

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dalam Medium MS terhadap Kandungan Flavonoid Kalus Tomat
(*Solanum lycopersicum* syn. *Lycopersicon esculentum*)

The Effect of Sucrose Concentration in MS Medium on The Flavonoid Content of Tomato Callus
(*Solanum lycopersicum* syn. *Lycopersicon esculentum*)

Rizqi Fadlia Julianti^{1*}, Yulita Nurchayati², Nintya Setiari³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro,
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang Semarang 50275 Indonesia

*Email: fadliaq750@gmail.com

INTISARI

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam tomat dan berperan sebagai antioksidan. Produksinya dapat ditingkatkan menggunakan kultur kalus. Salah satu faktor yang mempengaruhinya adalah sukrosa dalam media kultur. Sukrosa dapat digunakan sebagai sumber karbon dan senyawa yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder. Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji pengaruh konsentrasi sukrosa yang dapat meningkatkan kandungan flavonoid dari kalus tanaman tomat. Eksplan yang digunakan dalam penelitian adalah kotiledon dari kecambah tomat varietas Permata F1 yang dikedambahkan secara aseptik. Metode yang digunakan adalah induksi kalus di dalam media *Murashige and Skoog* (MS). Potongan kotiledon dari kecambah umur 7 HST ditanam dalam medium MS dengan penambahan ZPT kombinasi NAA 1 mg/L dengan BAP 1 mg/L dan sukrosa sesuai perlakuan selama 49 hari. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu 3 perlakuan konsentrasi sukrosa : 20 g/L, 30 g/L, dan 40 g/L dengan 6 ulangan. Analisis kualitatif dan kuantitatif untuk kandungan flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *uv-vis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap peningkatan pertumbuhan dan perkembangan kalus serta kandungan flavonoid pada kalus tomat. Perlakuan konsentrasi sukrosa sampai 40 g/L meningkatkan kandungan flavonoid sebesar 32,22% dari perlakuan kontrol. Oleh karena itu, konsentrasi sukrosa 40 g/L pada penelitian ini merupakan perlakuan paling baik untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid kalus tomat secara *in vitro*.

Kata kunci : kotiledon, tomat, flavonoid, kalus, sukrosa

ABSTRACT

Flavonoids are one of the compounds contained in tomatoes and act as antioxidants. Its production can be increased using callus culture. Factors that influence it is sucrose in media culture. Sucrose can be used as a carbon source and have the ability to increase the production of secondary metabolites. The aim of this research was to examine the effect of sucrose production which can increase the flavonoids from tomato plants. The explants used in the study were cotyledons from the aseptically germinated of the Permata F1 tomato variety. The method used was callus induction in MS media. Pieces of cotyledons from sprouts aged 7 DAP were grown in MS medium with the addition of 1 mg/L NAA and 1 mg/L BAP hormone and sucrose according to treatment for 49 days. The research design used a completely randomized design (CRD) with a single factor, namely 3 treatments of sucrose

concentration : 20 g/L, 30 g/L, and 40 g/L with 6 replications. Qualitative and quantitative analyzes of flavonoid content were performed using a UV-vis spectrophotometer. The real results showed that the concentration of sucrose affected the growth and development of callus as well as the flavonoid content in callus tomatoes. Treatment with sucrose concentration up to 40 g/L increased the flavonoid content by 32.22% from the control treatment. Therefore, a sucrose concentration of 40 g/L in this research is a good treatment to increase the growth and content of tomato callus flavonoids *in vitro*.

