjukkan adanya 20 puncak, dengan puncak utama no. 20. Spektra GC-MS untuk puncak no. 20 seperti disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Spektra massa fraksi f9.

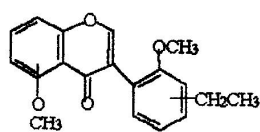
Spektra GC-MS fraksi f9 memberi petunjuk adanya limpahan sebagai puncak dasar pada m/z = 149 dan puncak-puncak lain pada m/z = 167, 132, 123 dan 104. Berdasarkan analisis dengan uji warna dan terhadap spektra UV-Vis, IR dan GC-MS, dapat disimpulkan bahwa fraksi f9 mengandung isoflavan dengan substituen 2 gugus metoksi dan 1 gugus hidroksi. Keseluruhan fragmentasi spektra GC-MS untuk fraksi f9 disajikan pada Gambar 13.



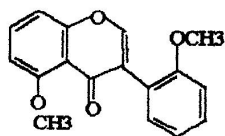
Gambar 13. Fragmentasi spektra massa fraksi f9.

KESIMPULAN DAN SARAN

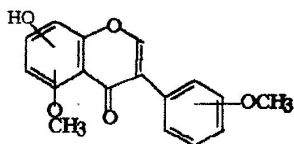
Ekstrak petroleum eter, kloroform dan n-butanol rimpang temu ireng mengandung flavonoid, sedangkan ekstrak metanol tidak mengandung flavonoid. Flavonoid dalam ekstrak petroleum eter dapat dipisahkan dengan cara kromatografi kolom menggunakan eluen petroleum eter-kloroform = 1 : 9 (v/v), penyerap silika gel merk kiese1ge160 43-60 mm (230-400 mesh) dan kecepatan eluen 20 tetes/menit. Ekstrak petroleum eter mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavan yang diperkirakan mempunyai struktur:



a. Isoflavon dalam fraksi f2



b. Isoflavon dalam fraksi f4



c. Isoflavon dalam fraksi f9

Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada ekstrak kloroform dan n-butanol rimpang temu ireng; perlu penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang telah berhasil diisolasi dari rimpang temu ireng sehubungan dengan aktifitas biologisnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan (Depkes) RI. 1981. Pemanfaatan Tanaman Obat. edisi kedua. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Geissman, T.A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: The Macmillan Company.
- Harborne, J.B., T.J. Mabry, and H. Mabry. 1975. *The Flavonoid*. London: Chapman and Hall.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Ikan, R. 1969. *Natural products (A laboratory Guide)*. Jerusalem: The Hebrew University of Jerusalem.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. *Invetaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

## PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

**Tulisan** diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm<sup>2</sup>), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indek minus (m<sup>-2</sup>, l<sup>-1</sup>, h<sup>-1</sup>) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

**Judul** ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul table ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan

menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

**Pustaka** dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa pustaka, naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

**Daftar Pustaka** diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

### Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infected strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

### Buku:

Sprent, J.I., and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

### Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

### Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Fla., 23-26 July 2000.

### Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

### Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

### Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

**Beberapa catatan tambahan.** Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "o" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\chi$ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

**Kemajuan Naskah.** Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

**PENTING:** Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan *Biofarmasi, Journal of Pharmacological and Biological Sciences* kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

- Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemik setelah Pemberian Ekstrak Metanol Akar Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)** 1-6  
• CHASBI FAHRI, SUTARNO, SHANTI LISTYAWATI
- Pertumbuhan, Kandungan Nitrogen, Klorofil dan Karotenoid Daun *Gynura procumbens* (Lour) Merr. pada Tingkat Naungan Berbeda** 7-10  
• SRI WAHYUDYANA HURIP PRADNYAWAN, WIDYA MUDYANTINI, MARSUSI
- Pertumbuhan, Kadar Saponin dan Nitrogen Jaringan Tanaman Daun Sendok (*Plantago major* L.) pada Pemberian Asam Giberelat ( $GA_3$ )** 11-15  
• LYA KHRISTYANA, ENDANG ANGGARWULAN, MARSUSI
- Pengaruh Asam Indol Asetat terhadap Pertumbuhan, Jumlah, dan Diameter Sel Sekretori Rimpang Tanaman Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)** 16-21  
• ARTA WIJAYATI, SOLICHAUN, SUGIYARTO
- Analisis Minyak Atsiri pada Tumbuhan Paku (Pteridophyta) di Kawasan Air Terjun Pangajaran Kecamatan Wonosalam, Kabupaten Jombang** 22-25  
• YUYUN MARINI, SUTARNO, AHMAD DWI SETYAWAN
- Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol** 26-31  
• SOERYA DEWI MARLIANA, VENTY SURYANTI, SUYONO
- Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)** 32-38  
• KHOIRINA DWI NUGRAHANINGTYAS, SABIRIN MATSJEH, TUTIK DWI WAHYUNI

