

**ZAT PENGHAMBAT PERTUMBUHAN, METIL FEOFORBIDA B
DARI BIJI PETIR (*Parkia intermedia Hassk*)**

Ace Tatang Hidayat, Unang Supratman, Supriyatna, dan Ponis Tarigan
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Padjadjaran, Jatinangor 40600

ABSTRAK

Dalam penelitian berkelanjutan terhadap kandungan zat pengatur tumbuh baru dari tumbuhan Indonesia, di peroleh hasil bahwa ekstrak metanol dari biji muda tanaman petir (*Parkia intermedia Hassk*) suku Leguminosae memiliki aktivitas pengatur tumbuh yang signifikan terhadap bioindikator padi (*Oryza sativa*) kultivar Conde. Pemisahan ekstrak metanol dilakukan melalui partisi pelarut organik dilanjutkan dengan kombinasi kolom kromatografi pada silika gel GF₂₅₄ menghasilkan suatu senyawa yang beraktivitas penghambat pertumbuhan terhadap bioindikator padi (*Oryza sativa*). Struktur kimia zat penghambat pertumbuhan diidentifikasi dengan metode spektroskopi dan diidentifikasi sebagai suatu metil feoforbida B. Metil feoforbida B menunjukkan aktivitas penghambat pertumbuhan pada konsentrasi 0,1 bpj terhadap bioindikator padi.

Kata kunci: Zat penghambat pertumbuhan, metil feoforbida B, *Parkia intermedia*, Leguminosae

**PLANT GROWTH INHIBITION AGENT, METHYL PHEOPHORBIDE B
FROM THE SEED OF PETIR (*Parkia intermedia Hassk*)**

ABSTRACT

In the course of our continuing search for novel plant growth regulator agent from Indonesian plants, the methanol extract of the young seed of petir (*Parkia intermedia Hassk*) Leguminosae family showed significant activity against *Oryza sativa* bioindicator cultivar Conde. The methanol extract was separated by sequencing solvent partition and followed by combination column chromatography on silica gel GF₂₅₄ to yield a compounds which showed inhibition activity. The chemical structure of an inhibition compound was identified by spectroscopic methods and identified as methyl pheophorbide B. That showed inhibition at 0.1 ppm.

Key words: Plant growth inhibition agent, methyl pheophorbide B, *Parkia intermedia*, Leguminosae.

PENDAHULUAN

Semakin tinggi tingkat peradaban manusia dalam pengertian pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, mendorong terhadap kebutuhan akan hasil pertanian yang lebih baik secara kualitas maupun kuantitas. Sehingga tuntutan terhadap teknik perawatan, hasil pertanian, dan berbagai aspek lainnya yang berhubungan dengan penanganan produk pertanian juga meningkat. Untuk memenuhi tuntutan tersebut dapat dilakukan berbagai teknik, salah satunya adalah penggunaan zat pengatur tumbuh dalam membantu usaha pengendalian pertumbuhan tanaman, baik yang dapat mempercepat maupun menghambat pertumbuhan (Takahashi, 1986).

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa-senyawa organik yang bukan hara, dalam konsentrasi rendah dapat mempercepat, menghambat, atau mengubah suatu proses fisiologi tumbuhan (Takahashi, 1986). Meskipun penggunaan zat pengatur tumbuh sintesis telah digunakan dalam pertanian secara luas namun pencarian zat pengatur tumbuh baru yang lebih efektif masih dilakukan, dan perhatian ditujukan dari bahan alam untuk memperoleh model zat pengatur tumbuh alami yang dapat membuka berbagai wawasan mengenai studi ke arah transformasi dan sintesis yang efektif, serta informasi ketersediaan dalam bagian tanaman yang melimpah (Mandava, 1991; Clouse and Sasse, 1998; Takahashi, 1986).

