

Struktur Anatomis dan Kajian Histokimia Strobilus Jantan Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

Anatomical Structure and Histochemical Study Male Strobilus of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

Wenni Eka Damayanti^{1*}, Siti Susanti¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding Author: wenni.eka.d@ugm.ac.id

Abstrak: Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman dari kelompok Gymnospermae yang berasal dari Asia Tenggara, khususnya Indonesia. Melinjo memiliki banyak manfaat pada setiap bagiannya, salah satunya strobilus jantan melinjo yang dimanfaatkan sebagai sayuran. Pada tumbuhan melinjo terdapat berbagai macam senyawa metabolit sekunder, terutama pada organ daun, biji, dan kulit biji sehingga selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur anatomis dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada strobilus jantan melinjo. Pengamatan struktur anatomis dibuat preparat dengan metode parafin, sedangkan pengamatan kandungan senyawa metabolit sekunder dilakukan melalui uji histokimia. Hasil pengamatan struktur anatomis dan uji histokimia kemudian diamati dengan mikroskop cahaya dan didokumentasikan menggunakan OptiLab. Hasil pengamatan diketahui strobilus jantan melinjo terdiri atas nodus, internodus, dan bunga jantan. Struktur anatomis nodus dan internodus pada bagian pangkal, tengah, dan ujung tidak mengalami perbedaan struktural yaitu tersusun dari jaringan epidermis, jaringan parenkim, dan jaringan pengangkut, namun terdapat perbedaan ukuran yang semakin kecil dari pangkal hingga ujung, sedangkan bunga jantan mengalami perbedaan struktural yakni adanya diferensiasi lebih lanjut dari bagian ujung hingga pangkal pada bagian antera ditandai dengan penambahan ukuran sel penyusun jaringan epidermis, lisisnya jaringan parenkim penyusun lapisan tengah dan tapetum, serta terbentuknya polen yang soliter. Hasil penelitian uji histokimia diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada nodus internodus, dan bunga jantan melinjo antara lain fenolik, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin.

Kata kunci: anatomis, histokimia, melinjo, strobilus jantan

Abstract: Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) is a plant from the Gymnospermae group originating from Southeast Asia, especially Indonesia. Melinjo has many benefits, one of them is the melinjo male strobilus which is used as a vegetable. Within melinjo plants, various kinds of secondary metabolite compounds are present, especially in the leaves, seeds, and seed coats. As a result, apart from being used as a food ingredient, melinjo can also be utilized as traditional medicine. This study aims to determine the anatomical structure and content of secondary metabolites in melinjo male strobilus. Observations of anatomical structures were made using paraffin methods, and observations of secondary metabolite content used histochemical tests. The results of anatomical structures and histochemical tests were then observed with a light microscope and were documented using OptiLab. revealed that the melinjo male strobilus is composed of nodes, internodes, and male flowers. Anatomical structures of the nodes and internodes at the base, middle, and tip did not reveal significant structural differences; they consisted of epidermal tissue, parenchyma tissue, and vascular bundles. However, there were differences in size, which became progressively smaller from the base to the tip. The structure of the male flowers revealed that there were structural differences with differentiation from the tip to the base of the anther with increasing size of the cells epidermal tissue, lysis of parenchyma tissue at the middle layer and tapetum, and pollen have been formed. Histochemical tests at melinjo male strobilus contained secondary metabolites such as phenolics, terpenoids, flavonoids, alkaloids, and tannins.

Keywords: anatomy, histochemistry, male strobilus, melinjo

Dikirim: 30 November 2022 Direvisi: 3 April 2023 Diterima: 10 Agustus 2023 Dipublikasi: 30 Agustus 2023

Pendahuluan

Gnetum gnemon L. merupakan anggota dari famili Gnetaceae yang berasal dari Asia Tenggara. Di Indonesia *Gnetum gnemon* L. dikenal dengan nama melinjo yang pohonnya dapat tumbuh mencapai 10-15 meter dengan batang berdiameter hingga 40 cm dan merupakan tumbuhan menghijau sepanjang tahun atau disebut *evergreen tree* (Barua *et al.*, 2015). Pohon melinjo yang selalu hijau sepanjang tahun menjadikan bagian-bagiannya, seperti daun, bunga, biji, dan batangnya selalu tersedia di alam sehingga banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Daun muda yang disebut “so”, bunga yang disebut “kroto”, dan kulit biji melinjo dapat digunakan sebagai bahan sayuran, serta biji melinjo sebagai bahan dasar pembuatan emping (Nursamsi *et al.*, 2017).