Keywords : cotyledons, tomato, flavonoids, callus, sucrose

PENDAHULUAN

Tomat merupakan salah satu tanaman yang berasal dari famili Solanaceae. Buah tomat dapat dikonsumsi masyarakat untuk kesehatan karena mengandung senyawa antioksidan. Kandungan senyawa antioksidan pada buah tomat mayoritas adalah golongan fenol yang meliputi senyawa fenol sederhana, asam fenolat, isoflavon dan flavonoid. Senyawa fenol paling besar pada tomat yaitu flavonoid (Evelin dkk, 2014). Flavonoid berkhasiat bagi kesehatan manusia diantaranya sebagai antiinflamasi, antibiotik, menghambat pertumbuhan sel kanker dan mengurangi risiko terjadinya penyakit jantung (Ukoha *et al.*, 2011).

Senyawa antioksidan pada tanaman tomat khususnya flavonoid dapat digunakan sebagai obat, namun produksi senyawa tersebut masih tergolong rendah dan perlu banyak tanaman tomat untuk mencukupi kebutuhan antioksidan sebagai bahan obat. Penggunaan bahan alam secara terus menerus akan menyebabkan kelangkaan pada tanaman. Sehingga perlu adanya alternatif untuk mencegah terjadinya kelangkaan. Salah satu caranya yaitu melalui pendekatan bioteknologi dengan kultur kalus. Menurut Marchev *et al* (2014), kultur *in vitro* dapat mengubah jalur sintesis metabolit sekunder dengan cara meningkatkan produksi fitokimia pada tanaman sehingga menjadi metode alternatif untuk mendapatkan metabolit sekunder lebih banyak daripada tanaman induknya. Faktor yang mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada kultur jaringan salah satunya adalah konsentrasi sukrosa dalam media kultur (Sulichantini, 2015).

Sukrosa di dalam media kultur berperan sebagai sumber karbon dan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan untuk

memicu/elisitor dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder. Ketika sukrosa diautoklaf akan terjadi hidrolisis untuk menghasilkan glukosa dan fruktosa yang dapat diserap lebih efisien oleh tanaman (Inayah, 2015). Konsentrasi sukrosa dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus serta produksi metabolit sekunder pada kultur kalus beberapa jenis tanaman. Perlakuan sukrosa 30 g/L pada kultur kencur memberikan pengaruh terhadap variabel berat basah, berat kering dan morfologi/tekstur kalus (Shofiyani dan Agus, 2017) dan perlakuan sukrosa 30 g/L juga meningkatkan kandungan reserpin pada kalus pule pandak (Irmawati dkk, 2007). Penambahan sukrosa 40 g/L pada medium kultur menyebabkan peningkatan produksi asam askorbat pada kalus rosela (Nurchayati dan Rahmah, 2010) dan peningkatan pertumbuhan kalus binahong (Sitorus dkk, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji peran dari beberapa konsentrasi sukrosa terhadap produksi flavonoid tomat varietas permata yang dikultur secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro.

Penyediaan Kecambah Tomat

Benih tomat dicuci dengan air yang mengalir diikuti dengan detergen selama 2 menit dan dibilas dengan akuades. Benih kemudian disterilisasi dengan larutan bayclin 10% di dalam LAF selama 3 menit dan dibilas dengan alkohol 70% selama 30 detik. Benih selanjutnya dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Benih tomat yang telah disterilisasi kemudian langsung ditanam di

dalam media perkecambah yang berupa tisu steril. Benih tomat diinkubasi di tempat terang selama 7 hari hingga muncul kotiledon. Kotiledon kecambah tomat digunakan sebagai eksplan untuk menumbuhkan kalus.

Pembentukan Kalus

Eksplan kotiledon dari kecambah tomat dilukai kemudian ditanam ke dalam botol berisi media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA dan BAP masing-masing 1 mg/L. Sumber karbon yang dipakai adalah sukrosa dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 20, 30 dan 40 g/L serta pematid gelatin sebanyak 2 g/L. Eksplan pada botol kultur diinkubasi pada ruang steril dan diberi pencahayaan lampu sebesar 1000 lux selama 7 minggu. Setiap 2 minggu sekali dilakukan subkultur ke dalam media baru dengan formulasi yang sama.

