

**KARAKTERISASI DAN MEKANISME KERJA SENYAWA AKTIF
ALAMI DARI DAUN PAGODA (*CLERODENDRUM JAPONICUM*)
YANG MENGINDUKSI KETAHANAN SISTEMIK TANAMAN
CABAI MERAH TERHADAP CUCUMBER MOSAIC VIRUS (CMV)**

Weny J.A Musa

Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo

Abstrak: Penelitian ini telah berhasil mengungkapkan ekstrak daun bunga pagoda dengan pelarut selain air bersifat sebagai induksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap Cucumber Mosaic Virus (CMV). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun bunga pagoda yang dimaserasi dan dipartisi menggunakan pelarut organik mempunyai persentase penghambatan di atas 55%. Persentase penghambatan di atas 55% bersifat sebagai induksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap CMV. Hasil ini mengungkapkan ekstrak daun bunga pagoda yang dimaserasi serta dipartisi bukan sebagai senyawa anti viral tetapi merupakan induksi pada tanaman cabe yang terserang CMV. Uji fitokimia menunjukkan positif terhadap terpen dan steroid.

Kata-kata kunci: Ekstraksi, *Clerodendrum japonicum*, induksi ketahanan sistemik, CMV

Pentingnya pengetahuan tentang macam-macam tumbuhan dikaitkan dengan pemanfaatannya dalam bidang pertanian terutama untuk petani kecil, mengingat obat-obatan penyakit tanaman masih langka dan harganya cukup tinggi. Penerapan oleh petani sangat memungkinkan mengingat bahannya yang mudah diperoleh dan murah dan cara pembuatan dan penggunaan yang cukup sederhana.

Tumbuhan bunga pagoda (*Cleodendron japonicum* L) adalah tanaman hias yang berasal dari Cina yang banyak di tanam di Indonesia. Penelitian terdahulu dari daun bunga pagoda menunjukkan bahwa ekstrak air daun tumbuhan tersebut dapat menginduksi ketahanan sistemik dari tanaman cabai merah (*Capsicum annuum* L) dari serangan virus CMV yang mengganggu pertumbuhan tanaman dan hasil produksi (Hersanti 2004). Dalam penelitian tersebut belum mengungkapkan senyawa apa yang menginduksi ketahanan

sistemik tanaman cabai terhadap virus CMV tersebut hanya sampai pada ekstrak air daun tumbuhan.

Pemanfaatan tumbuhan ini tidak hanya dari ekstrak kasar yang dapat dibuat dengan air sebagai pengekstrak tetapi juga dapat ditingkatkan dengan memanfaatkan bahan aktifnya sendiri yaitu dengan cara mengisolasi bahan tersebut atau mensintesis bahan tersebut secara kimia yang dapat ditingkatkan menjadi industri obat penyakit anti viral. Untuk itu diperlukan pengetahuan tentang struktur kimia dari senyawa aktif tersebut sehingga isolasi dan penentuan struktur kimia menjadi sangat penting. Obat yang sudah dikemas akan lebih praktis dan mudah digunakan dibanding dengan ekstrak air, dan juga dapat disimpan lama, selain dari manfaatnya, pengetahuan tentang rumus dan struktur kimia senyawa aktif merupakan sumbangan ilmu pengetahuan dimana pengetahuan dan penelitian tentang senyawa-senyawa anti viral sangat kurang terbukti dari penulisan pustaka yang telah dilakukan yang belum berhasil.

Penelitian Hersanti (2004) yang melakukan skrining terhadap 37 jenis tanaman dengan cara mengaplikasikan ekstrak dari tumbuhan pada daun cabai merah yang telah diinokulasi CMV, diperoleh hasil bahwa tujuh jenis ekstrak tumbuhan berpotensi sebagai agen penginduksi KST cabai merah terhadap penyakit CMV. Salah satu yang paling potensial adalah ekstrak daun bunga pagoda (*Clerodendron japonicum*) dimana ketahanan cabai merah kultivar Jatilaba yang rentan CMV menjadi toleran akibat penginduksian ekstrak tumbuhan *C. japonicum*. Hal ini dapat dilihat dari intensitas serangan dengan penghambatan sebesar 69,44%, dan produksi cabai merah yang diperoleh yaitu mencapai tiga kali lebih besar daripada kontrol yaitu tanaman yang tidak diinduksi oleh ekstrak tumbuhan.

