

PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS Stelechocarpus burahol.pdf

by

Submission date: 18-Sep-2021 08:27PM (UTC+0700)

Submission ID: 1651408633

File name: PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS Stelechocarpus burahol.pdf (584.14K)

Word count: 4854

Character count: 30175

PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS

Stelechocarpus burahol

Penulis Noor Aini Habibah, Amelia Fransiska, Abdul Rosyid, Enny Suwarsi Rahayu, Y. Ulung Anggraito,

7.1. Pendahuluan

Kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik kultivasi *in vitro* dari jaringan tumbuhan secara aseptik. Teknik ini berkembang karena adanya teori totipotensi sel yang menyatakan bahwa setiap sel tumbuhan mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan berkembang membentuk tumbuhan baru yang utuh serta mampu membentuk senyawa metabolit primer dan sekunder seperti tanaman induknya bila dipelihara pada kondisi yang tepat. Pada setiap sel tumbuhan terkandung sifat genetik dan fisiologi yang penting untuk pembentukan senyawa kimia tertentu yang sama dengan yang dibentuk tanaman induknya (Bhojwani & Razdan, 1983).

Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. f. & Thomson) termasuk tanaman pangan jenis buah-buahan. Kepel mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, cyclooxygenase-2 inhibitor, anti-hyperuricemic, zat sitotoksik, anti kanker, deodoran oral, dan senyawa fitoestrogen yang terdapat pada daun, bunga, dan daging buah, biji buah, kulit buah, dan kulit batang buah kepel (Hatmi *et al.*, 2014). Senyawa aktif kepel berpotensi sebagai antioksidan (Tisnadjaja *et al.*, 2006), obat asam urat (Purwantiningsih *et al.*, 2010), kontrasepsi oral (Sunardi, 2010) dan deodoran alami (Darusman *et al.*, 2012). Kepel memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak buah kepel ini kemungkinan berasal dari

kandungan flavonoid dan vitamin C (Tisnadjaja *et al.*, 2006). Secara tradisional kepel telah digunakan sebagai bahan parfum, khususnya di kalangan keraton. Buah kepel dapat membuat keringat menjadi wangi, nafas menjadi harum, bahkan dapat mengharumkan air seni dan feces (Darsuman *et al.*, 2012). Hasil penelitian Purwantiningsih *et al.* (2010) menunjukkan bahwa daun kepel mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang mempunyai kemampuan *antihyperuricemic* sehingga berpotensi dikembangkan sebagai obat asam urat. Hasil uji secara *in vivo* baik ekstrak etanol daun kepel maupun ekstrak heksan memiliki potensi sebagai penurun kadar asam urat darah.

7.2. Induksi Kultur Kalus

Kalus kepel dapat dihasilkan dari eksplan mesokarp, biji muda, daun (Habibah *et al.*, 2016) dan tangkai daun. Tiga sumber eksplan yaitu mesokarp, biji muda, daun dapat menghasilkan kalus remah yang baik digunakan untuk pembuatan kultur suspensi sel. Kalus dari ketiga eksplan yang ditanam pada medium dengan penambahan pikloram menghasilkan kalus yang lebih remah bila dibandingkan kalus yang ditanam pada medium dengan penambahan 2,4-D. Hal ini ditunjukkan dari anatomi kalus pada medium pikloram mempunyai ruang antar sel yang lebih banyak dan lebih lebar bila dibandingkan kalus pada medium 2,4-D. Masing-masing eksplan menghasilkan pertumbuhan yang bervariasi pada berbagai perlakuan ZPT dan pencahayaan. Laju pertumbuhan tertinggi didapatkan dari eksplan biji muda yang ditanam pada medium dengan penambahan pikloram 7,5 mg/L yang dipelihara dalam kondisi gelap (Habibah *et al.*, 2016). Kondisi gelap mengurangi

terjadinya *browning* yang akan mengganggu pertumbuhan kalus. *Browning* pada kalus akibat oksidasi fenolik mengurangi pertumbuhan kalus (Tang & Newton, 2004). Biosintesis asam fenolik dikatalisis oleh enzim *phenylalanine ammonialyase* (PAL), dan aktivitas enzim ini meningkat jika enzim terinduksi oleh intensitas cahaya yang tinggi (Kumari *et al.*, 2009). Chaa[^]bani *et al.* (2015) melaporkan bahwa penggunaan 2,4-D konsentrasi tinggi yang dikombinasikan dengan BAP meningkatkan produksi fenolik.

Induksi kalus dari eksplan tangkai daun pada berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan berhasil membentuk kalus 100%, kecuali untuk perlakuan 2,4-D 5 mg/L dan kinetin 10 mg/L hanya 94,44% eksplan yang membentuk kalus. Kemampuan eksplan membentuk kalus sangat dipengaruhi oleh umur eksplan. Semakin muda usia eksplan semakin tinggi kemampuannya dalam membentuk kalus, begitu juga sebaliknya semakin tua usia eksplan maka semakin berkurang kemampuannya dalam membentuk kalus (Prakash & Gurumurthi, 2010). Eksplan yang berasal dari jaringan muda memiliki kemampuan dediferensiasi yang lebih baik sehingga lebih mudah terbentuk kalus dibandingkan dengan eksplan dari jaringan tua. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan berasal dari jaringan muda dan dari tanaman yang masih muda juga, sehingga persentase eksplan yang berkalus cukup tinggi. Penggunaan 2,4-D dalam induksi kalus juga telah digunakan dalam induksi kalus jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan persentase paling tinggi terjadi pada kombinasi perlakuan 2,4-D 2,5 ppm + TDZ 10 ppm dan 2,4-D 7,5 ppm + 1,5 ppm. Pembentukan kalus dengan konsentrasi 2,4-D yang

berbeda-beda juga berhasil menginduksi kalus *Eucalyptus camaldulensis* (Prakash & Gurumurthi, 2010).

