

INDUKSI PRODUKSI SESKUITERPEN PADA KULTUR SUSPENSI KALUS *Aquilaria malaccensis* LAMK. DENGAN ELISITOR

FAUZAN AHSAN HAFIZHIN



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

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.

Perpustakaan IPB University

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Induksi Produksi Seskuiterpen pada Kultur Suspensi Kalus *Aquilaria malaccensis* Lamk. dengan Elisitor” 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 tesis ini.

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

Bogor, Agustus 2026

Fauzan Ahsan Hafizhin
P0501221012

- 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 milik 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.

RINGKASAN

FAUZAN AHSAN HAFIZHIN. Induksi Produksi Seskuitерpen pada Kultur Suspensi Kalus *Aquilaria malaccensis* Lamk. dengan Elisitor. Dibimbing oleh ARIS TJAHOJEKSONO dan ANDRI FADILLAH MARTIN.

Aquilaria malaccensis Lamk adalah salah satu spesies tanaman penghasil gaharu yang tersebar di sejumlah pulau di Indonesia. Spesies ini termasuk ke dalam Apendiks II CITES sebagai spesies rentan punah. Di sisi lain, produksi yang rendah dan permintaan yang tinggi di pasar global membuat gaharu dihargai dengan nilai tinggi. Oleh karena itu, teknik produksi resin gaharu yang cepat dan berkelanjutan penting untuk dikembangkan.

Gaharu terbentuk sebagai respons pertahanan terhadap cekaman biotik atau abiotik. Resin gaharu tersusun atas beragam senyawa, terutama dari golongan seskuitерpen dan kromon. Resin gaharu disintesis dalam jumlah kecil, gaharu dengan kandungan resin tinggi terbentuk dalam waktu hingga puluhan tahun. Sejumlah teknologi induksi gaharu telah diterapkan pada tanaman budidaya. Namun demikian, prosesnya tetap membutuhkan waktu relatif lama.

Produksi metabolit sekunder melalui teknik kultur *in vitro* dapat menjadi cara alternatif untuk memproduksi resin gaharu. Teknik kultur suspensi sel dan suspensi kalus telah digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder penting, namun penerapan teknik ini untuk produksi minyak esensial masih menghadapi banyak tantangan, terutama rendemen yang rendah. Elisitasi kultur menggunakan hormon pertahanan seperti asam salisilat (SA) dan metil jasmonat (MeJA), atau komponen sel patogen berpotensi menginduksi produksi seskuitерpen terkait resin gaharu.

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu 1) induksi kalus dan induksi kultur suspensi kalus, 2) analisis kinetika pertumbuhan dan analisis metabolomik pada kultur suspensi kalus, 3) analisis profil metabolomik pada kultur suspensi kalus pada 3 tingkat konsentrasi metil jasmonat (MeJA) dan asam salisilat (SA), serta 1 konsentrasi ekstrak kasar *Fusarium oxysporum* (CeFo), dan 4) analisis ekspresi gen *HMGR*, *FPS*, dan *SesTPS1* pada 6 dan 12 jam setelah perlakuan elisitor. Induksi kalus dari eksplan daun dilakukan pada media dasar MS yang ditambah auksin dan sitokinin berdasarkan penelitian terdahulu. Kalus yang diperoleh digunakan sebagai inokulum untuk induksi kultur suspensi kalus. Komposisi media suspensi sama dengan media induksi kalus tanpa pematat. Kalus hasil induksi kultur suspensi kalus selama 2 minggu digunakan sebagai inokulum untuk kultur suspensi kalus pada pengamatan kurva pertumbuhan dan perlakuan elisitor. Analisis kinetika pertumbuhan pada kultur suspensi dilakukan selama 28 hari. Kalus dipanen setiap 4 hari, berat basah ditimbang, dikeringkan, kemudian berat kering ditimbang. Biomassa kering halus diekstrak menggunakan *n*-heksana, dikering angin, dielusi menggunakan diklorometan, disaring, kemudian dianalisis menggunakan GC-MS untuk mengkarakterisasi struktur profil metabolomik. Waktu dan durasi elisitasi ditentukan berdasarkan kurva pertumbuhan yang diperoleh pada penelitian dan studi literatur. Untuk analisis ekspresi gen, sampel dipanen pada 6 dan 12 jam setelah perlakuan elisitor dari batch berbeda. Analisis ekspresi gen dilakukan dengan teknik qPCR menggunakan tiga ulangan biologis dan dua ulangan teknik.



