

**IDENTIFIKASI SENYAWA *PHYSALIN* DARI CECENDET
(*Physalis angulata* L.) SETELAH DIIRADIASI SINAR GAMMA
DENGAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI CAIR
KINERJA TINGGI FASE TERBALIK**

Duyeh Setiawan dan Yana Sumpena
Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri – Batan
Jalan Tamansari No 71 Bandung, Telp. 022-2503997,
Website : www.batan-bdg.go.id
e-mail : ayah@batan-bdg.go.id

ABSTRAK

Physalin merupakan senyawa metabolit sekunder golongan steroid yang bersifat anti kanker dapat diisolasi dari tanaman cecendet (*Physalis angulata* L.). Metabolit sekunder dalam tanaman dapat disintesis dengan cara teknik kultur jaringan menggunakan sinar radiasi gamma untuk menghasilkan bakal tanaman (*plantlet*) yang lebih baik pertumbuhannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis metabolit sekunder dari bakal tanaman cecendet hasil kultur jaringan setelah perlakuan iradiasi sinar gamma. Bakal tanaman cecendet tanpa diiradiasi dan hasil perlakuan dosis iradiasi sinar gamma 0,00, 0,22, 0,88 dan 1,54 Gy (Gray) masing-masing diekstraksi dengan pelarut kloroform, kemudian fraksi yang dihasilkan diidentifikasi dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi berdasarkan kondisi optimum kolom fasa-terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor ultra violet pada panjang gelombang 254 nm, fase gerak campuran metanol : air (28,5 : 71,5) dan laju alir 1,5 mL/menit. Kromatogram KCKT dari ekstrak bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0,00 Gy) menunjukkan beberapa puncak senyawa dengan waktu retensi 1,5; 1,8; 2,4; 2,6; 3,2; 3,7; 4,1; 5,0; 5,3; 6,5; 6,9; 10,0; 10,5; 12,2; 16,6 menit, dan kromatogram dari ekstrak bakal tanaman cecendet dengan dosis iradiasi 0,22 Gy yang paling baik adalah 1,2; 1,4; 1,8; 2,3; 2,5; 2,6; 3,0; 3,7; 3,9; 4,4; 4,6; 5,1; 9,0; 9,2; 10,0; 10,5; 11,2; 12,2 menit. Analisis dengan membandingkan terhadap standar senyawa *physalin* D yang mempunyai waktu retensi 3,7 menit dan senyawa *physalin* B dengan waktu retensi 11,2 menit, menunjukkan bahwa bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi mengandung senyawa *physalin* D sebanyak 0,65 mg/g sampel jaringan kering, sedangkan bakal tanaman cecendet dengan dosis iradiasi 0,22 Gy mengandung *physalin* D sebanyak 0,86 mg/g sampel jaringan kering dan *physalin* B sebanyak 0,26 mg/g sampel jaringan kering. Identifikasi menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma pada teknik kultur jaringan tanaman cecendet dapat meningkatkan kadar metabolit sekunder.

Kata kunci : Cecendet, *physalin*, kultur jaringan, iradiasi, KCKT

**IDENTIFICATION OF PHYSALIN FROM CECENDET (*Physalis angulata* L.)
AFTER GAMMA RAY IRRADIATION BY USING REVERSE PHASE HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

ABSTRACT

Physalin constitutes of secondary metabolite compound of steroid classified as anti cancer that can be isolated from *cecendet* plant (*Physalis angulata* L.). The secondary metabolite of the plants can be synthesized with tissue culture technique by gamma-ray radiation. The objective of this research is to identify the secondary metabolite species of the plantlet plant of *cecendet* after treatment of gamma ray irradiation. The *cecendet* plantlet clone of non irradiation and gamma ray irradiation are 0.00, 0.22, 0.88 and 1.54 Gy (Gray) dose treatments, were extracted with chloroform, then the result of fraction were identified with high performance liquid chromatography method based on optimum condition of μ -Bondapak TM C-18 reverse-phase column, ultra violet detector at 254 nm wavelength, mobil phase of methanol : waters (28.5 :71.5) mixture solution and flow rate is 1.5 mL/minutes. The HPLC chromatogram of *cecendet* plantlet clone without irradiation (0 Gy) showed some peaks of compound with retention time is 1.5, 1.8, 2.4, 2.6, 3.2, 3.7, 4.1, 5.0, 5.3, 6.5, 6.9, 10.0, 10.5, 12.2, 16.6 minutes, and the optimum condition of irradiation dose treatment (0.22 Gy) 1.2, 1.4, 1.8, 2.3, 2.5, 2.6, 3.0, 3.7, 3.9, 4.4, 4.6, 5.1, 9.0, 9.2, 10.0, 10.5, 11.2, 12.2 minutes. The comparative of analysis to physalin D compound standard which has 3.7 minutes retention time and physalin B which has 11.2 minutes, concluded that the *cecendet* plantlet clone non irradiation of physalin D compound content was 0.65 mg/g tissue dry sample, whereas the *cecendet* plantlet clone irradiation dose treatment (0.22 Gy) of physalin D was 0.86 mg/g tissue dry sample and physalin B was 0.26 mg/g tissue dry sample. Identification of sample by reverse phase high performance liquid chromatography method showed that gamma ray irradiation treatment on the tissue culture of *cecendet* plant would increase the secondary metabolit content.