Indonesia dikenal memiliki ribuan jenis tumbuhan, dan diantaranya masih banyak yang belum diketahui kandungan kimianya. Dalam usaha peningkatan pemanfaatan kekayaan tumbuhan tersebut, perlu dilakukan berbagai langkah antara lain inventarisasi dan studi kimia terhadap tumbuhan Indonesia. Tumbuhan merupakan tempat terjadinya sintesis senyawa-senyawa organik alami yang penting. Tumbuhan suku Leguminosae adalah salah satu dari tiga suku terbesar tumbuhan berbunga (Heywood, 1971). Tumbuhan suku Leguminosae umumnya banyak menghasilkan buah berupa biji-bijian, dan belum diketahui kandungan senyawa organiknya secara menyeluruh, khususnya yang berperan terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dari hasil penelitian terdahulu dilaporkan bahwa biji-bijian tumbuhan ini mengandung berbagai jenis kelompok senyawa organik, diantaranya banyak yang bermakna bukan hanya terhadap tumbuhan itu sendiri, tetapi juga terhadap tumbuhan lain dan hewan. Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan terhadap tumbuhan Leguminosae marga *Parkia* diketahui bahwa *Parkia speciosa* Hassk (petai), *Parkia intermedia* Hassk (petir), dan *Parkia roxburghii* G. Doon (peundeuy) menunjukkan adanya kandungan zat pengatur tumbuh dan memberikan aktivitas menghambat pertumbuhan bioindikator benih padi (Hidayat, 1993).

Penelitian terhadap zat pengatur tumbuh ini sangat bermanfaat, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan zat pengatur tumbuh dalam biji *Parkia intermedia* Hassk dan mempelajari keaktifannya terhadap pertumbuhan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Pascasarjana Program Studi Ilmu Kimia, Jalan Singaperbangsa No.2 Bandung.

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas berbagai jenis pelarut organik, baik teknis maupun pro analitis, dan silika gel berbagai mesh. Bahan tanaman yang digunakan adalah biji petir (*Parkia intermedia* Hassk) yang diambil dari daerah Subang, Propinsi Jawa Barat, dan dideterminasi di Pusat penelitian dan pengembangan Biologi-LIPI/Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat. Bioindikator padi diperoleh dari Balai benih padi Sukamandi, Subang, Jawa Barat.

Alat-alat yang digunakan terdiri atas berbagai alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik, di bantu dengan alat pendukung seperti ultrasonik, *rotary evaporator*, lampu UV (256 dan 367 nm), spektrometer UV (Shimadzu UV-2100), Inframerah (Perkin Elmer FT-IR 1720), NMR (JEOL JNM 270X), *Fisher-John melting point apparatus*, dan alat-alat pendukung lainnya.

Biji muda *P. intermedia* Hassk (3,4 kg) dimaserasi dengan 5 Liter metanol 80% pada suhu kamar. Ekstrak metanol yang didapat dipekatkan dengan teknik evaporasi dan residunya dilarutkan dalam air kemudian dipartisikan dengan diklorometana. Ekstrak diklorometana dievaporasi dan ekstrak pekatnya ditampung.

Ekstrak diklorometana dipisahkan dengan kromatografi kolom terbuka pada silika gel G-60 (35-70 mesh) menggunakan perbandingan eluen (*n*-heksana-etil asetat-metanol) dengan kepolaran meningkat. Setiap fraksi yang didapat diuapkan pelarutnya pada *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Analisis kromatografi lapis tipis dan uji hayati diperlakukan pada masing-masing fraksi untuk memonitor tingkat kemurnian dan aktivitas. Fraksi-fraksi yang menunjukkan faktor retensi (R_f) yang sama dan memberikan respon fisiologis pada bioindikator padi dalam uji hayati disatukan dan selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom terbuka pada silika gel G-60 (70-230 mesh) dengan eluen yang sesuai. Masing-masing fraksi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dan dilakukan uji hayati. Fraksi dengan aktivitas tertinggi disatukan dan diharapkan senyawa aktif yang diinginkan dapat terisolasi.

