



# **POTENSI TUMBUHAN *CURCULIGO* SPP. SEBAGAI ANTIDIABETES: PENDEKATAN BERBASIS ANATOMI DAN HISTOKIMIA, METABOLOMIK, BIOINFORMATIKA, DAN BIOTEKNOLOGI**

**ABD. HALIM UMAR**



**BIOLOGI TUMBUHAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2021**



## PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Potensi Tumbuhan *Curculigo* spp. sebagai Antidiabetes: Pendekatan Berbasis Anatomi dan Histokimia, Metabolomik, Bioinformatika, dan Bioteknologi” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, 15 Juli 2021

Abd. Halim Umar  
NIM G363170011

## RINGKASAN

ABD. HALIM UMAR. Potensi Tumbuhan *Curculigo* spp. sebagai Antidiabetes: Pendekatan Berbasis Anatomi dan Histokimia, Metabolomik, Bioinformatika, dan Bioteknologi. Dibimbing oleh DIAH RATNADEWI, MOHAMAD RAFI, YOHANA CAECILIA SULISTYANINGSIH, dan HAMIM.

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang disebabkan karena kurangnya produksi insulin atau ketidakmampuan sel dalam merespon insulin (resistensi insulin). Menurut *International Diabetes Federation* (2021), kasus DM di dunia mencapai 463 juta dan diperkirakan akan meningkat menjadi 700 juta pada tahun 2045. Kecenderungan peningkatan kasus dan tingkat kematian akibat DM perlu mendapatkan perhatian khusus, terutama pada pola pengobatannya. Pengobatan DM dengan menggunakan bahan alam menjadi salah satu bidang yang banyak diteliti di dunia karena efektif dan aman.

*Curculigo latifolia* Dryand. ex W.T.Aiton dan *Curculigo orchioides* Gaertn. termasuk ke dalam famili Hypoxidaceae, herba tahunan dengan daun berbentuk lanset atau lanset sejajar tersusun roset, bunga kuning, batang sangat pendek, dan memiliki rimpang berbentuk silinder panjang. Sebanyak 39 spesies dari genus ini berstatus diterima (*accepted*) dalam *World Checklist of Selected Plant Families* (WCSP 2020), termasuk kedua spesies ini. Kedua spesies dikenal sebagai tumbuhan obat tradisional di berbagai wilayah tropis.

Rimpang dari *Curculigo* spp. merupakan salah satu sumber bahan baku obat tradisional, untuk mengobati penyakit DM, efek farmakologi ini bersumber dari metabolit sekundernya. Metabolit ini terdistribusi dan terakumulasi pada struktur sekretori tertentu. Namun, kandungan senyawa aktif pada tumbuhan yang begitu beragam sangat sulit untuk ditentukan aktivitasnya, serta parameter farmakokinetik dan farmakodinamikanya dalam waktu yang singkat. Di samping itu, senyawa yang diproduksi dalam keadaan normal di alam sangat rendah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui distribusi struktur sekretori penghasil dan/atau penimbun senyawa bioaktif termaksud melalui uji histokimia, menentukan senyawa bioaktif yang berkontribusi paling besar terhadap diabetes mellitus, terutama aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, menentukan parameter farmakokinetik dan farmakodinamikanya. Di samping itu, penelitian ini juga dilakukan untuk memproduksi kalus dan mikropropagasi, serta memastikan adanya produksi senyawa bioaktif tersebut dalam sel/kalus hasil kultur *in vitro*. Determinasi struktur sekretori menggunakan penampang melintang dari sampel segar menurut prosedur anatomis tumbuhan dan analisis histokimia menggunakan beberapa jenis pereaksi untuk mendeteksi golongan senyawa. Penentuan senyawa bioaktif menggunakan kombinasi analisis antara aktivitas biologis (antioksidan dan penghambat  $\alpha$ -glukosidase) dengan metabolomik berbasis metabolit sidik jari menggunakan FTIR dan pemprofilan metabolit menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS serta teknik kemometrik menggunakan analisis regresi kuadrat terkecil parsial (PLSR). Parameter farmakokinetik dan farmakodinamik, ditentukan menggunakan aturan lima Lipinski, jejaring farmakologi menggunakan Cytoscape, dan penambatan molekuler menggunakan PyRx, PyMOL, dan BIOVIA *Discovery Studio*. Produksi kalus dan



mikropropagasi diawali dengan sterilisasi eksplan menggunakan sterilan yang aman, inisiasi kalus dan organogenesis menggunakan variasi konsentrasi auksin dan sitokinin. Identifikasi senyawa pada kalus dan organ hasil mikropropagasi menggunakan analisis metabolomik berbasis pemprofilan metabolit menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS serta teknik kemometrik menggunakan analisis komponen utama (PCA).

Hasil analisis anatomi dan histokimia jaringan menunjukkan bahwa semua organ pada tumbuhan mengandung struktur sekretori yang mengakumulasi berbagai metabolit. Struktur sekretori yang teridentifikasi pada akar, rimpang, batang, dan daun pada kedua spesies ini berupa: rongga sekretori dan idioblas. Golongan senyawa yang teridentifikasi pada sekretori ini berupa fenol, alkaloid, terpena, minyak esensial, dan lipofilik. Beberapa metabolit sekunder terakumulasi pula di jaringan umum pada organ tumbuhan ini.

Pendekatan berbasis metabolomik dan kemometrik, menunjukkan bahwa senyawa yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dari golongan fenol seperti: curculigoside B, orchioside B; 2,4-Dikloro-5-metoksi-3-metilfenol, glukosida orcinol; 1,1-Bis-(3,4-dihidroksifenil)-1-(2-furan)-metan, dari golongan terpena seperti: curculigosaponin G, H, dan I; dari golongan norlignan yaitu (1*S*,2*R*)-*O*-Methylnyacoside, serta dari golongan aldehida yaitu 5-Hidroksimetilfurfural, sedangkan gugus fungsi yang berkontribusi penting pada senyawa tersebut, antara lain: O-H, C=O, C-O, C-H. Senyawa-senyawa tersebut banyak terakumulasi pada organ daun *C. latifolia* (DLSP) dari Sinjai-Palangka dan *C. orchioides* (DOGM) dari Gowa-Malakaji.

Parameter farmakokinetik, menunjukkan 33 dari 79 senyawa dapat diabsorpsi dengan baik, sedangkan beberapa senyawa tidak memenuhi syarat aturan lima Lipinski, sawar darah otak, absorpsi intestinal manusia, dan permeabilitas Caco-2, sehingga harus diubah ke dalam bentuk aglikon jika akan digunakan sebagai bahan obat. Ligan Cynanuricoside A<sub>qt</sub> berdasarkan analisis jejaring farmakologi dan penambatan molekul secara farmakodinamik, berinteraksi dengan target hidrokosteroid (11-beta) dehidrogenasi 1 (HSD11B1) melalui reseptor 6NJ7, dan afinitas yang dihasilkan sebesar  $-12,0$  (kcal mol<sup>-1</sup>), dengan residu asam amino berupa Ala-226, Leu-126, Val-180, Tyr-183, Leu-215, Ser-170, Ile-121, dan Val-168.

