

**SKRIPSI**

**ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID DAN ALKALOID PADA KALUS  
TANAMAN POHPOHAN (*Pilea trinervia* W.) YANG DIINDUKSI DENGAN  
HORMON KINETIN DAN 2,4 DIKLOROFENOKSIASETAT**

Disusun oleh:  
**Lintar Respati Kusumawardhani**  
NPM: 120801296



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2017**

**SKRIPSI**

**ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID DAN ALKALOID PADA KALUS  
TANAMAN POHPOHAN (*Pilea trinervia* W.) YANG DIINDUKSI DENGAN  
HORMON KINETIN DAN 2,4 DIKLOROFENOKSIASETAT**

Diajukan kepada Program Studi Biologi  
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta  
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana S-1

Disusun oleh:  
**Lintar Respati Kusumawardhani**  
**NPM: 12 08 01296**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA**

## LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan skripsi dengan judul :

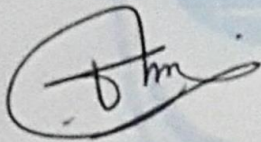
ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID DAN ALKALOID PADA KALUS  
TANAMAN POHPOHAN (*Pilea trinervia* W.) YANG DIINDUKSI DENGAN  
HORMON KINETIN DAN 2,4 DIKLOROFENOKSIASETAT

yang dipersiapkan dan disusun oleh :  
**Lintar Respati Kusumawardhani**  
NPM : 120801296

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada hari Rabu, 12 Juli 2017  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

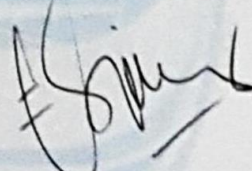
SUSUNAN TIM PENGUJI,

Pembimbing Utama,



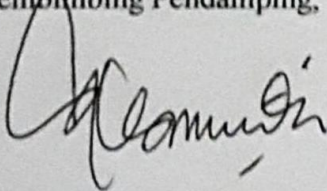
(Dr. E Mursyanti, M.Si.)

Anggota Tim Penguji,



(Drs. F. Sinung Pranata, M.P.)

Pembimbing Pendamping,

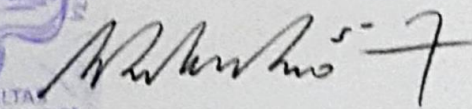


(L.M. Ekawati Purwijantiningsih, M.Si. )

Yogyakarta, 31 Juli 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



(Drs. B. Boy Rahardjo S., M.Sc)

## HALAMAN PERSEMBAHAN

**“Hope is being able to see that there is light, despite all of the darkness”  
-Desmond Tutu**

Karya ini kupersembahkan untuk Tuhan Yesus Kristus, Bunda Maria, Mami, Papi, Lintang, Neil, dan semua orang yang selalu mendukung dan terlibat dalam segala proses penyusunan naskah skripsi ini.

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Lintar Respati Kusumawardhani

NPM : 120801296

Judul Skripsi : ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID DAN ALKALOID  
PADA KALUS TANAMAN POHPOHAN (*Pilea trinervia* W.)  
YANG DIINDUKSI DENGAN HORMON KINETIN DAN 2,4  
DIKLOROFENOKSIASETAT

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul di atas adalah benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri dan disusun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik. Apabila di kemudian hari ternyata terbukti sebagai plagiarism, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku berupa pencabutan predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya.

Yogyakarta, 31 Juli 2017

Yang menyatakan,



Lintar Respati Kusumawardhani

120801296

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan naskah skripsi yang berjudul “Analisis Kandungan Flavonoid dan Alkaloid pada Kalus Tanaman Pohpohan (*Pilea trinervia* W.) yang Diinduksi Dengan Hormon Kinetin dan 2,4 Diklorofenoksiasetat”. Penulisan naskah skripsi ini salah satunya adalah untuk memenuhi syarat kelulusan studi S-1 di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Penyusunan naskah skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik atas bantuan dan dukungan dari pihak-pihak yang telah membantu penulis. Oleh karena itu,, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Papi dan Mami, selaku orang tua penulis yang senantiasa memberikan doa dan dukungan tanpa henti sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah ini dengan baik.
2. Ayah dan Ami, selaku orang tua penulis yang senantiasa memberikan doa dan dukungan tanpa henti sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah ini dengan baik.
3. MM. Lintang Respati Dwi Wardhani, selaku adik penulis yang senantiasa memberikan dukungan agar penulis dapat menyelesaikan naskah ini dengan baik.
4. Dr. E. Mursyanti, M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak membimbing dan mengarahkan penulis dalam penelitian dan penyusunan naskah skripsi.
5. LM. Ekawati Purwijantiningsih, M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak membimbing dan mengarahkan penulis dalam penelitian dan penyusunan naskah skripsi.
6. Drs. F. Sinung Pranata, M.P., selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dan mengarahkan penulis dalam penyempurnaan naskah ini.