Penelitian-penelitian yang dilakukan di bidang pertanian tidak mengklasifikasikan bahwa jenis kandungan kimia apa yang bisa digunakan untuk menghambat serangan virus pada tanaman, umumnya hanya sebatas mengambil ekstrak tumbuhan tanpa melihat lebih jauh ekstrak tumbuhan yang aktif tersebut termasuk dalam kelas senyawa metabolit sekunder yang mana dari beberapa senyawa metabolit sekunder yang ada di alam. Dalam penelitian ini telah diisolasi suatu senyawa dari daun *C. japonicum* dan diuji aktivitasnya sebagai anti virus.

Metode Penelitian

Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan yang diteliti adalah daun bunga pagoda, biji cabai merah kultivar Jatilaba, plant activator (benzothiadiazole), tanaman tembakau

Xanthi nc. yang terinfeksi CMV sebagai sumber inokulum CMV2-RIV (Research Institute of Vegetable) berasal dari Bagian Virologi Balai Penelitian Tanaman Sayuran, media tanam campuran tanah dan pupuk kandang 1:1, karborundum.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas pelarut organik, silika gel GF254 untuk kromatografi lapis tipis, silika gel 60 (70-230 mesh) untuk kromatografi kolom gravitasi, silika gel 60 (230-400 mesh) untuk kromatografi kolom vakum serta pereaksi uji fitokimia, dan larutan buffer fosfat untuk uji hayati.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan terdiri atas berbagai alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik, didukung oleh neraca analitik, seperangkat alat destilasi pengisat gasing hampa R-114 Buchi yang dilengkapi dengan vakum sistem Buchi B-169, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), spektroskopi ultraviolet-visible (UV-Vis), inframerah (IM), massa (SM), resonansi magnet inti proton (RMI-¹H) dan karbon (RMI-¹³C) serta DEPT. Alat untuk uji hayati gelas plastik sebagai tempat persemaian dan pembumbunan cabai merah, mortal, kain muslin untuk menyaring ekstrak tumbuhan.

Isolasi Komponen – komponen dari Daun *C. japonicum*

Daun *C. japonicum* sebanyak dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar. Pelarut metanol kemudian diuapkan dengan menggunakan alat penguap vakum. Ekstrak kental metanol selanjutnya dipartisi dengan campuran n- heksan-air sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan lapisan air. Fraksi n- heksan diuapkan sedangkan lapisan air dipartisi lagi dengan etil esetat baik fraksi etil asetat maupun fraksi air diuapkan. Semua fraksi yang diperoleh diuji hayati dan diuji fitokimia.

Uji Hayati Fraksi-fraksi Hasil Maserasi dan Partisi

Hasil maserasi dan partisi selanjutnya di uji fitokimia dan uji hayati dan fraksi yang positif pada uji hayati kemudian dimurnikan kembali dengan tehnik-tehnik kromatografi kolom dan kromatografi cair kinerja tinggi sampai diperoleh isolat yang relatif murni dan positif pada uji hayati.

1. Ekstrak Metanol dengan konsentrasi 9000, 6000 dan 3000 ppm
2. Ekstrak *n*-Heksan dengan konsentrasi 9000, 6000 dan 3000 ppm

3. Ekstrak Etil Asetat dengan konsentrasi 9000, 6000 dan 3000 ppm
4. Ekstrak Air-Metanol dengan konsentrasi 9000, 6000 dan 3000 ppm
5. Air sebagai kontrol

Ekstrak dari masing-masing fraksi yang akan di uji hayati sebelum dilakukan uji dicampur dengan karborundum yang bertujuan ekstrak tersebut dapat terserap ke sel-sel tanaman tanpa menyebabkan kematian jaringan tanaman. Ekstrak dari masing-masing fraksi dioleskan pada daun kesatu dan ke dua di atas kotiledon. Setelah 30 menit dibilas dengan air. Setelah 24 jam, dilakukan inokulasi CMV, yaitu dengan mengoleskan air perasan daun tembakau yang telah terinfeksi CMV2-RIV yang sudah dicampur dengan larutan buffer posfat pada daun ketiga dan keempat (di atas kedua daun yang telah diaplikasi dengan ekstrak dari masing-masing fraksi).

Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan adalah masa inkubasi yaitu waktu yang diperlukan dari mulai inokulasi sampai timbulnya gejala, dan intensitas serangan penyakit CMV dengan selang waktu pengamatan tiga hari sekali sebanyak empat kali pengamatan. Menurut Nurhayati (1997), infeksi virus pada tanaman cabai menimbulkan gejala tujuh hari setelah inokulasi. Gejala yang timbul berupa mosaik pada daun-daun muda tanaman cabai. Perhitungan intensitas serangan CMV ditentukan dengan rumus (Suganda dkk, 2002);

$$I = \frac{\sum(nxy)}{NxV} \times 100\%$$

Keterangan:

- I = Intensitas serangga
- n = Jumlah tanaman dalam tiap katogori serangan
- v = nilai skala tiap katogori serangan
- V = nilai skala dari katogori serangan tertinggi
- N = banyaknya tanaman yang diamati

Skala serangan berdasarkan Dolores (1996) sebagai berikut:

- 0 = tanaman tidak menunjukkan gejala virus
- 1 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sangat ringan, atau tidak ada penyebaran sistematik
- 2 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sedang

- 3 = tanaman menunjukkan gejala mosaik atau belang berat tanpa penciutan atau kelaianan bentuk daun
- 4 = gejala mosaik atau belang berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun
- 5 = gejala mosaik atau belang sangat berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun yang parah, kerdil atau mati.

Seluruh data intensitas serangan penyakit CMV digunakan untuk membuat grafik perkembangan penyakit. Menurut Louws *dkk.* (1996) total luas area yang ada di bawah kurva perkembangan penyakit ("Area Under Diseases Progress Curve/AUDPC) dihitung dengan menggunakan rumus :

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left[\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

Keterangan :

Y_{i+1} = Data pengamatan ke- $i+1$

t_{i+1} = Waktu pengamatan ke- $i+1$

Y_i = Data pengamatan ke- i

t_i = Waktu pengamatan ke- i

Persentase penghambatan penyakit CMV akibat pengaplikasian ekstrak tumbuhan dihitung berdasarkan rumus :

$$P = \left(1 - \frac{AUDPC_{perlakuan}}{AUDPC_{kontrol}} \right) \times 100\%$$

Hasil dan Pembahasan

Dari 1,4 kg daun *C. japonicum* segar diangin-anginkan kemudian diblender dan dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar selama 5 hari berturut-turut 5 x 24 jam, diperoleh filtrat metanol dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap vakum sampai kental diperoleh 92,82 g ekstrak metanol, selanjutnya diambil sebanyak 10 g ekstrak metanol dilakukan partisi dengan campuran n- heksan-air 1 : 3, sehingga diperoleh filtrat n-heksan dan filtrat air. Filtrat n- heksan diuapkan pada alat penguap vakum di peroleh ekstrak n- heksan 51,75 g, sedangkan lapisan air dipartisi lagi dengan etil esetat baik filtrat etil asetat maupun filtrat air diuapkan dengan alat penguap

vakum diperoleh masing ekstrak etil asetat 7,80 g dan ekstrak air 33,27 g. Semua ekstrak yang diperoleh diuji hayati dan diuji fitokimia. Fraksi yang positif pada uji hayati dipisahkan dan dimurnikan. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ke empat ekstrak yang digunakan positif terhadap uji triterpenoid dan steroid sedangkan untuk saponin, alkaloid negatif.

Ekstrak Hasil Maserasi dan Partisi yang Berpotensi sebagai Agen Penginduksi Ketahanan Tanaman Cabai Merah terhadap Penyakit CMV

Hasil maserasi dan partisi dari tiap-tiap ekstrak sebanyak 0,225 g dilarutkan kedalam etanol 25 mL untuk konsentrasi 9000 ppm, selanjutnya 6,666 mL diencerkan sampai 10 mL menjadi konsentrasi 6000 ppm dan 3,33 mL diencerkan sampai 10 mL untuk konsentrasi 3000 ppm, ekstrak-ekstrak diaplikasikan ke tanaman cabai merah yang sudah mempunyai empat lembar daun sejati. Ekstrak yang didapatkan dioleskan pada daun kesatu dan kedua di atas kotiledon. Setelah 30 menit di bilas dengan air. setelah 24 jam, di lakukan inokulasi CMV, yaitu mengoleskan air perasan daun tembakau yang telah terinfeksi CMV2-RIV yang sudah dicampur dengan larutan buffer fosfat pada daun ketiga dan keempat (di atas kedua daun yang telah diaplikasikan ekstrak hasil maserasi dan partisi).

