



**PENINGKATAN PRODUKSI FLAVONOID
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KALUS**
Stelechocarpus burahol [Blum] Hook. f. & Thomson
AKIBAT ELISITOR SUKROSA

Skripsi

disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

Program Studi Biologi

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

oleh

Abdul Rosyid Al Muhammady

4411411025

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2017

PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahawa skripsi yang berjudul "Peningkatan Produksi Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kalus *Stelechocarpus burahol* [Blum] Hook. f. & Thomson akibat Elisitor Sukrosa" disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan dosen pembimbing, sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 23 Agustus 2017



Abdul Rosyid Al Muhammady

4411411025

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

**Peningkatan Produksi Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kalus
Stelechocarpus burahol [Blum] Hook. f. & Thomson akibat Elisitor
Sukrosa**

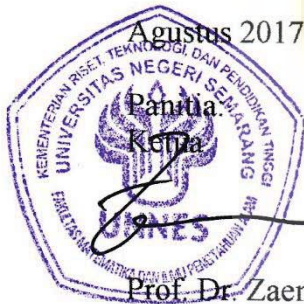
disusun oleh

Abdul Rosyid Al Muhammady

4411411025

telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 30

Agustus 2017



Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.
19641223 198803 1 001

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.
19651116 199103 2 001

Ketua Penguji

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Dr. Yustinus Ulung Anggraito, M.Si.
19640427 199003 1 003

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Dr. Noor Aini Habibah, M.Si.
19711107 199802 2 001

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si.
196009161986012001

ABSTRAK

Muhammady, Abdul Rosyid Al. 2017. Peningkatan Produksi Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kalus *Stelechocarpus burahol* [Blum] Hook. f. & Thomson akibat Elisitor Sukrosa. Dr. Noor Aini Habibah, M.Si. dan Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si.

Stelechocarpus burahol (burahol) mengandung flavonoid. Kandungan flavonoid dalam burahol jumlahnya terbatas. Ada metode untuk meningkatkan produksi flavonoid tanpa merusak tanaman induknya yaitu metode kultur jaringan melalui elisitasi menggunakan elisitor sukrosa. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus burahol serta menentukan kadar optimal penambahan elisitor sukrosa. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yaitu konsentrasi sukrosa yang terdiri dari empat taraf yaitu penambahan sukrosa 0 g/L (kontrol/S0), 25 g/L (perlakuan I/S1), 30 g/L (perlakuan II/S2), 35 g/L (perlakuan III/S3). Masing-masing taraf dilakukan dengan lima ulangan. Satu unit perlakuan merupakan satu *clump* kalus berumur 8 minggu diperlakukan pada medium *murashige and skoog* dengan penambahan kinetin 10 ppm dan 2,4-D 5 ppm serta penambahan sukrosa sesuai perlakuan selama 15 hari, kemudian diekstrak dan dianalisis kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-*Vis*. Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh nyata elisitor sukrosa terhadap produksi flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus burahol. Kandungan flavonoid terbesar diperoleh pada perlakuan penambahan sukrosa 25 g/L, yaitu 48%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi optimal sukrosa pada penelitian ini adalah 25 g/L. Aktivitas antioksidan mengalami tren meningkat pada konsentrasi sukrosa 25 g/L meskipun tidak signifikan, cenderung menurun pada konsentrasi sukrosa lebih dari 30 g/L dan menurun secara signifikan pada konsentrasi sukrosa 35 g/L. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap peningkatan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan serta konsentrasi elisitor sukrosa paling optimal adalah 25 g/L.

Kata kunci: antioksidan, burahol, flavonoid, sukrosa.

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Tugas adalah kepercayaan, kepercayaan adalah kehormatan, kehormatan segala-galanya”

PERSEMBAHAN

Kedua orang tuaku Bapak Ichsan dan Ibu Rukmana (Alm.), kakakku Chairun Nazdifan dan keluarga besarku yang senantiasa mendoakan dan menyemangatiku. Eka Kurniati yang senantiasa mendoakan dan mendampingi. Teman Satu Penelitian Kultur Jaringan Biologi Unnes, Keluarga Guslat MIPA.



PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Peningkatan Produksi Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kalus *Stelechocarpus burahol* [Blum] Hook. f. & Thomson akibat Elisitor Sukrosa”. Selama penulisan skripsi ini, penulis tidak terlepas dari bantuan, kerjasama, dan sumbangan pemikiran berbagai pihak sehingga pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan studi strata I Jurusan Biologi FMIPA UNNES.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin untuk penelitian.
3. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kemudahan administrasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Noor Aini Habibah, M.Si. dan Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. Dosen Pembimbing yang penuh kesabaran dalam memberikan motivasi, bimbingan dan arahan pada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
5. Dr. Yustinus Ulung Anggraito, M.Si. Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna untuk penyempurnaan penyusunan skripsi ini.
6. Dra. Endah Peniati, M.Si. Dosen Wali yang telah memberikan saran dan bimbingan selama penulis menjalani studi.

7. Ir. Tuti Widianti, M. Biomed. Dosen Wali yang telah memberikan saran dan bimbingan sebelum purna tugas.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis selama menjalani studi di Jurusan Biologi Unnes.
9. Mba Ria Ika Maharani, M.Si., Mba Fitri Arumsasi, M.Si. dan Mba Kartika Widyaningrum, S.Pd. dan seluruh laboran Biologi yang sudah membantu dalam penelitian di laboratorium
10. Teman satu penelitian kultur jaringan yang telah ikut serta membantu.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari kekurangan sehingga kritik maupun saran sangat penulis harapkan sebagai penyempurnaan dalam karya tulis berikutnya. Harapan penulis semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan para pembaca.

Semarang, 23 Agustus 2017

Penulis
UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN	ii
PENGESAHAN	iii
ABSTRAK	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	6
1.3.Penegasan Istilah	7
1.4.Tujuan	8
1.5.Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1.Tanaman Burahol	9
2.2.Metabolit Sekunder	11
2.3.Metode Kultur Jaringan untuk Produksi MS	18
2.4.Elisitor dan Elisitasi	20

2.5. Antioksidan dalam Metabolit Sekunder	23
2.6. Kerangka Berfikir	25
2.7. Hipotesis	26
BAB 3 METODE PENELITIAN	27
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2. Subjek Penelitian	27
3.3. Variabel Penelitian	27
3.4. Rancangan Penelitian	28
3.5. Alat dan Bahan	28
3.5.1. Alat yang Digunakan	28
3.5.2. Bahan	29
3.6. Prosedur Penelitian	30
3.6.1. Tahap Persiapan	30
3.6.2. Tahap Perlakuan	31
3.6.3. Pemanenan	31
3.6.3.1. Analisis Kuantitatif Kandungan Flavonoid	31
3.6.3.2. Uji Aktivitas Antioksidan	33
3.6.3.3. Pengambilan Data	33
3.7. Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Hasil	35
4.1.1. Analisis Kandungan Flavonoid	35
4.1.2. Aktivitas Antioksidan	36

4.2.Pembahasan	38
4.2.1. Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Kandungan Flavonoid	38
4.2.2. Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Aktivitas Antioksidan	44
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	47
5.1.Simpulan	47
5.2.Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi <i>S. burahol</i>	11
2.2 Struktur utama metabolit sekunder jenis phenolics	12
2.3 Skema pembentukan metabolit sekunder fenolat dengan jalur yang berbeda	13
2.4 Struktur utama penyusun flavonoid	13
2.5 Jalur Glikolisis	15
2.6 Pembentukan flavonoid dari phenilalanin	18
2.7 Klasifikasi elisitor	21
2.8 Macam-macam sinyal tekanan abiotik yang menyebabkan stimulasi produksi metabolit sekunder	22
2.9 Reaksi DPPH dengan antioksidan	24
2.10 Skema kerangka berfikir	25
3.1 Denah Rancangan acak lengkap	28
3.2 Beberapa alat yang digunakan dalam penelitian	29
3.3 Bahan	30
4.1 Rarata kandungan flavonoid (mg QE/g ekstrak) kalus <i>S. burahol</i> dengan variasi konsentrasi sukrosa	35
4.2 Rarata aktivitas antioksidan (%) dengan variasi konsentrasi sukrosa pada kalus <i>S. burahol</i>	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Alat yang Digunakan	28
3.2 Bahan	29
4.1 Hasil Uji Anava Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Peningkatan Kandungan Flavonoid	35
4.2 Hasil Uji LSD Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Peningkatan Kandungan Flavonoid	36
4.3 Hasil Uji Anava Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Peningkatan Aktivitas Antioksidan	37
4.4 Hasil Uji LSD Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Peningkatan Aktivitas Antioksidan	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Murasige and Skoog	53
2. Kurva Standar Kuersetin	54
3. Perhitungan Kandungan Total Senyawa Flavonoid	55
4. Kandungan Flavonoid	56
5. Serapan dan Aktivitas Antioksidan	57
6. Hasil Uji Statistik Kandungan flavonoid	58
7. Hasil Uji Statistik Aktivitas Antioksidan	59
8. Hasil Analisis Spektrofotometer UV-Vis	60
9. Dokumentasi Kegiatan	52



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sumberdaya hayati tumbuhan merupakan aset yang tidak ternilai harganya. Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya dengan sumber daya hayati tumbuhan. Tumbuhan mempunyai berbagai macam manfaat yaitu sebagai bahan makanan, obat, konstruksi bangunan dan lain lain. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat adalah burahol (*Stelechocarpus burahol* [Blume] Hook. f. & Thompson). Burahol disebut juga kepel, turalak, simpel dan cindul (Mogea *et al.*, 2001).