Pada penelitian ini dihasilkan kalus dengan karakteristik kalus agak meremah, berwarna krem, dan sedikit berair. Analisis kinetika pertumbuhan menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan kalus pada kultur suspensi membentuk pola sigmoid. Fase pertumbuhan eksponensial terjadi antara 0 dan 8 HSI, diikuti oleh fase puncak pada 12 HSI. Fase stasioner terjadi antara 16 dan 20 HSI, diikuti oleh fase kematian pada 24 HSI. Pada 0 dan 16 HSI, metabolomik didominasi oleh asam lemak. Pada 20 hingga 28 HSI, kultur cenderung memproduksi fitosterol, hidrokarbon, dan aldehid. Kromon terdeteksi secara fluktuatif pada konsentrasi rendah.

Perlakuan 3 tingkat konsentrasi elisitor MeJA dan SA, maupun ekstrak kasar *F. oxysporum* masing-masing tidak memicu akumulasi seskuiterpen, namun perlakuan elisitor (termasuk kontrol) memicu perubahan profil metabolomik. Senyawa *6-methoxy-2-phenethyl-4H-chromen-4-one* terdeteksi pada kultur dengan atau tanpa elisitor, sedangkan *6-methoxy-2-(4-methoxyphenethyl)-4H-chromen-4-one* terdeteksi di hampir semua sampel dengan perlakuan elisitor dan *2-phenethyl-4H-chromen-4-one* hanya terdeteksi pada perlakuan 50 μ M MeJA.

Perlakuan elisitor meningkatkan ekspresi *HMGR* setelah 6 jam, kecuali pada perlakuan 75 μ M SA. Hanya perlakuan CeFo yang meningkatkan ekspresi gen *HMGR* secara signifikan 6 jam setelah elisitasi. Pada elisitor MeJA dan SA, ekspresi gen *HMGR* tertinggi dihasilkan pada perlakuan 50 μ M MeJA (5,5 kali) dan 50 μ M SA (3,5 kali). Setelah 12 jam, perlakuan elisitor tidak meningkatkan ekspresi gen *HMGR* secara nyata. Perlakuan elisitor MeJA dan SA tidak meningkatkan ekspresi *FPS* secara nyata, baik pada 6 maupun 12 jam setelah perlakuan. Ekspresi gen *FPS* meningkat secara signifikan setelah 6 jam pada perlakuan CeFo, kemudian menurun drastis setelah 12 jam. Ekspresi gen *SesTPSI* meningkat antara 1,65 hingga 6,36 kali lipat dibandingkan dengan kontrol pada 6 jam setelah elisitasi. Ekspresi gen *SesTPSI* tertinggi pada masing-masing jenis elisitor diperoleh pada perlakuan 12,5 μ M MeJA (6,36 kali) dan 50 μ M SA (5,6 kali), serta 3,8 kali lipat pada perlakuan CeFo. Setelah 12 jam, ekspresi *SesTPSI* pada semua perlakuan lebih rendah dari kontrol, terutama pada konsentrasi SA yang lebih tinggi.

Kata kunci: asam salisilat, ekspresi gen, gaharu, metil jasmonat, profil metabolomik

SUMMARY

FAUZAN AHSAN HAFIZHIN. Induction of Sesquiterpene Production in Callus Suspension Cultures of *Aquilaria malaccensis* Lamk. with Elicitors. Supervised by ARIS TJAHOJEKSONO and ANDRI FADILLAH MARTIN.

