

**PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI
MENGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP PROFIL SENYAWA
ISOFLAVONOID PADA KACANG KORO PEDANG
(*Canavalia ensiformis* L.)**

SKRIPSI

diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia



Oleh
Rita Chintia Dewi
1500526

**PROGRAM STUDI KIMIA
DEPERTEMEN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
BANDUNG
2019**

**PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI
MENGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP PROFIL SENYAWA
ISOFLAVONOID PADA KACANG KORO PEDANG
(*Canavalia ensiformis* L.)**

Oleh :
Rita Chintia Dewi

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Rita Chintia Dewi 2019
Universitas Pendidikan Indonesia
Agustus 2019

Hak Cipta dilindungi undang-undang
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian, dengan dicetak ulang, difotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

RITA CHINTIA DEWI

**PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI
MENGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP PROFIL SENYAWA
ISOFLAVONOID PADA KACANG KORO PEDANG
(*Canavalia ensiformis* L.)**

disetujui dan disahkan oleh pembimbing :

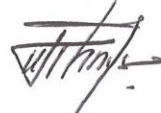
Pembimbing I



Dr. Siti Aisyah, M.Si.

NIP. 197509302001122001

Pembimbing II



Dr. F. M. Titin Supriyanti, M.Si.

NIP. 195810141986012001

Mengetahui,

Ketua Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI



Dr. Hendrawan, M.Si.

NIP. 196310291987031001

ABSTRAK

Fitoaleksin adalah senyawa antimikroba yang disintesis dalam tanaman sebagai respon terhadap patogen dan rangsangan kimia. Elisitasi merupakan salah satu metode untuk menginduksi pembentukan fitoaleksin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi germinasi dan elisitasi menggunakan jamur tempe terhadap profil senyawa isoflavonoid dan senyawa fitoaleksin pada kacang koro pedang. Kacang koro pedang diberi perlakuan germinasi selama 7 hari atau 2 hari germinasi yang diikuti oleh 5 hari elisitasi dengan menggunakan jamur tempe. Tepung kering kacang koro pedang yang telah diberi perlakuan diekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% (v/v). Analisa profil senyawa isoflavonoid dan fitoaleksin dilakukan dengan menggunakan LC-MS/MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik germinasi dan germinasi-elisitasi merubah profil senyawa isoflavonoid dengan munculnya puncak baru dan hilangnya beberapa puncak senyawa pada kacang koro pedang. Hasil analisis senyawa fitoaleksin pada kacang koro pedang menunjukkan senyawa fitoaleksin pada kacang koro pedang yang dielisitasi dengan menggunakan jamur tempe adalah *2'-hydroxygenistein* dan *medicarpin*.

Kata Kunci: Germinasi, Elisitasi, Isoflavonoid, Fitoaleksin, LC-MS/MS

ABSTRACT

Phytoalexin is antimicrobial compounds synthesized in plants in response to pathogens and chemical stimulation. Elicitation is one method to induced phytoalexin using elicitor. The purpose of this study is to determine the effect of germination and combination germination and elicitation using tempeh fungus to profile of isoflavonoid compounds and phytoalexin compounds in jack bean. The jack beans were germinated for 7 days or germinated for 2 days followed by elicitation by tempeh fungus for 5 days. The dried powder of treated jack beans were extracted using 80% (v/v) methanol. The profile of isoflavonoid and phytoalexins were analyzed using LC-MS/MS. The results showed that the germination and germination-elicitation changed the profile of isoflavonoid. Furthermore, it had been found that 2'-hydroxygenistein and medicarpin were phytoalexins of tempeh fungus elicited jack beans.