Burahol termasuk famili Annonaceae, dan merupakan flora asli Indonesia. Secara tradisional burahol digunakan sebagai bahan parfum, khususnya di kalangan keraton. Konsumsi buah burahol dapat membuat bau keringat menjadi wangi, bau nafas menjadi harum, bahkan dapat mengharumkan bau air seni. Kegunaan burahol yang lain adalah untuk pencegah kehamilan (kontrasepsi), peluruh kencing dan pencegah radang ginjal. Ada kelompok masyarakat yang memanfaatkan burahol sebagai buah segar, misalnya di daerah Garut bagian selatan seperti Kecamatan Pameungpeuk, dan sebagian kecil masyarakat di Yogyakarta dan Banyumas. Di Garut selatan dan Tasikmalaya selatan, tanaman burahol dapat dijumpai dalam jumlah cukup banyak di kawasan hutan lindung

seperti Leuweung Sancang, Cikalong, Cipatujah, dan Karangnunggal (Hariyanto, 2005).

Dewasa ini burahol sudah jarang ditanam karena dianggap kurang menguntungkan dibanding buah-buahan yang lain. Hal ini terutama karena burahol merupakan jenis buah yang memiliki ukuran biji cukup besar dibandingkan dengan ukuran buah seluruhnya yaitu sekitar 27%, sementara bagian buah yang dapat dimakan hanya sekitar 49% (Verheij dan Coronel, 1997). Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk meningkatkan nilai burahol adalah dengan mengungkapkan potensi atau manfaat kandungan kimiawi tanaman ini. Dengan terungkapnya potensi kimiawi tanaman burahol, diharapkan nilai ekonominya akan meningkat dan pada akhirnya akan mendorong masyarakat untuk membudidayakannya.

Burahol diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, *cyclooxygenase-2-inhibitor*, *anti-hyperuricmic*, zat sitotoksik, anti kanker, dan senyawa *phytoestrogen* yang terdapat pada daun, bunga, daging buah, biji buah, kulit buah, dan kulit batang buah burahol (Hatmi *et.al.*, 2014). Penelitian Habibah *et al.* (2016) dilaporkan bahwa kultur kalus yang berasal dari eksplan mesokarp burahol semua perlakuan menghasilkan hasil positif adanya flavonoid. Pada kultur sel burahol dari eksplan mesokarp terdapat flavonoid dengan produksi tertinggi pada hari ke 15 (Habibah *et al.*, 2017). Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam tanaman burahol tergolong tinggi yang merupakan sinergisme dari minimal enam senyawa yang terkandung di dalamnya. Hal ini terbukti dengan menurunnya

aktivitas antioksidan ketika dilakukan pemisahan lebih lanjut melalui proses fraksinasi (Tisnadjaja *et.al.*, 2006).

Flavonoid termasuk senyawa polifenol yang keberadaannya melimpah dalam makanan terutama sayuran dan buah-buahan. Flavonoid mempunyai manfaat sebagai antioksidan, anti karsinogenik, anti proliferasi, anti inflamasi dan anti estrogenik dengan sedikit bahkan dapat dikatakan tidak ada toksisitasnya. Dampaknya adalah banyak suplemen makanan atau produk herbal yang mengandung flavonoid dapat diterima secara komersial pada saat ini (Guo *et al.*, 2012). Semua isolat flavonoid pada fraksi metanol daun burahol menunjukkan aktivitas antioksidan penangkap radikal *1,1-diphenyl picryl hydrazyl* (DPPH). Hasil identifikasi menunjukkan isolat B_{4b} (isolat dari fraksi etanolik yang dipisahkan dengan kertas kromatografi dan direndam dengan metanol selanjutnya diupkan sampai kering) mengandung gugus hidroksi pada C-3, C-7, C-3', C-4' dan metil pada C-5 (Sunarni, 2007).

Flavonoid merupakan senyawa yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder tanaman. Hasil metabolisme sekunder tanaman memiliki fungsi yang berbeda yaitu sebagai perlindungan terhadap serangan hama maupun predator pemakan tanaman. Metabolit sekunder (MS) bersifat spesifik dihasilkan oleh jenis tanaman tertentu sehingga hasil produksinya berupa MS relatif kecil dan terbatas (Taiz dan Ziger, 2010). Begitu pula dengan MS yang dihasilkan oleh tanaman buahol, walaupun tergolong melimpah jika dibandingkan dengan tanaman lain, produksi MS tetap saja kecil dan perlu banyak tanaman burahol guna mencukupi kebutuhan antioksidan sebagai bahan obat.

Burahol mempunyai status kelangkaan terkikis berdasar pada standar *Laramie Rivers Conservation District* (LRCD) (Mogea *et al.*, 2001). Burahol juga termasuk dalam kategori *Conservation Depend* (CD) atau tergantung aksi konservasi yang artinya keberadaannya sulit ditemui karena telah langka (*rare*). Jika tidak dilakukan tindakan konservasi maka statusnya dapat meningkat satu tahap di atasnya yaitu rawan (*vulnerable*) (Mogea, 2001). Oleh karena itu burahol tidak dapat dieksplorasi secara besar-besaran untuk diambil metabolit sekundernya karena akan menyebabkan kepunahan. Dengan demikian perlu cara khusus untuk memanfaatkan MS tanaman burahol tanpa harus merusak tanaman itu sendiri.

Salah satu aspek yang perlu dikembangkan adalah memproduksi MS melalui kultur jaringan tanaman (Santoso, 2003). Jenis media, jenis dan konsentrasi hormon serta penambahan prokursor dalam media tumbuh merupakan faktor penentu dalam menginduksi senyawa MS. Keuntungan produksi MS melalui kultur jaringan adalah mampu memproduksi senyawa alami secara kontinyu dan reliabel (Vanisree *et al.*, 2004). Selain itu penggunaan faktor pemicu/elisitor biotik maupun abiotik dapat meningkatkan produktivitas MS dalam waktu singkat dengan menstimulasi jalur metabolik (Rao dan Ravishanker, 2002). Optimasi produksi MS juga dapat dilakukan dengan modifikasi kondisi fisik dan optimasi nutrisi media (Mulabagal dan Tsay, 2004).

Produksi MS dengan kultur jaringan pada umumnya menggunakan eksplan kalus. Kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir, pada mulanya sebagai respon terhadap pelukaan (*wounding*). Pembelahan selnya menjadi tidak

terkendali, sel-sel mengalami proliferasi yaitu membelah terus menerus dengan sangat cepat, hal ini dimungkinkan karena sel-sel tumbuhan yang secara alamiahnya bersifat *autotrof* dikondisikan menjadi *heterotrof* oleh adanya nutrisi yang cukup kompleks dan zat pengatur tumbuh di dalam medium kultur. Dengan demikian kalus lebih responsif apabila dilakukan perlakuan pada medium tumbuhnya seperti penambahan elisitor guna meningkatkan produksi MS (Naumann *et al.*, 2007). Penggunaan kalus sebagai media pengujian flavonoid lebih menguntungkan karena mempermudah dan menyederhanakan proses ekstraksi.

Sukrosa salah satu senyawa yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan produksi MS. Hal ini karena sukrosa merupakan sumber karbon sehingga digunakan sebagai bahan dalam proses metabolisme tanaman termasuk metabolisme sekunder. Sukrosa merupakan prazat pembentuk flavonoid yang berperan dalam pembentukan flavonoid melalui jalur asam shikimat dan asam malonat (Taiz dan Ziger, 2010). Flavonoid juga terbentuk karena adanya tekanan osmotik yang disebabkan oleh sukrosa. Pada penelitian Javed dan Ikram (2008), sukrosa dapat meningkatkan tekanan osmotik pada gandum (*Triticum aestivum* L.)

Aktivitas antioksidan memiliki kedinamisan bergantung kandungan flavonoid. Hal ini disebabkan karena struktur flavonoid memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan unsur reaktif pada radikal bebas. Reaksi yang terjadi antara flavonoid dengan radikal bebas menyebabkan kereaktifan radikal bebas tidak dapat menginduksi suatu penyakit.