Uji Hayati Zat Pengatur Tumbuh (Arigayo, 1984) Metode budidaya air

Benih padi direndam dalam 0,5% larutan natrium hipoklorit selama 10 menit, setelah itu dicuci dengan air suling dan dipindahkan ke dalam cawan petri, dimasukan ke dalam inkubator pertumbuhan bersuhu 29°C selama 48 jam untuk perkecambahan. Pada wadah berukuran 1,5x3 cm yang telah diberi kertas saring ditetaskan larutan uji, kecuali blanko tanpa larutan uji. Setelah itu pelarut dibiarkan menguap sampai kering, selanjutnya diberi kapas (untuk penahan akar tanaman setelah tumbuh), kemudian dimasukan larutan makanan (larutan nutrien) sebanyak 5 atau 10 mL pada tiap-tiap wadah. Ditanam tujuh benih padi

yang telah mulai berkecambah dengan ukuran kecambah yang sama secara teratur. Wadah dimasukkan ke dalam kamar pertumbuhan yang bersuhu 29°C, berkelembaban tinggi (mendekati 100%) dan disinari cahaya *fluorescence* (6 lampu *fluorescence*, 40 watt, *daylight*). Pengukuran dilakukan setelah enam hari penanaman kecambah padi dalam kamar pertumbuhan dan ditentukan rata-ratanya. Perbandingan panjang pelepah daun kedua tanaman yang telah diberi larutan uji terhadap blanko (dalam persen) dinyatakan sebagai keaktifan zat pengatur tumbuh dalam larutan yang diperiksa. Keaktifan ini dianggap ada apabila timbul perbedaan pertumbuhan lebih dari 10% terhadap blanko.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Biji muda *P. intermedia* Hassk sebanyak 3,4 kg dimaserasi dengan metanol 80%, dimaksudkan untuk memisahkan senyawa yang terekstraksi dengan residu padatnya. Pelarut metanol diuapkan dengan pengisat gasing vakum dibawah suhu 40°C agar komponen zat pengatur tumbuhnya tidak terdekomposisi dan diharapkan yang tersisa adalah konsentrat air. Penguapan metanol ini perlu dilakukan agar tidak mengganggu dalam tahap uji hayati, serta memudahkan pekerjaan selanjutnya dalam partisi dengan menggunakan sistem dua pelarut yaitu diklorometana dan air.

Konsentrat air yang diperoleh sebanyak 290,6 g diekstraksi dengan diklorometana untuk memisahkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti klorofil dan turunannya, dan selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya.

Fraksionasi, Pemurnian dan Penentuan Struktur

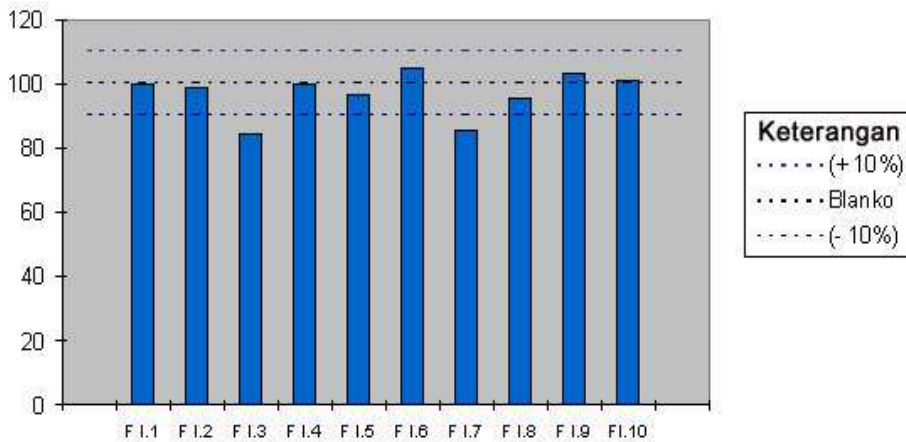
Ekstrak pekat diklorometana sebanyak 26,5 g difraksionasi dengan menggunakan kromatografi kolom terbuka pada adsorben silika gel G₆₀ (30-70 mesh) dan dielusi dengan cara bertahap menggunakan pelarut *n*-heksana-etil asetat-metanol dengan tujuan memisahkan senyawa yang ada berdasarkan tingkat kepolarannya.

Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom didapatkan sepuluh fraksi, kemudian diuapkan, di analisis pada kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol, dipandu dengan uji hayati metode budidaya air dengan menggunakan bioindikator padi kultivar Conde dalam upaya penelusuran senyawa aktif yang akan diisolasi.