Keywords : *Physalis angulata* L., physalin, tissue culture, irradiation, HPLC

PENDAHULUAN

Nama spesies *Physalis angulata* L. dikenal oleh masyarakat (daerah) adalah daun boba (Ambon), kopok-kopokan (Bali), cecendet, cecendetan, cecenet, cicendetan, cicenet (Sunda), ceplukan, ceplokan, ciplukan, ceplukan sapi (Jawa). Akar cecendet yang telah dihaluskan dapat digunakan sebagai obat cacing, sedangkan daunnya dapat digunakan sebagai salep untuk obat luka maupun penyakit kulit, ataupun air seduhan daun-daun tersebut dapat digunakan sebagai obat kencing darah bila dicampur dengan daun plantago. Di Suriname tumbuhan

cecendet dikenal sebagai obat sakit ginjal, diuretik, demam, rematik, asam urat, sakit kuning dan gangguan kandung kemih [Menendez et al., 1995]. Cecendet bagian daunnya mengandung senyawa asam klorogenat dan dari bijinya mengandung asam elaidat dapat juga digunakan sebagai obat penghilang rasa panas, rasa nyeri (analgetik) dan penetral racun (detoxifies), bisa menyembuhkan influenza, sakit tenggorokan, batuk rejan (pertusis), bronchitis, dan gondongan (parotitis) [Hembing, W., 1996]. Cecendet (*Physalis angulata* L.) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dikenal dengan nama *physalin*. *Physalin* merupakan senyawa pahit golongan steroid yang bersifat anti kanker. Senyawa *physalin* ini pertama kali diisolasi dari *Physalis alkekengi* dan diberi nama *physalin* D dari *Physalis minima*. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa dari *Physalis minima* tersebut dapat diisolasi *physalin* B, 5 β , 6 β -epoksi *physalin* B, *withaphysalin* A, *withaphysalin* B dan *withaphysalin* C. Penelitian dari daun dan batang *Physalis angulata* L., dapat diisolasi *physalin* B, E, F, G, H, I, J dan K [Sumatra, M., 1998]. Teknik kultur jaringan (*tissue culture*) merupakan cara yang efisien untuk memperbanyak tanaman dari bagian organ atau jaringan induk dalam jumlah besar, karena setiap sel memiliki tingkat differensiasi morfologis dan kimia yang sama dengan induknya. Selain untuk memperbanyak tanaman secara cepat teknik kultur jaringan ini dapat menghasilkan tanaman yang bebas patogen, memperbaiki sifat genetik dalam tanaman, pelestarian plasma nutfah dan produksi senyawa kimia tanaman untuk obat dan industri [George & Sherington., 1984]. Kultur jaringan memiliki potensi melakukan seleksi secara somaklonal, untuk mendapatkan bakal tanaman yang berkemampuan tinggi dalam menghasilkan metabolit sekunder. Melalui kultur jaringan dapat terjadi suatu variasi genetik yang berpengaruh bagi produksi metabolit sekunder, sehingga dapat dihasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak dari tanaman induk [George & Sherington., 1984; Doods & Robert., 1983; Evans, et al, 1984]. Metode iradiasi sering digunakan dalam kultur jaringan untuk memperoleh variasi fenotip yang lebih beragam dan meningkatkan metabolit sekunder. Secara genetik gangguan akibat radiasi akan menghasilkan mutan baru, kemudian dimanipulasi untuk memperoleh bakal tanaman yang baik dan memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang tinggi. Salah satu sinar radiasi yang sering digunakan sebagai mutagen fisik adalah sinar gamma yang merupakan sinar gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang pendek serta memiliki daya tembus dan kecepatan rambat yang besar [Doods & Robert., 1983; Suryandari, 2002; Lukman & Irwansyah., 1996]. Analisis senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan dapat diidentifikasi menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau *high performance liquid chromatography* (HPLC). Teknik ini efisien, sangat selektif hanya memerlukan sampel berjumlah sedikit serta dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa KCKT ini seringkali digunakan untuk identifikasi senyawa-senyawa alkaloid, fenol, terpenoid, steroid, *physalin* B, D, F yang berasal dari tumbuhan [Dixon., 1985].

