ANALISIS KANDUNGAN DIOSMIN TANAMAN SELEDRI PADA BERBAGAI MEDIA TUMBUH

Analysis of Diosmin Content of Celery Plant on Plant Growth Media

Mohamad Ana Syabana[1]; Edi Jauhari PK[2 1]; dan Elly Surahadikusuma[3]

[1]Staff pengajar Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Untirta
[2]Staff pengajar Departemen Biokimia FMIPA IPB
[3]Staff pengajar Departemen Kimia FMIPA IPB
Email: anas_oce@yahoo.com

ABSTRACT

The celery plant well known as herbs especially because of celery's odor and it also have a lot of positive impact to health, for example antidiuretic, antiplasmodic and antiinflammatory. This impact because of celery secondary metabolite one of them is diosmin. The non-optimum plant growth environment will induce secondary metabolite production. This research aim is to find the plant medium that will produce most diosmin content. Celery was planted on six kind of plant medium that was dolomite lime andosol, compost andosol, sand andosol, dolomite lime podsolic, compost podsolic and sand podsolic media. Six weeks after growing in a green house wich temperature 27,3 ^{0}C. Selery was harvested and dried on the oven. Futhermore the diosmin content was measured qualitative by TLC and Quantitative by HPLC. The highest diosmin content is 1754,90 ppm showed on dried celery from dolomite lime andosol media, from dolomite lime podsolic media is 1424,57 ppm, from compost andosol media is 1134,2 ppm and the lowest from sand andosol.

Key words**:** *celery, diosmin, plant media, HPLC*

PENDAHULUAN

Krisis ekonomi yang terjadi di Indonesia memberikan dampak yang sangat nyata terutama untuk industri farmasi, nilai tukar rupiah yang rendah terhadap dolar Amerika menyebabkan melambungnya harga bahan baku obat maupun obat yang di impor dari luar negeri. Dampaknya banyak masyarakat yang sakit tidak mampu untuk membeli obat karena harganya yang tidak terjangkau. Hal tersebut dan kecenderungan kembali ke alam (*back to nature)* memicu dikembangkannya obat-obatan tradisional asli Indonesia yang berasal dari tanaman.

Penggunakan tumbuh-tumbuhan sebagai obat tradisional ternyata telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia jauh sebelum pelayanan kesehatan dengan mengunakan obat-obatan sintetik dikenal masyarakat. Selain bernilai ekonomis, efek samping obat-obatan tradisional jauh lebih kecil dibanding obat sintetik.

Tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) yang biasanya digunakan sebagai bumbu masakan ternyata dapat juga digunakan sebagai obat tradisional. Menurut Dalimartha (2000) akar seledri berkhasiat memacu aktivitas enzim pencernaan dan peluruh kencing (diuretik), sedangkan buah atau bijinya dapat digunakan sebagai pereda kejang (antiplasmodik), menurunkan kadar asam urat darah, antirematik, peluruh kencing (diuretik), peluruh kentut (karminatif), afrodisak dan penenang (sedatif). Herba seledri berkhasiat memacu enzim pencernaan (stomakik), menurunkan tekanan darah (hipotensif), penghenti pendarahan (hemostatis), peluruh kencing (diuretik), peluruh haid, peluruh kentut (karminatif), mengeluarkan asam urat yang tinggi, pembersih darah dan memperbaiki

fungsi darah yang terganggu, selain itu juga dapat berfungsi sebagai anti inflamasi.

Beberapa senyawa kimia yang terdapat dalam seledri di antaranya adalah flavonoid, saponin, tanin, minyak atsiri, flavo-glukosida (apiin), apigenin, kolin, lipase, asparagin, zat pahit, vitamin (A, B, dan C) (Depkes 1995). Aktivitas antiinflamasi tanaman seledri diduga disebabkan oleh flavonoid, karena menurut Fitriyeni (2003) flavonoid utamanya diosmin bersifat antiinflamasi yang dapat mengurangi pembengkakan atau peradangan. Penelitian yang dilakukan oleh El-shafae dan El-Domiaty (2001) menunjukkan bahwa diosmin juga digunakan sebagai agen kemopreventif pada penyakit kandung kemih dan sebagai pelindung vaskular.