Metode sterilisasi eksplan daun dengan bahan sterilan pada konsentrasi terendah serta waktu kontak yang singkat menghasilkan kultur steril yang lebih banyak, yaitu 90% untuk *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk induksi kalus pada *C. latifolia* dan *C. orchioides* yang terbaik yaitu BAP : IBA, masing-masing dengan perbandingan konsentrasi 3 : 5 dan 5 : 3 (mg L<sup>-1</sup>), yang menghasilkan kalus berwarna hijau dan putih dengan konsistensi yang kompak. Kombinasi ZPT tersebut, juga dapat meregenerasi tunas dan akar pada kedua spesies ini. Struktur sekretori yang teridentifikasi pada kalus yaitu rongga sekretori dan sel idioblas. Pada kalus *C. latifolia*, fenol teridentifikasi pada bagian organogenik dan sel epitelium pada rongga sekretori, serta minyak esensial pada sel idioblas, sedangkan *C. orchioides* mengandung fenol hanya pada bagian organogenik.

Senyawa yang memiliki kontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, seperti: 1,1-Bis-(3,4-dihidroksifenil)-1-(2-furan)-metan, (1*S*,2*R*)-*O*-Methylnyacoside; 2,4-Dikloro-5-metoksi-3-metilfenol,



curculigoside B, curculigosaponin G, H, dan I; orchioside B, dan glukosida orcinol yang teridentifikasi pada organ kedua spesies, juga teridentifikasi pada kalus dan daun planlet hasil mikropropagasinya. Sebagian besar termasuk dalam golongan fenol.

Simpulan umum dari penelitian ini, yaitu teknik histokimia menunjukkan adanya perbedaan lokasi akumulasi metabolit pada masing-masing organ dari *Curculigo* spp. Secara histokimia, senyawa fenol teridentifikasi pada organ rimpang, pelepah, dan daun *C. latifolia*, sedangkan pada *C. orchioides* hanya teridentifikasi pada rimpang. Selain itu, fenol juga teridentifikasi pada sel-sel organogenik kalus dari kedua spesies ini. Pada analisis metabolomik-kemometrik, senyawa-senyawa yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase banyak terakumulasi pada organ daun dari kedua spesies ini. Pada pendekatan jejaring farmakologi dan penambatan molekuler, teridentifikasi senyawa seperti cyanuriculoside A<sub>qt</sub>, curculigosaponin L<sub>qt</sub>, dan curculigenin B yang berpotensi dalam pengobatan diabetes mellitus. Senyawa-senyawa pada tumbuhan asal *C. latifolia* dan *C. orchioides* yang berkontribusi besar terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, juga teridentifikasi pada kalus dan daun hasil mikropropagasinya, bahkan di antara senyawa tersebut memiliki konsentrasi (luas peak area) yang lebih besar dari organ tumbuhan asalnya.

**Kata kunci:** Jejaring farmakologi, kultur *in vitro*, metabolomik, struktur sekretori, tumbuhan obat



## SUMMARY

ABD. HALIM UMAR. Potential of *Curculigo* spp. Plants as Antidiabetes: Anatomy and Histochemistry, Metabolomics, Bioinformatics, and Biotechnology Based Approaches. Supervised by DIAH RATNADEWI, MOHAMAD RAFI, YOHANA CAECILIA SULISTYANINGSIH, and HAMIM.

Diabetes mellitus (DM) is a disease caused by lacking of insulin production or by the inability of cells to respond to insulin (insulin resistance). According to the International Diabetes Federation, diabetes cases in the world reach 425 millions and are predicted to increase to 625 millions by 2045. The trend of increasing cases and death rates due to diabetes needs a special attention, especially in the pattern of it's treatment. Diabetes treatment using natural ingredients is one of the most researched fields in the world because it is effective and safe.

*Curculigo latifolia* Dryand. ex W.T. Aiton and *Curculigo orchioides* Gaertn. belonging to the family Hypoxidaceae, annual herbs with lanceolate-shaped leaves or parallel lanceolate arranged in a rosette, with yellow flowers, very short stems, and have a long cylindrical rhizome. A total of 39 species of this genus are accepted in the World Checklist of Selected Plant Families (WCSP 2020), including these two species. Both species are known as traditional medicinal plants in various tropical regions.

Rhizome of *Curculigo* spp. is one of the raw material sources for traditional medicine to treat DM; this pharmacological effect comes from secondary metabolites. Those compounds are distributed and accumulated in certain secretory structures within the plant. However, the activities of the active compounds in such diverse plant organs are very difficult to be determined in a short time, as well as its pharmacokinetic and pharmacodynamics parameters. In addition, compounds produced under normal conditions in the nature are very low. Therefore, this study aimed to determine the distribution of secretory structures and the producing and/or accumulating sites of the bioactive compounds through histochemical tests, to determine which bioactive compounds contribute the most to diabetes mellitus, especially in antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibition, and to determine their pharmacokinetics and pharmacodynamics parameters. In addition, this research was also carried out to produce callus and micropropagate the plants, as well as to ensure the existence of those bioactive compounds in *in vitro* cultured callus. Determination of secretory structure using cross sections of fresh samples according to plant anatomical procedures and histochemical analysis using several reagents were performed to detect groups of metabolites. Determination of bioactive compounds was done using an analysis combination on biological activities (antioxidants and  $\alpha$ -glucosidase inhibition) with metabolite fingerprint using FTIR and metabolite profiling with UHPLC-Q-Orbitrap HRMS-based metabolomic and chemometric techniques using partial least squares regression analysis (PLSR). Pharmacokinetics and pharmacodynamics parameters were determined using Lipinski's rule of five, pharmacological networks using Cytoscape, and molecular docking with PyRx, PyMOL, and BIOVIA Discovery Studio. Callus production and micropropagation began with explant sterilization

using environmental-friendly sterilants. Callus initiation and organogenesis were induced by various concentrations of auxins and cytokinin. Metabolomic analysis based on metabolite profiling using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and chemometric techniques using principal component analysis (PCA) were carried out to identify the compounds in the callus and plantlet's leaves.

The anatomical and histochemical analysis of fresh tissues showed that all organs contained secretory structures that accumulated various metabolites. The secretory structures identified in the roots, rhizomes, petiole, and leaves of these two species were secretory cavities and idioblasts. The group of compounds identified were phenols, alkaloids, terpenes, essential oils, and lipophilic. They were also spread over some common tissues of the organs.