Proses induksi kalus tangkai daun kepel dimulai dengan pembengkakan pada bagian ujung tangkai daun dan pada daerah yang dilukai. Bagian eksplan yang kontak langsung dengan media memungkinkan penyerapan nutrisi yang lebih cepat sehingga pada bagian tersebut mengalami pembengkakan dan akhirnya tumbuh massa sel baru. Pembentukan kalus pada bagian yang dilukai juga ditunjukkan pada induksi kalus daun ramin, bagian eksplan yang sengaja dilukai menunjukkan adanya penebalan hingga akhirnya terbentuk kalus (Yelnitis & Komar, 2010). Pembentukan kalus *Arabiopsis* juga dimulai pada daerah yang dilukai (Iwase *et al.*, 2011b). Proses pembentukan kalus pada bagian luka dipengaruhi oleh gen *Wound Induced Dedifferentiation* (WIND). Gen WIND memiliki peran sebagai kunci molekuler dalam merespon luka untuk mengontrol dediferensiasi sel *Arabidopsis* sehingga pada daerah yang dilukai akan membentuk kalus (Iwase *et al.*, 2011a). Analisis RT-PCR menunjukkan bahwa gen WIND bekerja dengan cepat beberapa jam setelah ekplan dilukai (Iwase *et al.*, 2011b).

Penambahan 2,4-D berpengaruh terhadap waktu terbentuknya kalus kepel, namun tidak ada pengaruh yang nyata pada kinetin, dan interaksi antara keduanya terhadap waktu pembentukan kalus kepel. Berdasarkan hasil uji DMRT, konsentrasi 2,4-D 5 mg/L dan 7,5 mg/L mempercepat pertumbuhan kalus secara signifikan dibandingkan pada 2,4-D 10 mg/L (Tabel 7.1)

Tabel 7.1. Hasil perhitungan DMRT pada perlakuan 2,4-D untuk waktu terbentuknya kalus

Perlakuan	Rerata waktu berkalus
2,4-D 5 mg/L	17.67 ^a
2,4-D 7,5 mg/L	17.44 ^a
2,4-D 10 mg/L	21.67 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak memiliki perbedaan nyata

Penambahan 2,4-D eksogen pada media kultur jaringan meningkatkan akumulasi IAA dalam sel (Pasternak *et al.*, 2002). Ketika konsentrasi auksin meningkat, protein *Aux/IAA* mengalami degradasi oleh 26S proteasome, sehingga penekanan gen pada awal aktivasi auksin berhenti, kondisi ini menyebabkan auksin berekspresi (Hagen *et al.*, 2004). Mekanisme auksin dalam mempengaruhi pembentukan kalus telah dipelajari pada tanaman *Arabidopsis*. Sinyal auksin diteruskan melalui faktor transkripsi *Auxin Response Factor* (ARF) khususnya ARF7 dan ARF19 untuk mengaktifkan faktor transkripsi dari gen *Lateral Organ Boundaries Domain* (LBD) yaitu LBD16, LBD17, LBD18, dan LBD29. Kemudian LBD tersebut menginduksi *E2 Promotor Binding Factor a* (E2Fa) yang memiliki peran utama dalam memasuki siklus sel sehingga kalus dapat terbentuk (Ikeuchi *et al.*, 2013).

Secara umum waktu terbentuknya kalus kepel dari eksplan daun lebih cepat pada konsentrasi 2,4-D yang rendah. Uji DMRT menunjukkan konsentrasi 2,4-D yang paling optimal dalam mempercepat terbentuknya kalus adalah 2,4-D 7,5 mg/L. Konsentrasi 2,4-D tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan induksi kalus manggis

yang merupakan tanaman satu famili dengan kepel yaitu pada konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L (Rohani *et al.*, 2012). Penggunaan 2,4-D 5 mg/L juga telah berhasil menginduksi kalus dari daun ramin (Yelnitis & Komar, 2010). Hal ini sesuai dengan penelitian Habibah *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa induksi kalus kepel memerlukan konsentrasi auksin lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman lain. Perbedaan kemampuan eksplan dalam membentuk kalus tergantung pada tingkat hormon endogen dan eksogen, tipe eksplan *juvenil* atau dewasa, dan posisi eksplan (Pierik, 1997).

Berat basah kalus dari tangkai daun cenderung meningkat pada saat konsentrasi 2,4-D tinggi dan konsentrasi kinetin yang rendah. Hasil analisis varian dua jalan menunjukkan tidak ada pengaruh yang nyata pada perlakuan 2,4-D, kinetin, dan interaksi 2,4-D dan kinetin pada berat basah kalus. Berat basah kalus dari tangkai daun paling tinggi pada konsentrasi 2,4-D 7,5 mg/L dan kinetin 5 mg/l, sejalan dengan Sakpere *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa kombinasi kinetin konsentrasi rendah dan 2,4-D berhasil menginduksi kalus dan proliferasi.

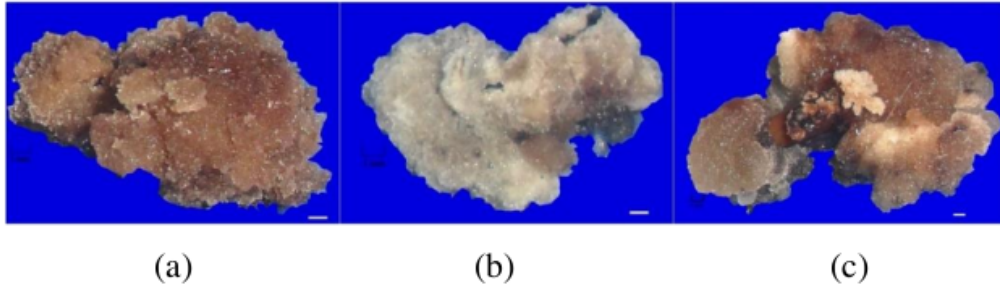
Secara umum cara auksin dalam mempengaruhi perkembangan sel tanaman dijelaskan melalui mekanisme transport polar yang berkaitan dengan *auxin influx* dan *auxin efflux*. Auksin masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui membran plasma menuju sitosol. Auksin mendominasi dalam bentuk anion dalam sitosol kemudian keluar melalui *auxin anion efflux carrier* (Taiz & Zeiger, 2010). Pompa proton pada membran plasma menggunakan energi ATP dan mentransfer H⁺ pada dinding sel membentuk H⁺-ATPase menyebabkan

pH dinding sel menjadi asam (pH 5). Perbedaan pH bagian dalam dan luar sel akibat adanya ion H⁺ menyebabkan aktifnya enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Air menjadi mudah masuk melalui membran sel secara osmosis sehingga ukuran sel bertambah (Taiz & Zeiger, 2010).