Peran sukrosa dalam induksi MS dengan kultur jaringan telah diteliti pada beberapa tanaman. Kadar MS som jawa (*Talinum paniculatum*) meningkat setelah penambahan sumber karbon berupa sukrosa pada media kultur. Penambahan sukrosa sampai 30 gram dapat meningkatkan kadar reserpin pada kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. (Suskendriyati *et al.*, 2004). Pada hasil penelitian lain diketahui jika sukrosa ditambahkan lebih dari 30 gram akan menurunkan kadar reserpin pule pandak (Irmawati, 2007). Penelitian tentang produksi MS belum pernah dilakukan pada burahol. Dengan demikian perlu adanya penelitian terkait, guna mengetahui peningkatan flavonoid pada burahol yang berakibat pada meningkatnya aktivitas antioksidan dengan penambahan sukrosa.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Adakah pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan produksi flavonoid kalus *S. burahol*?
2. Adakah pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*?
3. Berapa kandungan sukrosa yang paling optimal untuk meningkatkan produksi flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*?

1.3. Penegasan Istilah

1. Elisitor

Elisitor merupakan bahan yang ditambahkan dalam media kultur jaringan dengan tujuan meningkatkan produksi metabolit sekunder khususnya flavonoid dan aktivitas antioksidan metabolit sekunder berupa penambahan sukrosa dengan variasi 0 gram/liter, 25 gram/liter, 30 gram/liter dan 35 gram/liter.

2. Kalus

Kalus merupakan sel yang belum mengalami diferensiasi. Pada penelitian ini kalus dihasilkan dari tangkai daun tanaman burahol diinisiasi dalam medium *Murasige and Skoog* dengan penambahan 10 ppm *2,4-Dichlorophenoxyaceticacid* (2,4-D) dan 5 ppm *6-Furfurylaminopunrine*/kinetin. Kalus yang digunakan merupakan kalus berumur 8 minggu.

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder jenis *phenolics* yang terbentuk dari jalur asam malonat dan asam shikimat.

4. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan adalah persentase pengurangan serapan larutan *1,1-diphinil pycril hidrazil* (DPPH) akibat adanya penambahan ekstrak flavonoid kalus *S. burahol*.

5. Optimal

Merupakan perlakuan penambahan sukrosa yang mengakibatkan kandungan flavonoid tinggi dan persentase antioksidan tertinggi.

1.4. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis:

1. Pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan produksi flavonoid kalus *S. burahol*.
2. Pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*.
3. Kandungan sukrosa yang paling optimal untuk meningkatkan produksi flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai dasar pengembangan antioksidan bahan obat dari tanaman *S. burahol*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Burahol

Tumbuhan kepel atau burahol (*S. burahol*) merupakan flora identitas Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY). Klasifikasi burahol menurut USDA (2007) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Magnoliales
Famili : Annonaceae
Genus : *Stelechocarpus*
Spesies : *Stelechocarpus burahol*

Burahol (*S. burahol*) termasuk salah satu jenis buah. Jenis ini merupakan salah satu famili Annonaceae, merupakan flora asli dari Indonesia. Burahol tersebar di kawasan Asia Tenggara mulai dari Malaysia, Indonesia hingga Kepulauan Solomon bahkan Australia. Di Indonesia, terutama di Jawa, burahol mulai jarang dan langka. Burahol tumbuh baik pada tanah yang subur mengandung humus dan lembab (Heriyanto, 2005).

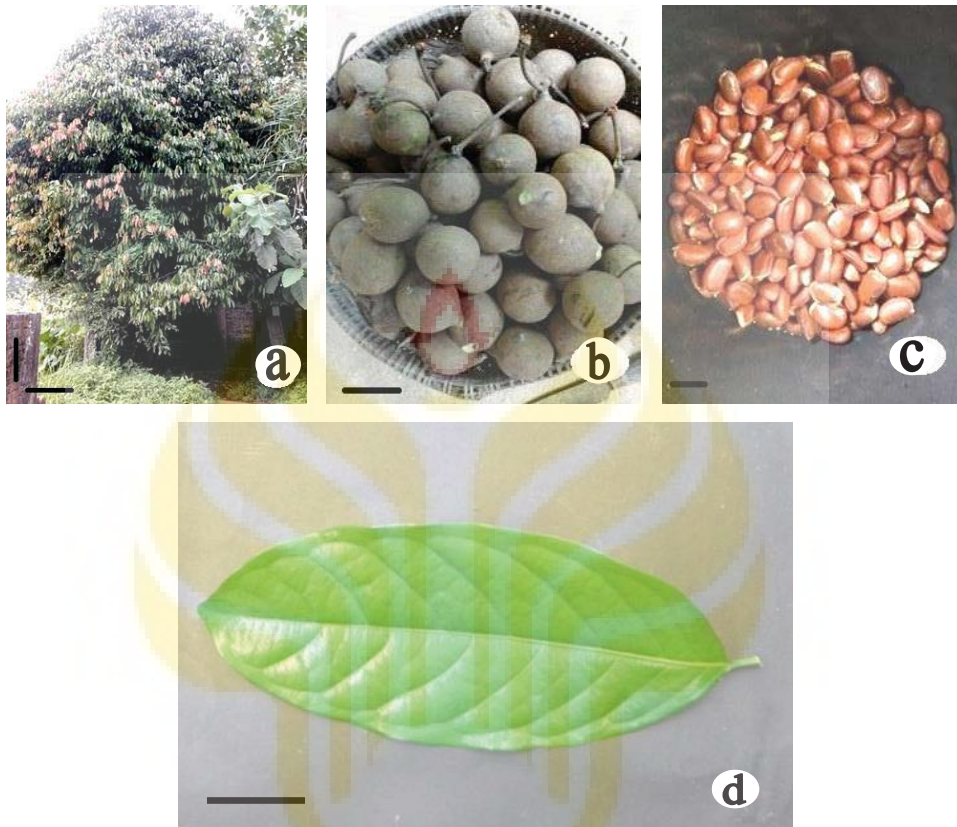
Burahol mempunyai khasiat obat karena mengandung berbagai macam bahan kimia. Wildan dan Mutiara (2010) mengatakan bahwa, daun burahol memiliki

senyawa flavonoid dengan nilai EC_{50} sebesar 27.613 $\mu\text{g/ml}$. Daun burahol memiliki kandungan flavonoid dan tanin pada sampel yang diambil dari beberapa tempat di Jawa (Karanganyar, Cilacap, Nusa Kambangan, dan Yogyakarta) sedangkan sampel yang berasal dari Karanganyar mengandung flavonoid, tanin dan steroid. *Cyclooxygenase-2 inhibitor* (COX-2) merupakan kandungan lain yang terdapat dalam daun burahol (Batubara *et al.*, 2010). Menurut Purwatiningsih dan Hakim (2011), ekstrak etanol burahol maupun ekstrak heksan memiliki potensi anti-hiperuricemic yang berfungsi sebagai penurun kadar asam urat dalam darah. Habibah *et al.* (2016) melaporkan bahwa kultur kalus yang berasal dari eksplan mesokarp burahol pada semua perlakuan menghasilkan hasil positif adanya flavonoid. Pada kultur sel burahol dari eksplan mesokarp menghasilkan flavonoid dengan produksi tertinggi pada hari ke 15 (Habibah *et al.*, 2017).

Burahol dikenal sebagai tanaman yang dapat digunakan sebagai deodoran oral. Cara pemanfaatan burahol sebagai deodoran yaitu dengan cara memakan buahnya. Penggunaan deodoran oral berkaitan dengan kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Daging buah burahol secara ilmiah memiliki potensi aktivitas farmakologis sebagai penyerap aroma kotoran dan fungsi prebiotik dalam meningkatkan pertumbuhan bifidobacteria (Darusman *et al.*, 2011).

Menurut Tisnadjaja (2006), tanaman burahol memiliki kandungan senyawa aktif antioksidan yang tinggi. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak etanol, etilasetan dan *n*-butanol dari berbagai bagian tanaman burahol memiliki hasil positif adanya aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan

dari ekstrak yang terdiri dari sekurangnya enam komponen kimia. Hal ini terjadi karena ketika mengalami pemisahan aktivitas antioksidan mengalami penurunan.



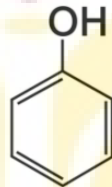
Gambar 2.1 Morfologi burahol. (a) Bentuk tajuk. Bar= 2,5 m. (b) Buah. Bar = 6 cm. (c) Biji. Bar = 3 cm. (Isnaeni dan Habibah, 2014) (d) Morfologi daun. Bar = 2 cm.