Pada tumbuhan melinjo terdapat berbagai macam senyawa metabolit sekunder, terutama organ daun, biji, dan kulit biji sehingga selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Jurnal hasil penelitian Lestari *dkk.*, (2007) menunjukkan bahwa daun dan biji melinjo mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain tanin, flavonoid, dan alkaloid. Selain itu, hasil skrining fitokimia kulit luar biji melinjo menunjukkan bahwa mengandung senyawa polifenol, flavonoid, dan terpenoid (Nisa, 2017). Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan dihasilkan oleh struktur sekretori pada tumbuhan (Dickinson, 2000). Struktur sekretori pada tumbuhan umumnya disebut sebagai jaringan sekretori yang merupakan jaringan tumbuhan yang tersusun dari satu sel atau lebih yang berfungsi mensekresikan senyawa-senyawa dari dalam tumbuhan (Nugroho, 2018). Keberadaan senyawa aktif yang tersimpan dalam jaringan sekretori pada tumbuhan dapat diamati menggunakan metode histokimia. Pengujian histokimia merupakan pendekatan yang penting dalam identifikasi senyawa aktif pada organisme khususnya secara anatomis (Pellicciari, 2015).

Makhluk hidup dapat menghasilkan bahan organik sekunder (metabolit sekunder) melalui reaksi sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, lemak, protein). Bahan organik sekunder (metabolit sekunder) ini umumnya merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme (Ergina *dkk.*, 2014). Metabolit

sekunder merupakan kelompok senyawa yang keberadaannya spesifik untuk takson tertentu, tidak mutlak diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup, tetapi memiliki peranan penting dalam interaksi dengan makhluk hidup lain maupun dengan lingkungannya (Verpoote, 2000).

Melinjo merupakan kelompok tumbuhan berbiji (Spermatophyta) yang tergolong dalam tumbuhan berbiji terbuka atau Gymnospermae sehingga mempunyai organ reproduksi yang disebut konus atau strobilus (Barua *et al.*, 2015). Namun penelitian mengenai jaringan penyusun dan kandungan senyawa metabolit sekunder strobilus, khususnya strobilus jantan melinjo belum dibahas mendalam sehingga dapat menjadi dasar dalam melakukan studi struktur anatomis dan kajian histokimia strobilus jantan melinjo.

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah mengenai struktur anatomis sekaligus kandungan senyawa metabolit sekunder strobilus jantan melinjo sehingga dapat memudahkan pemanfaatan kedepannya dan dapat bernilai ekonomis yang lebih tinggi. Adanya hasil positif uji histokimia merupakan studi awal mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada strobilus jantan melinjo. Maka penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas biologis, seperti antioksidan, antimikroba, dan uji toksisitas

Dari latar belakang tersebut, permasalahan yang muncul adalah bagaimana struktur anatomis dan apa saja senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada strobilus jantan melinjo. Maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui struktur anatomis dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada strobilus jantan melinjo. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai struktur anatomis dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada strobilus jantan melinjo.

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada pada bulan Juli-Oktober 2022.

Bahan

Bahan yang digunakan terdiri atas bahan tanaman dan bahan kimia. Bahan tanaman merupakan strobilus jantan melinjo, sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan preparat anatomi antara lain larutan FAA, alkohol bertingkat hingga alkohol absolut (70%, 80%, 95%, 100%), alkohol/xilol (1:3, 1:1, 3:1), xilol, parafin, safranin 1% dalam alkohol 70%, gliserin albumin, dan balsam kanada. Pengujian histokimia menggunakan bahan kimia berupa larutan 10% FeCl₃, larutan Na₂CO₃, larutan CuSO₄ 5%, larutan 5% NaOH, dan reagen Dragendroff.

Alat

Alat yang digunakan antara lain : perolehan dan pengukuran sampel : galah, milimeter block, dan penggaris; pembuatan preparat anatomi : botol flakon, pipet tetes, gelas benda, gelas penutup, *staining jar*, cawan petri, scalpel, jarum preparat, oven, *hot plate*, *rotary microtom*; pengujian histokimia : gelas benda, gelas penutup, pipet tetes, cawan petri; observasi preparat dan pengukuran parameter anatomis: mikroskop cahaya Boeco Germany dan OptiLab Advance Plus.