Penggunaan sitokinin eksogen dapat meningkatkan transkrip *cdc2* dan *CycD3*. Peningkatan ekspresi *CycD3* inilah yang menjadi penyebab meningkatnya proliferasi sel (D'agostino & Kieber, 1999). Pada pembelahan sel *Nicotiana plumbaginifolia* kinetin hanya dibutuhkan pada akhir fase G2, sel yang kekurangan kinetin berhenti membelah dengan *p34cdc2-like histon kinase* yang inaktif. Kontrol *cdc2* kinase dengan menghambat fosforilasi tirosin ditandai dengan jumlah fosfotirosin yang tinggi pada enzim yang inaktif. Kinetin menstimulasi pengurangan fosfat, dan mengaktifasi enzim dan proses mitosis lebih cepat (Zhang *et al.*, 1996). Kinetin juga menunjukkan aktivitasnya dalam mengaktifasi pembelahan sel *Arabidopsis* melalui induksi *CycD3* (Khamlichi *et al.*, 1999).

Kalus yang terbentuk dari eksplan tangkai daun secara umum berwarna kecoklatan dan bertekstur remah. Beberapa kalus memiliki tekstur yang kompak, hal ini dapat diamati pada saat melakukan subkultur. Kalus kepel yang bertekstur kompak sulit dipisahkan sedangkan yang memiliki tekstur remah mudah dipisahkan. Kalus yang dihasilkan pada penelitian ini terdiri atas 55,55% kalus remah kecoklatan, 11,11% kalus putih kompak, dan 33,33% kalus kompak

kecoklatan. Kalus kepel berwarna putih pada 4 minggu pertama setelah penanaman dan mulai mengalami pencoklatan pada minggu ke-5.



Gambar 7.1. Perbandingan warna dan tekstur kepel pada perlakuan yang berbeda. (a) kalus kecoklatan dan remah pada perlakuan 2,4-D 7,5 mg/L dan kinetin 5 mg/L; (b) kalus putih kompak pada perlakuan 2,4-D 5 mg/L dan kinetin 10 mg/L; (c) kalus kecoklatan dan kompak pada perlakuan 2,4-D 10 mg/L dan kinetin 10 mg/L. Scale bar: 1 mm

Pencoklatan atau *browning* pada kalus biasa terjadi pada kultur jaringan tanaman berkayu. Proses pencoklatan pada kalus disebabkan adanya aktivitas senyawa fenolik yang tinggi. Pada penelitian ini kalus mulai mengalami pencoklatan pada saat usia kultur memasuki minggu ke-5. Hal ini dimungkinkan karena senyawa fenolik pada kalus kepel terakumulasi secara perlahan dan terus-menerus sehingga kalus mengalami pencoklatan pada minggu ke-5. Usaha untuk mengurangi pencoklatan pada kalus dilakukan dengan dilakukannya subkultur setiap 4 minggu sekali, namun tidak memberikan perbedaan pada visual kalus.

Dilaporkan oleh Laukkanen *et al.* (2000) bahwa pada kultur kalus pinus tanda-tanda pencoklatan kalus mulai terjadi pada minggu ke-2 setelah tanam, pada saat itu aktivitas peroksidase mencapai tingkat maksimum dan laju pertumbuhan mulai mengalami penurunan. Pada

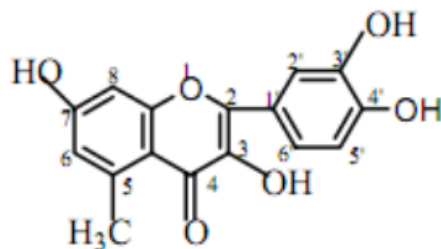
studi tersebut menunjukkan kalus yang mengalami *browning* terjadi akumulasi senyawa tannin. Selain itu *browning* pada kalus adalah sebagai akibat dari stress oksidatif tinggi dan dapat menyebabkan disorganisasi pada sitoplasma dan bahkan kematian sel, serta mengurangi kemampuan regenerasi kalus. Aktivitas peroksidase yang tinggi menstimulasi jaringan untuk mengalami pencoklatan (Laukkanen *et al.*, 2000). Hasil studi tersebut sesuai dengan George & Sherrington (1984) yang menyatakan bahwa perubahan eksplan menjadi kecoklatan disebabkan adanya senyawa fenol pada eksplan yang bereaksi dengan udara membentuk quinon dan menyebabkan perubahan warna kalus.

7.3. Jenis Flavonoid pada Kultur Kalus *S. burahol* yang Berpotensi sebagai Antioksidan

Tanaman kepel dengan nama sinonim *Uvaria burahol* Blume secara alami dapat ditemui di Indonesia terutama di Jawa, dan juga tersebar di Asia Tenggara dan kepulauan Salomon. Kepel dilaporkan mengandung antioksidan pada daun, kulit batang, bunga dan buahnya (Tisnadaja *et al.*, 2006). Salah satu senyawa flavonoid yang terdapat pada kepel yaitu *3,7,3',4'-tetrahidroxy-5-methyl-flavone* (Gambar 8.2) mempunyai aktivitas antioksidan paling aktif dibanding flavonoid lain (Sunarni *et al.*, 2007).

Pada kultur kalus kepel, flavonoid yang terdeteksi adalah naringenin. Naringenin merupakan flavonoid awal yang terbentuk pada jalur biosintesis flavonoid. Naringenin menjadi substrat untuk produk flavonoid yang lain. Pada jalur selanjutnya terbentuk

dihidrokaempferol yang kemudian dengan bantuan enzim *flavonol synthase* diubah menjadi quercetin (Liu *et al.*, 2013). Flavonoid rutin (*quercetin 3-O rutinoside*), merupakan flavonol glikosida yang terdiri dari flavonol quercetin dan disakarida rutinose. Rutin merupakan produk lanjut dari quercetin (Gupta *et al.*, 2014). Naringen, quercetin dan rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat. Naringenin mempunyai aktivitas antioksidan, berpotensi sebagai obat *Alzheimer's disease* (Ferreira *et al.*, 2012, Ghofrani *et al.*, 2015). Quercetin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti kanker, aktivitas hepatoprotektif, anti inflamasi, dan juga anti virus (Kumar & Pandey, 2013). Rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat karena memiliki kemampuan sebagai antioksidan, aktivitas hepatoprotektif, anti jamur, anti inflamasi, mempunyai efek anti kanker, menghambat leukimia dan menguatkan pembuluh darah (Gupta *et al.*, 2014, Kumar & Pandey, 2013).