2.2. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan tanaman tetapi tidak mempunyai peranan langsung dalam proses fotosintesis, respirasi, transportasi, translokasi, sintesis protein, penyerapan nutrisi dan diferensiasi atau ikut serta dalam susunan jalur metabolit primer. Peranan utamanya untuk tumbuhan sebagai bagian dari sistem pertahanan tumbuhan dari hama atau predator. Fungsi lain sebagai perlindungan terhadap herbivora dan infeksi patogen, atraktan atau

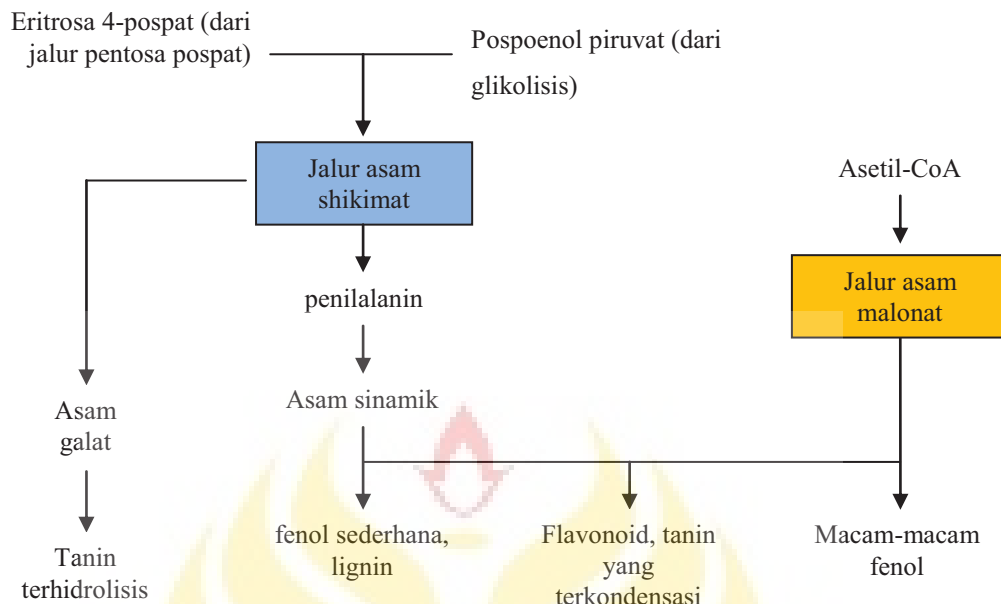
daya tarik baik warna, bau, dan rasa guna menarik serangga untuk membantu penyerbukan serta berfungsi sebagai faktor yang menunjang simbiosis tumbuhan dengan mikrobia (Taiz dan Ziger, 2010).

Flavonoid berdasarkan struktur kimianya merupakan metabolit sekunder (MS) golongan phenolics. Golongan ini merupakan jenis MS yang banyak diproduksi oleh tanaman. Ciri utamanya adalah terdapat gugus hidroksil yang berikatan dengan cincin aromatik.



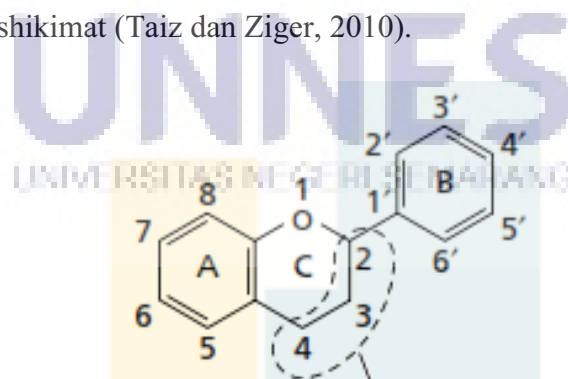
Gambar 2.2 Struktur utama metabolit sekunder jenis *phenolics* (Taiz dan Ziger, 2010).

Pembentukan MS jenis *phenolics* melibatkan dua jalur metabolisme yaitu jalur asam shikimat dan jalur asam malonat. Asam shikimat terbentuk dari senyawa eritrosa 4 fosfat dan pospoenol piruvat. Eritrosa 4 fosfat terbentuk dari jalur pentosa fosfat sedangkan pospoenol piruvat terbentuk dari jalur glikolisis (Held dan Piechulla, 2011).



Gambar 2.3 Skema pembentukan metabolit sekunder fenolat dengan jalur yang berbeda (Taiz dan Ziger, 2010)

Kedua jalur metabolisme tersebut mengambil peran masing-masing dalam penyusunan struktur utama flavonoid. Warna orange pada Gambar 2.4 menyatakan bahwa struktur tersebut berasal dari jalur asam malonat dan struktur yang diberi warna biru pada latar belakangnya merupakan struktur yang berasal dari jalur asam shikimat (Taiz dan Ziger, 2010).

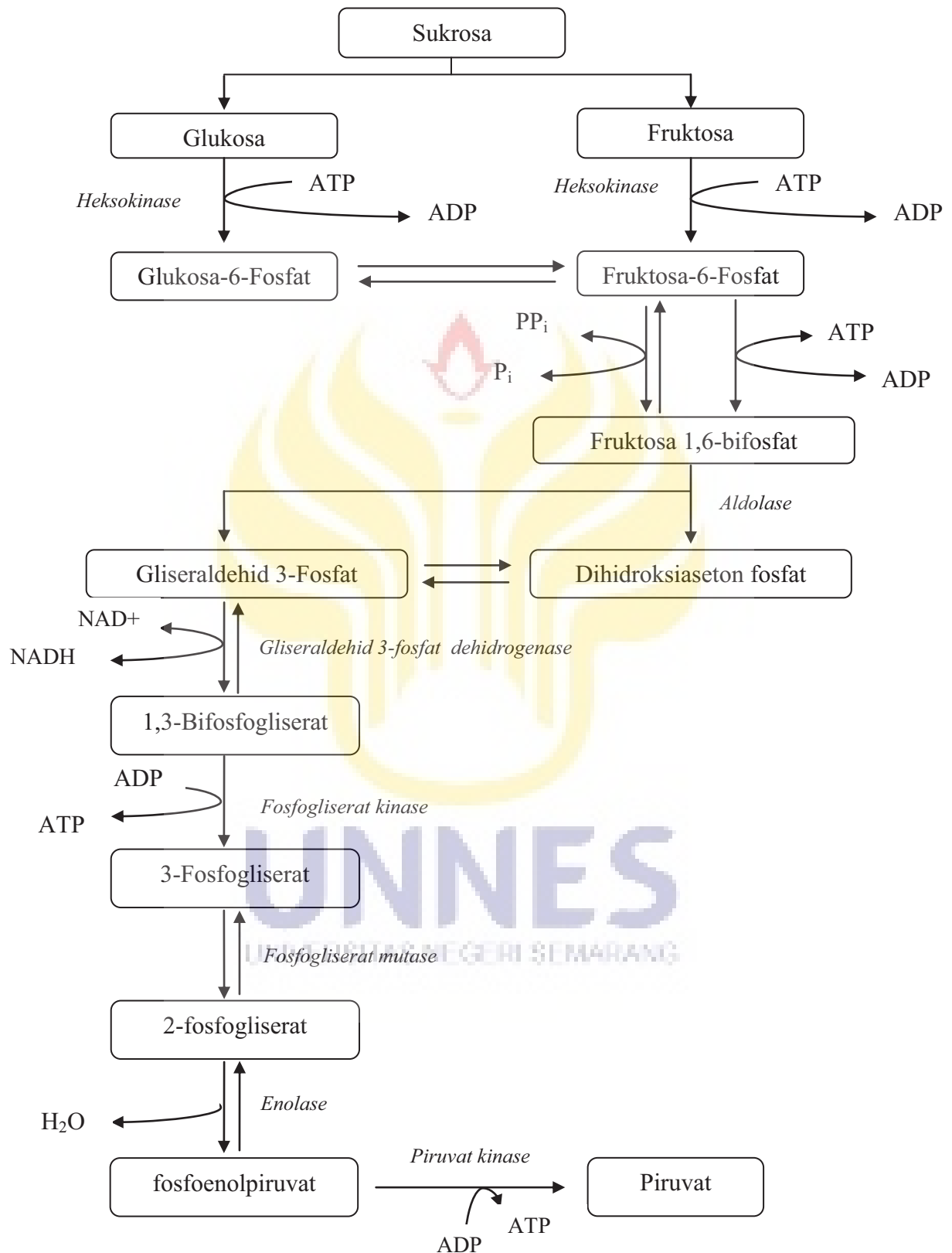


Gambar 2.4 Struktur utama penyusun flavonoid (Taiz dan Ziger, 2010)

Senyawa karbohidrat berfungsi lain apabila digunakan dalam proses pembentukan metabolit sekunder. Senyawa ini dapat menstimulasi MS dalam

jumlah besar (Pathel dan Krishnamurthy, 2013). Hal ini berkaitan dengan jalur pembentukan MS khususnya flavonoid yang termasuk golongan fenol. Jalur pembentukan melalui jalur asam shikimat berkaitan langsung dengan salah satu enzim sebagai percabangan antara metabolisme primer dengan sekunder atau sebagai titik kontrol dalam pembentukan metabolit sekunder yaitu Enzim *Penylalanine Amonia Lyase* (PAL). Enzim PAL meningkat karena faktor alam seperti level nutrisi, cahaya, dan infeksi patogen (Taiz dan Ziger, 2010).