Kalus dipanen dan ditimbang untuk menentukan berat basah. Kalus kemudian dikeringkan dalam oven selama 4 hari pada suhu 45°C untuk menentukan berat kering dan menganalisis kandungan flavonoid.

Penentuan Kandungan Flavonoid Total Metode AlCl₃

Kalus kering sebanyak 0,2 g dihaluskan dengan mortar hingga halus. Serbuk kalus kemudian diekstraksi dengan metanol yang mengandung 1% (v/v) HCl, diikuti dengan penambahan 2 N HCl dan diinkubasi pada suhu 90°C selama 1 jam. Ekstrak asam terhidrolisis dikeringkan dan disuspensikan kembali dalam metanol (Hao *et al.*, 2009).

Total kandungan flavonoid ditentukan menggunakan prosedur Zou *et al.*, (2004). Sebanyak 0,5 mL larutan sampel yang telah diencerkan, dicampur dengan 2 mL akuades, kemudian tambah dengan 0,15 mL larutan NaNO₂ 5%, 0,15 mL larutan AlCl₃ 10% ditambahkan ke dalam larutan sampel dan diinkubasi selama 6 menit. Selanjutnya 2 mL NaOH 4% ditambahkan ke dalam campuran dan ditambahkan akuades hingga volume menjadi 5 mL. Larutan yang telah tercampur rata dibiarkan selama 15 menit.

Analisis Kualitatif dan Kuantitatif

Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri *uv-vis* pada panjang gelombang 510 nm dengan larutan standar kuersetin. Rumus yang dihasilkan dari persamaan kurva standar kuersetin adalah $y = 0,002x + 0,001$.

Total kandungan flavonoid (*Total Flavonoid Content*) dinyatakan dalam *quersetin equivalent* (QE) (mg/g) menurut modifikasi Kim *et al* (2003) dinyatakan dengan rumus seperti dibawah ini.

$$TFC = c \times V/m$$

Keterangan :

TFC = kandungan flavonoid total (mg/g)

C = konsentrasi total flavonoid dari kurva standar kuersetin (mg/L)

V = volume ekstrak (L)

M = berat sampel (g)

Analisis Data dan Uji Statistik

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi sukrosa dalam media MS dengan 3 perlakuan yaitu: 20 g/L, 30 g/L dan 40 g/L dengan 6 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of varian* (ANOVA) dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Uji normalitas dan DMRT dilakukan dengan program aplikasi SPSS 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Inisiasi Kalus

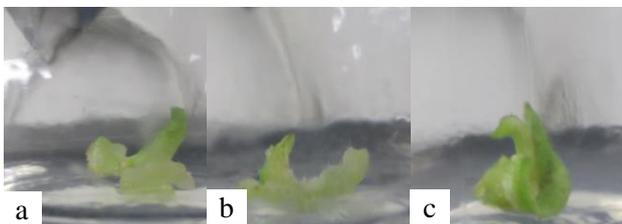
Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh nyata konsentrasi sukrosa terhadap rata-rata waktu inisiasi kalus sehingga dapat dilanjutkan dengan uji DMRT dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil Uji DMRT (Tabel 1.) menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi sukrosa 40 g/L berbeda nyata dengan sukrosa 20 g/L. Perlakuan 30 g/L tidak berbeda nyata dengan 20 g/L.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap waktu inisiasi kalus (HST)

Konsentrasi Sukrosa (g/L)	Waktu Inisiasi Kalus (HST)
20	9,83±0,75 ^b
30	9,00±0,63 ^{ab}
40	8,17±0,75 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT $\alpha = 0,05$

*HST= Hari Setelah Tanam



Gambar 1. Inisiasi kalus di dalam media MS:
a) 20 g/L, b) 30 g/L, c) 40 g/L (10 HST)

Eksplan kotiledon kecambah tomat dapat tumbuh menjadi kalus ketika kebutuhan sukrosa di dalam media tercukupi. Gambar 1. menunjukkan bahwa semua perlakuan konsentrasi sukrosa dapat merangsang inisiasi kalus. Hal ini karena sel pada eksplan hidup dalam lingkungan yang kondusif dengan media yang mengandung ZPT kombinasi NAA dengan BAP dan sumber karbon yang cukup, sehingga eksplan akan memberikan respon yang berupa pembelahan membentuk kalus. Menurut Ulva dkk. (2019), ketersediaan sukrosa dan nutrisi dalam media merupakan sumber energi utama bagi eksplan untuk melakukan proses metabolisme.