7. F. R Sulistyowati dan Catarina Puput S.Si selaku staf laboratorium Teknobiologi Industri yang telah memberikan banyak petunjuk dan selalu menemani penulis selama penelitian sehingga penelitian penulis dapat berjalan dengan lancar.
8. Neil Dewantara, yang selalu menyemangati dan menemani penulis sehingga penelitian dan penyusunan naskah skripsi dapat berjalan dengan lancar.
9. Andrea Adyajati Kirana, Vika Dhavesia, dan Ade Irma Damayanti yang telah membantu dalam penelitian, memecahkan berbagai masalah dalam penelitian, dan memberikan semangat serta kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan naskah skripsi.
10. Yusuf H., selaku laboran Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan uji kuantitatif senyawa sehingga penyusunan naskah skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
11. Hendi Sunandar dari Perkebunan Manoko Lembang, Bandung, yang telah membantu penulis menyediakan bahan penelitian.
12. Teman – teman Fakultas Teknobiologi Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan dukungan semangat serta saran dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan naskah skripsi.

Semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca dan pihak-pihak yang berkepentingan.

Yogyakarta, Juli 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI .....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Keaslian Penelitian.....	3
C. Perumusan Masalah.....	4
D. Tujuan Penelitian .....	5
E. Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Deskripsi Tanaman Pohpohan ( <i>Pilea trinervia</i> W.) .....	6
B. Senyawa Metabolit Pada Pohpohan .....	7
C. Kultur <i>In Vitro</i> .....	11
D. Sterilisasi Eksplan .....	13



E. Eksplan dan Kalus .....	14
F. Medium Kultur Jaringan.....	16
G. Zat Pengatur Tumbuh: Kinetin dan 2,4-D.....	17
H. Kultur Suspensi Sel .....	20
I. Ekstraksi .....	22
J. Kromatografi Lapis Tipis .....	23
K. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi .....	26
L. Hipotesis.....	28
III. METODE PENELITIAN.....	29
A. Tempat dan Waktu Penelitian .....	29
B. Alat dan Bahan .....	29
C. Rancangan Percobaan.....	30
D. Tahapan Penelitian .....	30
E. Analisis Data.....	38
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	39
A. Induksi Kalus .....	39
B. Pola Pertumbuhan Sel Metode Kultur Suspensi Sel.....	45
C. Analisis Kandungan Metabolit Sekunder .....	49
V. SIMPULAN DAN SARAN .....	57
A. Simpulan .....	57
B. Saran .....	57
DAFTAR PUSTAKA .....	59
LAMPIRAN.....	65

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Bahan Kimia Yang Umum Digunakan untuk Bahan Sterilan .....	14
Tabel 2. Rancangan Percobaan Pengaruh Variasi Kinetin dan 2,4-D Terhadap Pembentukan Penampakan Kalus Berdasarkan Tekstur dan Kalus Daun Pohpohan .....	31
Tabel 3. <i>Skoring</i> Warna Kalus.....	34
Tabel 4. Hari Terbentuknya Kalus Pada Eksplan Daun Pohpohan.....	40
Tabel 5. Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Pohpohan Umur 28 Hari .....	42
Tabel 6. Morfologi Kalus Eksplan Daun Pohpohan Umur 28 Hari Berdasarkan Warna dan Tekstur Kalus .....	44
Tabel 7. Hasil KLT Senyawa Flavonoid Kalus Pohpohan.....	50
Tabel 8. Hasil KCKT Senyawa Flavonoid Kalus Pohpohan.....	52
Tabel 9. Hasil KLT Senyawa Alkaloid Kalus Pohpohan .....	53
Tabel 10. Hasil KCKT Senyawa Alkaloid Kalus Pohpohan.....	55
Tabel 11. Jadwal Kegiatan Penelitian .....	65
Tabel 12. Data Waktu Terbentuknya Kalus .....	67
Tabel 13. Data Pengukuran Berat Basah Kalus.....	67
Tabel 14. Data <i>Skoring</i> Penampakan Kalus .....	68
Tabel 15. Data Pertumbuhan Volume Sel .....	69

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Pohpohan .....	6
Gambar 2. Struktur Kimia Kuersetin .....	8
Gambar 3. Struktur Kimia Kuinin .....	11
Gambar 4. Bentuk dan Tekstur Kalus Daun Ramin .....	15
Gambar 5. Grafik Pola Pertumbuhan Sel Kalus .....	21
Gambar 6. Skema Tabung <i>Cold Finger</i> .....	24
Gambar 7. Contoh Hasil KLT .....	25
Gambar 8. Skema Instrumen KCKT .....	28
Gambar 9. Kalus Pohpohan Umur 14 Hari .....	43
Gambar 10. Kalus Pohpohan Terbaik .....	45
Gambar 11. Agregat Sel dalam Medium Cair .....	45
Gambar 12. Pola Pertumbuhan Kalus Pohpohan .....	47
Gambar 13. Endapan Agregat Sel .....	48
Gambar 14. Pertambahan Volume Kalus Pohpohan .....	48
Gambar 15. Visualisasi Senyawa Flavonoid Kalus Pohpohan .....	51
Gambar 16. Visualisasi Senyawa Alkaloid Kalus Pohpohan .....	54
Gambar 17. Hasil Ekstrak Metanol Kalus Pohpohan .....	64
Gambar 18. Alat Densitometer KLT .....	66
Gambar 19. Alat KCKT .....	66
Gambar 20. Hasil co-kromatogram analisis flavonoid standar kuersetin .....	73
Gambar 21. Hasil co-kromatogram analisis flavonoid ekstrak daun segar .....	73