Based on metabolomic and chemometric analysis the main compounds contributing in antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities were notified from the phenol group, such as curculigoside B, orchioside B; 2,4-Dichloro-5-methoxy-3-methylphenol, orcinol glucoside; 1,1-Bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(2-furan)-methane; from the terpene group, such as: curculigosaponin G, H, and I; from the norlignan group, (1*S*,2*R*)-*O*-Methylnyacoside; and from the aldehyde group, 5-hydroxymethylfural, while the functional groups included O-H, C=O, C-O, C-H. These compounds were accumulated more abundantly in the leaves of *C. latifolia* (DLSP) from Sinjai-Palangka and *C. orchoides* (DOGM) from Gowa-Malakaji.

Pharmacokinetic parameters showed that 33 out of the 79 compounds were able to be absorbed properly, while some compounds did not meet the requirements. The latter compounds must be converted into aglycones if they will be used as medicinal substances. The cyanuriculoside ligand A<sub>qt</sub> based on pharmacological network analysis and molecular docking was able to interact pharmacodynamically with hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1 (HSD11B1) target via 6NJ7 receptor, resulting an affinity of  $-12.0$  (kcal mol<sup>-1</sup>), with amino acid residues in the form of Ala 226, Leu 126, Val 180, Tyr 183, Leu 215, Ser 170, Ile 121, and Val 168.

The sterilization of explants with the lowest concentrations of sterilizing agents and a short contact time with the explants produced 90% sterile cultures. The best combination of plant growth regulators (PGRs) for callus induction in *C. latifolia* and *C. orchoides* were BAP : IBA at 3 : 5 and 5 : 3 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The callus were green and white, with a compact consistency. Those combinations of PGRs also regenerated shoots and roots in both species. The secretory structures found in the callus were secretory cavities and idioblast cells. In the callus of *C. latifolia*, phenol was identified in the organogenic parts and epithelium cells of the secretory cavities, and the essential oils were in idioblast cells; while *C. orchoides*' callus contained phenol in the organogenic parts only.

The compounds that had contribution in antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities, such as 1,1-Bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(2-furan)-methane, (1*S*,2*R*)-*O*-Methylnyacoside; 2,4-Dichloro-5-methoxy-3-methylphenol, curculigoside B, curculigosaponin G, H, and I; orchioside B, and orcinol glucoside were also identified in the callus and plantlet's leaves. Most of them belong to the phenol group.

The general conclusion of this study is that histochemical techniques revealed that there were differences in the accumulation sites of compounds



among organs of *Curculigo* spp. Histochemically, phenolic compounds were identified in the rhizome, petiole, and leaves of *C. latifolia*, while in *C. orchioides* they were only identified in the rhizome. Phenolics were also found in the organogenic callus of these two species. From the metabolomic-chemometric analysis, compounds that contributed greatly to the antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities were accumulated in the leaves of both species. From the pharmacological network and molecular docking approaches, cyanuric acid, curculigosaponin L<sub>qt</sub>, and curculigenin B were confirmed to have potential for the treatment of diabetes mellitus. The compounds found in the plant's organs of *C. latifolia* and *C. orchioides* that contribute greatly in antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities were also identified in the callus and plantlet's leaves resulted from *in vitro* cultures. Some of which even demonstrated higher concentration (peak area) than those of the original plant organs.

**Keywords:** *in vitro* culture, medicinal plants, metabolomics, network pharmacology, secretory structures

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



# **POTENSI TUMBUHAN *CURCULIGO* SPP. SEBAGAI ANTIDIABETES: PENDEKATAN BERBASIS ANATOMI DAN HISTOKIMIA, METABOLOMIK, BIOINFORMATIKA, DAN BIOTEKNOLOGI**

**ABD. HALIM UMAR**

Disertasi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Doktor pada  
Program Studi Biologi Tumbuhan

**BIOLOGI TUMBUHAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2021**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:**

- 1 Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr
- 2 Dr. Waras Nurcholís, S.Si, M.Si

**Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:**

- 1 Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr
- 2 Dr. Waras Nurcholís, S.Si, M.Si

Judul Disertasi : Potensi Tumbuhan *Curculigo* spp. sebagai Antidiabetes:  
Pendekatan Berbasis Anatomi dan Histokimia, Metabolomik,  
Bioinformatika, dan Bioteknologi

Nama : Abd. Halim Umar  
NIM : G363170011

Disetujui oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. Ir. Diah Ratnadewi, DEA



Pembimbing 2:  
Dr. Mohamad Rafi, S.Si, M.Si



Pembimbing 3:  
Dr. Dra. Yohana Caecilia Sulistyaningsih, M.Si



Pembimbing 4:  
Dr. Ir. Hamim, M.Si



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, DEA



Dekan Sekolah Pascasarjana:  
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng



Tanggal Ujian: 15 Juli 2021

Tanggal Lulus: 15 Juli 2021

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Januari 2018 sampai Juli 2021 ini ialah Biologi tumbuhan, dengan judul Potensi Tumbuhan *Curculigo* spp. sebagai Antidiabetes: Pendekatan Berbasis Anatomi dan Histokimia, Metabolomik, Bioinformatika, dan Bioteknologi.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Ir. Diah Ratnadewi, DEA selaku ketua komisi pembimbing, Dr. Mohamad Rafi, S.Si, M.Si, Dr. Dra. Yohana Caecilia Sulistyaningsih, M.Si, dan Dr. Ir. Hamim, M.Si selaku anggota pembimbing yang telah banyak memberikan saran, nasehat, motivasi, serta kesabaran, dan waktu yang telah diluangkan dalam mengarahkan dan membimbing penulis dalam penyelesaian disertasi dan penulisan artikel ilmiah. Penghargaan yang tinggi juga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M.Agr dan Dr. Waras Nurcholis, S.Si, M.Si selaku penguji luar komisi yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian disertasi. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada staf dan laboran di tempat penulis melakukan penelitian, yaitu Laboratorium Penelitian Kultur Jaringan Tanaman, Laboratorium Terpadu Departemen Biologi FMIPA, IPB University, Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB, Kampus IPB Taman Kencana, Unit Laboratorium Riset Unggulan IPB, Laboratorium Ekologi dan Sumber Daya Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA IPB, yang telah banyak membantu selama penelitian dan pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada pihak Yayasan Almarisah Madani serta seluruh staf dan civitas akademika STIFA dan AKFAR Kebangsaan Makassar, atas dukungannya. Teman seperjuangan S3 BOT, Ibu Wahdina dan Ibu Mildawati, serta teman seperjuangan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Mauliy, Ainna, Fitri, dan Pandu atas dukungan, kerjasama, semangat, dan kebersamaannya. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada bapak, ibu, serta seluruh keluarga, atas doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, 15 Juli 2021