Aquilaria malaccensis Lamk. is a species of agarwood-producing plant found across several islands in Indonesia. This species is listed as vulnerable to extinction in Appendix II CITES. However, low production and high demand in the global market make agarwood highly valued. Therefore, rapid and sustainable agarwood resin production techniques are crucial.

Agarwood is formed as a defense response to biotic or abiotic stresses. Agarwood resin is composed of various compounds, primarily sesquiterpenes and chromones. Agarwood resin is synthesized in small quantities, with agarwood with a high resin content developing over decades. Several agarwood induction technologies have been applied to cultivated plants. However, the process remains relatively time-consuming.

Secondary metabolite production through *in vitro* culture techniques could be an alternative method for agarwood resin production. Cell suspension and callus suspension culture techniques have been used to produce important secondary metabolites, but applying these techniques to essential oil production still faces many challenges, particularly low yields. Culture elicitation using defense hormones such as salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJA), or pathogen cell components, has the potential to induce the production of sesquiterpenes associated with agarwood resin.

This study consisted of several stages, namely 1) callus induction and callus suspension culture induction, 2) growth kinetics analysis and metabolomic analysis of callus suspension culture, 3) metabolomic profile analysis of callus suspension culture at 3 concentration levels of methyl jasmonate (MeJA) and salicylic acid (SA), and 1 concentration of *Fusarium oxysporum* crude extract (CeFo), and 4) analysis of *HMGR*, *FPS*, and *SesTPS1* gene expression at 6 and 12 hours after elicitor treatment. Callus induction from leaf explants was carried out on MS base media supplemented with auxin and cytokinin based on previous studies. The callus obtained was used as an inoculum for callus suspension culture induction. The composition of the suspension media was the same as the callus induction media without compactor. Callus resulting from callus suspension culture induction for 2 weeks was used as an inoculum for callus suspension culture in the observation of growth curves and elicitor treatment. Growth kinetics analysis in suspension cultures was carried out for 28 days. Calli were harvested every 4 days, their fresh weight was weighed, dried, and then their dry weight was reweighed. The fine dry biomass was extracted using n-hexane, air-dried, eluted using dichloromethane, filtered, and then analyzed using GC-MS to characterize the metabolomic profile structure. The elicitation time and duration were determined based on growth curves obtained in research and literature studies. For gene expression analysis, samples were harvested at 6 and 12 hours after elicitor treatment from different batches. Gene expression analysis was performed using qPCR techniques using three biological replicates and two technical replicates.



This study produced callus with characteristics of slightly crumbly, cream-colored, and slightly watery callus. Growth kinetics analysis revealed that the callus growth curve in suspension culture formed a sigmoidal pattern. The exponential growth phase occurred between 0 and 8 days after planting, followed by a peak phase at 12 days after planting. The stationary phase occurred between 16 and 20 days after planting, followed by the death phase at 24 days after planting. At 0 and 16 days after planting, the metabolomics were dominated by fatty acids. At 20 to 28 days after planting, the culture tended to produce phytosterols, hydrocarbons, and aldehydes. Chromones were detected fluctuatingly at low concentrations.

All elicitor concentrations of MeJA or SA, as well as crude extract of *F. oxysporum* did not trigger sesquiterpene accumulation, but elicitor treatments (including control) triggered changes in the metabolomic profile. The compound 6-methoxy-2-phenethyl-4H-chromen-4-one was detected in cultures with or without elicitor, while 6-methoxy-2-(4-methoxyphenethyl)-4H-chromen-4-one was detected in almost all samples with elicitor treatment and 2-phenethyl-4H-chromen-4-one was only detected in the 50 μ M MeJA treatment.