Cara Kerja Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel anatomi dan uji histokimia dengan memetik 10 sampel strobilus jantan pada pohon di Kapanewon Temon, Kokap, Panjatan, Pengasih, dan Samigaluh, Kabupaten Kulon Progo. Strobilus jantan melinjo yang telah dipetik disimpan dalam alkohol 70% untuk pembuatan preparat *embedding*, dan disimpan dalam tisu yang dibasahi air untuk uji histokimia.

Pembuatan Preparat Dengan Metode Parafin

Pembuatan preparat dengan penyelubungan parafin secara berturut-turut yaitu: fiksasi, pencucian dan pewarnaan, dehidrasi, dealkoholisasi, infiltrasi, pembuatan blok, pemotongan sampel, pewarnaan, dan penutupan preparat. Tahap fiksasi sampel dilakukan selama 24 jam dengan larutan FAA (formalin, asam asetat, dan alkohol 70%) dengan perbandingan 5:5:9. Sampel diwarnai dengan safranin 1% dalam alkohol 70 selama 24 jam. Tahap dehidrasi berturut-turut menggunakan alkohol 70%, 80%,

95%, dan 100% sebanyak dua kali, masing-masing selama 30 menit. Dealkoholisasi menggunakan campuran alkohol:xilol dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, dan larutan xilol dua kali pencucian dengan masing-masing selama 30 menit. Sampel kemudian dimasukkan campuran xilol:parafin (1:9) pada suhu 57°C selama 24 jam. Infiltrasi parafin murni dilakukan pada suhu 57°C selama 24 jam. Penyelubungan parafin dilakukan dengan memasukkan sampel dalam wadah cawan petri berisi cairan parafin, kemudian blok parafin didinginkan selama 24 jam. Pemotongan sampel dilakukan dengan menggunakan mikrotom putar yang diatur pada ketebalan 20 µm. Potongan pita sampel diletakkan pada gelas benda yang diolesi campuran gliserin albumin, dan ditambah air, kemudian dipanaskan pada *hot plate* 45°C. Pewarnaan potongan preparat menggunakan pewarna safranin 1% dalam alkohol 70%, selanjutnya mounting menggunakan balsam kanada dan gelas penutup (Sutikno, 2014).

Pengujian Histokimia

Uji histokimia dilakukan pada preparat segar nodus dan internodus yang dipotong melintang, serta bunga jantan yang dipotong membujur. Setiap potongan dari nodus, internodus, dan bunga jantan kemudian diuji menggunakan berbagai reagen untuk masing-masing golongan senyawa metabolit sekunder, yaitu fenolik (10% FeCl₃ dan larutan Na₂CO₃), terpenoid (CuSO₄ 5%), flavonoid (5% NaOH), alkaloid (reagen Dragendroff), tanin (10% FeCl₃) (Rahayu *dkk.*, 2021; Mulyani & Laksana, 2011; (Ergina *dkk.*, 2014; Nurhasanah & Iriani, 2021).

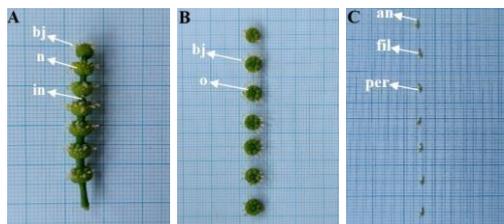
Observasi dan Analisis Data

Preparat anatomis dan histokimia diamati menggunakan mikroskop cahaya dilengkapi dengan OptiLab untuk pengambilan gambar dengan perbesaran mikroskop 4x10 dan 10x10. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar seri dan tabel kemudian dianalisis secara kualitatif dan deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Morfologi Strobilus Jantan Melinjo

G. gnemon L. memiliki strobilus jantan sebagai organ reproduksi generatif yang dapat dilihat pada Gambar 1.



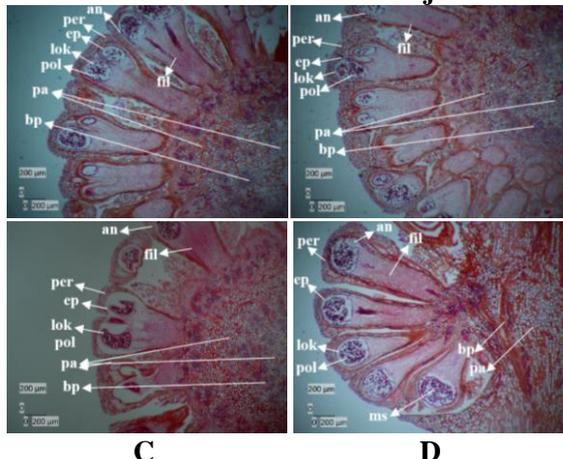
Gambar 1. A. Strobilus Jantan Melinjo, B. Nodus dengan bunga jantan dan ovul, C. Bunga jantan. Keterangan = n: nodus, in: internodus, bj: bunga jantan, o: ovul, an: antera, fil: filamen, per: periantium (Sumber : Dokumentasi pribadi, 2022).

