

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xix
INTISARI	xxi
ABSTRACT	xxiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian	6
E. Keaslian Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tinjauan Pustaka	8
1. Kepel	8
2. Flavonoid	12
3. Fitohormon	18
4. Induksi Kalus	25
5. Sintesis Senyawa Bioaktif Pada Kultur <i>in vitro</i>	28
6. Penambahan Prekursor dan Immobilisasi Sel	34
B. Landasan Teori	39
C. Hipotesis	42
III. METODE PENELITIAN	44
A. Bahan	45
B. Alat	46
C. Cara Kerja Penelitian	47
1. Penyiapan sampel	47
2. Penyiapan media.....	47
3. Sterilisasi permukaan eksplan	48
4. Induksi Kalus	49
5. Uji aktivitas antioksidan	50

6. Seleksi kalus	51
7. Kultur suspensi sel	51
8. Perlakuan penambahan prekursor naringenin	52
9. Perlakuan immobilisasi	52
10. Uji kandungan flavonoid total dan penentuan jenis flavonoid...	53
11. Uji kadar IAA dan Zeatin.....	54
12. Deteksi ekspresi gen penyandi CHS.....	55
D. Analisis Data	58
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	59
A. Induksi Kalus	59
1. Eksplan Biji Muda	59
a. Waktu tumbuh kalus dan persentase eksplan yang berkalus..	59
b. Berat basah dan berat kering kalus	64
c. Morfologi kalus	65
d. Anatomi	67
e. Deteksi Flavonoid	69
f. Kandungan Flavonoid	70
2. Eksplan Daun	72
a. Waktu tumbuh kalus dan persentase eksplan yang berkalus..	72
b. Berat basah dan berat kering kalus.....	74
c. Morfologi kalus	76
d. Anatomi	78
e. Kandungan Flavonoid	79
3. Eksplan Mesokarp	81
a. Persentase eksplan yang berkalus, waktu induksi kalus, dan berat basah kalus	81
b. Morfologi kalus	84
c. Anatomi	84
d. Kandungan Flavonoid	85
B. Aktivitas Antioksidan	87
C. Kalus Terbaik untuk Penelitian Selanjutnya	89
D. Kurva Tumbuh Kalus	90
E. Kultur Suspensi Sel	93
1. Berat Basah dan Kering.....	93
2. Deteksi Flavonoid	94
3. Kandungan Flavonoid	95
4. Keragaman Bentuk Sel	96
F. Kandungan Hormon Endogen (IAA dan Zeatin).....	101
G. Korelasi antara Produksi Flavonoid, Diferensiasi dan Hormon ..	105
H. Peningkatan Kandungan Flavonoid	106
1. Immobilisasi Sel	107
2. Penambahan Prekursor	112

J. Jenis Flavonoid yang Dihasilkan	116
K. Ekspresi Gen <i>CHALCONE SYNTHASE</i>	123
BAB V PEMBAHASAN UMUM	126
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	138
RINGKASAN	140
<i>SUMMARY</i>	147
DAFTAR PUSTAKA	154
LAMPIRAN	172

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penelitian pada kepel yang telah dilaporkan	7
Tabel 2. Penelitian <i>in vitro</i> pada famili Annonaceae	7
Tabel 3. Komposisi <i>cDNA synthesis mix</i>	56
Tabel 4. Campuran PCR untuk amplifikasi cDNA dengan primer gen <i>CHS</i> pada sel kepel	58
Tabel 5. Prosedur amplifikasi cDNA kepel dengan primer gen <i>CHS</i> .	58
Tabel 6. Efek perlakuan ZPT dan cahaya terhadap waktu tumbuh dan persentase eksplan biji muda kepel yang membentuk kalus	60
Tabel 7. Berat basah dan berat kering kalus hasil induksi kalus pada eksplan biji muda kepel dengan perlakuan ZPT dan pencahayaan pada umur 5 bulan	64
Tabel 8. Waktu tumbuh kalus dan persentase eksplan daun yang berkalus pada perlakuan ZPT dan cahaya	73
Tabel 9. Berat basah dan kering kalus umur 5 bulan dari eksplan daun kepel yang ditanam pada perlakuan ZPT dan cahaya ..	75
Tabel 10. Pengaruh picloram dan 2,4-D dalam medium MS pada persentase eksplan berkalus, waktu induks kalus dan berat basah kalus yang terbentuk dari eksplan mesokarp kepel	81
Tabel 11. Respon pertumbuhan biji muda, daun dan mesokarp kepel pada induksi kalus dengan perlakuan variasi ZPT dan kondisi pencahayaan	87
Tabel 12. Aktivitas antioksidan berbagai bagian tumbuhan kepel dan kalus dari berbagai eksplan	88
Tabel 13. Laju pertumbuhan, kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus kepel dari 3 jenis eksplan	89
Tabel 14. Pertumbuhan kultur sel dari eksplan mesokarp kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram	93
Tabel 15. Komposisi sel kepel dari eksplan mesokarp berdasarkan bentuk sel yang dipelihara pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram pada berbagai tingkatan umur	99
Tabel 16. Kandungan hormon endogen (IAA dan zeatin) pada kultur sel kepel pada berbagai tingkatan umur	103
Tabel 17. Berat basah, berat kering dan kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat pada umur 36 hari	109