Elicitor treatment increased *HMGR* expression after 6 hours, except for the 75 μ M SA treatment. Only the CeFo treatment significantly increased *HMGR* gene expression 6 hours after elicitation. In the MeJA and SA elicitors, the highest *HMGR* gene expression was achieved with 50 μ M MeJA (5.5-fold) and 50 μ M SA (3.5-fold). After 12 hours, neither elicitor treatment significantly increased *HMGR* gene expression. MeJA and SA elicitor treatments did not significantly increase *FPS* expression at either 6 or 12 hours after treatment. *FPS* gene expression increased significantly after 6 hours in the CeFo treatment, then decreased drastically after 12 hours. The highest *SesTPS1* gene expression in each elicitor type was obtained in the 12.5 μ M MeJA (6.36-fold) and 50 μ M SA (5.6-fold) treatments, and 3.8-fold in the CeFo treatment. After 12 hours, *SesTPS1* expression in all treatments was lower than the control, especially at higher SA concentrations.

Keywords: agarwood, gene expression, metabolomic profile, methyl jasmonate, salicylic acid



@Hak cipta milik IPB University

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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik 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.

INDUKSI PRODUKSI SESKUITERPEN PADA KULTUR SUSPENSI KALUS *Aquilaria malaccensis* LAMK. DENGAN ELISITOR

FAUZAN AHSAN HAFIZHIN

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

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 pada Ujian Tesis: Syahnada Jaya Syaifullah, S.Si., M.Sc.Agr., Ph.D.



Judul Tesis : Induksi Produksi Seskuiterpen pada Kultur Suspensi Kalus
Aquilaria malaccensis Lamk. dengan Elisitor
Nama : Fauzan Ahsan Hafizhin
NRP : P0501221012

@Hak cipta milik

Pembimbing 1:

Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, D.E.A.

Pembimbing 2:

Dr. Andri Fadillah Martin, M.Si

Disetujui oleh:



Digitally signed by:
Aris Tjahjoleksono

Date: 11 Aug 2026 10:36:59 WIB
verify at: design.ipb.ac.id

Diketahui oleh:

Ketua Program Studi Bioteknologi:

Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si

NIP. 196204191989031001

Dekan Sekolah Pascasarjana:

Prof. Dr. Ir. Yusli Wardiatno, M.Sc

NIP. 196607281991031002

Tanggal Ujian: 30 Juli 2026

Tanggal Pengesahan: 12 AUG 2026



@Hak cipta milik 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.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas segala limpahan nikmat dan karunia sehingga karya ilmiah ini dapat diselesaikan. Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan September 2024 hingga Desember 2025 dengan judul “Induksi Produksi Seskuitrpen pada Kultur Suspensi Kalus *Aquilaria malaccensis* Lamk. dengan Elisitor”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada komisi pembimbing, Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, D.E.A dan Dr. Andri Fadillah Martin, M.Si atas bimbingan, arahan, nasihat, dan dukungan selama penelitian dan penulisan tesis ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada Syahnada Jaya Syaifullah, S.Si., M.Sc.Agr., Ph.D selaku penguji luar komisi pembimbing atas saran dan masukannya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Bioteknologi, serta dosen dan tenaga kependidikan atas ilmu, arahan, dan bimbingannya.

Terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu selama studi, penelitian, hingga tesis ini selesai ditulis, secara khusus kepada:

1. Kedua orang tua, Bapak Ateng Zaelani dan Ibu Lisnuryani Kusumawati, Dzilla Mardiah Nurzakiah (kakak), Aan Nurzaha (kakak ipar), kedua adik, Qorin Achsanil Jannah dan Hadi Ahmad Muzaqi, Amih (nenek), Uwa Neneng, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan kepada penulis.
2. Pusat Riset Rekayasa Genetika, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan (ORHL) atas dukungan dan fasilitas yang disediakan, serta layanan analisis GC-MS dari Platform ELSA, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).
3. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah mendanai penelitian ini melalui Program DIPA dari Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan untuk periode 2022–2023 di bawah hibah yang diberikan kepada Ibu Betalini Widhi Hapsari.
4. Para periset, Ibu Betalini Widhi Hapsari, Ibu Dyah Retno Wulandari, Bapak Erwin Al-Hafizh, Ibu Deritha Ellfy Rantau, Bapak Evan, Ibu Pratiwi, Ibu Wahyuni, dan Bapak Rikno atas bimbingan, bantuan, dan arahan selama penulis melakukan penelitian.
5. Rekan mahasiswa Program Studi Bioteknologi angkatan 2022, khususnya kepada Rajidah, Afridha, Fiero, Hildani, Mutia, Diandra, dan Alysa.
6. Listy, Fajar, Qisty, Aliansi Manusia, dan KKN Banjarsari atas dukungan, semangat, pertemanan, dan persahabatan yang bermakna.
7. Mahasiswa MBKM, TA, dan RA BRIN, Tsabitah, Amelia, Musdalifah, Maitsa, Azhura, Fadhel, Erni, Intan, Zalya, Mirza, Don, Fathimah, Sinta, Rezka, Adzra, Sarah, Kak Resti, Teh Novi, Sam, dan Muhammad atas bantuan, semangat, dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2026

Fauzan Ahsan Hafizhin



@Hak cipta milik 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.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Lintasan Biosintesis Seskuiterpen pada <i>Aquilaria</i> sp.	3
2.2 Metil Jasmonat	6
2.3 Asam Salisilat	7
2.4 Elisitor	8
2.5 Analisis Senyawa Volatil dengan <i>Gas Chromatograph-Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	8
2.6 Analisis Ekspresi Gen	9
2.6.1 <i>Reverse Transcriptase</i> (RT)	9
2.6.2 <i>Quantitative PCR</i> (qPCR)	9
III METODE	12
3.1 Kerangka Penelitian	12
3.2 Lokasi Penelitian	12
3.3 Alat dan Bahan	12
3.4 Perbanyakan Planlet <i>In Vitro</i>	13
3.5 Induksi Kalus Dan Induksi Kultur Suspensi	13
3.6 Analisis Kinetika Pertumbuhan Kultur Suspensi Kalus	14
3.7 Analisis Metabolomik	14
3.8 Perlakuan Elisitor Metil Jasmonat dan Asam Salisilat	15
3.9 Analisis Ekspresi Gen Biosintesis Seskuiterpen	16
3.9.1 Primer	16
3.9.2 Ekstraksi RNA Total	16
3.9.3 Analisis Kuantitatif dan Kualitatif RNA Total	17
3.9.4 Sintesis cDNA	17
3.9.5 qPCR	17
3.10 Analisis Data	18
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Induksi Kalus dan Kinetika Pertumbuhan Kultur Suspensi Kalus <i>Aquilaria malaccensis</i>	19
4.2 Profil Metabolomik pada Kultur Suspensi Kalus <i>Aquilaria malaccensis</i>	20
4.3 Elisitasi Kultur Suspensi	26
4.4 Analisis Kualitas dan Kuantitas Isolat RNA	33
4.5 Sintesis cDNA	33
4.6 Analisis Ekspresi Gen yang Terkait Biosintesis Seskuiterpen	34



V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

5.2 Saran

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

RIWAYAT HIDUP

38

38

38

39

51

57

Hak Cipta milik IPB University

DAFTAR TABEL

1	Sekuens primer gen biosintesis seskuiterpen	16
2	Konsentrasi relatif metabolit kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> dalam 28 hari	23
3	Biomassa kering kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> pada 4 dan 8 HSE	26
4	Konsentrasi relatif metabolomik ada kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> setelah diberi perlakuan elisitor	27