Keywords: *Germination, Elicitation, Isoflavonoids, Phytoalexin, LC-MS/MS*

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kacang Koro Pedang (<i>Canavalia ensiformis</i> L.)	4
2.1.1 Deskripsi Kacang dan Klasifikasinya	4
2.1.2 Komposisi Fitokimia Kacang Koro	5
2.1.3 Metabolit Sekunder pada Kacang Koro Pedang	6
2.1.4 Senyawa Fitoaleksin dalam Koro Pedang.....	8
2.2 Germinasi pada Kacang-Kacangan	12
2.3 Elisitasi.....	13
2.4 Jamur Tempe.....	14

2.5	Identifikasi Senyawa Isoflavonoid Menggunakan UPLC-MS/MS.....	15
BAB III	20
METODE PENELITIAN	20
3.1	Lokasi Penelitian.....	20
3.2	Alat dan Bahan.....	20
3.2.1	Alat.....	20
3.2.2	Bahan.....	20
3.3	Tahapan Penelitian.....	21
3.4	Cara Kerja.....	22
3.4.1	Tahap Germinasi.....	22
3.4.2	Tahap Ekstraksi Kacang Koro Pedang.....	24
3.4.3	Tahap Analisis Profil Senyawa Isoflavonoid dan Fitoaleksin menggunakan UPLC-ESI-QTOF.....	25
BAB IV	26
HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1	Proses Germinasi dan Kombinasi Germinasi-Elisitasi Kacang Koro Pedang.....	26
4.2	Profil Senyawa Isoflavonoid dari Ekstrak Kacang Koro Pedang.....	26
4.3	Identifikasi Senyawa Isoflavonoid pada Ekstrak Kacang Koro Pedang.....	29
4.4	Pengaruh Germinasi terhadap Profil Senyawa Isoflavonoid Pada Kacang Koro Pedang.....	33
4.5	Pengaruh Kombinasi Germinasi dan Elisitasi Terhadap Profil Senyawa Isoflavonoid pada Kacang Koro Pedang.....	34
BAB V	38
SIMPULAN DAN SARAN	38
5.1	Simpulan.....	38

5.2	Saran.....	38
	DAFTAR PUSTAKA	39
	LAMPIRAN.....	44

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilera, Y., Jime, T., Ben, V., Herrera, T., Cuadrado, C., Mart, M., & Mart, A. (2013). Changes in Nonnutritional Factors and Antioxidant Activity during Germination of Nonconventional Legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Aisyah, S. (2015). *Induction of prenylated isoflavonoids and stilbenoids in legumes*. Wageningen University.
- Aisyah, S., Gruppen, H., Andini, S., Bettonvil, M., Severing, E., & Vincken, J. (2016). Variation in accumulation of isoflavonoids in Phaseoleae seedlings elicited by *Rhizopus*. *Food Chemistry*, 196, 694–701.
- Aisyah, S., Gruppen, H., Madzora, B., & Vincken, J. (2013). Modulation of Iso flavonoid Composition of *Rhizopus oryzae* Elicited Soybean (*Glycine max*) Seedlings by Light and Wounding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8657–8667.
- Akpapunam, M. A. (1997). Some physicochemical properties and anti- nutritional factors of raw , cooked and germinated Jack bean (*Canavalia ensiformis* L.). *Food Chemistry*, 59(I), 121–125.
- Akpapunam, M. A., & Science, F. (1997). Jack bean (*Canavalia ensiformis* L.): Nutrition related aspects and needed nutrition research, 93–99.
- Angelova, Z., S. Georgive, & W. R. (2006). Elicitation of Plants. *Biotechnol*, 20(2), 72–83.
- Ariningsih, Ika., Anggarwulan, E., dan Solichatun. (2003). Pertumbuhan Kalus dan Produksi Antrakuinon Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Media Murashige-Skoog (MS) dengan Penambahan Ion Ca^{2+} dan Cu^{2+} . *Biofarmasi*, 1(2), 39–43.
- Arman, Muhammad. (2011). LC-ESI-MS characterisation of phytoalexins induced in chickpea and pea tissues in response to a biotic elicitor of *Hypnea musciformis* (red algae). *Natural Product Reasech*, 25(14), 1352–1360.
- BALITKABI. (2009). Kelayakan dan Teknologi Budidaya Koro Pedang

(*Canavalia* sp.).