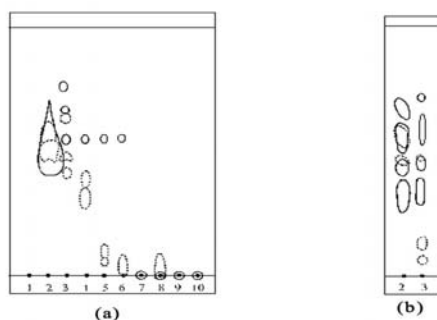
Analisis kromatografi lapis tipis pada silika gel GF₂₅₄ dan hasil uji hayati yang terlihat menunjukkan bahwa fraksi 2 dan 3 yang terelusi 20 dan 40% etil asetat dalam *n*-heksana, memiliki pola kromatogram yang sama, akan tetapi dari hasil uji hayati belum menunjukkan pengaruh yang berarti terhadap pertumbuhan bioindikator padi, hal ini disebabkan kemungkinan aksi zat pengatur tumbuh

Zat Penghambat Pertumbuhan, Metil Feoforbida B dari Biji Petir (*Parkia intermedia Hassk*) (Ace Tatang Hidayat dkk.)

dalam fraksi ini ditiadakan oleh senyawa lain karena masih berupa campuran (histogram keaktifan hasil uji hayati pada Gambar 1, dan kromatogram analisis kromatografi lapis tipis pada Gambar 2). Akan tetapi, melihat hasil analisis kromatografi lapis tipis, pola nodanya menarik untuk dipisahkan lebih lanjut, penelusuran zat pengatur tumbuh dilanjutkan terhadap fraksi ini sehingga fraksi 2 dan 3 digabungkan. Hal ini dilakukan, untuk menelusuri keberadaan zat pengatur tumbuh dalam fraksi relatif non polar. Penelusuran zat pengatur tumbuh juga dilakukan terhadap fraksi yang relatif polar yaitu fraksi yang terelusi oleh 20% metanol dalam etil asetat (fraksi 1.7), hasil uji hayati fraksi ini memberikan keaktifan menghambat bioindikator padi sebesar 86%. Fraksi 2 dan 3 (fraksi gabungan) sebanyak 5,6 g diambil 2,81 g untuk dipisahkan dengan kromatografi kolom terbuka pada silika gel G₆₀ (70-230 mesh) dengan eluen (*n*-heksana:etil asetat=7:3). Fraksi-fraksi ditampung dan yang memiliki pola kromatogram yang sama digabungkan, diuapkan dan di uji hayati.

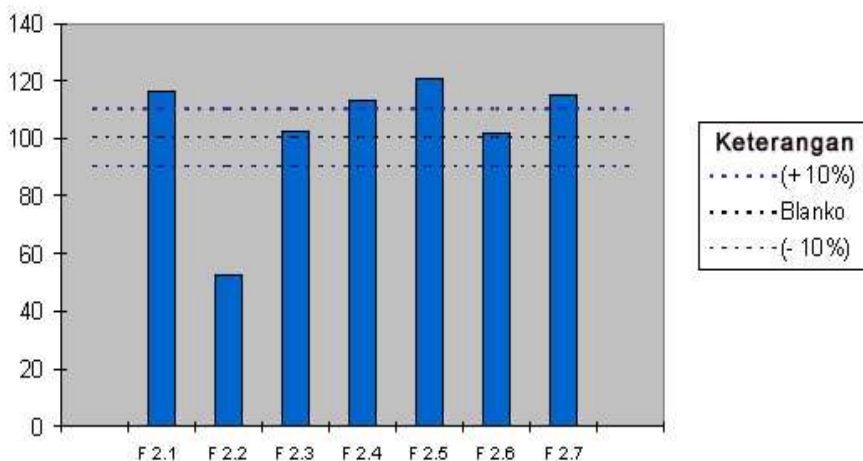


Gambar 1. Histogram keaktifan fraksi-fraksi ekstrak diklorometana hasil uji hayati metode budidaya air pada bioindikator padi kultivar Conde.



Gambar 2. (a). Kromatogram fraksi-fraksi ekstrak diklorometana (*n*-heksana:etil asetat = 1:1), dan (b). Kromatogram fraksi ke-2 dan 3 (*n*-heksana:etil asetat = 7:3).