DAFTAR GAMBAR

1	Gaharu pada batang <i>Aquilaria malaccensis</i> (bagian berwarna gelap yang ditunjukkan oleh tanda panah) (dimodifikasi dari Peng <i>et al.</i> 2015)	3
2	Hubungan berbagai molekul sinyal dan reseptor dalam lintasan biosintesis seskuiterpen pada <i>Aquilaria</i> (dimodifikasi dari Gao dan Wei 2016)	4
3	Lintasan biosintesis terpen (dimodifikasi dari Han <i>et al.</i> 2013)	5
4	Hubungan molekul sinyal dan reseptor pertahanan tumbuhan yang dimediasi sinyal MeJA (dimodifikasi dari Nabi <i>et al.</i> 2021)	6
5	Transduksi sinyal pertahanan yang dimediasi oleh SA (dimodifikasi dari Backer <i>et al.</i> 2019)	7
6	Tahapan pengubahan mRNA menjadi cDNA oleh <i>reverse transcriptase</i> (RT) (dimodifikasi dari Kendall dan Riley 2000)	9
7	Prinsip kerja probe interkalasi <i>SYBR Green I</i> . Pada tahap denaturasi, DNA utas ganda memisah dan pewarna yang tidak berikatan memancarkan pendaran yang lemah (A). Pada tahap penempelan primer (<i>annealing</i>), primer yang mengikat daerah komplemen pada DNA target membentuk DNA utas ganda dan sedikit molekul pewarna mengikat daerah tersebut (B). Selama proses pemanjangan (polimerisasi), semakin banyak molekul pewarna fluoresens mengikat DNA utas ganda baru, sehingga pendaran dapat dideteksi (C). Pada siklus berikutnya, DNA utas ganda memisah dan molekul pewarna fluoresens kembali terlepas (dimodifikasi dari Bustin 2000).	11
8	Diagram alir penelitian	12
9	Kultur kalus <i>A. malaccensis</i> umur 1 bulan (A), kultur suspensi kalus hasil induksi selama 2 minggu (B), kultur suspensi kalus umur 0 hingga 28 HSI (C)	19
10	Kurva pertumbuhan kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> selama 28 hari	20
11	Konsentrasi relatif golongan senyawa pada kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> selama 28 hari	21
12	Tren intensitas metabolit yang dinormalisasi	21
13	Plot skor PCA pada metabolomik yang terdeteksi pada kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> selama 28 hari	24
14	Heatmap korelasi antar senyawa yang terdeteksi pada kultur suspensi kalus <i>A. malaccensis</i> selama 28 hari	25
15	Heatmap distribusi dan intensitas metabolomik antara kurva profil metabolomik dan kultur yang diberi perlakuan elisitor	30



16	Plot skor PCA metabolomik pada 4 (A) dan 8 hari setelah elisitasi (B)	31
17	Gel elektroforesis isolat RNA total dari kalus yang diberi perlakuan elisitor. M= Marker DNA 1 kb.	33
18	Hasil PCR gen target dari templat cDNA	33
19	Ekspresi relatif gen <i>HMGR</i> , <i>FPS</i> , dan <i>SesTPSI</i> pada 6 dan 12 jam setelah perlakuan elisitor. * = beda signifikan terhadap kontrol berdasarkan uji Dunnett pada taraf kepercayaan 95% ($P < 0,05$).	34

DAFTAR LAMPIRAN

1	Komposisi media MS (Murashige dan Skoog 1962)	53
2	Komposisi media DKW (Driver dan Kuniyuki 1984)	53
3	Komposisi media PDA	54
4	Laju pertumbuhan spesifik antara 0-8 HSI	54
5	Penghitungan laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan	54
6	Kultur suspensi kalus pada 4 dan 8 hari setelah elisitasi	55
7	Analisis kuantitatif RNA total	55
8	Gel elektroforesis isolat RNA total dari kalus yang diberi perlakuan elisitor. M= Marker DNA 1 kb.	56