Tanaman menghasilkan metabolit yang berasal dari proses metabolisme primer dan metabolisme sekunder selama pertumbuhan. Metabolit primer adalah senyawa kimia yang berada dalam jumlah besar dan umumnya digunakan untuk pertumbuhan seperti karbohidrat, protein dan lemak. Senyawa kimia yang termasuk metabolit sekunder adalah kelompok senyawa alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Metabolit tersebut tidak digunakan bagi pertumbuhan tanaman, tetapi salah satu fungsinya adalah sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme patogen dan juga terhadap herbivora maupun omnivora (Heldt 1997). Karena fungsinya ini maka metabolit sekunder biasanya banyak dihasilkan tanaman pada saat kondisi lingkungan pertumbuhannya tidak optimal (kondisi tanaman stres) atau pada saat ada ancaman yang mengancam pertumbuhannya.

Tanah merupakan faktor lingkungan penting yang mempunyai hubungan timbal balik sangat erat dengan tanaman yang tumbuh di atasnya. Tanah yang produktif harus dapat menyediakan unsur hara dan lingkungan yang baik bagi pertumbuhan tanaman. Tiap-tiap tanaman akan menyerap unsur dalam jumlah yang berbeda-beda, terutama bila tumbuh pada daerah yang berbeda. Menurut Slater *et al* (2003) kondisi tanah yang kekurangan hara merupakan salah satu kondisi yang dapat menyebabkan stres pada tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari media yang dapat menghasilkan kandungan diosmin tertinggi

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah trai, botol semprot, polibag, neraca analitik, botol timbang, oven, eksikator, tanur kistrik, radas refluks,. labu bulat, gelas ukur, gelas piala, tabung reaksi, pipet tetes, KCKTdan *alumunium foil*. Bahan yang digunakan adalah bibit tanaman seledri daun (*Apium graveolens* L. *var. Secalum Alef*), DMSO, PE, alkohol klorhidrat, pupuk kompos, kapur $CaCO_3$, pasir, Thiodan 35 EC, Dithane M 45, benlate dan air destilata.

Metode Penanaman

Teknik Pelaksanaan Penanaman

Tahap Persiapan. Tanah podsolik yang diambil dari jasinga dan tanah andosol yang diambil dari kebun percobaan IPB Sukamantri dikeringudarakan selama 3 hari dan sebagian tanah diambil secara acak untuk dianalisis.

Persiapan Media. Media podsolik kapur dan andosol kapur dibuat dengan mencampur masing-masing tanah podsolik dan andosol dengan kapur pada perbandingan 1:4 untuk tiap polibag, dan kemudian diinkubasikan selama 2 minggu. Media andosol kompos dan podsolik kompos dibuat dengan mencampur masing-masing tanah podsolik dan andosol dengan kompos pada perbandingan 1:3 untuk tiap polibag, kemudian diinkubasikan selama 3 hari. Media podsolik pasir dan andosol pasir dibuat dengan mencampurkan masing-masing tanah dengan pasir pada perbandingan 1:3, kemudian diinkubasikan selama 3 hari. Selama inkubasi, pada media dilakukan penyiraman.

Persiapan Penanaman. Bibit tanaman seledri yang berumur 1 bulan diambil dari Ciherang Cianjur, kemudian diaklimatisasi di rumah kaca selama 1 minggu, setelah itu masing-masing seledri ditanam ke dalam masing-masing media.

Trimming. *Trimming* dilakukan pada saat tanaman seledri dimasukkan kedalam polibag dengan memotong bagian atas tanaman agar tingginya sama yaitu 10 cm dan menyamakan jumlah batang tanaman yaitu 3 batang tiap tanaman tiap polibag. Pertumbuhan dan jumlah tunas yang muncul setelah trimming ini

dianggap sebagai pengaruh dari perlakuan yang diberikan.

Pemanenan. Pemanenan tanaman seledri dilakukan setelah 6 minggu masa tanam. Pemanenan dengan cara mencabut seluruh bagian tanaman mulai pucuk daun sampai ujung akar. Selanjutnya semua bagian tersebut dikeringkan.