- BALITKABI. (2016). Prospek Aneka Kacang Potensial: Koro Pedang sebagai Pengganti Kedelai. Retrieved March 12, 2019, from <http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/infotek/prospek-aneka-kacang-potensial-koro-pedang-sebagai-pengganti-kedelai/>
- Baur, J. A., et al. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275, 218–220.
- Bhargavan, B., Gautam, A. K., Singh, D., Kumar, A., Chaurasia, S., Tyagi, A. M., ... Chattopadhyay, N. (2009). Methoxylated Isoflavones, Cajanin and Isoformononetin, Have Non-Estrogenic Bone Forming Effect Via Differential Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) Signaling. *Journal of Cellular Biochemistry*, 399, 388–399.
- Bhargavan, B., Singh, D., Gautam, A. K., Sharan, J., Kumar, A., Goel, A., ... Dwivedi, S. D. (2012). Medicarpin , a legume phytoalexin , stimulates osteoblast differentiation and promotes peak bone mass achievement in rats : evidence for estrogen receptor β -mediated osteogenic action of medicarpin. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(1), 27–38.
- Bueno-silva, B., Alencar, S. M., Koo, H., Ikegaki, M., Silva, G. V. J., Napimoga, M. H., & Rosalen, P. L. (2013). Anti-Inflammatory and Antimicrobial Evaluation of Neovestitol and Vestitol Isolated from Brazilian Red Propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 4546–4550.
- Byrd, H. . (1983). *Pedoman Teknologi Benih. (Terjemahan)*. Jakarta: PT. Pembimbing Massa.
- Demam, J.M, . (1989). *Kimia Makanan*. Bandung: ITB.
- Dewi, R. S., Soedirman, U. J., Aziz, S., & Soedirman, U. J. (2011). Isolasi *Rhizopus oligosporus* pada Beberapa Inokulum Tempe. *Molekul*, 6(02), 93–
- Dixon, Richard A., & Ferreira, Daneel. (2002). Genistein. *Phytochemistry*, 60, 205–211.
- Ebel, J. (1986). The biochemical analysis of the induction process. *Annu. Rev.*

- Phytopathol*, 59, 235–264.
- Feng, S., Saw C.L., Lee Y.K., and H. D. (2007). Fungal-Stressed Germination of Black Soybeans Leads to Generation of Oxooctadecadienoic Acids in Addition to Glyceollins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8589–8595.
- Grayer, R. J., T. Kokubun. (2001). Plant-fungal interaction: The search for phytoalexin and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, 56, 253–263.
- Gustine, D. L., Sherwood, R. T., & Vance, C. P. (1978). Regulation of Phytoalexin Synthesis in Jackbean Callus Cultures. *Plant Physiol*, 61, 226–230.
- Ingham, J. L. (1990). Systematic Aspects of Phytoalexin Formation within Tribe Phaseoleae of the Leguminosae (Subfamily *Papilionoideae*), 18(5), 329–343.
- Jeon, H. Y., Seo, D. B., Shin, H., & Lee, S. (2012). Effect of *Aspergillus oryzae*-Challenged Germination on Soybean Isoflavone Content and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2807–2814.
- Kachlicki, P., Marczak, Ł., Kerhoas, L., Einhorn, J., & Stobiecki, M. (2005). Profiling isoflavone conjugates in root extracts of lupine species with LC / ESI / MS n systems. *Journal of Mass Spectrometry*, 40, 1088–1103.
- Kay ED. (1979). Food Legums. TIP Crop and Product Digest No.3. *Tropical Products Institute Ch*, 16, 435.
- Kusumawardani, P.C. (2015). Pemanfaatan Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*) sebagai Bahan Substitusi dalam Pembuatan Tempe Kedelai. Skripsi. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan IPB.
- Lopez-Amors, M.L., Hernandez, T., Estrella, I. (2006). Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 277–283.
- Mason, J. T. (1990). *Introduction, Chemistry with Ultrasound*. London: Elsevier

Applied Science.