BAHAN DAN METODE

Bahan dan peralatan

Bahan - bahan kimia yang digunakan adalah alkohol 90%, petroleum eter, kloroform, natrium sulfat, metanol, natrium hidroksida, silika gel, *glass wool* semua buatan E.Merck dengan kemurnian tingkat analitis. Bahan hasil kultur jaringan dari bakal tanaman cecendet (*Physalis angulata* L.) tanpa iradiasi sinar gamma (0 Gy) dan bakal tanaman cecendet hasil iradiasi sinar gamma (0,22 Gy) berupa stek akar, batang, daun dan kalus yang telah melalui pengeringan [Suryandari, A., 2002].

Peralatan yang digunakan adalah timbangan analitik buatan sartorius, *blender*, labu ukur 250 mL, erlenmeyer 500 mL, gelas kimia 1000 mL, eksikator, corong pisah 500 mL, penyaring buchner, penyaring milipore, kromatografi kolom dengan diameter tabung 20 mm dan panjang 300 mm, *evaporator*, alat ultrasonik, dan seperangkat alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) buatan Waters Associates Model 441.

Tahapan preparasi sampel secara umum

(1). Penentuan dosis dan perlakuan iradiasi

Kalus dari tanaman cecendet ditempatkan dalam fasilitas iradiator sebagai sumber sinar gamma menggunakan radioisotop kobal-60 (^{60}Co). Besar dosis iradiasi ditentukan berdasarkan waktu pada jarak 10 cm dari sumber radiasi. Waktu iradiasi untuk perlakuan dosis sebesar 0,22, 0,88 dan 1,54 Gray berturut-turut adalah 40, 160, 320 menit. Selanjutnya kalus yang telah diiradiasi diperbanyak dengan teknik kultur jaringan dalam media *Murashige dan Skoog* (MS) ditambah gibberalic acid (giberalin) 0,1 mg/L, asam pantotenat kalsium 2 mg/L dan air kelapa 100 mL/L. Kemudian setelah lima minggu bakal tanaman dipanen, selanjutnya dikeringkan dalam oven pada temperatur 100 °C dan disimpan dalam desikator untuk diidentifikasi.

(2). Ekstraksi

Masing-masing sebanyak 50 gram sampel bakal tanaman kering (akar, batang, daun dan kalus) tanpa diiradiasi dan hasil iradiasi dipotong-potong lalu direndam dengan 700 mL etanol 90% selama 24 jam dalam gelas kimia 1000 mL yang tertutup. Kemudian diblender selama dua menit dan ekstrak berwarna hijau yang diperoleh disaring dengan menggunakan penyaring *buchner*. Kemudian ekstrak diuapkan dengan menggunakan *evaporator* pada penangas air suhu 50°C sampai diperoleh larutan kurang lebih tersisa 150 mL. Kemudian larutan tersebut ditambah 150 mL aquades dan diekstraksi dengan 100 mL petroleum eter dalam erlenmeyer tertutup dan dikocok dengan menggunakan *evapo-mix*. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam corong pisah, fasa etanol-air ditampung dan diekstrak dengan 100 mL kloroform. Selanjutnya ekstrak kloroform diuapkan dengan menggunakan *evaporator* sampai terbentuk cairan kental berwarna hijau kecoklatan dengan tersisa volume 50 mL.

(3). Pembuatan kromatografi kolom

Disiapkan kolom kromatografi dengan diameter 20 mm, panjang 300 mm dan ujung bagian bawah terdapat *glass masir*. Kolom tersebut dipasang pada statif. Kemudian sebanyak 10 gram silika gel direndam dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 200 mL dalam beaker glass 250 mL dan diaduk dengan baik. Silika gel dipindahkan ke dalam kolom sampai semua silika gel tersusun rapi, dijaga agar kolom silika gel selalu terendam pelarut etil asetat. Setelah silika gel tersusun rapi, dimasukkan *glass wool* secukupnya pada bagian atas silika gel, kemudian dikondisikan kolom dengan cara mengalirkan pelarut etil asetat dengan kecepatan 5 mL per menit.

(4). Pemisahan komponen

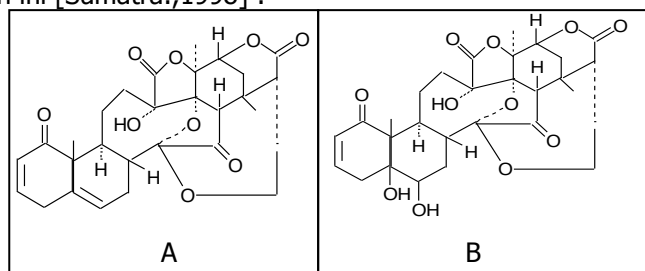
Ekstrak sampel dan pelarut etil asetat dicampurkan dengan perbandingan 1:1 (v/v) dalam beaker glass 250 mL (50 mL sampel ditambah 50 mL etil asetat), kemudian dimasukkan ke dalam kolom silika gel (item 2) dengan bantuan batang pengaduk. Eluat ditampung menjadi tujuh bagian fraksi dengan masing-masing 10 mL dalam botol vial tertutup, selanjutnya masing-masing fraksi yang mengandung senyawa metabolit sekunder *physalin* diuapkan dengan menggunakan *evaporator* sampai diperoleh residu.