Gambar 7.2. Struktur kimia 3, 7, 3',4'-tetrahydroxy-5-methyl-flavone (Sunarni *et al.*, 2007)

7.4. Produksi Antioksidan

Beberapa bagian tumbuhan kepel mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Tisnadjaja *et al.* (2006) menyatakan

bahwa kandungan antioksidan pada kepel antara lain terdapat pada daun dan buahnya. Kalus kepel dari mesokarp, daun, biji muda, dan tangkai daun mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada beberapa bagian tumbuhan kepel ataupun kalus kepel bervariasi. Perbedaan aktivitas antioksidan disebabkan tiap bagian tumbuhan atau kalus mengandung flavonoid yang jumlah dan lokasi gugus hidroksinya pada kerangka flavonoid yang berbeda. Aktivitas antioksidan dari senyawa yang berasal dari tanaman seperti flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Flavonoid dengan gugus hidroksi bebas mempunyai aktivitas penangkap radikal dan adanya gugus hidroksi lebih dari satu terutama pada cincin B akan meningkatkan aktivitas antioksidannya (Gulcin *et al.*, 2004; Pokorni *et al.*, 2001; Sunarni *et al.*, 2007). Perbedaan aktivitas antioksidan pada kalus juga dipengaruhi jenis eksplan yang digunakan. Kalus dari eksplan mesokarp memiliki aktivitas antioksidan tertinggi bila dibanding dengan kalus dari eksplan biji dan daun. Mesokarp memiliki aktivitas antioksidan tinggi sehingga kalus yang dihasilkan juga memiliki aktivitas antioksidan tinggi.

Konsentrasi sukrosa yang ditambahkan ke dalam medium juga berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Tabel 8.2 menunjukkan beda nyata aktivitas antioksidan pada perlakuan penambahan sukrosa konsentrasi 35 g/L. Konsentrasi sukrosa 25 g/L dan 30 g/L mengakibatkan aktivitas antioksidan yang tidak berbeda nyata satu dengan yang lain dan juga dengan kontrol (konsentrasi sukrosa normal yaitu 30 g/L).

Tabel 7.2. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan

Konsentrasi sukrosa tambahan (g/L)	Rerata aktivitas antioksidan (%)
0	63 a
25	66 a
30	61 a
35	44 b

Huruf yang sama menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata

Kandungan flavonoid tertinggi terjadi pada penambahan sukrosa konsentrasi 25 g/L kemudian cenderung menurun pada konsentrasi 30 g/L walaupun tidak signifikan dan 35 g/L menurun signifikan. Pada kontrol produksi flavonoid lebih sedikit dibandingkan dengan penambahan sukrosa sebanyak 25 g/L. Flavonoid merupakan salah satu jenis metabolit sekunder (MS). Fungsi sukrosa sebagai salah sumber karbon pembentuk MS dan berperan dalam jalur metabolisme (Taiz & Ziger, 2010).

Sukrosa mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder melalui jalur glikolisis. Sukrosa akan terhidrolisis membentuk dua gula monosakarida berupa glukosa dan fruktosa. Sukrosa mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder melalui jalur glikolisis. Monosakarida hasil hidrolisis sukrosa diubah menjadi gula terfosforilasi dan selanjutnya memperoleh senyawa gliseraldehid-3-fosfat menjadi 1,3-bifosfoglisarat, 3-fosfoglisarat, 2 fosfoglisarat, fosfoenolpiruvat dan hasil akhir glikolisis berupa asam piruvat (Taiz & Ziger, 2010). Fosfoenolpiruvat merupakan salah satu hasil glikolisis sebagai bagian dari pembentukan flavonoid melalui jalur asam

shikimat. Diperlukan aritrosa-4-fosfat yang merupakan hasil dari jalur pentosa fosfat untuk membentuk penilalanin sebagai salah satu jalur pembentuk flavonoid. Jalur pentosa fosfat mengambil gula terfosforilasi dari glikolisis berupa glukosa-6-fosfat untuk dibentuk beberapa senyawa salah satunya pembentuk eritrosa-4-fosfat. fosfoenolpiruvat dan eritrosa-4-fosfat masuk dalam jalur asam shikimat. Keduanya terkondensasi menjadi tujuh karbon dengan enam komponen heterosiklik berupa 3-deoksi-D-arabino-heptulusonat-7-fosfat (DAHP) dikatalis 3-deoksi-D-arabino-heptulusonat-7-fosfat (DAHP) sintase. Hasil akhir berupa *chorismate* sebagai bahan pembentuk asam amino esensial yaitu fenilalanin, tirosin, dan triptofan (Herrman, 1995).

Sebagian besar metabolit sekunder jenis fenolat terbentuk dari turunan fenilalanin dengan menghilangkan gugus amin. Akan tetapi dalam pembentukannya, metabolit sekunder jenis fenolat juga membutuhkan senyawa dari reaksi jalur asam malonat. Fenilalanin sebagai asam amino pembentuk struktur metabolit sekunder mengalami penghilangan molekul amin dengan dikatalis oleh enzim *phenylalanine ammonia lyase* (PAL) (Taiz & Ziger, 2010). Reaksi tersebut memicu terbentuknya kelompok hidroksil lainnya yaitu asam trans-sinamik, asam p-kumaril yang merupakan turunan dari komponen fenolat sederhana yang biasa disebut fenilpropanoid karena mengandung cincin benzen dan tiga rantai karbon. Reaksi selanjutnya dengan penambahan Ko-A-SH menjadi p-kumaril-Ko-A dan selanjutnya menjadi *chalcones* dengan penambahan stuktur dari jalur asam malonat dan pembentukan flavonoid (Held & Piechulla, 2011).