- Masturi, R. (2016). *Metabolit Sekunder dan Pertahanan Tumbuhan*. Universitas Brawijaya.
- Mizuguchi, H., Nariai, Y., Kato, S., Nakano, T., & Kanayama, T. (2015). Maackiain is a novel antiallergic compound that suppresses transcriptional upregulation of the histamine H₁ receptor and interleukin-4 genes. *Pharmacology Research & Perspectives*, 3(5), 1–13.
- Murniasih, T. (2003). Metabolit Sekunder dari Spons Sebagai Bahan Obat-Obatan. *Oseana*, XXVIII(3), 27–33.
- Namdeo, A. . (2007). Review Article Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites : A Review. *Pharmacognosy Review*, 1(1), 69–79.
- Ningrum, D.C. (2009). Pengkajian Proses Pembuatan Tepung GBR (*Germinated Brown Rice*) Kombinasi Antara Lama Germinasi Gabah dan Sistem Pengeringan. Skripsi. Jurusan Teknik Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Purwani EY. (2014). Koro Pedang (*Canavalia ensiformis L.*) Mampu Dampangi Kedelai. Retrieved March 12, 2019, from http://pusdatin.setjen.pertanian.go.id/tinymcpuk/gambar/file/1Buletin_Konsumsi_TWII_2014.pdf
- Purwianingsih, W., dan Hamdiyati, Yanti, . (2009). Metode Elisitasi Menggunakan Ragi *Sacharomyces cerevisiae* H. untuk Meningkatkan Kandungan Bioaktif Kuinon Kalus *Morinda citrifolia* L. (Mengkudu).
- Radman, R., T. Saez., C. Bucke, & T. K. (2003). Elicitation of Plants and Microbial System. *Biotechnol. Appl. Biochem*, 37, 91–102.
- Shengbao, F. (2009). *The Effects of Fungal Stress on The Selected Plant Seeds and its Applications for Novel Food Development*. National University of Singapore.
- Soetan KO, Oyewole OE. (2009). The need for adequate processing to reduce the antinutritional factors in plants used as human foods and animal feeds: A

- review. *Afr J of Food Sci*, 3(9), 223–232.
- Suranto, Y. . (1995). *Pengaruh Germinasi Terhadap Kandungan Tokofenol dari Kacang Kedelai (Glycine max), Kacang Tanah (Arachis hypogaea) dan Kacang Hijau (Vigna radiata)*. IPB.
- Ti, H., Zhang, R., Zhang, M., Li, Q., Wei, Z., Zhang, Y., ... Ma, Y. (2014). Dynamic Changes in The Free and Bound Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Brown Rice at Different Germination Stages. *Food Chemistry*, 161, 337–344.
- USDA. (2012). Jack Bean *Canavalia ensiformis* (L.).
- USDA. (2019). *Canavalia ensiformis* (L.). Jack Bean. Retrieved April 3, 2019, from <https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=CAEN4>
- VanEtten, H. D., et al. (1994). Two Classes of Plant Antibiotics. Phytoalexins versus “Phytoanticipins.” *Plant Cell* 6, 1191–1192.
- Winarno, F. . (1981). *Nilai Gizi dari Tauge Sampai Noda Bitot*. Bogor: Pusbangtepa.
- Wu, Z., Song, L., & Huang, D. (2011). Food Grade Fungal Stress on Germinating Peanut Seeds Induced Phytoalexins and Enhanced Polyphenolic Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5993–6003.
- Zaks, A., & Klibanov, A. M. (1988). The Effect of Water on Enzyme action in Organic Media, 17(263), 8017–8021.
- Zhao, J., L. Davis, & R. V. (2005). Elicitor Signal Transduction Leading to Producing of Plant Secondary Metabolites. *Biotechnol*, 23, 283–333.
- Zulhilmi. (2012). *Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (Spilanthes acmella Murr.) dengan Penambahan PEG untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan*. Padang: UNAD Limau Manis.