Identifikasi jenis *physalin* dengan KCKT

Masing-masing residu dilarutkan dalam pelarut metanol khusus untuk KCKT sebanyak 1 mL, kemudian disaring menggunakan milipore 0,22 μ m. Sebanyak 20 μ L diinjeksikan kedalam alat KCKT dengan kondisi : Kolom = μ Bondapak TM C 18, pelarut = campuran metanol : air (28,5 : 71,5), kecepatan alir pelarut = 1,5 mL/menit, detektor / panjang gelombang UV = 254 nm, sensitivitas = 0,1 AUFS, kecepatan kertas = 0,5 cm/menit, volume injeksi = 20 μ L.

HASIL DAN PEMBAHASAN

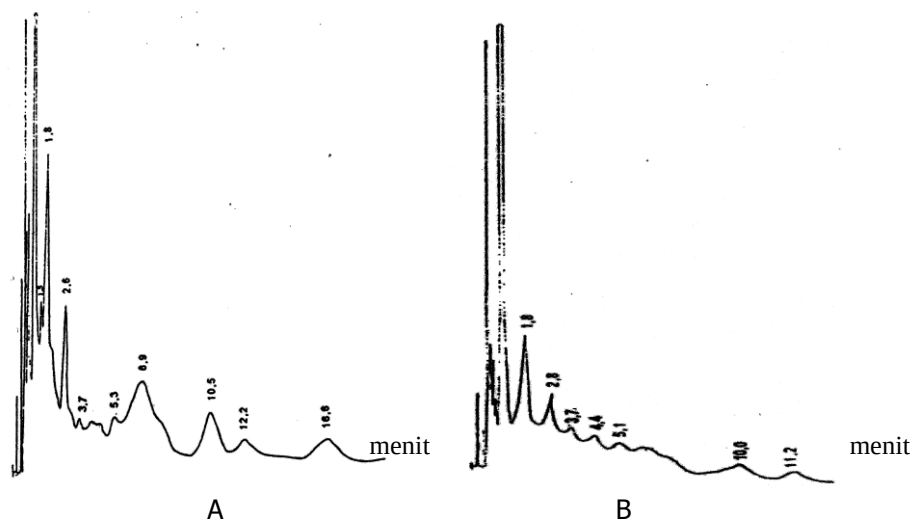
Hasil identifikasi menunjukkan bahwa dari *physalis angulata* L dapat diisolasi physalin B dan D serta senyawa lain yang belum diketahui. Struktur molekul dari senyawa physalin B dan D telah ditetapkan seperti yang diusulkan pada Gambar 1 dibawah ini [Sumatra.,1998] :



Gambar 1. Struktur molekul senyawa physalin B (A) dan physalin D (B)

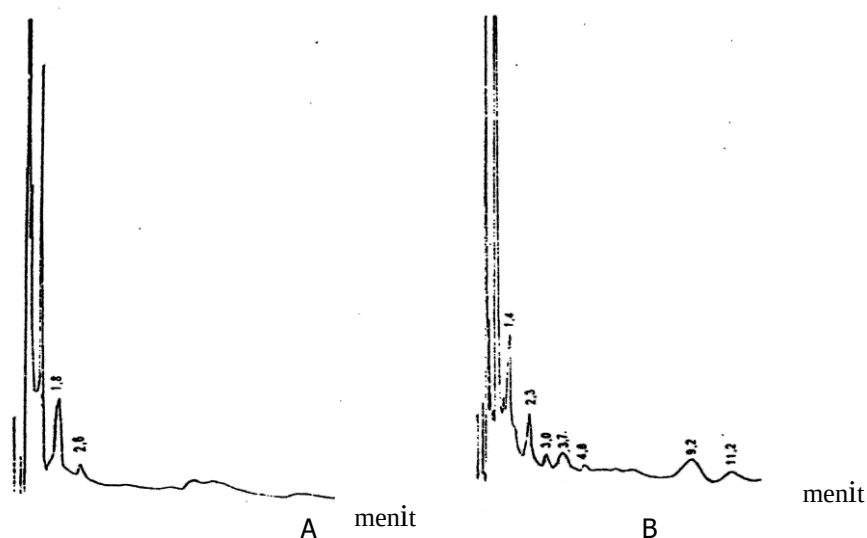
Senyawa *physalin* diperoleh sebagai serbuk tidak berwarna mempunyai rumus molekul yang memperlihatkan adanya gugus eter (-C-O-C-), cincin benzen dan cincin furan serta gugus hidroksil dan gugus lainnya yang mengindikasikan bahwa senyawa mengandung struktur steroid.