Pada konsentrasi lebih dari 25 g/L jumlah flavonoid cenderung menurun karena terjadi penghambatan pembentukan metabolit sekunder. Penghambatan ini terjadi karena sukrosa yang tersisa terkonversi menjadi hasil samping berupa senyawa-senyawa lain misalnya asam-asam organik dan CO₂. Ada mekanisme penghambatan balik atau *feedback inhibition* yaitu dihambatnya produksi MS karena dianggap cukup, sehingga proses metabolisme termasuk pembentukan MS khususnya flavonoid berkurang. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Irmawati (2007), bahwa peningkatan kadar reserpin pada kultur kalus tanaman *Rauvolfia ferticillata* (Lour.) terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa sampai pada konsentrasi 30 g/L lalu menurun pada konsentrasi sukrosa 40 g/L. Sama halnya dengan pengaruh kandungan alkaloid vinkristin kalus daun *Chatarantus roseus* (L.) G. Don bahwa kadar alkaloid vinkristin tertinggi pada konsentrasi sukrosa 40 g/L. Kalus pada media dengan tambahan sukrosa 50 g/L, mengandung alkaloid vinkristin lebih sedikit, hal ini karena sukrosa sebagai sumber karbon, hidrogen dan oksigen dalam jumlah kurang dari 30 g/L tidak digunakan untuk pembentukan alkaloid vinkristin, tetapi hanya digunakan untuk pertumbuhan kalus. Penambahan 50 g/L sukrosa dapat menghambat pembentukan alkaloid vinkristin (Manuhara, 1995).

Kandungan flavonoid tertinggi akibat penambahan sukrosa konsentrasi 25 g/L dengan kandungan flavonoid 48% tidak hanya disebabkan sukrosa sebagai senyawa yang dilibatkan dalam metabolisme tetapi ada pengaruh potensial osmotik. Sinyal tekanan abiotik terdiri dari beberapa sebab, yaitu: suhu, salinitas, air, radiasi,

tekanan kimiawi, dan mekanis. Penambahan sukrosa merupakan salah satu modifikasi pada medium kultur jaringan. Perlakuan ini dapat menyebabkan kekurangan air pada sel atau sel menjadi dehidrasi. Hal ini karena *osmotic stress* yaitu tertarik keluarnya air sitoplasma yang menyebabkan penurunan kadar air dalam sel. Tekanan kimiawi akan timbul dalam sel tanaman (Akula & Ravishankan, 2011).

Tekanan kimiawi yang timbul, merupakan hal yang serupa dengan sinyal pembentukan enzim PAL yang berfungsi sebagai percabangan antara metabolit primer dengan metabolit sekunder. Artinya bahwa ketika enzim PAL sudah diaktifkan maka pembentukan metabolit sekunder akan berlanjut ke tahap selanjutnya menuju lebih spesifik. Aktivitas PAL meningkat dipicu dengan adanya faktor alam, cahaya, dan infeksi mikrobial. Titik ini sebagai awal mula stimulasi adanya inisiasi transkripsi pada gen pengkode enzim PAL. Contoh kasus yaitu terjadi infeksi mikrobial, maka secara langsung adanya mikrobial dapat menstimulasi transkripsi pada pembawa pesan RNA yang mengkode PAL. Kemudian meningkatkan pembentukan PAL pada tanaman yang merupakan salah satu stimulan terbentuknya metabolit sekunder komponen fenolat (Taiz & Ziger, 2010). Begitu pula dengan stimulasi lain seperti faktor fisik/alam khususnya pada *osmotic stress* yang disebabkan penambahan sukrosa pada media tanam menyebabkan peningkatan kandungan flavonoid.

Sukrosa dapat menginduksi tekanan osmotik pada tanaman gandum (*Triticum aestivum* L.), dan mempengaruhi pertumbuhan kalus serta beberapa parameter biokimia salah satunya terdapat penurunan pertumbuhan dan akumulasi prolin serta karbohidrat terlarut dalam

jaringan kalus. Peningkatan tekanan osmotik dan potensial air yang berakibat pada penurunan potensial turgor yang terlihat pada berat kalus kering. Terlihat pada produksi prolin dan total karbohidrat terlarut (Javed & Ikram, 2008). Al-Khayri (2002) menyebutkan bahwa, pertambahan masa kalus teramati pada konsentrasi sukrosa pada 87 mM. Pertumbuhan kalus teramati pula pada konsentrasi sorbitol 54,9 mM sedangkan pada konsentrasi tinggi terjadi penghambatan. Pertumbuhan kalus terbaik terjadi pada medium yang mengandung 54,9 mM sorbitol dengan kombinasi 87,6 mM sukrosa. Peningkatan *osmotic stress* merupakan akibat penambahan konsentrasi sukrosa dan sorbitol. Penelitian tentang sukrosa sebagai penginduksi *osmotic stress* dan efeknya pada biomasa, hasil metabolisme, dan antioksidan kultur akar pada tanaman *Hipericum perforatum* L. menunjukkan bahwa total fenol, flavonoid mengalami penambahan pada perlakuan dengan konsentrasi sukrosa yang tinggi (Cui *et al.*, 2010).

Tekanan osmotik secara umum dapat dikatakan mempengaruhi produksi MS berdasarkan keterangan di atas. Semakin besar tekanan osmotik dapat memicu bertambahnya produksi metabolit sekunder (Akula dan Ravishankar, 2011). Hal ini tidak berlaku apabila konsentrasi sukrosa berlebih. Tekanan osmotik yang besar dan potensial osmotik yang rendah menyebabkan sel dehidrasi. Akibatnya produksi flavonoid menurun bahkan pada batas tertentu akan menyebabkan sel mati (Taiz dan Ziger, 2010). Hal ini dibuktikan dengan menurunnya produksi flavonoid pada penambahan sukrosa 30 g/L dan 35 g/L.