Analisis Diosmin

Ekstraksi diosmin dilakukan dengan menggunakan metode El-Shafae dan El-Domiaty (2001), secara kualitatif diosmin diukur dengan kromatografi lapis tipis dan secara kuantitatif diosmin diukur dengan sistem KCKT fase terbalik, dengan fase mobil bersifat polar dan fase stasioner bersifat non polar. Fase mobil yang digunakan adalah larutan MeOH 50% sedangkan fase stasioner yang digunakan adalah kolom LiChrosorb RP-18. Deteksi dilakukan dengan detektor UV pada panjang gelombang 345 nm.

Perhitungan Diosmin. Konsentrasi diosmin pada sampel dihitung menggunakan metode perbandingan standar, dengan rumus **:**

Konsentrasi diosmin = A_c / A_{std} x C_{std}

A_c = Luas kromatogram sampel

A_{std} = Luas kromatogram standar

C_{std} = Konsentrasi standar

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan seledri

Selama 6 minggu masa tanam, tanaman seledri yang ditanam pada media podsolik kompos dan podsolik pasir ternyata tidak dapat tumbuh dengan baik. Kemampuan tanaman seledri tumbuh pada media podsolik kompos paling lama adalah 17 hari (dari 60 tanaman hanya 5 yang dapat tumbuh sampai 20 hari), sedangkan pada media podsolik pasir dari 60 tanaman awal hanya 6 tanaman yang dapat bertahan sampai hari ke 14. Matinya tanaman biasanya diawali dengan warna kuning pada pucuk daun tua, kemudian menyebar pada hampir seluruh daun pada tanaman tersebut, dan akhirnya menyebabkan kematian tanaman tersebut. Pengamatan pada bagian akar tanaman tersebut menunjukkan bentuk akar yang lebih pendek dan lebih tebal dibanding ukuran normalnya, dan juga adanya beberapa akar yang mati. Tanda-tanda tersebut menurut Chan (1991) menunjukkan bahwa tanaman terkena keracunan Al. Alumunium yang tinggi dapat memicu rendahnya kandungan fosfor (P) yang tersedia bagi tanaman, karena terbentuknya Al-P yang tidak dapat diserap oleh tanaman. Peranan P bagi tanaman sangat penting karena berperan sebagai energi. Alumunium yang terserap oleh tanaman dapat menghambat pengembangan dinding sel tanaman, disamping itu Al dapat mengganggu replikasi DNA, mengurangi laju fosforilasi gula dan penyatuan P dalam RNA (Chan 1991). Tanah podsolik umumnya lebih miskin dan lebih asam dari tanah latosol, kandungan hara rendah terutama Ca, N, P, dan K, tetapi kaya akan kandungan oksida-oksida Al dan Fe dan daya ikat fosfor yang tinggi.

Ekstraksi diosmin

Pemisahan diosmin dilakukan dengan refluk menggunakan pelarut DMSO 10 %. Pelarut ini bersifat polar, sehingga diharapkan pelarut ini dapat menarik senyawa diosmin dari simplisia seledri. Hasil penelitian yang dilakukan oleh El-Shafae & El-Domiaty (2001) menunjukkan bahwasanya DMSO 10% merupakan pelarut terbaik untuk mengekstraksi diosmin dari ekstrak tanaman dan tablet obat dibandingkan dengan natrium sulfat dan natrium hidroksida. Proses refluks dilakukan sebanyak 4 kali dengan tujuan semua diosmin dapat terekstrak, hal ini ditandai dengan warna larutan yang menjadi bening pada proses refluk yang keempat.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak yang diperoleh, dianalisisi kandungan diosminnya secara kualitatif dengan KLT. Pelat KLT yang digunakan adalah silika gel GF254 dan eluen yang digunakan adalah n-butanol:asam asetat:air (4:1:5).