*Abd. Halim Umar, S.Farm, M.Si*

## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xxv
<b>I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Kebaruan Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian	6
<b>II STUDI ANATOMI DAN HISTOKIMIA STRUKTUR SEKRETORI PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER PADA <i>CURCULIGO LATIFOLIA</i> DAN <i>CURCULIGO ORCHIOIDES</i></b>	<b>8</b>
2.1 Abstrak	8
2.2 Pendahuluan	8
2.3 Bahan dan Metode	11
2.4 Hasil	13
2.4.1 Struktur Sekretori dan Distribusinya	13
a Rimpang	13
b Akar	13
c Pelepah	14
d Daun	15
2.4.2 Analisis Histokimia	16
a Fenol	16
b Alkaloid	17
c Terpena	20
d Minyak Esensial	22
e Lipofilik	23
2.5 Pembahasan	26
2.5.1 Struktur Sekretori dan Distribusinya	26
2.5.2 Analisis Histokimia	26
2.6 Simpulan	28
<b>III PENENTUAN SENYAWA ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBAT <math>\alpha</math>-GLUKOSIDASE PADA <i>CURCULIGO LATIFOLIA</i> DAN <i>CURCULIGO ORCHIOIDES</i> MENGGUNAKAN ANALISIS METABOLOMIK</b>	<b>29</b>
3.1 Abstrak	29
3.2 Pendahuluan	29
3.3 Bahan dan Metode	36
3.4 Hasil	41
3.4.1 Preparasi Sampel	41
3.4.2 Kadar Fenolat Total	42

3.4.3	Kadar Flavonoid Total	43
3.4.4	Aktivitas Antioksidan	44
3.4.5	Aktivitas Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase	45
3.4.6	Profil Spektra Ekstrak Etanol 70% <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	46
3.4.7	Analisis Kualitatif Senyawa pada <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i> Menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS	47
3.4.8	Analisis Komponen Utama (PCA)	49
3.4.9	Analisis Regresi Kuadrat Terkecil Parsial (PLSR)	50
3.4.10	Kontribusi Gugus Fungsi dan Senyawa terhadap Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan $\alpha$ -Glukosidase	51
3.5	Pembahasan	56
3.5.1	Kadar Senyawa Total dan Aktivitas Biologis	56
3.5.2	Profil Spektra FTIR Ekstrak Etanol <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	58
3.5.3	Senyawa pada <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i> Menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS	58
3.5.4	Analisis Komponen Utama (PCA)	59
3.5.5	Analisis Regresi Kuadrat Terkecil Parsial (PLSR)	59
3.6	Simpulan	59
IV	KANDIDAT OBAT DAN TARGET POTENSIAL DARI SENYAWA <i>CURCULIGO LATIFOLIA</i> DAN <i>CURCULIGO ORCHIOIDES</i> PADA PENGOBATAN PENYAKIT DIABETES	61
4.1	Abstrak	61
4.2	Pendahuluan	61
4.3	Bahan dan Metode	64
4.4	Hasil	66
4.4.1	Absorpsi Senyawa <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	66
4.4.2	Target Prediksi Senyawa <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	66
4.4.3	Jejaring Farmakologi Komponen <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	66
4.4.4	Analisis Jejaring Interaksi Protein-Protein	68
4.4.5	Analisis Ontologi Gen (GO)	69
4.4.6	Penambatan Molekul	71
4.5	Pembahasan	73
4.5.1	Absorpsi Senyawa <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	73
4.5.2	Target Prediksi dan Jejaring Farmakologi Senyawa <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	74
4.5.3	Analisis Ontologi Gen (GO)	75
4.5.4	Penambatan Molekul	75
4.6	Simpulan	75
V	INISIASI KALUS DAN MIKROPROPAGASI TANAMAN <i>CURCULIGO LATIFOLIA</i> DAN <i>CURCULIGO ORCHIOIDES</i>	77
5.1	Abstrak	77
5.2	Pendahuluan	77
5.3	Bahan dan Metode	81
5.4	Hasil	83

5.4.1	Sterilisasi Eksplan	83
5.4.2	Induksi Kalus dan Tunas pada Eksplan Daun <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	85
5.4.3	Pembentukan Akar	92
5.4.4	Aklimatisasi Tanaman	98
5.4.5	Pola Organogenesis pada <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	99
5.5	Pembahasan	99
5.6	Simpulan	101
VI	STUDI ANATOMI DAN HISTOKIMIA STRUKTUR SEKRETORI SERTA PROFIL METABOLIT PADA PROPAGULA <i>IN VITRO</i> <i>CURCULIGO LATIFOLIA</i> DAN <i>CURCULIGO ORCHIOIDES</i>	102
6.1	Abstrak	102
6.2	Pendahuluan	102
6.3	Bahan dan Metode	106
6.4	Hasil	108
6.4.1	Struktur Sekretori pada Kalus	108
6.4.2	Histokimia Kalus	109
6.4.3	Senyawa pada Kalus dan Daun Planlet Hasil Mikropropagasi <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i> Menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS	111
6.4.4	Senyawa pada Kalus, Daun Planlet Hasil Senyawa pada Kalus, Daun Planlet Hasil Mikropropagasi, dan Organ <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i> Menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS	121
6.5	Pembahasan	126
6.6	Simpulan	128
VII	PEMBAHASAN UMUM	129
VIII	SIMPULAN DAN SARAN	131
8.1	Simpulan	131
8.2	Saran	132
	DAFTAR PUSTAKA	133
	LAMPIRAN	155
	RIWAYAT HIDUP	162



## DAFTAR TABEL

1.1	Struktur sekretori, kandungan metabolit sekunder, serta sebarannya pada organ <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	25
1.1	Asal daerah, titik koordinat dan ketinggian, organ tumbuhan yang digunakan, dan waktu koleksi tumbuhan <i>C. latifolia</i> dan <i>C. orchioides</i>	42
3.2	Bilangan gelombang, gugus fungsi, dan tipe vibrasi pada model PLS yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan $\alpha$ -glukosidase	53
3.3	Senyawa yang terdeteksi pada sampel ekstrak etanol 70% menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan $\alpha$ -glukosidase	55
4.1	Target reseptor, afinitas ikatan dan residu asam amino pada analisis penambatan molekul pada daerah sisi aktif reseptor dengan ligan cyanuriculoside A <sub>qt</sub> , curculigosaponin L <sub>qt</sub> , and curculigenin B	73
5.1	Metode sterilisasi terhadap eksplan daun <i>C. latifolia</i>	84
5.2	Metode sterilisasi terhadap eksplan daun <i>C. orchioides</i>	85
5.3	Respon variasi kombinasi sitokinin dan auksin pada inisiasi kalus dan regenerasi tunas pada <i>C. latifolia</i>	87
5.4	Respon variasi kombinasi sitokinin dan auksin pada inisiasi kalus dan regenerasi tunas pada <i>C. orchioides</i>	90
5.5	Respon variasi kombinasi sitokinin dan auksin pada formasi akar <i>C. latifolia</i>	93
5.6	Respon variasi kombinasi sitokinin dan auksin pada formasi akar <i>C. orchioides</i>	96