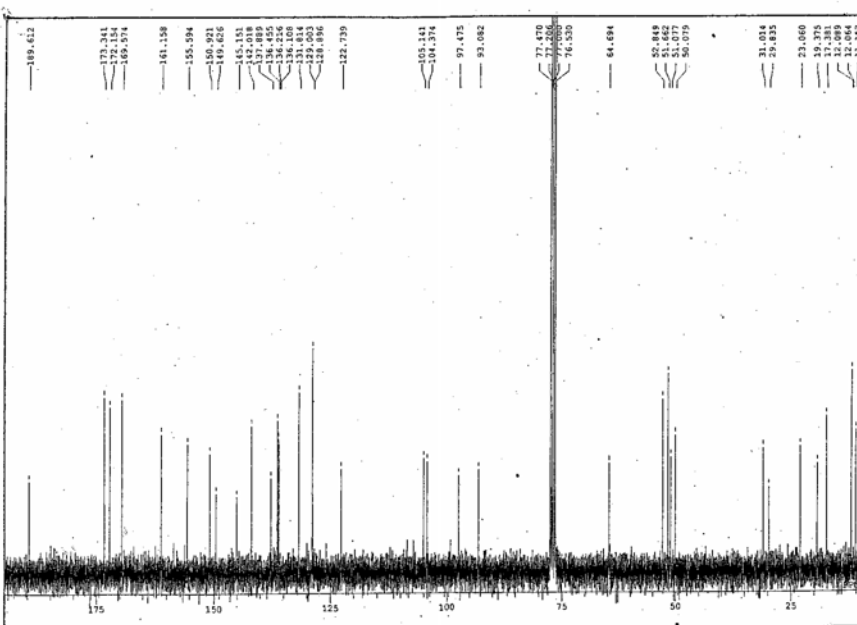
Fraksi 2.2 yang berkeaktifan sebagai penghambat pertumbuhan (histogram keaktifan hasil uji hayati pada Gambar 3) selanjutnya diuapkan dan diperoleh padatan biru sebanyak 25 mg. Selanjutnya terhadap padatan tersebut dimurnikan lebih lanjut dengan rekristalisasi dengan etil asetat menghasilkan kristal lempeng berwarna biru sebanyak 15 mg dan selanjutnya disebut Senyawa **1**. Tahap selanjutnya terhadap Senyawa **1** adalah uji kemurnian isolat yang diperoleh dengan analisis kromatografi lapis tipis pada silika gel GF₂₅₄ satu dimensi dan dua dimensi yang menunjukkan satu noda tunggal menunjukkan satu senyawa.



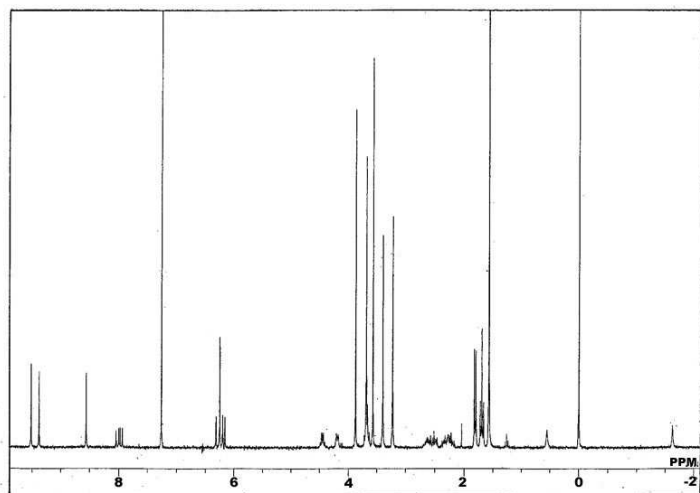
Gambar 3. Histogram keaktifan fraksi-fraksi hasil pemisahan gabungan fraksi ke-2 dan 3 hasil uji hayati metode budidaya air terhadap bioindikator padi kultivar Conde.

Zat Penghambat Pertumbuhan, Metil Feoforbida B dari Biji Petir (*Parkia intermedia Hassk*) (Ace Tatang Hidayat dkk.)