Mekanisme stimulasi produksi metabolit sekunder karena adanya aktivitas *abscisic acid* (ABA) merupakan sinyal untuk mengatur ekspresi penyetelan gen pengatur pertahanan tanaman. Hormon ABA merupakan hormon yang memicu fase *senescence* pada tanaman, berperan penting dalam kehidupan dan perkembangan tanaman, perkecambahan biji, pertumbuhan tanaman, *senescence* dan respon stres pada tanaman. Khusus untuk stres seperti kondisi cekaman hipot atau hiper-osmotik, garam mineral, dingin, dan kekeringan, ABA diketahui sebagai regulasi biosintesis metabolit sekunder pada beberapa kultur sel tanaman. Hormon ABA dapat menstimulasi *indole alkaloids* pada tanaman kultur sel *Catharantus roseus* (Zhao *et al.*, 2000). Produksi *benzophenanthridine alkaloids* pada kultur sel tanaman *Bloodroot* (*Sanguinaria canadensis*) diketahui distimulasi oleh ABA (Mahadyet *et al.*, 1998). Hormon ABA dianggap sebagai sinyal penanda tekanan osmotik yang menginduksi metabolit sekunder karena produksi sebagian besar metabolit sekunder dapat dipicu oleh pemicu stres, seperti sorbitol, manitol, sukrosa, dan tekanan garam mineral pada medium kultur jaringan, menyebabkan terjadi pembentukan ABA. Contohnya ABA dan tekanan somotik dapat meningkatkan produksi *indole alkaloid* pada kultur sel *C. roseus* (Zhao *et al.*, 2000) dan ABA dapat menstimulasi *taxol* pada kultur sel *Taxus sp* (Luo *et al.*, 2001) pada konsentrasi tinggi sukrosa dan manitol.

Terjadi tren yang sama antara aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid. Keduanya mengalami kenaikan pada perlakuan dengan konsentrasi sukrosa 25 g/L dan mengalami penurunan pada perlakuan selanjutnya yaitu penambahan sukrosa 30 g/L dan 35 g/L

walaupun memiliki signifikansi yang berbeda. Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan antara senyawa fenolat seperti flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Senyawa tersebut mempunyai gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi *orto* dan *para* terhadap gugus -OH dan -OR. Senyawa fenol dalam tubuh berfungsi melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keroposnya tulang, dan sebagai antibiotik (Waji & Sugrani, 2009).

7.5. Simpulan

Kalus pada kepel dapat diperoleh dengan menginduksi eksplan daun, tangkai daun, biji dan mesokarp pada medium dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Kalus kepel dapat menghasilkan senyawa flavonoid yaitu antara lain naringenin. Kalus kepel mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan kalus kepel tergantung antara lain pada jenis eksplan.

Daftar Pustaka

- Akula R & Gokare AR. 2011. Influence of biotic stress signal on secondary metabolites in plant. *Plant Signaling & Behavior* 6(11): 1720-1731.
- Al-Khayri JM & Al-Bahrany AM. 2002. Callus growth and proline accumulation in response to sorbitol and sucrose-induced osmotic stress in rice. *Biologia Plantarum* 45(4): 609-611.
- Bhojwani SS & Razdan MK. 1983. *Plant tissue culture*. Elsevier. Amsterdam. New York. 502 p.
- Chaa[^]bani G, Tabart J, Kevers C, Dommès J, Khan MI, Zaoui S, Chebchoub L, Lachaa[^]l M & Karray-Bouraoui N. 2015. Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid combined to 6-benzylaminopurine on callus induction, total phenolic and ascorbic acid production, and antioxidant activities in leaf tissue

- cultures of *Crataegus azarolus* L. var. aronia. *Acta Physiol Plant* 37: 16.
- 56 Cui, Xi-Hua, Hoskotte NM, 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.
- D'agostino & Kieber J.J. (1999). Molecular mechanism of cytokinin action. *Current Opinion Plant Biology* 2(5): 359-364.
- 45 Darusman HS, Rahminiwati M, Sadiyah S, Batubara I, Darusman LK & Mitsunaga T. 2012. Indonesian kepel fruit (*Stelechocarpus burahol*) as oral deodorant. *Research Journal of Medicinal Plants* 6(2): 180-188.
- 25 Ferreyra MF, Rius SP & Casati P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Plant Science* 3(222): 1-15.
- Ghofrani S, Joghataei M, Mohseni S, Baluchnejadmojarad T, Bagheri M, Khamse S & Roghani M. 2015. Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. *European Journal Pharmacology* (764): 195-201.
- 39 Gulcin I, Uguz MT, Oktay M, Beydemir S & Kufrevioglu OI. 2004. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.). *Turkish Journal Agriculture Forestry* 28: 25-33.
- 21 Gupta N, Chauhan RS & Pradhan JK. 2014. Rutin: A bioactive flavonoid in *Handbook of Medicinal Plants and their Bioactive Compounds*, Ed: N. Gupta ISBN: 978-81-308-0548-1 51-57.
- 40 George EF & Sherrington PD. 1984. *Propagation by Tissue Culture*. London: Vegetics Ltd.
- 29 Habibah NA, Moeljopawiro S, Dewi K & Indrianto A. 2016. Flavonoid production of callus cultures from mesocarp of *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika* 8(2): 214-221.
- 18 Hagen G, Guilfoyle TJ & Gray WM. (2004). Auxin signal transduction. In: Davies PJ (Eds.) *Plant Hormones, Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht. Kluwer Academic Publisher.
- 32 Hatmi RU, Widyayanti S & Sudarmaji. 2014. Potensi Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Blume] Hook.F & Th.) Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian*.

- 15 Held H & Piechulla B. 2011. 18-Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. *Plant Biochemistry* (Fourth Edition). 431-449.
- Herrmann KM. 1995. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell* 1(7): 907-919.
- 16 Ikeuchi M, Sugimoto K & Iwase A. 2013. Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell* 25: 3159-3173.
- Irmawati. 2007. Pertumbuhan Kadar Reserpin Kultur Kalus *Rauvolfia verticillata* (Lour.) Baillon Pada Variasi Konsentrasi Sukrosa Dalam Medium MS. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- 12 Iwase A, Ohme-Takagi M, & Sugimoto K. 2011a. WIND1: A key molecular switch for plant cell dedifferentiation. *Plant Signaling Behav* 6: 1943-1945.
- 36 Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K & Ohme-Takagi M. 2011b. The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in Arabidopsis. *Current Biology* 21: 508-514.
- Khamlichi CR, Huntley R, Jacquard A & Murray JA. 1999. Cytokinin activation of arabidopsis cell division through a D-type cyclin. *Science* 283: 1541-1544.
- 24 Laukkanen H, Rautiainen L, Taulavuori E & Hohtola A. 2000. Changes in cellular structures and enzymatic activities during browning of scots pine callus derived from mature buds. *Tree Physiology* 20: 467-475.
- 7 Javed F & Ikram S. 2008. Effect Sucrose Induced Osmotik stress On callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes. *Pakistan Journal of Botany* 40(4): 1487-1495.
- 44 Kumari R, Singh S & Agrawal SB. 2009. Effects of supplemental ultraviolet-b radiation on growth and physiology of *Acorus calamus* L. (sweet flag). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 51: 19-27.
- 6 Kumar S & Pandey AK. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal* <http://dx.doi.org/10.1155/2013/62750>.
- Liu N, Zeller FJ & Chen QF. 2013. The flavonoid content in leaves and inflorescences of the wild perennial *Fagopyrum cymosum* complex. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 825-838.