## DAFTAR GAMBAR

1.1	Morfologi tumbuhan, daun, rimpang, dan bunga <i>Curculigo latifolia</i> Dryand. ex W.T.Aiton (A, B, C) dan <i>Curculigo orchioides</i> Gaertn. (D, E, F). Skala bar $\approx$ 1 cm (A dan F), $\approx$ 1,5 cm (B), $\approx$ 1,2 cm (C dan D), $\approx$ 2 cm (E).	1
1.2	Diagram alir penelitian Tahap I–V	7
2.1	Diagram alir penelitian tahap I	13
2.2	Penampang melintang rimpang <i>C. latifolia</i> (bintang) (A) dan <i>C. orchioides</i> dengan rongga sekretori (bintang dan panah) (B). Tampilan detail dari rongga sekretori pada rimpang dengan dua lapis (bintang, C dan D) sel epitel. Rongga sekretori pada akar <i>C. latifolia</i> , dengan dua lapis (E) dan selapis (F) sel epitel. Rongga sekretori pada rimpang <i>C. orchioides</i> dengan dua lapis (bintang, G) dan selapis (bintang, H) sel epitel. Penampang A dan C diwarnai dengan safranin O; B, D, F, G, dan H diwarnai dengan metilen biru dan Azur, serta E tanpa pewarnaan. Skala bar $\approx$ 160	



- $\mu\text{m}$  (A, B),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (C, D, E),  $\approx 40 \mu\text{m}$  (F, G),  $\approx 65 \mu\text{m}$  (H).  
Singkatan: e = sel epitel, ps = selubung parenkim, vb = jaringan pembuluh. 14
- 2.3 Penampang melintang pelepah *C. latifolia* (A) dan *C. orchioides* dan (B) dengan rongga sekretori (panah). Rongga sekretori pada *C. latifolia* (C, bintang) dan tampilan detailnya pada (D) dengan dua lapis sel epitel. Rongga sekretori (E, panah) dengan tampilan detail (F) pada pelepah *C. orchioides*, yang dikelilingi satu lapis sel epitel (bintang). Penampang A, B, E, dan F diwarnai dengan safranin O, sedangkan C dan D dengan metilen biru dan Azur. Skala bar  $\approx 100 \mu\text{m}$  (A, B, C, E),  $\approx 75 \mu\text{m}$  (D, F). Singkatan: ct = kutikula, e = sel epitel, ep = epidermis, vb = jaringan pembuluh. 15
- 2.4 Penampang melintang daun *C. latifolia* dan *C. orchioides* dan tampilan detail jaringan pembuluh pada *C. latifolia* (A) dan pada *C. orchioides* (B). Sel idioblas (panah) (A dan C) dan rongga sekretori (bintang) (C) pada *C. latifolia* serta rongga sekretori (D) teridentifikasi pada lamina *C. orchioides*. Penampang melintang A, B, C, dan D diwarnai dengan safranin O. Skala bar  $\approx 125 \mu\text{m}$  (A),  $\approx 90 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 100 \mu\text{m}$  (C),  $\approx 145 \mu\text{m}$  (D). Singkatan: eb = epidermis atas, ed = epidermis bawah, id = sel idioblas, vb = jaringan pembuluh. 16
- 2.5 Senyawa fenol terdeteksi pada penampang melintang rimpang, pelepah, dan daun dengan pereaksi besi klorida. Senyawa fenol pada rimpang *C. latifolia* teridentifikasi di rongga sekretori (panah putih) dan ruang antarsel (panah hitam dan kuning) (A) dan (B) adalah kontrol. Penampang melintang pelepah *C. latifolia* dengan senyawa fenol pada rongga sekretori (panah hitam) dan di ruang antar sel (panah merah) (C), dan (D) sebagai kontrol dari penampang ini. Fenol di sel idioblas (E), dan jaringan hipodermis (F) dari daun *C. latifolia* dan penampang (G) tanpa pereaksi sebagai kontrol dari perlakuan ini. Fenol juga teridentifikasi pada rimpang *C. orchioides* di ruang antarsel (panah kuning) dan sel epitel rongga sekretori (panah hitam) (H) dan (I) adalah kontrol pada penampang ini. Skala bar  $\approx 50 \mu\text{m}$  (B, C, D, G, H),  $\approx 15 \mu\text{m}$  (F),  $\approx 75 \mu\text{m}$  (I, A, E). Singkatan: h = hipodermis, id = sel idioblas, is = ruang antarsel, vb = jaringan pembuluh. 17
- 2.6 Kandungan senyawa alkaloid pada penampang melintang pelepah *C. latifolia*. Senyawa alkaloid pada sel idioblas (panah) (A dan B) dengan tampilan detail pada (C, D), serta sel epitel (bintang) (A, B, dan E) dari rongga sekretori, serta lumen (bintang) (B) dari rongga sekretori. Warna coklat kekuningan menunjukkan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff. Penampang F sebagai kontrol tanpa pereaksi Dragendorff. Skala bar  $\approx 85 \mu\text{m}$  (A, B),  $\approx 20 \mu\text{m}$  (C),  $\approx 15 \mu\text{m}$  (D),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (E, F). Singkatan: e = sel epitel, id = sel idioblas, vb = jaringan pembuluh. 18
- 2.7 Penampang melintang rimpang *C. latifolia* dengan senyawa alkaloid pada sel epitel (panah biru) (A dan B) dan lumen dari rongga sekretori (panah hitam) (B). (C) dan (D) sebagai kontrol