Sukrosa sebagai salah satu bentuk karbohidrat mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder khususnya flavonoid. Monosakarida hasil hidrolisis sukrosa diubah menjadi gula terfosforilasi melalui jalur glikolisis dengan bantuan enzim heksokinase. Pembentukan metabolit sekunder menggunakan tiga komponen hasil glikolisis yaitu *Glucose 6-Phosphat*, *Phospoenolpyruvate*, dan *Pyruvate*. Ketiganya memiliki peran masing-masing dalam pembentukan metabolit sekunder fenolat khususnya flavonoid.



Gambar 2.5 Jalur Glikolisis (Held dan Piechulla, 2011).

Phosphoenolpyruvate merupakan salah satu hasil glikolisis sebagai bagian dari pembentukan flavonoid melalui jalur asam shikimat, akan tetapi diperlukan *erythrose-4-phosphate* yang merupakan hasil dari jalur pentosa fosfat untuk membentuk *phenylalanine*. Jalur pentosa fosfat mengambil gula terfosforilasi dari glikolisis berupa *glucose-6-phosphate* untuk dibentuk beberapa senyawa salah satunya membentuk *erythrose-4-phosphate*. *Glucose-6-phosphate* mengalami fase oksidasi dan fase tanpa oksidasi. Tahap pertama fase oksidasi *glucose-6-phosphate* mengalami penghilangan molekul hidrogen menjadi *6-phosphogluconolactone*. Pengkatalis dalam reaksi ini adalah enzim *glucose-6-phosphate dehidrogenase* dan merubah NADP^+ menjadi $\text{NADPH} + \text{H}^+$ dan dilanjutkan dengan pereaksi *glucolactonase* menjadi *6-phosphogluconate*. Dehidrogenasi menjadi reaksi selanjutnya merubah *6-phosphogluconate* menjadi *riboluse-5-phosphate* dengan mangasilkan NADPH , CO_2 dan H^+ dengan pengkatalis enzim *6-phosphogluconate dehidrogenase*. Selanjutnya masuk dalam fase tanpa oksidasi yaitu reaksi isomerasi pentosa fosfat *riboluse 5 phosphate* menjadi *ribose-5-phosphate* dan reaksi epimerase fosfatase menjadi *xylulose-5-phosphat*. Keduanya mengalami transketolase menjadi *glyceraldehyde-3-phosphate* dan *sedoheptulose-7-phosphate* dilanjutkan dengan reaksi tranadolase menjadi *fruktosa-6-P* dan *erythrose-4-P* (Miles, 2003).

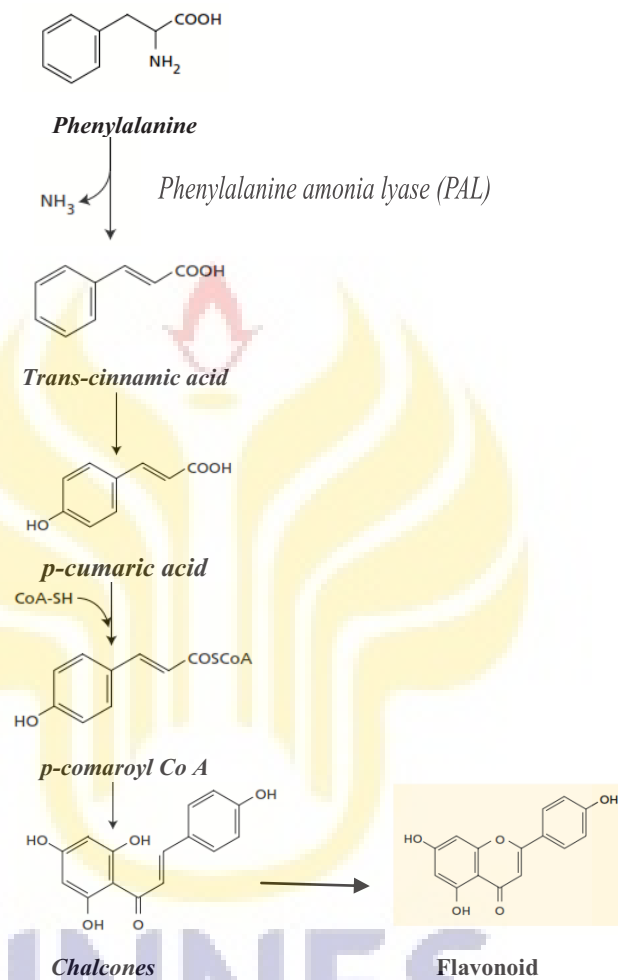
Phosphoenolpyruvate dan *erythrose-4 phosphate* masuk dalam jalur asam shikimat. Keduanya terkondensasi menjadi tujuh karbon dengan enam komponen heterosiklik berupa *3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate* (DAHP) dikatalis *3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate (DAHP) sytase*. Tahap

kedua merupakan reaksi defosforilasi dengan perubahan cincin oksigen menjadi *3-dehidroquinat* dilanjutkan dengan reaksi dehidrase menjadi *3-dehidroshikimat* dengan melepas H₂O dan dengan NADP menjadi *Shikimat*. Tahap selanjutnya enzim *shikimat kinase* dengan penambahan fosfat dari ATP menjadi *shikimat-3-phosphate*, pembentukan *5-enolpyruvylshikimat-3-phosphate*, dan sintesis *Chorismat*. *Chorismat* merupakan bahan pembentukan dari asam amino esensial yaitu penilalanin, tyrosin, dan triptofan (Herrmann, 1995).

Sebagian besar metabolit sekunder jenis fenolat, terbentuk dari turunan *phenylalanine* dengan menghilangkan molekul amin. Akan tetapi dalam pembentukannya, metabolit sekunder jenis fenolat juga membutuhkan senyawa dari reaksi jalur asam malonat. Asam piruvat dari jalur glikolisis mengalami dehidrogenasi dan penambahan Ko-A menjadi Asetil Ko-A yang digunakan sebagai senyawa dalam jalur asam malonat. Asetil Ko-A mengalami beberapa reaksi merubah Asetil-Ko-A menjadi asam lemak dan Poliketids. Poliketids menjadi komponen aromatik yang digunakan sebagai penyusun struktur flavonoid (Vickery, 1981).

Phenylalanine sebagai asam amino pembentuk struktur metabolit sekunder mengalami penghilangan molekul amin dengan dikatalis oleh enzim *phenylalanine ammonia lyase* (PAL). Reaksi tersebut memicu terbentuknya kelompok hidroksil lainnya yaitu *trans-cinnamic acid*, *p-coumaric acid* yang merupakan turunan dari komponen fenolat sederhana yang biasa disebut *phenylpropanoids* karena mengandung cincin benzen dan tiga rantai karbon. Reaksi selanjutnya dengan penambahan Ko-A-SH menjadi *p-coumarine-Co-A* dan

selanjutnya menjadi *chalcones* dengan penambahan struktur dari jalur asam malonat dan pembentukan flavonoid (Taiz dan Ziger, 2010).



Gambar 2.6 Pembentukan flavonoid dari phenilalanin (Taiz dan Ziger, 2010).

2.3. Metode Kultur Jaringan untuk Produksi MS

Penggunaan teknik kultur jaringan pada awalnya hanya untuk membuktikan teori “totipotensi” (“*total genetic potential*”) yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann yang menyatakan bahwa sel tanaman sebagai unit terkecil dapat tumbuh dan berkembang apabila dipelihara dalam kondisi yang sesuai. Saat ini

teknik kultur jaringan digunakan bukan hanya sebagai sarana untuk mempelajari aspek-aspek fisiologi dan biokimia tanaman saja, tetapi sudah berkembang menjadi metode untuk berbagai tujuan yaitu mikropropagasi (perbanyakan tanaman secara mikro), perbaikan tanaman, produksi tanaman yang bebas penyakit (virus), transformasi genetik, dan produksi senyawa metabolit sekunder (Yusnita, 2003).

