

3

TERAKREDITASI B (Juli 2008–Juli 2011)

SK No. 43/DIKTI/Kep/2008

ISSN: 0852-6834

Berkala **PENELITIAN**
HAYYATI

(Journal of Biological Researches)

DESEMBER 2008

Vol. 14

No. 1

DAFTAR ISI

Identifikasi Karakter Morfologi Nematoda Sista pada Tanaman Jagung (<i>Heterodera zaeae</i>) di Indonesia Yuliantoro Baliadi	1
Development and Pathogenicity of Infective Juveniles Originating via <i>Endotokia Matricida</i> in Axenic Steinernematid Nematodes Yuliantoro Baliadi	7
Ekspresi Spermatogenesis Tikus Putih Setelah Induksi dengan Protein Insulin Like Growth Factor – I Complex Plasma Seminalis Kambing Suherni Susilowati	15
Keanekaragaman Jenis-jenis Anggrek Pulau Wawonii Diah Sulistiarini	21
Neraca Ekologi Penambangan Timah di Pulau Bangka Studi Kasus Pengalihan Fungsi Lahan di Ekosistem Darat Eddy Nurtjahya, Fournita Agustina, Wike Ayu Eka Putri	29
Meningkatkan Produksi <i>Flavan-3-OL</i> Melalui Kalus <i>Comellia Sinensis</i> L dengan Elisator CU^{2+} Sutini B, Tatik W, Wahyu W, Sutiman B	39
Preferensi dan Kerusakan Tumbuhan Koleksi Kebun Raya Cibodas oleh Benalu <i>Scurrula oortiana</i> (Korth.) Dans. Sunaryo	45
Peranan Pohon Induk dan Pengaruh Pemupukan Daun terhadap Pola Pertumbuhan Semai Cendana (<i>Santalum album</i> L.) Albert H. Wawo, Fauzia Syarif, dan Budiardjo	55
Respons Embriogenesis Mikrospora Tanaman Tebu (<i>Saccharum</i> spp.) pada Suhu dan Lama Inkubasi Cabang Malai di Dalam Medium b Suaib, W. Mangoendidjojo, Mirzawan PDN, dan A. Indrianto	63
Pengaruh Beberapa Fitohormon Pada Pembentukan Mutan Barley (<i>Hordeum vulgare</i>) Dengan Fenotip Biji Abnormal Ira N. Djajanegara	73
Pengaruh Stresor Fisik terhadap Distribusi Sert dan Indeks Apoptosis Neuron Hipokampus, serta Distribusi TNF- α Gaster Tikus, dengan Mediasi Kortisol dan IL-6 Suparno	79
Description of the Male of <i>Pseudomacrochiron Parvum</i> (A. Scott, 1909) (Copepoda, Poecilostomatoidea) with Remarks on The Female Mulyadi	91
Pemakaian Sel Raji dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Ethanol Biji Mimba (<i>Azadirachta indica</i>) Priyo Wahyudi dan Ira Djajanegara	95
Pengujian <i>In Vitro</i> Xilooligosakarida Sebagai Kandidat Prebiotik Asnia Zainuddin, Eddy Bagus Wasito, Ni Nyoman Tri Puspaningsih	101
Kualitas Udang yang Dijual di Pasar Jakarta Selatan dari Aspek Mikrobiologi Harsojo	109

PBI
CABANG
JAWA TIMUR

MENINGKATKAN PRODUKSI FLAVAN-3-OL MELALUI KALUS *Camellia sinensis* L. DENGAN ELISATOR Cu^{2+}

Sutini B¹, Tatik W², Wahyu W³, Sutiman B. Sumitro³

¹Agronomy Department of Agriculture Faculty UPN 'Veteran', Surabaya-East Java

²Agronomy Department of Agriculture Faculty, Brawijaya University, Malang-East Java