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- perlakuan ini. Penampang melintang rimpang *C. orchioides* dengan alkaloid di sel idioblas (panah) (E), dan tampilan detailnya (F), di lumen rongga sekretori (panah) (G). (H) kontrol untuk perlakuan (E–G). Identifikasi menggunakan pereaksi Dragendorff dan kontrol tanpa penambahan pereaksi ini. Skala bar  $\approx 75 \mu\text{m}$  (A, B, E, G),  $\approx 45 \mu\text{m}$  (C),  $\approx 150 \mu\text{m}$  (D, F),  $\approx 125 \mu\text{m}$  (H). Singkatan: id = sel idioblas. 19
- Kandungan senyawa alkaloid (pereaksi Wagner) pada penampang melintang rimpang *C. latifolia*, di lumen rongga sekretori (panah) (A) dan tampilan detail (B). Penampang melintang akar *C. latifolia* dengan alkaloid pada sel idioblas (tanda panah) (C). Penampang rimpang (D) dan akar (E) menggunakan asam tartarat sebagai kontrol. Skala bar  $\approx 100 \mu\text{m}$  (A),  $\approx 25 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (C),  $\approx 75 \mu\text{m}$  (D, E). Singkatan: id = sel idioblas. 20
- Kandungan terpena pada penampang melintang rimpang dengan pereaksi tembaga asetat. Terpena teridentifikasi di sel idioblas (panah) (A) dan tampilan detailnya (B) pada *C. latifolia*, dan di sel idioblas (panah) (C) pada *C. orchioides*. (D) dan (E), masing-masing kontrol dari penampang (A) dan (C). Skala bar  $\approx 50 \mu\text{m}$  (A),  $\approx 15 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 45 \mu\text{m}$  (C, D),  $\approx 75 \mu\text{m}$  (E). Singkatan: id = sel idioblas. 21
- 2.10 Kandungan terpena pada penampang melintang daun dengan pereaksi NADI. Jaringan daun *C. latifolia* dengan terpena pada sel idioblas di antara buliform (A), pada epidermis bawah (B), pada lapisan kutikula (panah hitam) dan sel-sel idioblas (panah putih) (C) pada epidermis abaksial dari ujung daun. Penampang melintang pelepah *C. latifolia* dengan terpena di sel idioblas (panah putih) dan ruang antar sel (panah hitam) (D) di sekitaran jaringan pembuluh. Terpena pada lapisan kutikula (panah hitam) dan di sel idioblas (panah kuning) (E) di antara sel epidermis atas, dan pada sel idioblas (panah) (F) dengan tampilan detailnya (G) pada jaringan hipodermis daun *C. orchioides*. Penampang H sebagai kontrol A–B, Gambar (I) sebagai kontrol C dan D, dan J sebagai kontrol perlakuan E–G, tanpa pereaksi NADI. Skala bar  $\approx 80 \mu\text{m}$  (A, C),  $\approx 65 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (D, G),  $\approx 90 \mu\text{m}$  (E, F),  $\approx 40 \mu\text{m}$  (H, I),  $\approx 85 \mu\text{m}$  (J). Singkatan: ct = kutikula, eb = epidermis bawah, ed = epidermis atas, id = sel idioblas, is = ruang antarsel, vb = jaringan pembuluh. 22
- 2.11 Kandungan minyak esensial pada penampang melintang rimpang dan pelepah dengan pereaksi NADI. Minyak esensial pada rimpang, teridentifikasi di sel di sel epitel (panah) (A) di sekitar rongga sekretori *C. latifolia* dan di sel idioblas (panah) (B) *C. orchioides*, (C) dan (D) kontrol untuk masing-masing penampang. Penampang melintang pelepah *C. latifolia* dengan kandungan minyak esensial di sel idioblas (panah kuning) dan kutikula (panah hitam) (E). (F) tanpa pereaksi NADI sebagai kontrol untuk penampang (E). Skala bar  $\approx 50 \mu\text{m}$  (A, B, F),  $\approx 75 \mu\text{m}$  (C, D),  $\approx 100 \mu\text{m}$  (E). Singkatan: ct = kutikula, e = sel epitel, id = sel

- idioblas, vb = jaringan pembuluh. 23
- 2.12 Kandungan senyawa lipofil pada penampang melintang rimpang dan daun *C. orchioides*. Lipofilik teridentifikasi di sel idioblas (panah hitam dan kuning) (A) dengan tampilan detailnya (B) serta di ruang antarsel (panah biru) (A) dengan tampilan detailnya (C) di parenkim korteks rimpang, menggunakan pereaksi Sudan IV. Reaksi dengan Sudan III menunjukkan senyawa lipofil pada sel idioblas (panah) pada epidermis daun *C. orchioides* (D). (E) dan (F), masing-masing kontrol tanpa pereaksi Sudan IV dan III. Skala bar  $\approx 75 \mu\text{m}$  (A),  $\approx 65 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 45 \mu\text{m}$  (C),  $\approx 150 \mu\text{m}$  (D),  $\approx 135 \mu\text{m}$  (E, F). Singkatan: eb = epidermis bawah, id = sel idioblas, is = ruang antarsel, vb = jaringan pembuluh. 24
- 3.1 Diagram alir penelitian tahap II 41
- 3.2 Lokasi pengambilan sampel *C. latifolia* dan *C. orchioides* 42
- 3.3 Perbandingan kadar fenolat total ekstrak etanol 70% pada rimpang, daun, dan pelepah *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Data = rata-rata  $\pm$  SEM. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan berdasarkan Welch test ( $p < 0,05$ ). Singkatan: ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak. 43
- 3.4 Perbandingan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% pada rimpang, daun, dan pelepah *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Data = rata-rata  $\pm$  SEM. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan berdasarkan Welch test ( $p < 0,05$ ). Singkatan: ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak. 44
- 3.5 Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% rimpang, daun, dan pelepah *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Data = rata-rata  $\pm$  SEM.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan berdasarkan Welch test ( $p < 0,05$ ). Singkatan: ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak.

45

Aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase ekstrak etanol 70% rimpang, daun, dan pelepah *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Data = rata-rata  $\pm$  SEM. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan secara signifikan berdasarkan Welch test ( $p < 0,05$ ). Singkatan: ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak.

46

3.7 Profil spektra FTIR ekstrak etanol 70% organ *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Singkatan: DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak.

47

3.8 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% sampel *C. latifolia* dan *C. orchioides* pada waktu retensi 0–32 menit, kelimpahan relatif 0–100, dan MS *full scan type* (100–1500) menggunakan UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. Singkatan: DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka.

48

3.9 PCA *Score plot* untuk komponen utama 1 (PC-1) dan 2 (PC-2) pada ekstrak etanol 70% organ (rimfang, daun, dan pelepah) *C. latifolia* dan *C. orchioides*, menggunakan data bilangan gelombang dan absorbans spektra FTIR. Singkatan: ROBM =

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak. 49
- 3.10 PCA *Score plot* untuk komponen 1 (PC-1) dan 2 (PC-2) pada ekstrak etanol 70% organ (rimpang, daun, dan pelepah) *C. latifolia* dan *C. orchioides* menggunakan data luas area puncak hasil analisis UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. Singkatan: ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa, ROMB = rimpang orchioides asal Maros-Bengo-bengo, ROGM = rimpang orchioides asal Gowa-Malakaji, RLSP = rimpang latifolia asal Sinjai-Palangka, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, RLSK = rimpang latifolia asal Sinjai-Puncak, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DOMB = daun orchioides asal Maros-Bengo-bengo, DOGM = daun orchioides asal Gowa-Malakaji, DLSP = daun latifolia asal Sinjai-Palangka, DLSB = daun latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, PLSP = pelepah latifolia asal Sinjai-Palangka, PLSB = pelepah latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak. 50
- 3.11 Plot PLS *weighted regression coefficients* aktivitas antioksidan (A) dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase (B) dari ekstrak etanol 70% organ (rimpang, daun, dan pelepah) *C. latifolia* dan *C. orchioides* ( $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ). 52
- 3.12 Plot PLS *weighted regression coefficients* aktivitas antioksidan (A) dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase (B) dari ekstrak etanol 70% organ (rimpang, daun, dan pelepah) *C. latifolia* dan *C. orchioides*, pada rentang 0–32 menit. 54
- 3.13 Struktur kimia senyawa curculigosaponin G (A), curculigosaponin H (B), curculigosaponin I (C), curculigoside B (D), orchioiside B (E), dan (1*S*,2*R*)-*O*-Methylnyasicoside (F), serta gugus fungsi yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase. 56
- 4.1 Diagram alir penelitian tahap III 66
- 4.2 Jejaring multi komponen-multi target-multi penyakit-multi jalur lintasan penyakit. Segi empat hijau merupakan senyawa *C. latifolia* dan *C. orchioides*, lingkaran kuning merupakan jalur lintasan penyakit, lingkaran biru muda merupakan penyakit, dan lingkaran biru merupakan gen target, serta lingkaran merah merupakan gen target, penyakit dan jalur lintasan penyakit untuk