Kultur sel tanaman dapat digunakan untuk memproduksi senyawa biokimia (metabolit sekunder) seperti *alkaloid*, *terpenoid*, *phenyl propanoid* dan lain lain. Teknologi ini sekarang sudah tersedia dalam skala industri. Sebagai contoh produksi secara komersial senyawa “shikonin” dari kultur sel *Lithospermum erythrorhizon* (Yusnita, 2003). Skrining jenis media yang digabungkan dengan hormon tertentu serta menambah prekursor dalam media tumbuh, merupakan faktor penentu dalam menginduksi senyawa metabolit sekunder. Keuntungan menggunakan metode ini yaitu dapat digunakan untuk memproduksi senyawa alami secara kontinyu dan reliabel (Vanisree *et al.*, 2004). Selain itu penggunaan elisitor biotik maupun abiotik untuk meningkatkan produktifitas matabolit sekunder dalam waktu singkat dengan menstimulasi jalur metabolik (Rao dan Ravishanker, 2002). Optimasi produksi MS juga dapat dilakukan dengan modifikasi kondisi fisik dan optimasi nutrisi media (Mulabagal dan Tsay, 2004)

Kultur jaringan tanaman memiliki kemampuan untuk meningkatkan produksi MS. Hal yang mempengaruhi produksi MS antara lain ekspresi sintesis senyawa MS yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan kultur. Ekspansi juga merupakan faktor yang mempengaruhi produksi MS. Bagian tanaman yang

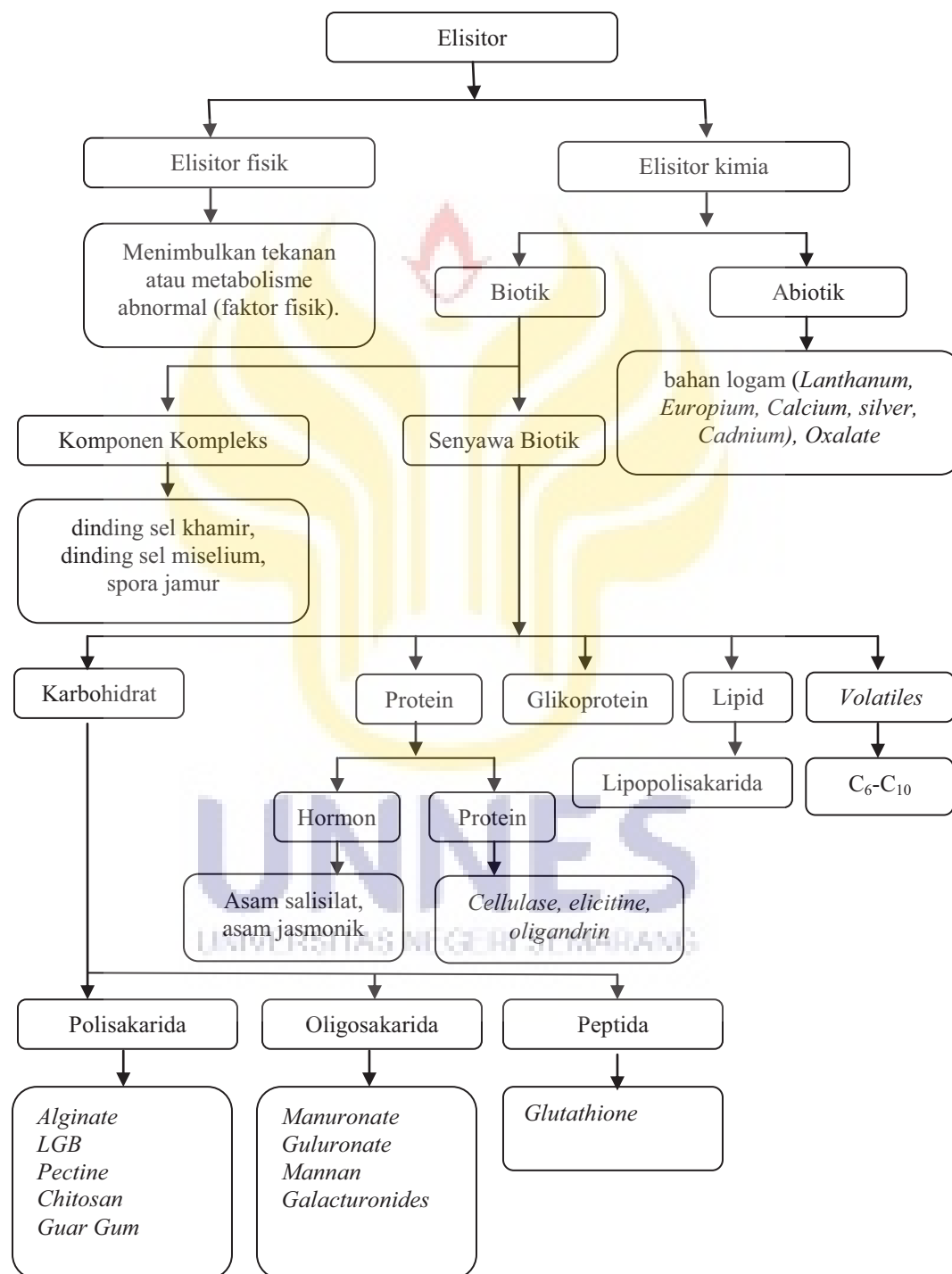
digunakan sebagai eksplan memiliki kemampuan menghasilkan MS yang berbeda. Faktor lain sebagai pengaruh produksi MS adalah faktor dalam medium yang mempengaruhi jalur pembentukan MS. *Path way* (bio sintesis) senyawa tersebut harus sudah dipahami sebelum teknik ini digunakan (Jones *et al.*, 1993).

Dengan diketahuinya faktor yang mempengaruhi terbentuknya MS maka dapat diketahui usaha-usaha untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder yaitu seleksi sel, fusi sel, penambahan elisitor, kultur akar berambut dan penambahan *inducer* (pemacu). Seleksi sel dan fusi sel berguna untuk mendapatkan lini sel hasil *clone* dengan kemampuan produksi MS tertinggi. Penambahan elisitor memiliki tujuan untuk memberikan senyawa yang dapat memberikan faktor eksternal seperti stres pada sel hasil kultur. Elisitor berperan menginduksi enzim yang terlibat dalam siklus metabolisme pembentuk MS yang umumnya adalah senyawa karbohidrat. Penambahan inducer difungsikan untuk merangsang aktivitas enzim tertentu yang terlibat dalam jalur biosintesis sehingga dapat meningkatkan produksi MS (Wink, 2010).

2.4. Elisitor dan Elisitasi

Elisitasi merupakan upaya yang dilakukan untuk menimbulkan respon tanaman atau sel tanaman secara *in vitro* untuk menghasilkan metabolit sekunder dengan cara memberikan stimulasi berupa tekanan fisik maupun kimia. Bahan yang digunakan sebagai stimulan elisitasi disebut elisitor. Elisitor mengandung komponen yang dapat menstimulasi beberapa tipe fisiologi abnormal pada tanaman meliputi *pathogen origin* (elisitor eksogen) dan komponen yang

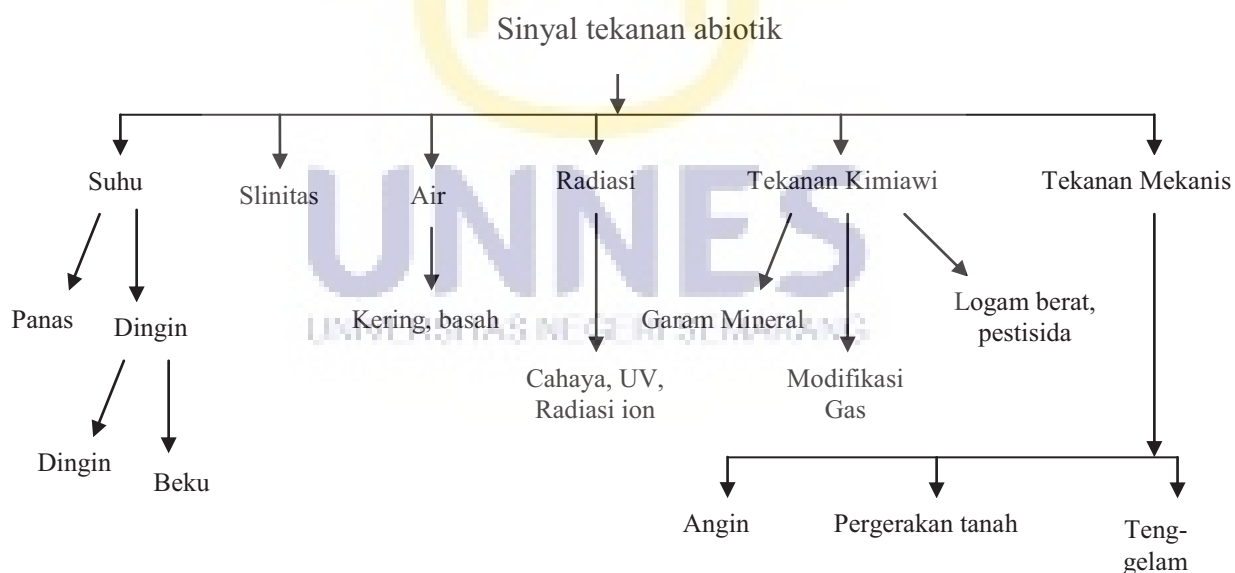
dihasilkan oleh tumbuhan karena adanya aktivitas patogen (elisitor endogen) (Pathel dan Krishnamurthy, 2013).