Identifikasi jenis *physalin* dengan KCKT diperoleh kondisi yang dicapai untuk pemisahan campuran senyawa metabolit sekunder adalah data berupa kromatogram yang menunjukkan waktu retensi dari setiap puncak senyawa yang terkandung dalam sampel. Kromatogram masing-masing fraksi dari sampel seperti Gambar 2 :



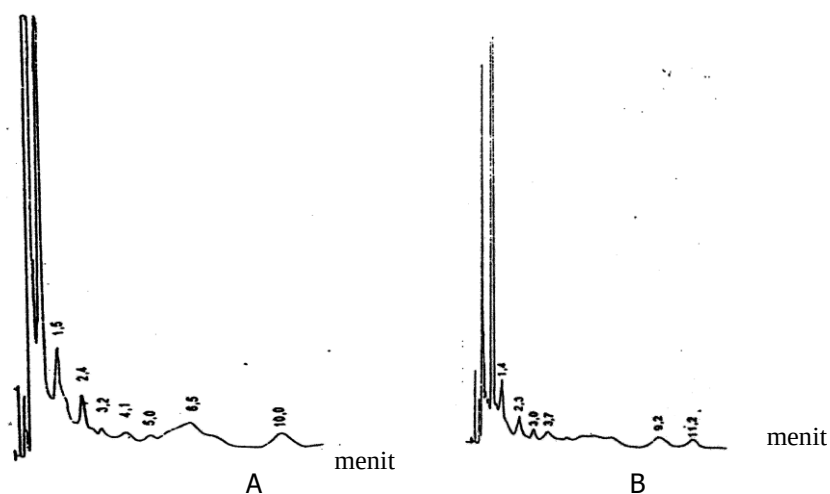
Gambar 2.1.A. Kromatogram dari fraksi 1 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.1.B. Kromatogram dari fraksi 1 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



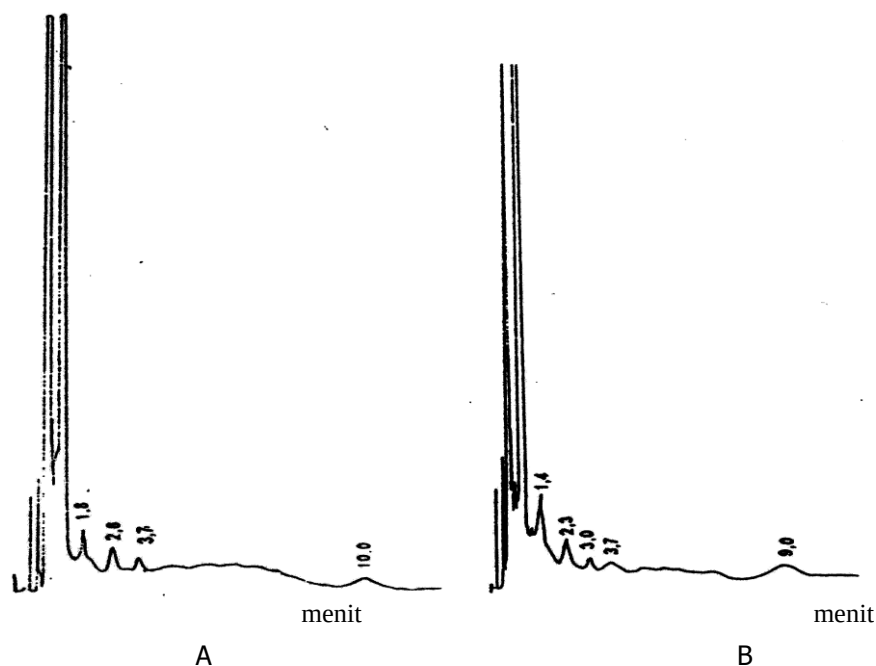
Gambar 2.2.A. Kromatogram dari fraksi 2 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa iradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.2.B. Kromatogram dari fraksi 2 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan iradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