Inisiasi pembentukan kalus adalah tahapan yang penting untuk melakukan tahapan selanjutnya yaitu proses pembentukan metabolit sekunder. Munculnya kalus dimulai pada bagian yang luka pada eksplan yang mengakibatkan sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak sehingga terbentuk kalus. Sel pada eksplan menyerap air dan nutrisi dari media sebagai tahap awal proses pertumbuhan,

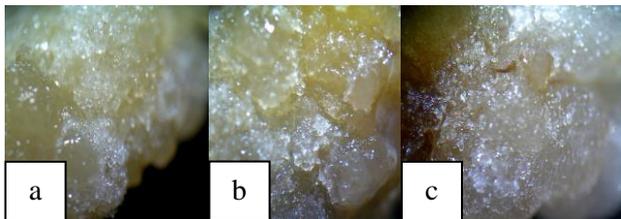
akibatnya sel-sel membesar dan mengalami pembelahan terus menerus. Pembelahan secara terus menerus akan membentuk kumpulan sel yang belum mengalami diferensiasi yang disebut dengan kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Xu (2018) bahwa pelukaan pada eksplan memberikan beberapa sinyal internal jaringan pada eksplan untuk menutup lukanya. Sinyal awal akan memengaruhi kemampuan eksplan untuk beregenerasi. Sinyal awal ini dikirim ke berbagai sel, seperti mesofil dan sistem vaskular untuk mengkonversi sel-sel yang rusak (Xu 2018) dengan bantuan zat pengatur tumbuh yang berfungsi dalam menutup luka dan terbentuknya kalus (Utami *et al.* 2007).

Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa kalus tomat yang paling cepat tumbuh pada media MS adalah perlakuan konsentrasi sukrosa 40 g/L, kalus sudah terbentuk rata-rata pada hari ke-8. Sukrosa konsentrasi 30 g/L yang ditambahkan pada media MS dapat membentuk kalus dalam waktu yang lebih lama yaitu pada hari ke-9 dan diikuti dengan sukrosa 20 g/L yaitu pada hari ke-10. Hal ini menunjukkan bahwa waktu inisiasi kalus cenderung lebih cepat seiring dengan penambahan sukrosa dalam media kultur. Konsentrasi sukrosa 40 g/L merupakan perlakuan yang menghasilkan waktu inisiasi yang paling cepat karena paling tinggi, sehingga eksplan memperoleh sumber energi dan sumber karbon yang lebih banyak. Apabila sumber energi dan sumber karbon tercukupi maka komponen sel akan terbentuk lebih cepat, sehingga sel-sel lebih cepat pula dalam proses pembelahan. Pembelahan sel yang terus menerus akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal. Hal ini sejalan dengan penelitian Sitorus dkk. (2011) pada tanaman binahong bahwa konsentrasi sukrosa 40 g/L pada media MS dapat mempercepat pertumbuhan kalus binahong.

Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu indikator yang digunakan untuk menilai kualitas kalus. Berdasarkan Gambar 2, kalus yang dihasilkan dari semua perlakuan menunjukkan kalus yang bertekstur kompak. Kalus kompak

tampak padat dan berisi air, warna kuning kecoklatan, jika dipegang keras sehingga sel-selnya tidak mudah lepas. Menurut Sugiyarto dan Paramita (2014), berdasarkan teksturnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus yang kompak, semi remah, dan remah. Kalus kompak mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat. Tipe kalus seperti ini biasanya sulit beregenerasi menjadi tunas. Tekstur kalus yang diamati menggunakan kamera optilab dengan perbesaran 2x ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Tekstur kalus di dalam media MS dengan perlakuan perbedaan konsentrasi sukrosa : a) 20 g/L, b) 30 g/L, c) 40 g/L berumur 49 HST.