Tabel Kemampuan Ekstrak Hasil Maserasi dan Partisi yang Berpotensi Sebagai Agen Penginduksi Ketahanan Cabai Merah terhadap CMV

| No | Jenis ekstrak/konsentrasi | Masa inkubasi (hari) | AUDPC | Penghambatan (%) |
|----|------------------------------|----------------------|--------|------------------|
| 1 | Ekstrak Metanol 3000 ppm | 15 | 30 | 94,11 |
| 2 | Ekstrak Metanol 6000 ppm | 15 | 165 | 67,65 |
| 3 | Ekstrak Metanol 9000 ppm | 15 | 172,5 | 66,18 |
| 4 | Ekstrak Heksan 3000 ppm | 15 | 194,85 | 61,79 |
| 5 | Ekstrak Heksan 6000 ppm | 28 | 19,95 | 96,09 |
| 6 | Ekstrak Heksan 9000 ppm | 15 | 149,55 | 70,68 |
| 7 | Ekstrak Etil asetat 3000 ppm | 15 | 19,8 | 96,12 |
| 8 | Ekstrak Etil asetat 6000 ppm | 15 | 169,95 | 66,68 |
| 9 | Ekstrak Etil asetat 9000 ppm | 15 | 190,05 | 62,74 |
| 10 | Ekstrak Air-Metanol 3000 ppm | 21 | 75 | 85,29 |
| 11 | Ekstrak Air-Metanol 6000 ppm | 0 | 0 | 100 |
| 12 | Ekstrak Air-Metanol 9000 ppm | 21 | 45 | 91,18 |
| 13 | Etanol | 15 | 457,5 | 10,29 |
| 14 | Kontrol | 12 | 510 | 0 |

Dari empat ekstrak yang di uji dengan konsentrasi 3000 ppm, 6000 ppm, 9000 ppm, masing-masing memberikan kemampuan yang berbeda dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai merah. Terdapatnya perbedaan dalam masa inkubasi penyakit CMV pada tanaman cabai merah selain disebabkan pengaruh konsentrasi aplikasi daun *C. japonicum* juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Menurut Wahyuni (1999) kenampakan gejala penyakit CMV dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis tanaman inang, musim, suhu dan cahaya matahari. Kenampakan gejala luar penyakit CMV mempunyai termosensitivitas yang berbeda.

Dari hasil perhitungan AUDPC terlihat semakin tinggi nilai AUDPC semakin rendah presentase penghambatannya. Nilai AUDPC pada beberapa perlakuan ke 4 ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda, terlihat tidak konsisten dari konsentrasi yang kecil ke konsentrasi yang besar.

Dari 4 ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda hasil uji hayati menunjukkan 2 ekstrak memberikan respons yang tinggi dalam menginduksi KST pada tanaman cabai merah dengan konsentrasi penghambatannya dari konsentrasi yang kecil lebih tinggi ke konsentrasi yang rendah. Ini terlihat dari masa inkubasi, nilai AUDPC dan presentase penghambatan penyakit CMV. Ke 2 ekstrak tersebut adalah ekstrak metanol (3000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 30, persentase penghambatan 94,12 %, ekstrak metanol (6000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 165, presentase penghambatan 67,65%, ekstrak metanol (9000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 172,5 presentase penghambatan 66,18% , ekstrak etil asetat (3000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 19,8, presentase penghambatan 96,12, ekstrak etil asetat (6000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 169,95, presentase penghambatan 66,68%, ekstrak etil asetat (9000 ppm) masa inkubasi 15 hari, nilai AUDPC 190,05, presentase penghambatan 62,74%.

Hasil uji hayati mengindikasikan bahwa ekstrak daun bunga pagoda dengan pelarut selain air masih bersifat sebagai induksi terhadap ketahanan sistemik tanaman cabai merah dari serangan CMV, hal ini berbeda dengan penelitian-penelitian yang telah ditemukan sebelumnya dimana bahan aktif yang dapat menginduksi ketahanan sistemik tanaman dari serangan virus adalah golongan protein.