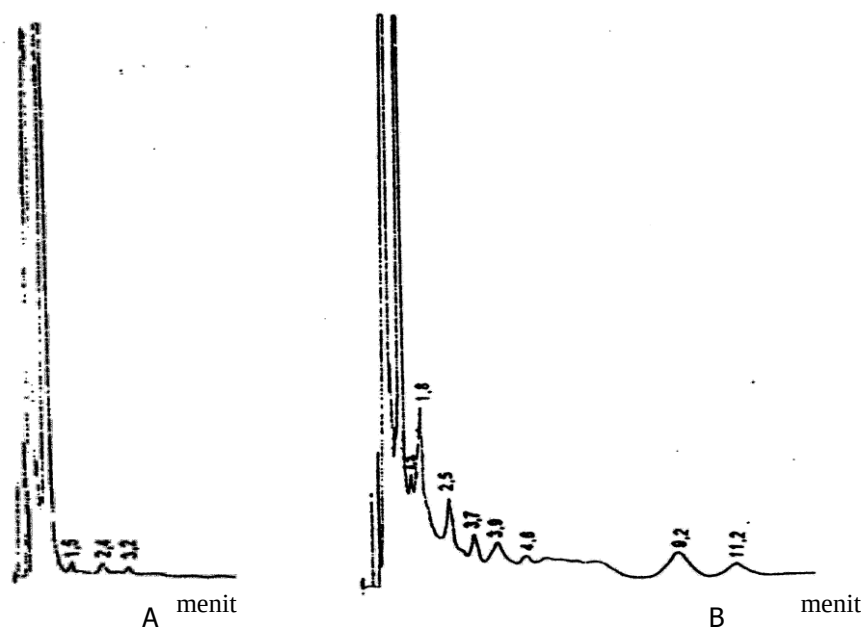
Gambar 2.3.A. Kromatogram dari fraksi 3 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.3.B. Kromatogram dari fraksi 3 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



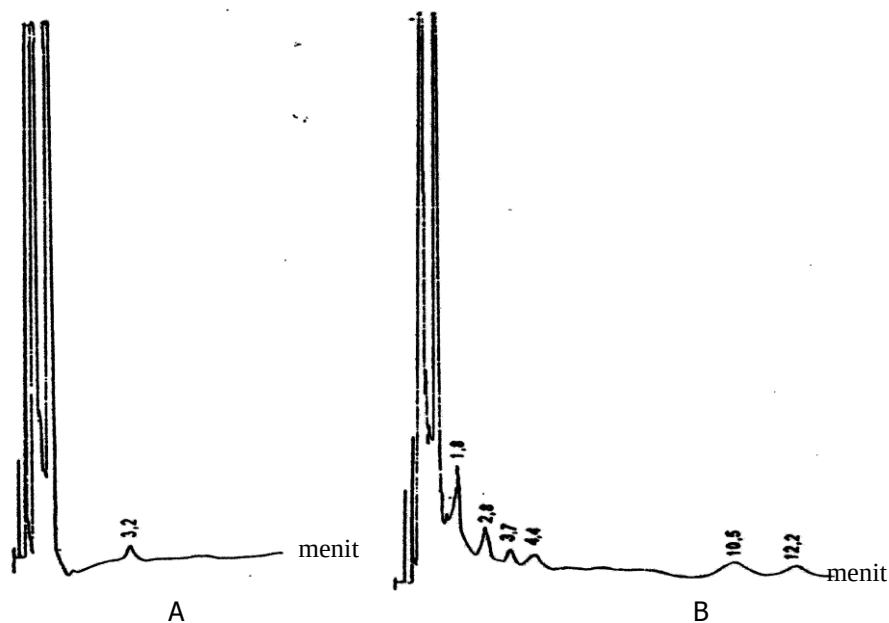
Gambar 2.4.A. Kromatogram dari fraksi 4 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.4.B. Kromatogram dari fraksi 4 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



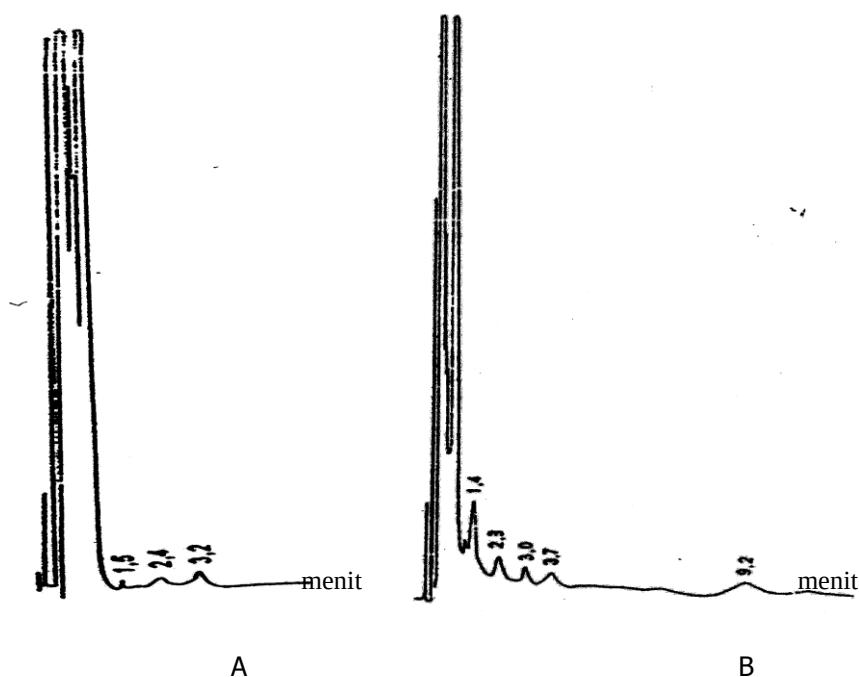
Gambar 2.5.A. Kromatogram dari fraksi 5 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.5.B. Kromatogram dari fraksi 5 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



Gambar 2.6.A. Kromatogram dari fraksi 6 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.6.B. Kromatogram dari fraksi 6 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.