Tabel 1. Hasil KLT ekstrak seledri segar dan kering

Perlakuan	Ulangan	Rf seledri Kering
Andosol kompos	1	0.6062
	2	0.6250
	3	0.6250
Andosol kapur	1	0.6125
	2	0.6125
	3	0.6250
Andosol pasir	1	0.6250
	2	0.6250
	3	0.6125
Podsolik kapur	1	0.6000
	2	0.6125
	3	0.6250

Keterangan: Rf standar diosmin pada pelat KLT seledri kering 0.60

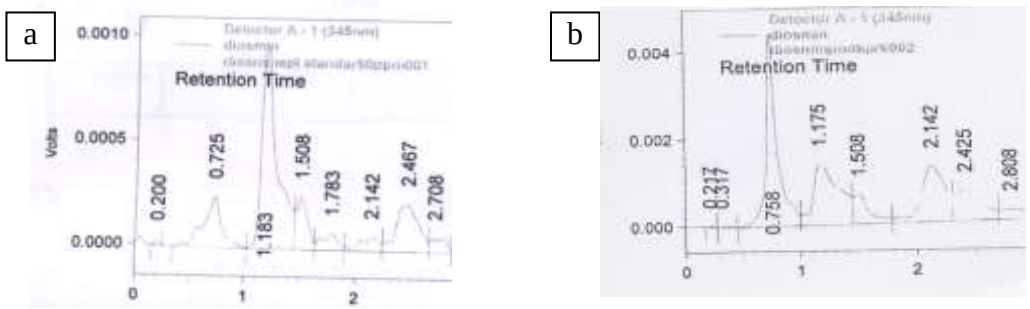
Spot KLT diamati secara langsung menghasilkan warna kuning dan hijau, sedangkan jika diamati dengan sinar UV 254 nm spot yang diamati berwarna coklat dengan latar belakang pendar hijau. Spot standar diosmin memunculkan warna kuning dengan pengamatan biasa dan coklat dengan pengamatan dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Warna ini menurut Harbone (1987) menunjukkan bahwa diosmin termasuk golongan flavon oksida.

Nilai Rf KLT Ekstrak seledri kering antara 0,60 sampai 0,64 (Tabel 1). Nilai Rf tersebut hampir sama dengan nilai Rf standar diosmin seledri kering yaitu 0,60, sehingga secara kualitatif 12 ekstrak seledri kering tersebut mengandung diosmin.

KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)

KCKT merupakan suatu metode pemisahan dengan sensitifitas dan reprodusibilitas tinggi, preparasi sampel mudah, resolusi yang baik dan juga cepat dalam memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran (Boyer 1986).

Karakteristik KCKT yang digunakan adalah kolom Li-Chrosorb RP-18, laju alir 1,5 ml/menit, detektor UV 345 nm, isokratik dengan eluen MeOH 60 % (El Shafae dan El Domiaty 2001). Analisis KCKT dilakukan dengan fase terbalik yaitu eluen fase mobil bersifat polar (MeOH 60%) dan fase stasioner bersifat non polar (Kolom Li-Chrosorb RP18). Menurut Braitwhait dan Smit (1996) metode ini cocok untuk menganalisis senyawa non-polar sampai semi polar. Keunggulan lain metode ini adalah pengoperasiannya yang mudah, mempunyai efisiensi tinggi, stabilitas kolom dan kemampuan untuk menganalisis secara simultan dengan spektrum yang luas.



Gambar 1. Kromatogram larutan standar diosmin 50 ppm (a) dan sampel seledri kering pada media andosol kapur (b).

Menurut Fitriyeni (2003) DMSO merupakan pelarut polar yang cenderung mirip dengan eluen yang digunakan dalam KCKT sehingga tampak keluar pertama dari kolom dan mempunyai waktu retensi yang kecil. Standar diosmin menunjukkan waktu retensi 2,467 menit (Gambar 1a). Analisis terhadap tanaman seledri kering pada media andosol kompos, andosol kapur (Gambar 1b), podsolik kapur dan andosol pasir pada waktu retensi sekitar 2,4 menit berturut-turut menghasilkan luas area 7173, 11098, 9009 dan 2726 (Tabel 2).