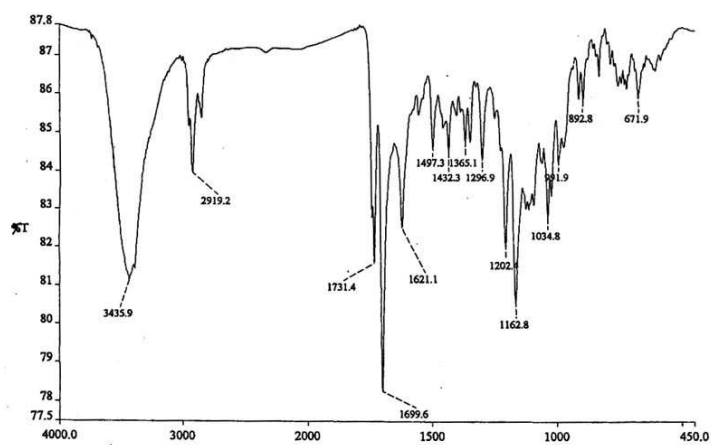
Senyawa **1**, suatu kristal lempeng berwarna biru, titik leleh 189°C (tidak terkoreksi), memiliki 36 atom karbon berdasarkan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (Gambar 4) dan 36 atom hidrogen berdasarkan spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 5). Berdasarkan spektrum inframerah (Gambar 6) senyawa **1** mengandung gugus N-H (ν 3435,9 cm^{-1}), C-H alifatik (2919,2 cm^{-1}), C=O ester (1731,4 cm^{-1}), C=O terkonyugasi (1699,6 cm^{-1}), C=C (1621,1 cm^{-1}), C-C (1497,3-1296,9 cm^{-1}), dan C-O dari gugus ester (1202,4 dan 1162,8 cm^{-1}), memberikan serapan pada spektrum ultralembayung-tampak (Gambar 7) yang khas untuk ester dan keton terkonyugasi pada λ (nm), A ; 368 (0,19), 348 (0,12), 326 (0,11), 278 (0,14), dan 203 (0,53). Berdasarkan data spektroskopi di atas senyawa **1** memiliki rumus molekul $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_4$ yang sesuai dengan 21 derajat equivalensi ikatan rangkap.



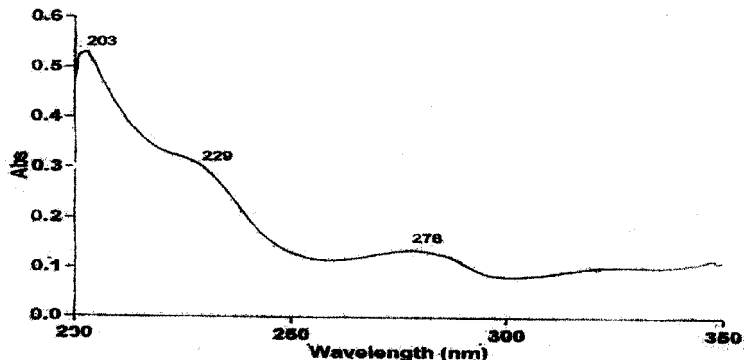
Gambar 4 Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ Senyawa **1** (62,5 MHz, dalam kloroform *d*)



Gambar 5 Spektrum ¹H-NMR Senyawa **1** (270 MHz, dalam kloroform *d*)



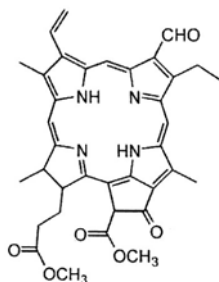
Gambar 6 Spektrum Inframerah Senyawa **1**