Strobilus jantan melinjo tersusun dari aksis memanjang yang memiliki nodus dan internodus (Gambar 1A; n, in). Pada bagian nodus mendukung braktea yang berbentuk sisik dan tersusun menggerombol. Braktea saling bergabung membentuk struktur kupula atau kolar. Pada bagian nodus mendukung 3-6 lingkaran bunga jantan dengan setiap lingkaran bunga jantan mendukung sejumlah bunga jantan (Gambar 1B; bj), serta di atas lingkaran bunga jantan terdapat satu lingkaran ovul (Gambar 1B; o). Bunga jantan tersusun dari kepala sari (antera) dan tangkai (filamen) yang dibungkus di dalam selubung periantium (Gambar 1C; an, fil, per). Strobilus jantan melinjo memiliki warna hijau hingga kekuningan pada bagian nodus dan internodus (Gambar 1A), serta bunga jantan memiliki warna putih kekuningan (Gambar 1C). Warna yang dimiliki strobilus jantan disebabkan oleh adanya pigmen warna pada jaringan penyusunnya yaitu klorofil. Pada perkembangannya, strobilus jantan mengalami perubahan warna menjadi kuning karena mengalami degradasi klorofil. Secara umum, klorofil mudah sekali mengalami degradasi karena reaksi enzimatik atau pengaruh lingkungan (Hortensteiner & Krautler, 2011). Degradasi klorofil ini disebabkan karena adanya enzim klorofilase yang berperan dalam mengubah klorofil menjadi klorofilid (Yamauchi *et al.*, 1997).

Struktur Anatomis Strobilus Jantan Melinjo

Hasil pengamatan strobilus jantan melinjo ditinjau dari struktur anatomis, dapat dideskripsikan sebagai berikut :

A. Nodus Strobilus Jantan Melinjo



Gambar 2. A. Penampang lintang nodus melinjo bagian pangkal strobilus, B. Penampang lintang nodus melinjo bagian tengah strobilus, C. Penampang lintang nodus melinjo bagian ujung strobilus, D. Penampang bujur nodus melinjo. Keterangan = ep: epidermis, ko: korteks, fl: floem, xi: xilem, pa: parenkim, per: periantium, bj: bunga jantan, ms: mikrosporangium.

Nodus dari strobilus jantan melinjo memiliki struktur anatomi yang sama pada bagian pangkal, tengah, dan ujung strobilus. Lapisan paling luar ialah epidermis yang ditunjukkan dengan selapis sel yang susunan rapat (Gambar 2A, ep; B, ep; C, ep; D, ep). Sel-sel epidermis yang tersusun rapat tanpa ruang antar sel berperan sebagai pelindung jaringan di bawahnya dan memperluas permukaan apabila terjadi tekanan dari dalam akibat pertumbuhan (Hidayat, 1995). Di sebelah dalam lapisan epidermis terdapat korteks (Gambar 2A, ko; B, ko; C, ko; D, ko) yang tersusun dari jaringan parenkim dengan sel-sel berukuran lebih besar dari sel epidermis, berdinding tipis dan susunannya renggang sehingga banyak ruang antar sel (Kartasapoetra, 1991). Pada korteks terlihat adanya berkas pembuluh yang terdiri atas xilem (Gambar 2A, xi; B, xi; C, xi; D, xi) dan floem (Gambar 2A, fl; B, fl; C, fl; D, fl) tersusun secara tersebar pada jaringan parenkim. Menurut Liese (1988), jaringan pembuluh pada nodus mempunyai tipe kolateral yang terdiri atas xilem dan floem yang dikelilingi jaringan parenkim.