- 11 Luo J, Liu L & Wu CD. 2001. Enhancement of paclitaxel production by abscisic acid in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnology Letter* 13(23): 1345-1348.
- 13 Mahady GB, Liu C & Beecher CWW. 1998. Involvement of protein kinase and G proteins in the signal transduction of benzophenanthridine alkaloid biosynthesis. *Pytochemistry* 1(48): 93-102.
- 3 Manuhara YSW. 1995. Pengaruh manipulasi media terhadap kadar alkaloid vinkristin kalus daun *Chataranthus roseus* (L.) G. Don. *Berkala Penelitian Hayati* 1: 1-7.
- 34 Pasternak T, Prinsen E, Ayaydin F, Miskolczi P, Potters G, Asard H, Onckelen HAV, Dudits D & Feher A. 2002. The role of auxin, ph and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of Alfalfa. *Plant Physiology* 129: 1807-1819.
- 64 Prakash MG & Gurumurthi K. 2010. Effects of type of explant and age, plant growth somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 100: 1350.
- Pierik RIM. 1987. *In Vitro Culture of Higer Plants*. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- 20 Pokorny J, Yanishlieva N & Gordon M. 2001. *Antioxidants in Food, Practical Applications*, 1-123, Wood Publishing Limited. Cambridge, England.
- 70 Purwantiningsih, Hakim AR & Purwantini I. 2010. Antihyperuricemic activity of the kepel [*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.] leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(2): 123-127.
- 26 Rohani ER, Ismanizan I, & Noor NM. 2012. Somatic ebyrogenesis of mangosteen. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 110: 251-259.
- 43 Sakpere AMA, Ajayi SA & Adelusii AA. 2014. Effect of growth regulator and explant types on callus induction on *Telfairia occidentalis* Hook F. *African Journal of Biotechnology* 13(20): 20153721.
- Sunardi C. 2010. Structure of steroids in *Stelechocarpus burahol* Hook F. & Thomson Stem Bark. *The Journal of Indonesian Medicinal Plant*. 3(2): 115-117

- 17 Sunarni T, Pramono S & Asmah R. 2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Indonesian Journal of Pharmacy* 18(3): 111-116.
- 42 Taiz L & Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. Pp 545-582.
- 2 Tang W & Newton RJ. 2004. Increase of polyphenol oxidase and decrease of polyamines correlate with tissue browning in virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.). *Plant Science* 167: 621-628.
- Tisnadjaja D, Saliman E, Silvia & Simanjuntak P. 2006. Study of kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) as an anti-oxidative compounds containing fruit. *Biodiversitas* 7(2): 199-209.
- 28 Waji RA & Sugrani A. 2009. Flavonoid (Quercetin). *Makalah Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Program S2 Kimia FMIPA Universitas Hasanudin.
- Yelnitis & Komar TE. 2010. *Upaya induksi kalus embriogenik dari potongan daun ramim*. Bogor: Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project.
- 41 Zhang K, Letham DS & John PC. 1996. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34cdc-2-like h1 histone kinase. *Planta* 200: 2-12.
- 19 Zhao J, Zhu WH, Hu Q & He XW. 2000. Improved indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* suspension cell cultures by various chemical. *Biothechnology Letter* 15(22): 1221-1226.

PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS Stelechocarpus burahol.pdf

ORIGINALITY REPORT

20%

SIMILARITY INDEX

18%

INTERNET SOURCES

16%

PUBLICATIONS

9%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikerisim.dicle.edu.tr:8080 Internet Source	1%
2	banglajol.info Internet Source	1%
3	jurnal.farmasi.umi.ac.id Internet Source	1%
4	scholar.unand.ac.id Internet Source	1%
5	www.actaf.co.cu Internet Source	1%
6	Sajad Mohd Wani, F.A. Masoodi, Sabreena Yousuf, B.N. Dar, S.A. Rather. "Phenolic compounds and antiproliferative activity of apricots: Influence of canning, freezing and drying", Journal of Food Processing and Preservation, 2020 Publication	1%
7	Ivan Ivanov, Vasil Georgiev, Milen Georgiev, Mladenka Ilieva, Atanas Pavlov. "Galanthamine and Related Alkaloids Production by <i>Leucojum aestivum</i> L. Shoot	<1%

Culture using a Temporary Immersion Technology", Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010

Publication

8

Meena Barupal, Vinod Kataria, Narpal S. Shekhawat. "In vitro growth profile and comparative leaf anatomy of the C3-C4 intermediate plant *Mollugo nudicaulis* Lam.", *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 2018

Publication

<1 %

9

jsk.farmasi.unmul.ac.id

Internet Source

<1 %

10

orca.cf.ac.uk

Internet Source

<1 %

11

Luo, J.. "Optimization of elicitors and precursors for paclitaxel production in cell suspension culture of *Taxus chinensis* in the presence of nutrient feeding", *Process Biochemistry*, 20040531

Publication

<1 %

12

Xiaodong Chen, Jingfei Cheng, Lyuqin Chen, Guifang Zhang, Hai Huang, Yijing Zhang, Lin Xu. " Auxin-Independent Pathway Acts in Response to Explant-Specific Wounding and Promotes Root Tip Emergence during de Novo Root Organogenesis in *Arabidopsis* ", *Plant Physiology*, 2016