Tabel 18.	Pertumbuhan dan kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin pada kultur 36 hari	115
Tabel 19.	Deteksi dari 3 jenis flavonoid (naringenin, quercetin, dan rutin) pada beberapa bagian tumbuhan dan kultur <i>in vitro</i> kepel	120
Tabel 20.	Kandungan flavonoid pada beberapa bagian tumbuhan dan kultur <i>in vitro</i> kepel	136

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan kepel	9
Gambar 2. Bagian tanaman kepel	10
Gambar 3. Struktur daun kepel	10
Gambar 4. Struktur kimia 3, 7, 3',4'-tetrahydroxy-5- methyl-flavone .	12
Gambar 5. Struktur kelas utama flavonoid	13
Gambar 6. Jalur utama biosintesis flavonoid pada tanaman	14
Gambar 7. Mekanisme transport flavonoid di dalam sel tumbuhan	17
Gambar 8. Struktur 3 auksin alami	20
Gambar 9. Mekanisme pemanjangan sel yang diinduksi oleh auksin .	22
Gambar 10. Model hipotesis aktivasi gen oleh IAA	24
Gambar 11. Mekanisme pembentukan kalus	25
Gambar 12. Induksi pembelahan oleh auksin dan sitokinin	28
Gambar 13. Bagan Alir Penelitian	43
Gambar 14. Morfologi kalus dari eksplan biji muda kepel pada perlakuan ZPT dan dengan perlakuan gelap	66
Gambar 15. Morfologi kalus dari eksplan biji muda kepel pada perlakuan ZPT dan dengan perlakuan cahaya	66
Gambar 16. Anatomi kalus eksplan biji muda kepel	68
Gambar 17. Kromatogram untuk deteksi flavonoid pada kalus kepel eksplan biji muda	69
Gambar 18. Rerata kandungan flavonoid kalus eksplan biji muda kepel pada perlakuan ZPT dan pencahayaan	70
Gambar 19. Kalus yang muncul pertama kali pada eksplan daun kepel yang ditanam pada medium dengan penambahan picloram 7,5 mg/L	76
Gambar 20. Morfologi kalus daun kepel pada perlakuan ZPT dan dengan perlakuan gelap	77
Gambar 21. Morfologi kalus eksplan daun kepel pada perlakuan ZPT dan dengan perlakuan cahaya	77
Gambar 22. Anatomi kalus dari eksplan daun kepel	78
Gambar 23. Rerata kandungan flavonoid kalus dari eksplan daun kepel pada perlakuan ZPT dan pencahayaan	79
Gambar 24. Morfologi kalus dari eksplan mesokarp pada perlakuan ZPT	84
Gambar 25. Anatomi kalus dari eksplan mesokarp kepel yang dipelihara dalam medium MS	85
Gambar 26. Kandungan flavonoid kalus dari eksplan mesokarp kepel pada medium perlakuan	85

Gambar 27.	Berat kering kalus mesokarp pada medium dengan penambahan 7,5 mg/L picloram. Biomassa tertinggi tercapai pada minggu ke 10.....	91
Gambar 28.	Kandungan flavonoid kalus mesokarp pada medium dengan penambahan 7,5 mg/L picloram	91
Gambar 29.	Kromatogram KLT untuk deteksi flavonoid pada sel kepel	95
Gambar 30.	Kandungan flavonoid kultur sel kepel pada berbagai tingkatan umur	96
Gambar 31.	Viabilitas sel kepel pada kultur sel kepel yang dipelihara dalam medium MS cair dengan penambahan 7,5 mg/L picloram yang ditunjukkan dengan pewarnaan fluorescein diacetate (FDA)	97
Gambar 32.	Keragaman bentuk sel pada kultur suspensi kepel	98
Gambar 33.	Kromatogram senyawa standar	102
Gambar 34.	Kromatogram ekstrak kultur sel kepel umur 12 hari	102
Gambar 35.	Berat basah sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	108
Gambar 36.	Berat kering sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	108
Gambar 37.	Kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	109
Gambar 38.	Immobilisasi sel kepel pada alginat	112
Gambar 39.	Berat basah kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin	113
Gambar 40.	Berat kering kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin	114
Gambar 41.	Kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin	114
Gambar 42.	Hasil HPLC senyawa standar	117
Gambar 43.	Hasil HPLC flavonoid bagian tumbuhan kepel.....	118
Gambar 44.	Hasil HPLC flavonoid kultur <i>in vitro</i> kepel.....	119
Gambar 45.	Hasil elektroforesis cDNA kepel	124

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Cara kerja pembuatan preparat melintang anatomi kalus.	173
Lampiran 2. Kurva standar perhitungan flavonoid	176
Lampiran 3. Hasil uji Duncan aktivitas antioksidan	177
Lampiran 4. Hasil uji korelasi	179



**PRODUKSI FLAVONOID DAN HORMON ENDOGEN SERTA KORELASINYA DENGAN TINGKAT
DIFERENSIASI PADA KULTUR**

KEPEL [Stelechocarpus burahol (Bl.) Hook. F. & Th.]

NOOR AINI HABIBAH, Dr. rer-nat Ari Indrianto, SU; Prof. Sukarti Moeljopawiro, Ph.D; Dr. Kumala Dewi, M.Sc.St

Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>