³Biology Department of FMIPA, Brawijaya University, Malang-East Java

E-mail: tien_basuki@yahoo.com

ABSTRACT

Flavan-3-ol is a secondary metabolite in tea plant that is used as anti obesity agent. The difficulty in obtaining Flavan-3-ol out of tea plant is due to dependency on season, need for large land, need for very intensive care and relatively low production. Therefore flavan 3-ol production needs to be developed in vitro culture technique. This technique can cope with the handicaps above. It can effectively control production and requires less space. The purpose of this research was to enhance flavan 3-ol production by modifying medium and precursor appropriately. The steps of this process were: (1) Callus induction through cultivating the tea shoot explants on medium filled with some growth hormone, (2) flavan-3-ol induction on callus culture using Cu^{2+} elicitor (3) Observation over callus growth, (4) Observation over qualitative characterizes of flavan 3-ol. The result of the research using Cu^{2+} elicitor shows that the production of flavan-3-ol increases by 12.5%.

Key words: flavan 3 ol, Callus culture, *Camellia sinensis* L, Ion Cu^{2+} elicitor

PENGANTAR

Flavan-3-ol adalah metabolit sekunder yang terdapat dalam daun teh muda (Peter, 2002). Sebagai bahan bioaktif memiliki khasiat antiobesitas. Senyawa *flavan-3-ol* ini berperan sebagai zat untuk menghancurkan lemak (Rahardjo dan Hermani, 2005), juga antioksidan yang memberikan efek penetralisasi kuat terhadap senyawa radikal bebas endogen dan eksogen (Murphy, 1999). Radikal bebas tersebut menyerang sistem intraseluler dalam berbagai jaringan tubuh. Itulah yang menyebabkan munculnya tumor, kanker, dan berbagai penyakit degeneratif lainnya. Menurut (Karlina, 2006) *flavan-3-ol* adalah antioksidan yang kekuatannya 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih dibandingkan vitamin E.

Kendala ketersediaan tanaman yang dipengaruhi musim, dengan curah hujan (1075–5450 mm tahun⁻¹), suhu 24,4° C (Williges, 2004), kadar senyawa yang relatif rendah sekitar 1–3% (Ruan, 2005) memerlukan lahan luas, memerlukan pemeliharaan intensif seperti penyiangan, pemangkasan, pemberantasan gulma, pemberantasan hama-penyakit (Setiti, 2000). Oleh karena itu, produksi metabolit sekunder *flavan-3-ol* perlu dikembangkan dengan teknik kultur *in-vitro*.

Teknik ini mempunyai keuntungan dalam produksi metabolit dibandingkan dengan tanaman utuh karena kecepatan pertumbuhan sel dan biosintesis dalam kultur yang diinisiasi dari eksplan sangat tinggi dan dalam periode

yang sangat singkat. Beberapa keuntungan dari pemakaian teknik kultur *in-vitro* untuk produksi metabolit sekunder antara lain: tidak tergantung musim, sistem produksi dapat diatur sesuai kebutuhan, lebih konsisten, dan mengurangi penggunaan lahan (Watimena, 1992). Kultur *in-vitro* juga lebih ekonomis untuk tanaman yang memerlukan waktu lama untuk mencapai usia produktif.

Akumulasi metabolit sekunder dalam kultur *in-vitro* dapat ditingkatkan melalui berbagai cara, di antaranya dengan: perlukaan (Mondal dkk., 2004), radiasi, sinar, diberi patogen misal jamur, pertumbuhan diganggu lewat pengurangan nutrisi, penambahan toksin logam berat/ elisitor. Peran elisitor dan Cu^{2+} dalam sintesis metabolit sekunder dapat menginduksi asam askorbat dan *Flavan-3-ol* lewat stimulasi (Saptarini, 1994). Penggunaan ion logam Cu^{2+} diperlukan karena berperan dalam proses enzimatik seperti *cytochrom oxidase*, *ascorbic acid oxidase* dan *laccase* dan reaksi oksidasi-reduksi.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan produksi *flavan-3-ol* dengan teknik kultur *in-vitro* melalui pemberian elisitor Cu^{2+} sebagai upaya untuk mendapatkan bahan bioaktif dalam skala besar.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan penelitian adalah eksplan pucuk daun teh dari tanaman berumur 4 tahun, menggunakan medium MS pada pH 5,8 dengan penambahan gula 3%, agar 0,8%, 2,4-D 1

ppm, kinetin 1 ppm, dan elisitor ion logam Cu^{2+} 1, 5, dan 10 ppm dimasukkan dalam botol kultur ± 25 ml. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Sterilisasi alat-alat dan media kultur pada autoklaf suhu 121°C selama 9 menit dan tekanan 1 atm. Kegiatan kultur dilakukan di *laminar air flow*.