Gambar 22. Hasil co-kromatogram analisis flavonoid ekstrak kalus daun  
pohpohan..... 74

Gambar 23. Hasil co-kromatogram analisis alkaloid standar kuinin..... 75

Gambar 24. Hasil co-kromatogram analisis alkaloid daun segar ..... 75

Gambar 25. Hasil co-kromatogram analisis alkaloid ekstrak kalus pohpohan.... 76



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Jadwal Penelitian .....	65
Lampiran 2. Dokumentasi Hasil Ekstrak Metanol Kalus Pohpohan .....	65
Lampiran 3. Dokumentasi Alat Densitometer KLT .....	66
Lampiran 4. Dokumentasi Alat KCKT .....	66
Lampiran 5. Data Waktu Terbentuknya Kalus Pohpohan Pertama Kali .....	67
Lampiran 6. Data Berat Basah Kalus Pohpohan .....	67
Lampiran 7. Data <i>Skoring</i> Morfologi Kalus Pohpohan .....	68
Lampiran 8. Data Pertumbuhan Volume Sel Selama 13 Hari .....	69
Lampiran 9. Hasil Analisis Varian dan Uji Duncan Berat Basah Kalus .....	70
Lampiran 10. Hasil Analisis Varian dan Uji Duncan Waktu Pertumbuhan Kalus .....	71
Lampiran 11. Hasil Analisis Varian dan Uji Duncan <i>Skoring</i> Kalus .....	72
Lampiran 12. Hasil Co-Kromatogram Analisis Senyawa Flavonoid dengan KCKT .....	73
Lampiran 13. Hasil Co-Kromatogram Analisis Senyawa Alkaloid dengan KCKT .....	75

## INTISARI

Tanaman pohpohan adalah salah satu tanaman di daerah Jawa Barat yang mengandung senyawa antioksidan diantaranya flavonoid dan alkaloid, beberapa vitamin, serat, dan mineral penting yaitu kalsium (Ca), besi (Fe), dan fosfor (P). Kelebihan kultur *in vitro* dalam produksi metabolit sekunder diantaranya adalah kecepatan pertumbuhan yang cepat dan material yang dibutuhkan sedikit. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan flavonoid dan alkaloid pada kalus yang berasal dari eksplan daun dengan penambahan variasi hormon kinetin dan 2,4- diklorofenoksiasetat (2,4- D) , yaitu: 0 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm. Tahapan penelitian meliputi induksi kalus dengan variasi hormon kinetin dan 2,4-D pada medium *Murashige-Skoog* (MS), pengukuran volume sel dengan metode *Packed Cell Volume* (PCV) untuk mengetahui waktu panen kalus, dan analisis fitokimia pada kalus. Ekstraksi kalus menggunakan metode refluks *cold-finger*. Analisis fitokimia dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan dilanjutkan dengan uji dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Standar yang digunakan yaitu standar kuersetin dan kuinin sulfat. Berdasarkan analisis KLT yang dilakukan, daun segar dan kalus memiliki bercak noda flavonoid dengan Rf kalus dengan variasi hormon 2,4-D 1 ppm sama dengan standar kuersetin yaitu 0,83. Pada analisis KLT alkaloid kuinin sulfat, kecuali pada daun segar, dan kalus yang diinduksi dengan kombinasi kinetin 0,1 ppm + 2,4-D 0,1 ppm ; kinetin 1 ppm + 2,4-D 0,5 ppm, muncul bercak noda alkaloid dengan Rf sampel antara 0,2-0,21 dan Rf standar kuinin sulfat 0,25. Berdasarkan hasil uji senyawa alkaloid menggunakan metode KCKT, menunjukkan puncak dengan waktu retensi standar kuinin sulfat 2,842 menit, daun segar 2,746 menit dan kalus dengan kombinasi 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm 2,616 menit. Konsentrasi senyawa metabolit sekunder kuinin sulfat dalam daun segar sebanyak 1020,08 ppm dan kalus dengan kombinasi 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm memiliki konsentrasi 145,387 ppm. Hasil uji senyawa flavonoid menggunakan metode KCKT menunjukkan puncak standar kuersetin 3,856 menit, daun segar 2, 387, dan kalus dengan kombinasi 2,4-D 0,5 ppm 3,226. Perbedaan waktu retensi menunjukkan senyawa yang berbeda. Hal ini menunjukkan adanya metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kalus adalah kuinin sulfat sebesar 145,387 ppm dan tidak mengandung senyawa flavonoid golongan kuersetin.