Gambar 2.7.A. Kromatogram dari fraksi 7 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) tanpa irradiasi (0 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Gambar 2.7.B. Kromatogram dari fraksi 7 (hasil pemurnian kromatografi kolom silika gel) dengan irradiasi (0,22 Gy). Pada kondisi KCKT : Kolom fasa terbalik μ -Bondapak TM C-18, detektor UV 254 nm, pelarut metanol : air (28,5 : 71,5), laju alir 1,5 mL/menit, sensitivitas 0,1 AUF, kecepatan kertas 0,5 cm/menit, injeksi 20 μ L.

Dari kromatogram-kromatogram tersebut diatas diperoleh data jumlah puncak masing-masing fraksi berdasarkan waktu retensinya seperti dirangkum dalam Tabel 1 :

Identifikasi Senyawa *Physalin* dari Cecendet (*Physalis angulata* L.) Setelah Diiradiasi Sinar Gamma dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik (Duyeh Setiawan dan Yana Sumpena)

Tabel 1. Waktu retensi dan jumlah puncak yang terbentuk dari fraksi bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0 Gy) dan iradiasi (0,22 Gy).

Sampel	No. fraksi	Waktu retensi	Jumlah puncak
Bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0 Gy)	1.	1,5; 1,8; 2,6; 3,7; 5,3; 6,9; 10,5; 12,2; 16,6	9
	2.	1,8; 2,6	2
	3.	1,5; 2,4; 3,2; 4,1; 5,0; 6,5; 10,0	7
	4.	1,8; 2,6; 3,7; 10,0	4
	5.	1,5; 2,4; 3,2	3
	6.	3,2	1
	7.	1,5; 2,4; 3,2	3
Bakal tanaman cecendet hasil iradiasi (0,22 Gy)	1.	1,8; 2,8; 3,7; 4,3; 5,1; 10,0; 11,2	7
	2.	1,4; 2,3; 3,0; 3,7; 4,6; 9,2; 11,2	7
	3.	1,4; 2,3; 3,0; 3,7; 9,2; 11,2	6
	4.	1,4; 2,3; 3,0; 3,7; 9,0	5
	5.	1,2; 1,8; 2,5; 3,7; 3,9; 4,6; 9,2; 11,2	8
	6.	1,8; 2,8; 3,7; 4,4; 10,5; 12,2	6
	7.	1,4; 2,3; 3,0; 3,7; 9,2	5

Hasil identifikasi menurut data Tabel 1 kemudian dibandingkan terhadap standar metabolit sekunder senyawa *physalin* D dan *physalin* B, yaitu berdasarkan waktu retensi seperti dirangkum dalam Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Waktu retensi standar physalin D dan B, sampel tanpa iradiasi (0 Gy) dan iradiasi (0,22 Gy).

Waktu retensi (menit)	Sampel		
	Standar *)	Tanpa iradiasi (0 Gy)	Iradiasi (0,22 Gy)
1,2	-	-	√
1,4	-	-	√
1,5	-	√	-
1,8	-	√	√
2,3	-	-	√
2,4	-	√	-
2,5	-	-	√
2,6	-	√	-
2,8	-	-	√
3,0	-	-	√
3,2	-	√	-
3,7 (<i>Physalin D</i>)	√	√	√
3,9	-	-	√
4,1	-	√	-
4,4	-	-	√
4,6	-	-	√
5,0	-	√	-
5,1	-	-	√
5,3	-	√	-
6,5	-	√	-
6,9	-	√	-
9,0	-	-	√
9,2	-	-	√
10,0	-	√	√
10,5	-	√	√
11,2 (<i>Physalin B</i>)	√	-	√
12,2	-	√	√
16,6	-	√	-

*) Sumber : Sumatra, M.,1998, Beberapa senyawa penghambat pertumbuhan sel leukemia dari physalis minima L, Tesis, Program Pascasarjana-ITB (1998).

Tabel 2 menunjukkan waktu retensi dari fraksi 1 sampai 7 ekstrak bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0 Gy) sebanyak 15 jenis senyawa dengan waktu retensi masing-masing 1,5; 1,8; 2,4; 2,6; 3,2; 3,7; 4,1; 5,0; 5,3; 6,5; 6,9; 10,0; 10,5; 12,2; 16,6 menit, sedangkan pada ekstrak bakal tanaman cecendet perlakuan iradiasi (0,22 Gy) sebanyak 18 jenis senyawa dengan masing-masing waktu retensi 1,2; 1,4; 1,8; 2,3; 2,5; 2,6; 3,0; 3,7; 3,9; 4,4; 4,6; 5,1; 9,0; 9,2; 10,0; 10,5; 11,2; 12,2 menit.