Kalus yang kompak memiliki susunan sel yang rapat dan padat sehingga sulit untuk dipisah-pisahkan. Pembentukan kalus pada kombinasi ZPT NAA dan BAP pada penelitian ini menunjukkan efek sinergis antara auksin dan sitokinin, yang lebih lanjut merangsang respon sel-sel pada jaringan, khususnya sel-sel yang kompeten selama fase kalus (Ramdan *et al*, 2014). Penelitian Dwi (2012) menunjukkan bahwa kalus yang diinduksi dengan penambahan sitokinin memiliki tekstur kompak sebagai efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat, sehingga sel menjadi lebih kaku. Oleh karena itu, kalus kompak merupakan kalus yang paling baik untuk bahan subkultur dan penghasil metabolit sekunder. Hal ini didukung oleh Indah dan Ermavitalini (2013), bahwa tekstur kalus kompak pada kalus tanaman Nyamplung dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak daripada kalus remah dan intermediet.

Pertumbuhan Kalus

Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh signifikan konsentrasi sukrosa terhadap berat basah dan berat kering kalus. Hasil Uji DMRT berat basah (Tabel 2) menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi sukrosa 40 g/L tidak berbeda nyata dengan sukrosa 30 g/L namun berbeda nyata dengan 20 g/L. Sedangkan hasil uji DMRT berat kering (Tabel 2) seluruh konsentrasi sukrosa berbeda nyata.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap pertumbuhan kalus

Konsentrasi Sukrosa (g/L)	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)
20	0,7747±0,03 ^b	0,0544±0,00 ^c
30	0,8848±0,05 ^a	0,0672±0,00 ^b
40	0,9417±0,07 ^a	0,0777±0,01 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan $\alpha = 0,05$

Parameter berat basah dan berat kering menunjukkan adanya pertumbuhan kalus. Berat basah dan berat kering kalus ditimbang pada akhir pengamatan yaitu 49 HST. Berdasarkan Tabel 2. dapat diketahui bahwa berat basah tertinggi diperoleh pada perlakuan 40 g/L sebesar 0,9417 gram dan perlakuan 20 g/L menghasilkan berat basah paling rendah yaitu sebesar 0,7747 gram. Hal ini diduga karena sel pada eksplan yang ditumbuhkan dalam media dengan sukrosa konsentrasi tinggi dapat lebih cepat menerima unsur hara yang dibutuhkan. Srilestari (2005) menyatakan bahwa media dengan sukrosa tinggi dapat digunakan sel untuk mencukupi kebutuhannya, sehingga sel kalus memiliki kemampuan untuk menyerap air sehingga berat kalus bertambah.

Parameter pertumbuhan selanjutnya adalah berat kering kalus. Berat kering kalus diperoleh dari kalus yang dikeringkan dalam oven. Kandungan air pada kalus kering telah hilang, namun di dalam sel masih terdapat biomassa. Oleh karena itu, kalus kering digunakan sebagai bahan untuk pengujian

flavonoid total. Berdasarkan Tabel 2. berat kering kalus tertinggi dan terendah juga diperoleh pada perlakuan 40 g/L dan 20 g/L. Berat kering tertinggi sebesar 0,0777 gram dan berat kering terendah sebesar 0,0544 gram. Hal ini karena sukrosa yang tinggi dalam media mampu mencukupi kebutuhan kalus untuk pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder.