Induksi kalus dengan eksplan pucuk daun teh dilakukan pada medium MS yang mengandung hormon 2,4-D dan kinetin masing-masing 1 ppm (Franco *et al.*, 2006). Eksplan dipetik dari pucuk daun teh pada posisi 1, 2 dan 3 (Simanjuntak, 2004) dicuci dengan air yang mengalir selama sepuluh menit. Untuk sterilisasi, eksplan direndam sambil dikocok pelan dalam larutan 5,25% natrium hipoklorit selama 30 menit. Dibilas dengan akuades steril, sambil dikocok pelan selama 5 menit. Pembilasan diulangi 3 kali. Dipindahkan pada cawan Petri, untuk menghilangkan tulang dan tepi daun, kemudian dipotong-potong ukuran 0,5–1 cm. Potongan ditanam sebanyak 4–5 eksplan dalam botol kultur lalu diinkubasi di ruang bersuhu 25°C . Kalus yang terbentuk disubkultur untuk memperbanyak jumlah kalus.

Kalus dipotong menjadi 4–5 bagian dan dipindahkan pada media baru secara aseptis, diinkubasi dalam ruang bersuhu 25°C selama 4 minggu dengan pencahayaan 1100 lux. Kalus dipilih yang berwarna putih kehijauan. Kalus hasil subkultur pertama digunakan sebagai eksplan untuk elisitasi.

Kalus hasil subkultur sebanyak 0,500 gram dipindah ke media baru yang mengandung elisitor ion logam Cu^{2+} dengan variasi konsentrasi 1, 5, 10 ppm.

Analisis kalus *flavan-3-ol* dilakukan pada umur 4 minggu dari sejak dipindah ke medium elisitasi dengan cara mengeluarkannya dari botol. Sebelum analisis kandungan *flavan-3-ol*, kalus ditiriskan, sebagian kecil diamati secara mikroskopis. Sebagian lagi ditimbang untuk mendapatkan bobot basah, kemudian dievaluasi pertumbuhannya dengan parameter indeks pertumbuhan (IP), yaitu perbandingan bobot akhir pada saat panen terhadap bobot awal saat penanaman. Pemeriksaan kualitatif kandungan *flavan-3-ol* dengan melarutkan ekstrak *flavan-3-ol* sebanyak 100 mg ke dalam 1 ml metanol (Caffin dkk., 2004), kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT).

Pada lempeng yang sama juga ditotolkan standar *flavan-3-ol* sebagai pembanding kemudian dieluasi dengan fase gerak: kloroform: asam asetat: asam formiat: iso butanol (8:1:1:4). Setelah kering diamati spektrum serapan secara KLT-densitometri pada panjang gelombang 254–366 nm.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan elisitasi ion logam Cu^{2+} dilakukan uji Anava apabila perlu dilanjutkan uji BNT.

Untuk mengetahui peningkatan konsentrasi *flavan-3-ol*, diperoleh dengan menyuntikkan ekstrak sampel kalus pada kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan kondisi terpilih. Area yang didapat diinterpolasi ke dalam kurva standar dan kurva sampel tanpa perlakuan/kontrol, kemudian dilakukan perhitungan peningkatan konsentrasi *flavan-3-ol* pada kalus.

HASIL

Induksi Kalus Teh

Empat minggu setelah induksi, kalus terbentuk pada tepi jaringan yang terpotong kemudian melebar ke seluruh permukaan eksplan. Hasil induksi kalus dari daun teh dengan media MS ditambah 2,4-D 1 ppm dan kinetin 1 ppm dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Induksi daun teh umur 4 minggu, dengan media MS + 2,4-D 1 ppm dan kinetin 1 ppm

Pada hasil subkultur pertama, pada umur empat minggu setelah masa tanam, diameter kalus meningkat menjadi ± 1 cm (Gambar 2).