Gambar 2.7 Klasifikasi elisitor (Angelova *et al.*, 2006)

Elisitor diklasifikasikan berdasarkan sifat fisik dan kimia. Menurut bahan penyusunnya elisitor terbagi menjadi dua tipe yaitu biotik dan abiotik. Elisitor biotik memiliki *biological origin*, merupakan turunan dari patogen atau tumbuhan itu sendiri sedangkan elisitor abiotik tidak terdapat *biological origin* dan merupakan faktor fisik dan kimia. Elisitor biotik pertama kali ditemukan pada tahun 1968 (Radman *et al.*, 2003).

Hormon tanaman termasuk dalam elisitor. Hormon tanaman seperti asam salisilat (AS) dan asam jasmonik (AJ) memiliki kunci sinyal untuk mengaktifkan ekspresi gen. AS diregulasi oleh resistensi tumbuhan terhadap patogen, yang meliputi bakteri, jamur dan virus. AJ diatur oleh produksi protein oleh jalur *octadekanoid*. Jalur biokimia AS dan AJ dapat digunakan pada proses elisitasi tumbuhan maupun sel tumbuhan secara *in vitro*.



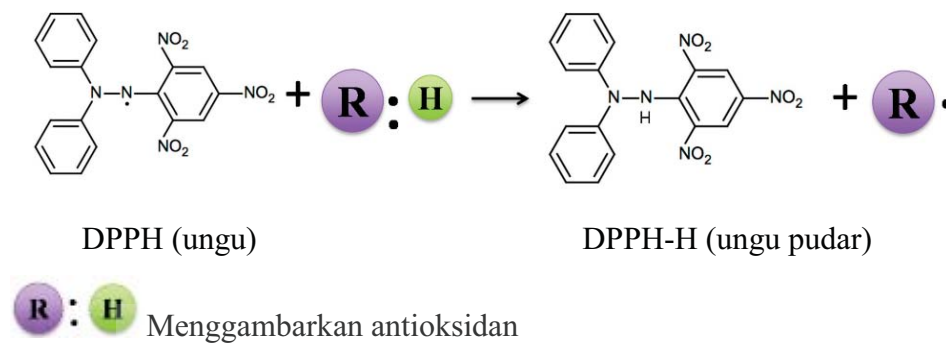
Gambar 2.8 Macam-macam sinyal tekanan abiotik yang menyebabkan stimulasi produksi metabolit sekunder (Akula dan Ravishankar, 2011).

Senyawa yang biasa ditambahkan dalam kultur jaringan adalah senyawa karbohidrat. Penambahan senyawa karbohidrat dapat merubah level nutrisi pada media dalam kultur jaringan. Hal ini dapat berimbas pada aktifnya enzim *phenylalanine amonia lyase* sebagai titik kontrol pembentukan MS (Wink, 2010).

2.5. Antioksidan dalam Metabolit Sekunder

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya secara terus menerus. Apabila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, dan penuaan dini. Oleh karena itu tubuh memerlukan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Astuti, 2008).

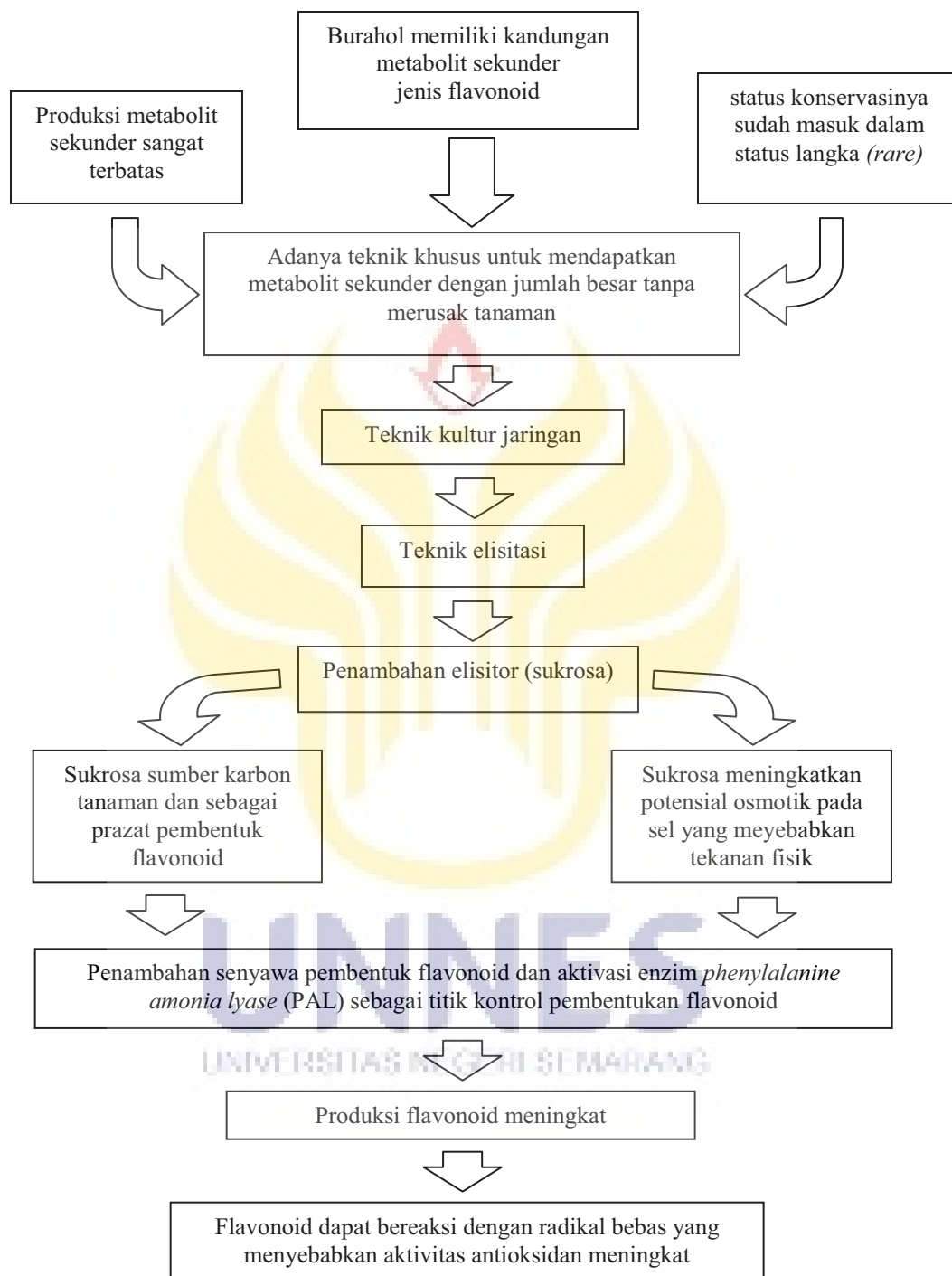
Proses pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode. Salah satu metode yang digunakan adalah uji DPPH (*1,1-diphinil pycril hidrazil*). DPPH merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{\max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH akan tereduksi dan perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan dihitung presentase konsentrasi (Reynertson, 2007). Reaksi DPPH dapat digambarkan seperti pada Gambar 2.8.



Gambar 2.9 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Reynertson, 2007)

Sejumlah penelitian pada tanaman obat menunjukkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antoksidan dalam jumlah besar. Antioksidan sebagian besar disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti flavonoid dan asam fenolat (Waji dan Sugrani, 2009). Seyawa tersebut mempunyai gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus $-OH$ dan $-OR$. Senyawa fenol dalam tubuh berfungsi sebagai pelindung struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keroposnya tulang, dan sebagai antibiotik (Astuti, 2008).

2.6. Kerangka Berfikir



Gambar 2.9 Skema kerangka berfikir.

2.7. Hipotesis

1. Terdapat pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan produksi flavonoid kalus *S. burahol*.
2. Terdapat pengaruh elisitor sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*.
3. Kandungan sukrosa tertentu paling tepat untuk meningkatkan produksi flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*.



BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasar pada hasil pengamatan dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh nyata elisitor sukrosa terhadap produksi flavonoid dan aktivitas antioksidan kalus *S. burahol*. Kandungan flavonoid terbesar yang diperoleh pada perlakuan penambahan sukrosa 25 g/L, yaitu 48%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi optimal sukrosa adalah 25 g/L. Perlakuan penambahan sukrosa memberikan pengaruh nyata pada aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan mengalami tren meningkat pada konsentrasi sukrosa 25 g/L walaupun tidak signifikan, cenderung menurun pada konsentrasi sukrosa lebih dari 30 g/L dan menurun secara signifikan pada konsentrasi sukrosa 35 g/L.