Kandungan Flavonoid Total

Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh signifikan konsentrasi sukrosa terhadap kandungan flavonoid total. Hasil Uji DMRT (Tabel 3) menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi sukrosa 40 g/L berbeda nyata dengan sukrosa 30 g/L. Perlakuan 30 g/L berbeda nyata dengan 20 g/L.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap kandungan flavonoid total

Konsentrasi Sukrosa (g/L)	Kandungan Flavonoid Total (mg/g)
20	0,7±0,06 ^c
30	0,9±0,07 ^b
40	1,19±0,09 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan $\alpha = 0,05$

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diberikan dalam medium kultur semakin banyak kandungan flavonoid yang dihasilkan. Kandungan flavonoid total terendah diperoleh pada media dengan konsentrasi sukrosa 20 g/L sebanyak 0,7 mg/g dan kandungan flavonoid total tertinggi diperoleh pada media dengan konsentrasi sukrosa 40 g/L yaitu 1,19 mg/g. Total flavonoid kalus hasil kultur dari pengurangan konsentrasi sukrosa media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan dari 30 g/L menjadi 20 g/L mengalami penurunan 28,57%. Sedangkan kandungan flavonoid dari kalus hasil penambahan sukrosa dari 30 g/L menjadi 40 g/L mengalami peningkatan 32,22%.

Kandungan flavonoid total dipengaruhi oleh konsentrasi sukrosa yang ditambahkan dalam media. Pengaruh tersebut diduga karena sukrosa berperan sebagai pemicu/elisitor produksi metabolit sekunder. Sukrosa merupakan prazat pembentuk flavonoid melalui jalur asam shikimat dan asam malonat. Peningkatan konsentrasi sukrosa juga dapat menyebabkan meningkatnya tekanan osmotik.

Kadar normal pemberian konsentrasi sukrosa untuk pertumbuhan dan pembentukan metabolit sekunder menurut Irmawati dkk (2007) adalah 30 g/L. Penelitian pada kalus tomat dengan pemberian sukrosa sebanyak 40 g/L menjadi perlakuan yang menghasilkan kandungan flavonoid paling tinggi. Hal ini karena pemberian konsentrasi sukrosa yang melebihi kadar normal diduga dapat menjadi cekaman yang akan berpengaruh pada jalur biosintesis metabolit sekunder khususnya flavonoid. Wink (2010) menyatakan bahwa penambahan elisitor seperti sukrosa difungsikan untuk merangsang aktivitas enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) yang terlibat dalam jalur biosintesis sehingga dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder.

Sukrosa pada media kultur jaringan selain sebagai sumber karbon juga berfungsi sebagai regulator osmotik. Perubahan konsentrasi sukrosa dapat mengakibatkan berubahnya potensial osmotik pada lingkungan kultur. Perlakuan sukrosa 40 g/L menghasilkan kandungan flavonoid tertinggi diduga kalus berada pada kondisi stres karena tingginya tekanan osmotik. Menurut De Paiva *et al.* (2003), sukrosa dengan konsentrasi yang tinggi dapat menurunkan nilai potensial osmotik sehingga kondisi tanaman menjadi tercekam. Kondisi tercekam akan menghasilkan respon berupa perubahan biokimia pada sel tanaman, salah satunya adalah produksi metabolit sekunder.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang masuk dalam kelompok fenolik yang terbentuk melalui jalur asam shikimat dan asam malonat, dimana bahan utama untuk kedua jalur tersebut adalah hasil glikolisis dari karbohidrat. Hal ini sesuai dengan Held dan Piechulla (2011), bahwa pembentukan metabolit sekunder

menggunakan tiga komponen hasil glikolisis yaitu glukosa 6-fosfat, fosfoenol piruvat, dan piruvat. Ketiganya memiliki peran masing-masing dalam pembentukan metabolit sekunder fenolat khususnya flavonoid.