penyakit DM. 67

4.3 Jejaring antara senyawa-target-penyakit diabetes-jalur lintasan penyakit. Semakin besar ukuran lingkaran dan semakin intensif warna hijaunya, semakin banyak interaksinya pada senyawa, protein target, penyakit, dan jalur lintasan penyakitnya pada penyakit DM. 68

4.4 Jejaring interaksi protein-protein. Model lingkaran berwarna kuning merupakan protein target dari komponen senyawa *C. latifolia* dan *C. orchioides*. Besarnya lingkaran, menandakan banyaknya protein yang berkorelasi dengannya. 69

4.5 Analisis potensial pada protein target dari senyawa *C. latifolia* dan *C. orchioides* dengan analisis ontologi gen (GO). Semakin kecil nilai *p-value* ( $-\log_{10}$ ), semakin signifikan aktivitasnya terhadap penyakit DM. 70

4.6 Struktur kimia dari senyawa aktif *C. latifolia* dan *C. orchioides* dan yang memiliki energi ikatan terkecil. Cynanuricoside A<sub>qt</sub> (A), curculigosaponin L<sub>qt</sub> (B), curculigenin B (C). 71

4.7 Ligan dan reseptor pada sisi aktif protein. Gambar 2D dan 3D ligan dengan sisi aktif reseptor serta jarak ikatannya dihubungkan dengan ikatan hidrogen, alkil, Pi-alkil dan van der Waals. Cynanuricoside A<sub>qt</sub> (A) dan 6NJ7 (HSD11B1), curculigosaponin L<sub>qt</sub> (B) dan 6NJ7 (NR1H4) serta curculigenin B (C) dan 5Z12 (GPBAR1). 72

5.1 Diagram alir penelitian tahap IV 83

5.2 Perkembangan kultur *C. latifolia*. Tahap inisiasi tunas dari eksplan daun (A), proliferasi kalus setelah subkultur (B), inisiasi tunas dari kalus (C), tunas majemuk yang terbentuk pada hari ke 29 (D) dan 64 (E). Skala bar:  $\approx 0,5$  mm (A, C, D),  $\approx 0,75$  mm (B),  $\approx 1$  mm (E). Singkatan: k = kalus, t = tunas. 89

5.3 Perkembangan kultur *C. orchioides*. Inisiasi kalus dari eksplan daun (A), kalus terbentuk di sepanjang tulang daun (B), kalus setelah subkultur (C), pembentukan langsung tunas tunggal (D), tunas majemuk yang tumbuh dari kalus (E), tunas majemuk yang terbentuk pada hari ke 64 (F). Skala bar:  $\approx 0,5$  mm (A, B, C, D),  $\approx 1$  mm (E, F). Singkatan: a = akar, k = kalus, t = tunas. 92

5.4 Inisiasi akar dari tunas *C. latifolia* (A), planlet untuk aklimatisasi dengan morfologi akar normal (B). Skala bar:  $\approx 1$  mm (A, B). Singkatan: a = akar. 95

5.5 Inisiasi akar dari tunas *C. orchioides* (A), planlet untuk aklimatisasi dengan morfologi akar yang normal (B). Skala bar:  $\approx 1$  mm (A, B). Singkatan: a = akar. 98

5.6 Tanaman pasca aklimatisasi (A) dari *C. latifolia* dan (B) dari *C. orchioides*. Skala bar:  $\approx 1$  mm (A dan B). 98

5.7 Inisiasi kalus dan pola organogenesis pada *C. latifolia* dan *C. orchioides* menggunakan eksplan daun 99

6.1 Diagram alir penelitian tahap V 108

6.2 Penampang histologi kalus *C. latifolia* (A) dan *C. orchioides* (B), serta rongga sekretorinya masing-masing (bintang) (C, D).

- Penampang histologi A diwarnai dengan metilen biru dan B dengan safranin O, sedangkan C dan D tanpa pewarnaan. Skala bar  $\approx 50 \mu\text{m}$  (A, B, C, D). Singkatan: e = sel epitelium. 109
- 6.3 Kandungan senyawa fenol dan minyak esensial pada penampang histologi kalus *C. latifolia*. Senyawa fenol teridentifikasi dengan pereaksi besi klorida pada sel-sel organogenik (panah) (A, B, C), penampang D sebagai kontrol perlakuan ini, tanpa pereaksi. Fenol juga teridentifikasi di sel idioblas (panah) (E) dengan F sebagai kontrolnya. Minyak esensial teridentifikasi pada sel-sel idioblas (panah) (G) menggunakan pereaksi NADI, dengan H sebagai kontrol tanpa pereaksi. Skala bar:  $\approx 35 \mu\text{m}$  (A, D, E, G),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 25 \mu\text{m}$  (C, H),  $\approx 45 \mu\text{m}$  (F). Singkatan: id = sel idioblas. 110
- 6.4 Kandungan senyawa fenol pada penampang histologi kalus *C. orchioides* dengan pereaksi besi klorida. Senyawa fenol teridentifikasi pada sel-sel organogenik pada kalus (panah) (A, B, C) kalus. (D) adalah kontrol perlakuan tanpa penambahan pereaksi. Skala bar  $\approx 75 \mu\text{m}$  (A),  $\approx 35 \mu\text{m}$  (B),  $\approx 50 \mu\text{m}$  (C, D). 111
- 6.5 Kalus dari kultur eksplan daun *C. latifolia* (A) dan *C. orchioides* (B), hasil rajangan kalus (C), dan kalus kering (D). 112
- 6.6 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% kalus dan daun dari planlet hasil mikropropagasi *C. latifolia*. Singkatan: KKL = kultur kalus latifolia, DML = daun mikropropagasi latifolia. 113
- 6.7 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% kalus dan daun dari planlet hasil mikropropagasi *C. orchioides*. Singkatan: KKO = kultur kalus orchioides, DMO = daun mikropropagasi orchioides. 113
- 6.8 *Heatmap* korelasi antara senyawa kimia pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi dari *C. latifolia* dengan kelimpahan relatifnya masing-masing pada mode positif (A) dan negatif (B). Skala warna mengindikasikan kelimpahan yang tinggi (merah), sedang (hijau kehitaman), dan rendah (hijau). Singkatan: KKL = kultur kalus latifolia, DML = daun mikropropagasi latifolia. 114
- 6.9 *Heatmap* korelasi antara senyawa kimia pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi dari *C. orchioides* dengan kelimpahan relatifnya masing-masing pada mode positif (A) dan negatif (B). Skala warna mengindikasikan kelimpahan yang tinggi (jingga), sedang (hijau), dan rendah (biru). Singkatan: KKO = kultur kalus orchioides, DMO = daun mikropropagasi orchioides. 115
- 6.10 Diagram Venn senyawa kimia pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi yang teridentifikasi pada mode positif dan negatif dari *C. latifolia* (A) dan (B), dan *C. orchioides* (C) dan (D). Singkatan: KKL = kultur kalus latifolia, DML = daun mikropropagasi latifolia, KKO = kultur kalus orchioides, DMO = daun mikropropagasi orchioides. 116
- 6.11 PCA *Score plot* untuk komponen utama 1 (PC-1) dan 2 (PC-2) pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi yang teridentifikasi pada mode positif dan negatif