Tabel 2. Kromatogram diosmin sampel

Jenis media	Waktu retensi (menit)	Luas kromatogram (mm^2)	Konsentrasi diosmin (mg/l)
Andosol kompos	2,408	7173	1134,20
Andosol kapur	2,417	11098	1754,90
Podsolik kapur	2,425	9009	1424,57
Andosol pasir	2,592	2726	431,05

Hasil kromatogram yang muncul pada waktu retensi sekitar 2,4 menit dibandingkan dengan standar 50 ppm maka didapat konsentrasi diosmin tanaman seledri pada media andosol kompos sebesar 1134,2 ppm sedangkan pada media andosol kapur sebesar 1754,90 ppm, pada media podsolik kapur sebesar 1424,57 ppm dan pada media andosol pasir sebesar 431,05 ppm.

Tingginya kadar diosmin seledri pada media andosol kapur merupakan respon terhadap kondisi kahat fosfor. Pada kondisi pH lebih dari 7, maka bentuk fosfor yang dominan dalam tanah adalah $H_2PO_4^{2-}$ dan PO_4^{3-}, bentuk ini diserap secara lambat oleh tanaman. Kondisi demikian disebabkan oleh senyawa kalsium yang ditambahkan dalam kapur sehingga ketersedian kalsium dalam tanah banyak, selanjutnya akan terbentuk banyak komplek kalsium-fosfat yang tidak larut dalam air, semakin tinggi pHnya maka semakin banyak fosfor yang terikat dengan Ca terutama dalam bentuk $Ca_3(PO4)_2$ (bentuk ini lebih tidak larut air) sehingga tanaman akan kekurangan fosfor (Soepardi 1983). Analisis tanah menunjukkan bahwa pH media andosol kapur adalah 7,74 dan pH media podsolik kapur 7,66 sehingga kedua media tersebut memiliki jumlah fosfor tersedia yang lebih sedikit dibanding media andosol kompos, sedangkan fosfor tersedia pada media andosol kapur lebih sedikit dibanding pada media podsolik kapur.

Respon tanaman ketika fosfor (Pi) berkurang adalah dengan memproduksi senyawa metabolit sekunder yaitu antosianin, flavonoid dan indol alkaloid dalam jumlah banyak, karena senyawa-senyawa tersebut terutama flavonoid dapat menyerap cahaya UV dari matahari, sehingga dapat mencegah kerusakan asam nukleat (Plaxton 1999).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Konsentrasi diosmin tanaman seledri kering pada media andosol kapur adalah 1754,90 ppm, pada media podsolik kapur adalah 1424,57 ppm, pada media andosol kompos adalah 1134,2 ppm dan pada media andosol pasir adalah 431,05 ppm. Sehingga media tumbuh terbaik yang menghasilkan konsentrasi diosmin terbesar adalah andosol kapur.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui taraf kekurangan fosfor yang dapat meningkatkan produksi diosmin tanaman seledri.

DAFTAR PUSTAKA

Braitwhait dan Smit FJ. 1996. Chromatographic methode. Fifth edition. Kluwer academic publishers

Chan A. 1991. Penampilan galur-galur kedelai hasil silang diallel terhadap ketenggangan keracunan alumunium dan kekeringan. [desertasi]. Padang: Pendidikan Pascasarjana. Universitas Andalas,

Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 2.* Jakarta: Trubus Agriwijaya.

Departemen Kesehatan. 1995. *Materia Medika Indonesia* VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

El-Shafae AM, El-Domiaty M. 2001. Improved LC methode for determination of diosmin and/or hesperidin in plant extract and pharmaceutical formulation. *Pharm And Biomed. Anal. 26: 539-545.*

Fitriyeni S. 2003. Pemisahan flavonoid dari daun wungu (*Graptophylum pictum* (L.) Griff). [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Harbone JB. 1996. *Metode Fitokimia*. Terjemahan K. Pandmawinata dan L. Soediro. Bandung: ITB.

Heldt HW. 1997. *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. New York: Oxford University Press.

Plaxton CW, Carswell MC. 1999. *Metabolic Aspect of the Phosphate Starvation Response in Plants*. New York: Marcel Dekker.

Slater A, Scott NW, Fowler MR. 2003. *Plant Biotechnology: the Genetic Manipulation of Plants*. New York: Oxford University Press.

Soepardi G. 1983. *Sifat dan Ciri Tanah*. Bogor: Departemen Ilmu-Ilmu Tanah Faperta IPB. Bogor