Sukrosa selain sebagai sumber karbon dan energi dalam pembentukan metabolit sekunder juga berfungsi mengatur sinyal yang mempengaruhi ekspresi gen dalam proses pembentukan metabolit sekunder. Konsentrasi sukrosa yang ditambahkan ke dalam media dapat mempengaruhi kandungan flavonoid pada kultur kalus tomat ini. Hal ini berkaitan dengan jalur biosintesis flavonoid yang termasuk golongan fenol, yang menggunakan sukrosa sebagai senyawa awal dalam jalur biosintesisnya. Jalur pembentukan melalui jalur asam shikimat berkaitan langsung dengan enzim percabangan antara metabolit primer dan sekunder yang disebut enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL). Hal ini sependapat dengan Taiz dan Zeiger (2010) bahwa pembentukan metabolit sekunder golongan fenolik tidak lepas dari peran enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) dimana enzim ini berfungsi sebagai titik kontrol dalam pembentukan metabolit sekunder. Enzim PAL merupakan enzim biosintetik yang merupakan kunci pada tahap pertama dalam proses pembentukan berbagai senyawa polifenol dan terlibat dalam mekanisme pertahanan.

Kandungan flavonoid pada perlakuan konsentrasi 20 g/L memiliki hasil yang lebih rendah dari kontrol. Hal ini disebabkan karena sumber karbon dan sumber energi yang tersedia dalam media dioptimalkan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Perlakuan dengan konsentrasi 40 g/L mengalami peningkatan kandungan flavonoid dari perlakuan kontrol diduga karena sumber karbon dan sumber energi yang tersedia dapat digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan kalus dan juga pembentukan metabolit sekunder. Hal ini sesuai dengan penelitian Shofiyani (2018), bahwa sel tumbuhan menggunakan sukrosa untuk energi dan biosintesis, termasuk biosintesis metabolit sekunder. Media dengan penambahan sukrosa mencapai 40 g/L, memiliki sumber karbon yang dapat digunakan untuk pertumbuhan kalus dan

juga untuk produksi *ethyl p-methoxycinnamate* (EPMC) pada kultur kalus kencur (*Kaempferia galanga*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa 40 g/L pada media menghasilkan kandungan flavonoid tertinggi. Hal ini disebabkan karena pada sukrosa 20 g/L dan 30 g/L belum optimal untuk aktivasi enzim PAL, sehingga menghasilkan produksi flavonoid yang lebih rendah. Sedangkan sukrosa dengan konsentrasi 40 g/L adalah perlakuan yang paling optimal untuk aktivasi enzim PAL. Oleh karena itu, perlakuan pemberian sukrosa dalam media dengan konsentrasi 40 g/L merupakan konsentrasi terbaik untuk produksi flavonoid. Hal ini terjadi juga pada metabolit sekunder lain yaitu penelitian yang dilakukan Manuhara dkk (2015) mengenai peningkatan kandungan saponin pada kultur akar rambut *Talinum paniculatum* karena penambahan sukrosa 40 g/L.

KESIMPULAN

Perlakuan konsentrasi sukrosa 40 g/L yang ditambahkan ke dalam medium kultur secara signifikan berpengaruh terhadap waktu inisiasi, tekstur, berat basah dan berat kering kalus. Perlakuan konsentrasi sukrosa 40 g/L juga merupakan perlakuan yang menghasilkan kandungan flavonoid total paling tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Diponegoro melalui LPPM atas pemberian Dana Riset Penerapan dan Pengembangan (RPP) tahun anggaran 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- De Paiva, V. B. and W.C. Otoni, 2003. Carbon Sources and Their Osmotic Potential in Plant Tissue Culture: Does It Matter? *Sci Hort*, 97: 193-2-2.
- Dwi, N.M., Waeniati., Muslimi., dan I.N Suwastika. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.). *Jurnal Natural Sci.*, 1(1): 53- 62.