Publication

<1 %

13	kups.ub.uni-koeln.de Internet Source	<1 %
14	Kathryn J Steadman, Monica S Burgoon, Betty A Lewis, Steven E Edwardson, Ralph L Obendorf. "Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions", <i>Journal of the Science of Food and Agriculture</i> , 2001 Publication	<1 %
15	Submitted to University of Liverpool Student Paper	<1 %
16	buleria.unileon.es Internet Source	<1 %
17	ejournal.umm.ac.id Internet Source	<1 %
18	era.library.ualberta.ca Internet Source	<1 %
19	www.e-sciencecentral.org Internet Source	<1 %
20	ejournal.uncen.ac.id Internet Source	<1 %
21	Sudhanshu Dwivedi, Chanchal Malik, Vinod Chhokar. "Chapter 9 Molecular Structure, Biological Functions, and Metabolic Regulation of Flavonoids", Springer Science and Business Media LLC, 2017 Publication	<1 %

22	Submitted to University of Thessaly Student Paper	<1 %
23	anyflip.com Internet Source	<1 %
24	repository.ipb.ac.id Internet Source	<1 %
25	Submitted to Bharati Vidyapeeth Deemed University College Of Engineering Student Paper	<1 %
26	Rui Yan, Yue Sun, Hongmei Sun. "Current status and future perspectives of somatic embryogenesis in Liliun", Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2020 Publication	<1 %
27	ejournal.unp.ac.id Internet Source	<1 %
28	Submitted to iGroup Student Paper	<1 %
29	unsri.portalgaruda.org Internet Source	<1 %
30	0200deliamega.blogspot.com Internet Source	<1 %
31	P. MLEJNEK. "Intracellular phosphorylation of benzyladenosine is related to apoptosis induction in tobacco BY-2 cells", Plant Cell and Environment, 10/2003 Publication	<1 %

32	blogs.uajy.ac.id Internet Source	<1 %
33	journal.uinsgd.ac.id Internet Source	<1 %
34	14.139.121.106:8080 Internet Source	<1 %
35	Submitted to Universitas Teuku Umar Student Paper	<1 %
36	nph.onlinelibrary.wiley.com Internet Source	<1 %
37	uad.portalgaruda.org Internet Source	<1 %
38	innspub.net Internet Source	<1 %
39	journal.ugm.ac.id Internet Source	<1 %
40	jtpunmul.files.wordpress.com Internet Source	<1 %
41	pct.capes.gov.br Internet Source	<1 %
42	repozitorij.biologija.unios.hr Internet Source	<1 %
43	Sumit Kumar Singh, Trapti Joshi, Sanjeev Kanojiya, Vineeta Tripathi, Dipak Kumar Mishra. "Callus culture and in vitro biosynthesis of echitamine from Alstonia	<1 %

scholaris (L.) R. Br.", Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2014

Publication

44 cibtech.org <1 %
Internet Source

45 en.wikipedia.org <1 %
Internet Source

46 jurnal.upnyk.ac.id <1 %
Internet Source

47 www.fp.unud.ac.id <1 %
Internet Source

48 Fetrina OKTAVIA, . SWANTO, Asmini BUDIANI. "Embriogenesis somatik langsung dan regenerasi planlet kopi arabika (Coffea arabica) dari berbagai eksplan Direct somatic embryogenesis and regeneration of arabica coffee plantlets (Coffea arabica) from different explants", E-Journal Menara Perkebunan, 2016 <1 %
Publication

49 Riwan Kusmiadi, Sitti Nurul Aini, Rion Apriyadi, Ciko Ciko. "Effectivity Test of Biological Agent Metarizhium anisopliae on Cluster Caterpillar (Spodoptera litura Fabr) by In Vitro Method", AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian, 2017 <1 %
Publication

50 Submitted to UIN Maulana Malik Ibrahim Malang <1 %

51 ejournal3.undip.ac.id <1 %
Internet Source

52 eprints.unwahas.ac.id <1 %
Internet Source

53 eprints.uny.ac.id <1 %
Internet Source

54 Ahmad Sapta Zuidar, Samsul Rizal, Jessica Puteri Octavia Hadi. "PENGARUH PREPARASI DAN BLANCHING TERHADAP MUTU REBUNG IKAN TERFERMENTASI (LEMEA) [The Effect of Preparation and Blanching to Quality of Fermented Bamboo Shoots and Fish (Lemea)]", Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian, 2019
Publication

55 Dina Soes Putri, Muti'ah Muti'ah, Yunita Arian Sani Anwar. "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU METE (Anacardium occidentale L.)", Jurnal Agrotek UMMat, 2018
Publication

56 Submitted to Hanoi National University <1 %
Student Paper

57 Lyly Zulraufianti, Asri Pirade Paserang. "Induksi Kalus Kentang Asal Desa Dombu (Solanum tuberosum L.) Dengan Zpt Indole-

3-Acetic Acid (IAA)", Natural Science: Journal of Science and Technology, 2019

Publication

58	biotechnology78.wordpress.com Internet Source	<1 %
59	ejournal.unklab.ac.id Internet Source	<1 %
60	jurnal3.akfarprayoga.ac.id Internet Source	<1 %
61	lpp.uad.ac.id Internet Source	<1 %
62	repository.dl.itc.u-tokyo.ac.jp Internet Source	<1 %
63	repository.uin-suska.ac.id Internet Source	<1 %
64	repository.unib.ac.id Internet Source	<1 %
65	www.drtus.com Internet Source	<1 %
66	www.scielo.org.pe Internet Source	<1 %
67	jurnal.unej.ac.id Internet Source	<1 %
68	www.gurupendidikan.co.id Internet Source	<1 %

69 Aryani Leksonowati, Witjaksono Witjaksono, Diah Ratnadewi. "INDUKSI BIAK KALUS DAN BIAK SUSPENSI SEL *Aquilaria malaccensis* Lam.", BERITA BIOLOGI, 2017
Publication <1 %

70 Submitted to Our Lady of Fatima University
Student Paper <1 %

71 Reetika Singh, Bechan Sharma. "Biotechnological Advances, Phytochemical Analysis and Ethnomedical Implications of *Sapindus species*", Springer Science and Business Media LLC, 2019
Publication <1 %

72 sites.google.com
Internet Source <1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On