Hasil analisis metabolit sekunder untuk senyawa *physalin* D standar diketahui waktu retensi 3,7 menit dan senyawa *physalin* B standar 11,2 menit. Data Tabel 2 menunjukkan bahwa pada bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0 Gy) ditemukan senyawa yang terpisah dengan waktu retensi 3,7 menit, maka senyawa tersebut ditentukan sebagai senyawa metabolit sekunder senyawa *physalin* D. Sedangkan pada bakal tanaman cecendet hasil iradiasi (0,22 Gy), selain ditemukan senyawa *physalin* D, juga ditemukan senyawa *physalin* B dengan waktu retensi 11,2 menit. Hal tersebut terjadi karena iradiasi diketahui dapat mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder pada kultur jaringan. Selain itu iradiasi dapat menimbulkan perubahan yang terkadang tidak dapat diamati secara visual, namun dapat diketahui antara lain dengan analisis aktivitas biosintesis.

Selain *physalin* B dan *physalin* D, terdapat beberapa jenis senyawa yang belum diketahui dari bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi (0 Gy) yang memiliki waktu retensi yang sama dengan jenis senyawa dari bakal tanaman cecendet iradiasi (0,22 Gy) yaitu 1,8; 10; 10,5; dan 12,2 menit. Oleh karena standar yang ada hanya *physalin* B dan D, maka senyawa lain yang memiliki waktu retensi yang berbeda belum dapat diidentifikasi, sehingga tidak menutup kemungkinan terdapat jenis *physalin* lain atau bahkan senyawa lain yang bukan termasuk *physalin*, mengingat bahwa tanaman cecendet tidak hanya mengandung senyawa *physalin*.

KESIMPULAN

Identifikasi senyawa metabolit sekunder *physalin* dari bakal tanaman cecendet dengan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi, diperoleh 15 jenis senyawa untuk ekstrak bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi, sedangkan 18 jenis senyawa untuk ekstrak bakal tanaman cecendet dengan iradiasi paling baik pada dosis 0,22 Gy. Analisis dengan membandingkan terhadap standar *physalin* D yang mempunyai waktu retensi 3,7 menit dan standar *physalin* B dengan waktu retensi 11,2 menit, disimpulkan bahwa bakal tanaman cecendet tanpa iradiasi mengandung metabolit sekunder senyawa *physalin* D sebanyak 0,65 mg/g sampel jaringan kering, sedangkan bakal tanaman cecendet dengan iradiasi 0,22 Gy mengandung senyawa *physalin* D sebanyak 0,86 mg/g sampel jaringan kering dan senyawa *physalin* B sebanyak 0,26 mg/g sampel jaringan kering. Perlakuan iradiasi sinar gamma pada teknik kultur jaringan tanaman cecendet dapat meningkatkan kadar metabolit sekunder dan senyawa baru.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Saudari Astri Suryandari mahasiswi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Doods & Robert, L. W., (1983). Experiment in plant tissue culture, Cambridge : University Press.
- Dixon, R. A., (1985). Plant cell culture : a practical approach, DC IRL Press, Oxford, Washington.
- Evans, D. A., Sharp, W. R., Ammiranto, P. V., Yamada, Y., (1984). Handbook of plant cell culture techniques and application, Macmillan Publishing Co A Division of Macmillan Inc, New York, 4
- George, E. H. & Sherrington, P. D., (1984). Plant propagation by tissue culture, Handbook & Directory of Commercial Laboratories, Eversley : Exegetics Limited.
- Heming, W., (1996). Tanaman berkhasiat obat di Indonesia, Pustaka Kartini, Jakarta.
- Lukman, U. & Irwansyah., (1996). Pengaruh iradiasi neutron cepat terhadap kalus *Crysanthemum morifolium* Linn, Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi – Batan, Jakarta
- Menendez, H., Cohobon, E., Samayo, B. E., (1995). Antigonorrhea activity of plants used in guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases, Journal of Ethnopharmacol, <http://www.Altavista/Physalis.htm>.
- Sumatra, M., (1998). Beberapa senyawa penghambat pertumbuhan sel leukimia dari *physalis minima* L, Tesis, Program Pascasarjana - Institut Teknologi Bandung.
- Suryandari, A., (2002). Pengaruh iradiasi sinar gamma dan media terhadap pertumbuhan dan jenis metabolit sekunder physalin plantlet klon cecendet *Physalis angulata* L, Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA - Universitas Padjadjaran Bandung.