- dari *C. latifolia* (A) dan (B), dan *C. orchioides* (C) dan (D).  
Singkatan: KKL = kultur kalus *latifolia*, DML = daun mikropropagasi *latifolia*, KKO = kultur kalus *orchioides*, DMO = daun mikropropagasi *orchioides*. 117
- 6.12 *Boxplot* ANOVA senyawa yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase pada mode positif (A) dan negatif (B) dari ekstrak etanol 70% kalus, daun planlet hasil mikropropagasi, serta daun, rimpang dan pelepah dari *C. latifolia*. Singkatan: KKL = kultur kalus *latifolia*, DLSK = daun *latifolia* asal Sinjai-Puncak, DML = daun mikropropagasi *latifolia*, PLSK = pelepah *latifolia* asal Sinjai-Puncak, RLSB = rimpang *latifolia* asal Sinjai-Biji Nangka. 119
- 6.13 *Boxplot* ANOVA senyawa yang berkontribusi besar dalam aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase pada mode positif (A) dan negatif (B) dari ekstrak etanol 70% kalus, daun planlet hasil mikropropagasi, serta daun dan rimpang dari *C. orchioides*. Singkatan: KKO = kultur kalus *orchioides*, DOBM = daun *orchioides* asal Barru-Mallawa, DMO = daun mikropropagasi *orchioides*, ROBM = rimpang *orchioides* asal Barru-Mallawa. 120
- 6.14 *Heatmap* korelasi antara senyawa kimia pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi, serta organ (rimfang, daun, dan pelepah) tumbuhan asal *C. latifolia* dengan kelimpahan relatifnya masing-masing pada mode positif (A) dan negatif (B). Skala warna mengindikasikan kelimpahan yang tinggi (putih), sedang (kuning), dan rendah (jingga). Singkatan: KKL = kultur kalus *latifolia*, DLSK = daun *latifolia* asal Sinjai-Puncak, DML = daun mikropropagasi *latifolia*, PLSK = pelepah *latifolia* asal Sinjai-Puncak, RLSB = rimpang *latifolia* asal Sinjai-Biji Nangka. 122
- 6.15 *Heatmap* korelasi antara senyawa kimia pada ekstrak etanol 70% kalus dan daun planlet hasil mikropropagasi, serta organ (rimfang dan daun) tumbuhan asal *C. orchioides* dengan kelimpahan relatifnya masing-masing pada mode positif (A) dan negatif (B). Skala warna mengindikasikan kelimpahan yang tinggi (merah), sedang (hitam), dan rendah (hijau). Singkatan: KKO = kultur kalus *orchioides*, DOBM = daun *orchioides* asal Barru-Mallawa, DMO = daun mikropropagasi *orchioides*, ROBM = rimpang *orchioides* asal Barru-Mallawa. 123
- 6.16 PCA *Score plot* untuk komponen utama 1 (PC-1) dan 2 (PC-2) pada ekstrak etanol 70% kalus, daun planlet hasil mikropropagasi, dan organ dari tumbuhan asal (rimfang, daun, dan pelepah) *C. latifolia* (A dan B) dan *C. orchioides* (C dan D), masing-masing pada mode positif dan negatif. Singkatan: KKL = kultur kalus *latifolia*, DLSK = daun *latifolia* asal Sinjai-Puncak, DML = daun mikropropagasi *latifolia*, PLSK = pelepah *latifolia* asal Sinjai-Puncak, RLSB = rimpang *latifolia* asal Sinjai-Biji Nangka, KKO = kultur kalus *orchioides*, DOBM = daun *orchioides* asal Barru-Mallawa, DMO = daun mikropropagasi *orchioides*, ROBM =



	rimpang orchioides asal Barru-Mallawa.	124
6.17	Plot analisis kluster hirarki (HCA) menunjukkan struktur hierarki data dari kalus, daun planlet hasil mikropropagasi, daun dan rimpang tumbuhan asal dalam format dendogram mode positif (A) dan negatif (B) pada <i>C. latifolia</i> dan mode positif (C) dan negatif (D) pada <i>C. orchioides</i> menggunakan data UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. Singkatan: KKL = kultur kalus latifolia, DLSK = daun latifolia asal Sinjai-Puncak, DML = daun mikropropagasi latifolia, PLSK = pelepah latifolia asal Sinjai-Puncak, RLSB = rimpang latifolia asal Sinjai-Biji Nangka, KKO = kultur kalus orchioides, DOBM = daun orchioides asal Barru-Mallawa, DMO = daun mikropropagasi orchioides, ROBM = rimpang orchioides asal Barru-Mallawa.	126

## DAFTAR LAMPIRAN

3.1	<i>Heatmap</i> korelasi antara kandungan senyawa (fenol dan flavonoid) <i>Curculigo</i> spp. terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan $\alpha$ -glukosidase	155
3.2	Nilai kalibrasi multivariat untuk determinasi dan kontribusi gugus fungsi senyawa terhadap aktivitas antioksidan dan penghambatan $\alpha$ -glukosidase dengan spektra FTIR menggunakan metode PLS	156
6.1	Senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak etanol 70% kalus (KKL) <i>C. latifolia</i>	157
6.2	Senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak etanol 70% daun hasil mikropropagasi (DML) <i>C. latifolia</i>	158
6.3	Senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak etanol 70% kalus (KKO) <i>C.orchioides</i>	159
6.4	Senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak etanol 70% daun hasil mikropropagasi (DMO) <i>C.orchioides</i>	160