Hasil-hasil penelitian pada genus *Clerodendrum* seperti yang dilaporkan oleh (Verma *et al.*, 1996) senyawa aktif yang berukuran 34 kDa dari *C. aculeatum* dapat menginduksi tanaman tembakau yang terinfeksi oleh TMV. Senyawa aktif yang berukuran 34 kDa adalah protein. Hal yang sama dilaporkan oleh Vivek *et al.*, (1995) menemukan glikoprotein CIP-29 dan

CIP-34 dari *C. inermis*, dapat menginduksi ketahanan sistemik tanaman tembakau terhadap TMV (*Tobacco Mosaic Virus*). Masing-masing protein tersebut menginduksi dengan derajat induksi yang berbeda yaitu: 16µg/ml untuk CIP-29 dan 800µg/ml untuk CIP-34. Protein CIP-29 adalah sebuah monomer dengan massa molekul 29 kDa, sedangkan protein CIP-34 merupakan kompleks dengan massa molekul 34kDa. Perbedaan dari hasil penelitian dengan hasil-hasil yang telah dilaporkan sebelumnya pada genus *Clerodendrum* dan pada tumbuhan lainnya terletak pada prosedur penelitian yang dilakukan. Penelitian-penelitian sebelumnya menggunakan prosedur isolasi untuk mendapatkan protein, sedangkan pada penelitian ini prosedur penelitian yang dilakukan merupakan prosedur secara umum untuk isolasi mencari senyawa metabolit sekunder dan setiap tahap isolasi dilakukan uji hayati.

Hasil penelitian ini juga mengungkapkan bahwa ekstrak daun bunga pagoda yang dimaserasi serta dipartisi bukan sebagai senyawa anti viral tetapi merupakan induksi pada tanaman cabe yang terserang CMV. Hal ini dapat dilihat dari pengamatan uji hayati dimana beberapa tanaman cabe masih menunjukkan gejala mosaik yang berarti virus tersebut tidak mati tetapi ekstrak daun bunga pagoda hanya menginduksi tanaman cabe agar rentan terhadap virus.

Simpulan

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metanol, heksan, etil asetat dan air positif terhadap uji steroid, triterpenoid dan flavonoid serta negatif terhadap uji alkaloid dan saponin.

Dari keempat ekstrak yang diaplikasikan ke tanaman cabe dengan konsentrasi yang tertinggi adalah fraksi etil asetat. Tetapi hal ini bukan berarti ke 3 fraksi lainnya tidak aktif tetapi persentase penghambatannya lebih kecil dan tidak konsisten pada konsentrasi yang diuji.

Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa ekstrak daun bunga pagoda dengan pelarut selain air bersifat sebagai induksi pada tanaman cabe merah yang terserang virus. Ekstrak tersebut bukan dari golongan protein dan tidak bersifat sebagai anti viral tetapi sebagai induksi pada tanaman cabe merah yang terserang virus.

Saran

Untuk lebih mengetahui senyawa zat aktif yang ada pada masing-masing ekstrak berfungsi sebagai agen penginduksi terhadap ketahanan sistemik pada tanaman cabai merah disarankan kembali untuk melakukan pemisahan pada ekstrak yang menghasilkan persentase tertinggi dan konsisten.

Daftar Pustaka

- Dolores, L.M. 1996. *Management of Pepper Viruses*. In. AVNET – II Final Workshop Proceedings. AVDRC.Tainan. Taiwan. Pp.:334-342
- Hersanti. 2004. *Pengaruh Ekstrak Beberapa Tumbuhan Dalam Menginduksi Ketahanan Sistemik Tanaman Cabai Merah (Capsicum annum L.) Terhadap Cucumber Mosaic Virus (CMV)*. Disertasi. Program Pascasarjana UNPAD. Bandung
- Louws, F. J., K.H, Mary., F.K. John., and T.S. Cristine, 1996. *Impact of reduced fungicide and tillage on blight, fruit root and yield processing tomatoes*. Plant Disease 80 : 1251-1256
- Nurhayati. 1997. *Pengaruh infeksi tunggal dan campuran CMV, TMV, dan PVY terhadap produksi tiga kultivar cabai*. Prosiding Kongres Nasional dan Seminar Ilmiah PFI. Palembang 27 – 29 Oktober 1997. Hal : 411-416
- Suganda, T., E. Rismawati, E. Yulia dan C. Nasahi. 2002. *Pengujian beberapa bahan kimia dan air perasan daun tumbuhan dalam menginduksi resistensi tanaman padi terhadap penyakit bercak daun Cercospora*. Jurnal Bionatura, Vol. 4: 17-28
- Verma, H.N., S. Srivastava, Varsha, and D. Kumar. 1996. *Induction of systemic resistance in plants against Viruses by a basic protein from Clerodendron aculeatum leaves*. Phytopathology 86 : 485-492
- Vivek, P., S, Shalini. Varsha, H.N. Verma. 1995. *Two basic proteins isolated from Clerodendrum inerme gaertn are inducer of systemic antiviral resistance in susceptible plants*. Journal Plant Science : 110 : 73-82.