5.2. Saran

Waktu perlakuan sebaiknya diperpanjang guna memperoleh hasil yang lebih optimal, hal ini berkaitan dengan respon yang timbul lebih lama pada tanaman berkayu khususnya *S. burahol* serta menambahkan sampel guna mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Daftar Pustaka

- Akula, R. & Gokare A. R. 2011. Influence of biotic stress signal on secondary metabolites in plant. *Plant Signaling & Behavior*. 6(11): 1720-1731.
- Al-Khayri, J. M. & A. M. Al-Bahrany. 2002. Callus growth and proline accumulation in response to sorbitol and sucrose-induced osmotic stress in rice. *Biologia Plantarum*. 45(4): 609-611
- Andersen, O. M. & Markham K. R. 2006. *FLAVONOIDS Chemistry, Biochemistry and Applications*. Florida: CRC Press
- Angelova, Z., S. Georgiev & W. Roos. 2014. Elisitation of Plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 20(2):72-83
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2):126-136
- Batubara, I., L. K. Darusman, E. Djauhari, & T. Mitsunaga. 2010. Potency of Kepel (*Stelechocarpus burahol*) as cyclogenase-2 inhibitor. *The Journal of Indonesian Medicinal Plant*. 3(2):110-114
- Bhojwani, S.S., M.K. Razdan. 1998. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Edition*. Netherland: Elsevier Science BV.
- Cui, Xi-Hua, Hoskotte N. M., Chun-Hua W. & Kee-Yoeup P. 2010. Sucrose-induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant level in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tissue Cultures*. 10(3):7-14
- Darusman, H. S., M. Rahminiwati, S. Sadih, I. Batubara, L. K. Darusman, & T. Mitsunaga. 2011. Indonesian Kepel Fruit (*Stelechocarpus burahol*) as Oral Deodorant.
- Fransiska, A., Noor A. H. & Yustinus U. A. 2017. Optimasi Media Induksi Kalus Embriogenik Kepel secara In Vitro dengan Eksplan Tangkai Daun. *Skripsi*. Semarang: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Guo, Z. G., Y. Liu & M. Z. Gong. 2012. Regulation of viblastine biosynthesis in cell suspension cultures of *Chatharantus roseus*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. Springer.
- Habibah, N. A., Sukarti M., Kumala D. & Ari I. 2016. Flavonoid Production in Calus Cultures from Mesocarp of *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika*. 8(2):214-221

- Habibah, N. A., Sukarti M., Kumala D. & Ari I. 2017. Flavonoid Production, Growth and Differentiation of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. And Th. Cell Suspension Culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 20(4):197-203
- Hao, P., Yu Y., Zhang X. 2009. The contribution of cis-regulatory elements to head-to-head gene pairs' co-expression pattern. *Science in China Series C: Life Sciences*. 52(1):74-79
- Hatmi, R. U., S. Widyayanti & Sudarmaji. 2014. Potensi kepel (*Stelechocarpus burahol* [Blume] Hook.F & Th.) sebagai Sumber Pangan Fungsional. Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian
- Held, H.W.& Birgit P. 2011. *Plant Biochemistry (Fourth edition)*. London: Elsevier.
- Heriyanto, N. M. & R. Garsetiasih. 2005. Kajian ekologi pohon Burahol (*Stelechocarpus burahol*) di Taman Nasional Meru Betiri, Jawa Timur. *Buletin Plasma Nutfah*. 11(2):65-73
- Herrmann, K. M. 1995. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. *The Plant Cell*. 1(7): 907-919.
- Irmawati. 2007. PERTUMBUHAN KADAR RESERPIN KULTUR KALUS *Rauvolfia verticillata* (Lour.) Baillon PADA VARIASI KONSENTRASI SUKROSA DALAM MEDIUM MS. *Sripsi*. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Ismail, J., M.R.J. Runtuwene & F. Fatimah. 2012. Penentuan total fenolik dan uji aktivitas antioksidan pada biji dan kulit buah pinang yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*. 12(2):84-88
- Isnaeni, E. & N. A. Habibah. 2014. EFEKTIVITAS SKARIFIKASI DAN SUHU PERENDAMAN TERHADAP PERKECAMBAHAN BIJI KEPEL [*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. F & Thompson] SECARA IN VITRO DAN EX VITRO. *Jurnal MIPA*. 37(2):105-114
- Javed, Farrukh & Sumaira I. 2008. Effect sucrose induced osmotik stress on callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes. *Pak J. Bot*. 40(4):1487-1495.
- Jones, H. G., T. J. Flowers & M.B. Jones. 1993. *Plant Under Stress*. London: Cambridge
- Lemoine, R. 2000. Sucrose transporters in plants: update on function and structure. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465(2000):246-262

- Luo, J., Liu L. & Wu C. D. 2001. Enhancement of paclitaxel production by abscisic acid in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnology Letters*. 13(23):1345-1348
- Mahady, G. B., Liu C. & Beecher C. W. W. 1998. Involvement of protein kinase and G proteins in the signal transduction of benzophenanthridine alkaloid biosynthesis. *Phytochemistry*. 1(48):93-102
- Manuhara, Y. S. W. 1995. Pengaruh Manipulasi Media terhadap Kadar Alkaloid Vinkristin Kalus Daun *Chataranthus roseus*(L.) G. Don. Berkala *Penelitian Hayati*. 1:1-7.
- Miles, B. 2003. Pentose Phosphate Pathway Aka the Hexose Monophosphate Shunt.
- Mogea JP, G. Djunaedi, W. Harry, EN. Rusdy & Irawati. 2001. Tumbuhan Langka Indonesia: Kategori dan Kriteria Tumbuhan Langka. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Mulabagal, V. & HS. Tsay. 2004. Plant Cell Cultures-An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites. *Internasional Journal of Applied and Science and Engineering*. 2(1):29-48
- Neumann, K.H., Ashwani K., & Jafargholi I. 2007. Plant Cell and Tissue Culture- A Tool in Biotechnology. *Heidelberg: Springer*
- Pathel, H. & R. Krishnamurthy. 2013. Elicitors In Plant Tissue Culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(2):60-65
- Purnama, R. L. 2015. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KANDUNGAN TOTAL FENOL, DAN FLAVONOID LIMA TANAMAN HUTAN YANG BERPOTENSI SEBAGAI OBAT ALAMI. *Skripsi*. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Purwatiningsih, A. R. & Hakim . 2011. Efek Hipourikemia ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.) terhadap allopurinol secara in vivo
- Radman, R., T. Sacz & B. C. Keshvartz. 2003. Elisitation of Plants and Microbial Cell Systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 37(1):91-102
- Rao. SR & Ravishankan GA. 2002. Plat Cell Cultures: Chemical Factories of Secondaries metabolites. *Biotechnology Advances*. 20(2):101-153

- Reynertson, Kurt Allerslev. 2007. PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF BIOACTIVE CONSTITUENTS FROM EDIBLE MYRTACEAE FRUITS. *A dissertation submitted to the Graduate Faculty in Biology in Partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy, The City University of New York.*
- Rohman, A., Riyanto S., Utari D. 2006. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu Serta Fraksi-fraksinya. *Jurnal MFI*. 17(3):136-142
- Santoso, U., & F. Nursandi, (2003). Kultur jaringan tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, 191
- Sunarni, T., S. Pramono & R. Asmah. 2007. Flanvonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(7): 111-116
- Suskendriyati, H., Solichatun, & A. D. Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan Variasi Pemberian Sumber Karbon. *Bio SMART*. 6(1):19-23
- Taiz, L. & Eduardo Ziger. 2010. *Plant Physiology (fifth edition)*. Massachusetts: Sinauer
- Tisnadjaja, D., E. Saliman, Silvia, & P. Simanjuantak. 2006. Pengkajian Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) sebagai Buah yang Memiliki Kadar Senyawa Antioksidan. *Biodiversitas*. 7(2):199-202
- USDA. 2007. Klasifikasi Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson). <http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=STBU2> [Diakses pada 15 Maret 2015]
- Vanisree, M., CY. Lee, SF. Lo, S. M. Nalawade, C. Y. Lin, & HS. Tsay. 2004. *Botanical Bulletin-Acaemia Sinica Taipei*. 45:1-22
- Verheij, E.M.W. & R.E. Coronel, 1997. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara, Buah-buahan yang Dapat Dimakan. Terjemahan S. Somaatmadja*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Vickery, M. L. & Brian V. 1981. *SECONDARY PLANT METABOLISM*. London: The Macmillan Press Ltd.
- Waji, R. A. & A. Sugrani. 2009. Flavonoid (Quercentin). *Makalah Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Program S2 Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.

- Wildan, A & E. V. Mutiara. 2010. Uji Aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas senyawa flavonoid daun kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Media Farmasi Indonesia*. 5(2):542-649
- Wink, M. 2010. *Fungtion and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*. Oxford: Blackwell Publishing
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan. Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Zhao, J., Zhu W. H., Hu Q. & He X. W. 2000. Improved indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* suspension cell cultures by varius chemical. *Biothechnology Letter*. 15(22):1221-1226