- Evelin, T.M. Siregar, dan Sanny. 2014. Studi Aktivitas Antioksidan pada Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Konvensional dan Organik Selama Penyimpanan. *Prosiding SNST ke-5 Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang*, 1(1): 22-28.
- Hao, G., X. Du, F. Zhao, R. Shi, and J. Wang. 2009. Role of nitric oxide in UV-B-induced activation of PAL and stimulation of flavonoid biosynthesis in *Ginkgo biloba* callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 97(2): 175-185.
- Held, H.W. and B. Piechulla. 2011. *Plant Biochemistry*. Elsevier, London.
- Inayah, T. 2015. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa pada Induksi Embriosomatik Dua Kultivar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*. *Jurnal Agribisnis*, 9(1): 61-70.
- Indah, P.N. dan D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1): 2337-3520.
- Irmawati, Solichatun, dan E. Anggarwulan. 2007. Pertumbuhan dan kandungan reserpin kultur kalus *Rauvolfia verticillata* pada variasi konsentrasi sukrosa dalam media MS. *Biofarmasi*, 5(1): 38-46.
- Kim, D.O., S.W. Jeong, and C.Y. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81:321-326.
- Marchev, A., H. Christiane, S. Schulz, V. Georgiev, J. Steingroewer, T. Bley, and A. Pavlov. 2014. Sage *in vitro* Cultures: A Promising Tool For The Production of Bioactive Terpenes and Phenolic Substances. *Biotechnol, Lett.* 36: 211–221.
- Nurchayati, Y., dan F.A. Rahmah. 2010. Kandungan Asam Askorbat pada Kultur Kalus Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Variasi Konsentrasi Sukrosa dalam Media MS. *Majalah Obat Tradisional*, 15(2): 71 – 74.
- Ramdan, R., N. Handaji, H. Beyahia, dan M. Ibriz. 2014. Influence of Growth Regulators on Callus Induction from Embryos of Five Citrus Root Stocks. *Journal of Applied Biosciences*, 73: 5959–5965.
- Shofiyani, A. dan M.P. Agus,. 2017. Pertumbuhan Kalus Kencur (*Kaempferia galanga* L.) pada Komposisi Media dengan Perlakuan Sukrosa dan Zat Pengatur Tumbuh (2,4 D dan Benzil Amino Purin). *Journal Article. Agritech. Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*.
- Sitorus, E.N., E.D. Hastuti, dan N. Setiari. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) Secara *In Vitro* pada Media *Murashige & Skoog* dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *Jurnal Bioma*, 13 (1): 1-7.
- Srilestari, R. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa. *Ilmu Pertanian*, 12(1): 43-51.
- Sugiyarto, L. dan C.K. Paramita. 2014. Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan Benzyl Aminopurin (BAP) terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta Analisis Kandungan Flavonoid Total. *Jurnal Penelitian Saintek*, 19(1): 23-30.
- Sulichantini, E. D. 2015. Produksi Metabolit Sekunder Melalui Kultur Jaringan. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 1(1): 205-212.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology (fifth edition)*. Massachusetts: Sinauer
- Ukoha, P.O., E.A.C. Cemaluk, O.L. Nnamdi, dan E.P. Madus. 2011. Tannins and other phytochemical of the *Samanea saman* pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(8): 237-244.
- Ulva, M., Y. Nuchayati, E. Prihastanti, dan N. Setiari. 2019. Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas

- Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara *in vitro*. *Life Science*, 8(2): 160-169.
- Utami, E.S.W., I.T. Sumardi, dan E. Semiarti, 2007. Pengaruh α -Naphthaleneacetic Acid (NAA) terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* L. Bl. *Jurnal Biodiversitas*, 8(4): 295- 299.
- Wink, M. 2010. *Fungtion and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Xu, L. 2018. De novo Root Regeneration From Leaf Explants: Wounding, Auxin, and Cell Fate Transition. *Current Opinion in Plant Biology*, 41: 39–45.
- Zou, Y., Y. Lu, and D. Wei. 2004. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16): 5032-5039.