Gambar 7 Spektrum Ultralembayung-tampak Senyawa 1

Analisis terperinci spektra ^1H - dan ^{13}C -NMR senyawa **1** menunjukkan adanya signal-signal yang berasal dari sistem olefinik [δ_{H} 4,19 (1H, dd, $J=5,8, 2,1$ Hz), 4,48 (1H, dd, $J=5,8, 2,1$ Hz), 6,2 (3H, d, $J=1,5$ Hz), 7,9 (1H, dd, $J=11,6, 6,5$ Hz), δ_{C} 161,2, 155,6, 150,9, 149,6, 145,2, 142,1, 137,9, 136,5, 136,2, 136,1, 131,8, 129,0, 128,9, 122,7, 105,1, 104,4, 97,5, 93,1], adanya gugus aldehida [δ_{H} 8,5 (1H), δ_{C} 189,6], adanya dua karbonil ester pada δ_{C} 173,3 dan 172,2, satu karbonil keton pada δ_{C} 169,6, adanya dua gugus NH (δ_{H} 9,23 (1H, s), dan 9,45 (1H, s), dan dua gugus metoksi ester pada [δ_{H} 3,17 (3H, s), dan 3,67 (3H, s), δ_{C} 76,5 dan 64,7, menunjukkan bahwa senyawa **1** merupakan senyawa heksasiklik. Adanya kerangka heksasiklik pada senyawa **1** didukung oleh adanya signal yang berasal dari 4 gugus metil pada [δ_{H} 1,59, 3,11, 3,18, 3,56 (masing-masing 3H, s), δ_{C} 11,2, 12,0, 12,1, 17,4].

Spektrum ^1H -NMR metil feoforbida B standar identik dengan spektrum ^1H -NMR senyawa **1**, maka senyawa **1** diidentifikasi sebagai metil feoforbida B (struktur kimia pada Gambar 8). Keaktifan senyawa **1** menghambat pertumbuhan bioindikator padi kultivar Conde sangat signifikan pada konsentrasi 0,1 bagian per sejuta (bpj) sebesar 55%.



Gambar 8. Struktur kimia metil feoforbida B

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari biji muda petir (*Parkia intermedia* Hassk), telah diisolasi suatu zat yang memiliki aktivitas penghambat pertumbuhan dengan metode kromatografi dengan dipandu uji hayati terhadap bioindikator padi (*Oryza sativa*). Struktur senyawa zat penghambat pertumbuhan telah diidentifikasi dengan metode spektroskopi dan perbandingan data spektra dan diidentifikasi sebagai metil feoforbida B.

Metil feoforbida B menunjukkan aktivitas penghambat pertumbuhan terhadap bioindikator padi pada konsentrasi 0,1 bpj.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan zat pengatur tumbuh dari biji petir (*Parkia intermedia* Hassk) untuk mengungkapkan hubungan struktur dan keaktifan zat pengatur tumbuh dari tumbuhan ini serta keberartian pemanfaatannya di bidang Pertanian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Balai benih padi, Sukamandi Kabupaten Subang, Propinsi Jawa Barat atas bantuan penyediaan benih padi, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Herbarium Bogoriense, Bogor, Propinsi Jawa Barat atas bantuan determinasi tumbuhan, Prof. Dr. Hideo Hayashi, Dr. Tomoyuki Fujita, dan Dr. Kohki Akiyama, Laboratory of Natural Products Chemistry, Osaka Prefecture University, Osaka, Japan, atas bantuan pengukuran spektrum NMR dan MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Arigayo, S. 1984. *Penelusuran giberelin dalam leguminosae. Analisis giberelin bebas dan terkonyugasi dalam biji Leucaena leucocephala (LMK) De Wit. pada berbagai tahap perkembangannya*. Disertasi Doktor, Universitas Padjadjaran.
- Clouse, S.D. and J.M. Sasse. 1998. Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**, 427-451.
- Heywood, V. H. 1971. The Leguminosae-A Systematic Purview. In : J. B. Harborne, B. Boulter and B. L. Turner (Eds). *Chemotaxonomy of the Leguminosae*. Academic Press, London.

Zat Penghambat Pertumbuhan, Metil Feoforbida B dari Biji Petir (*Parkia intermedia* Hassk) (Ace Tatang Hidayat dkk.)

Hidayat, A.T. 1993. *Analisis Zat Penghambat Pertumbuhan Secara Hayati dan Kromatografi dalam Biji Parkia speciosa, Parkia intermedia, dan Parkia roxburghii*. Skripsi Sarjana Universitas Padjadjaran.

Mandava, N. B. 1991. Brassinosteroid. In: H. G. Cutler, T. Yokota and G. Adam (Eds). *Brassinosteroids : chemistry, bioactivity, and applications*. American Chemical Society, Washington DC.

Takahashi, N. 1986. *Chemistry of Plant Hormones*, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.