Berikut jaringan penyusun nodus bagian pangkal, tengah, dan ujung beserta ukurannya (Tabel 1) :

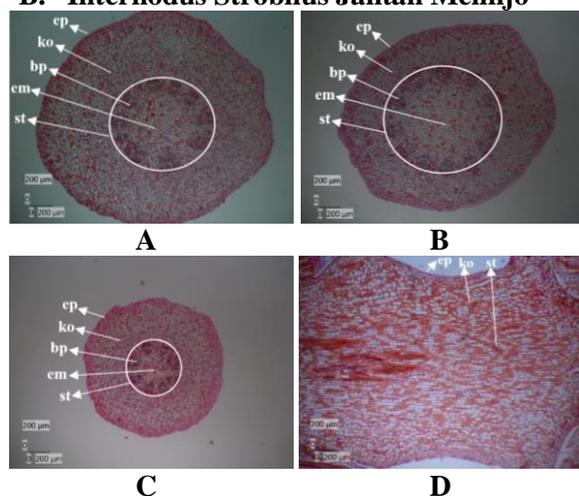
Tabel 1. Ukuran Jaringan Penyusun Nodus Bagian Pangkal, Tengah, dan Ujung Strobilus Jantan Melinjo

Bagian	Ukuran				
	Ep (µm)	Ko (µm)	Fl (µm)	Xi (µm)	Pa (µm)
Pangkal	44,22	483,72	94,20	78,21	811,60
Tengah	34,90	444,56	84,41	72,65	777,58
Ujung	15,61	482,40	68,22	58,33	514,70

Keterangan = ep: epidermis, ko: korteks, fl: floem, xi: xilem, pa: parenkim.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa hasil pengukuran menunjukkan bahwa ukuran jaringan penyusun nodus paling besar di bagian pangkal, diikuti bagian tengah, dan ujung. Ukuran jaringan penyusun nodus di bagian pangkal lebih besar dibandingkan bagian tengah dan ujung dikarenakan mengalami pertumbuhan, yaitu penambahan ukuran secara keseluruhan merupakan hasil dari penambahan jumlah dan ukuran sel (Hapsari *dkk.*, 2018). Selain karena pertumbuhan, perbedaan ukuran jaringan juga dipengaruhi oleh perkembangan sel-sel pemula pembentuk jaringan. Menurut Suradinata (1998), pembentukan sel-sel pemula pada bagian pangkal umumnya berlangsung lebih lama dibandingkan dengan bagian ujung sehingga menyebabkan jaringan dapat tumbuh menjadi lebih panjang dan berukuran lebih besar.

B. Internodus Strobilus Jantan Melinjo



Gambar 3. A. Penampang lintang internodus melinjo bagian pangkal strobilus, B. Penampang lintang internodus melinjo bagian tengah strobilus, C. Penampang lintang internodus melinjo bagian ujung strobilus, D. Penampang bujur internodus melinjo. Keterangan = ep: epidermis, ko: korteks, st: stele, fl: floem, xi: xilem, em: empulur.

Struktur anatomi internodus strobilus jantan melinjo ditunjukkan pada Gambar 3 terlihat bahwa internodus tersusun dari tiga sistem jaringan, yaitu sistem jaringan dermal diwakili oleh epidermis; sistem jaringan dasar terdiri atas korteks dan empulur; dan sistem jaringan pengangkut yang terdiri atas xilem dan floem. Sistem jaringan dermal berupa epidermis menyelubungi internodus dan terletak di bagian paling luar (Gambar 3A, ep; B, ep; C, ep; D, ep). Di sebelah dalam epidermis terdapat korteks (Gambar 3A, ko; B, ko; C, ko; D, ko) yang tersusun dari sel-sel parenkim. Selain itu, inti pusat internodus yaitu empulur (Gambar 3A, em; B, em; C, em) juga tersusun dari sel-sel parenkim yang berukuran besar dan memiliki ruang antarsel (Bria, 2018). Jaringan parenkim sebagai jaringan dasar tersusun dari sel-sel ber dinding tipis berbentuk poligonal hingga bulat (Sudarna, 1990). Di antara korteks dan empulur terdapat sistem jaringan pembuluh. Berkas pembuluh utama terdiri atas xilem (Gambar 3A, xi; B, xi; C, xi) dan floem (Gambar 3A, fl; B, fl; C, fl). Berkas xilem dan floem tersebut terletak secara berdampingan sehingga mempunyai tipe kolateral yang terdiri atas xilem dan floem yang dikelilingi jaringan parenkim (Liese, 1988).

Berikut jaringan penyusun internodus bagian pangkal, tengah, dan ujung beserta ukurannya (Tabel 2) :

Tabel 2. Ukuran Jaringan Penyusun Internodus Bagian Pangkal, Tengah, dan Ujung Strobilus Jantan Melinjo

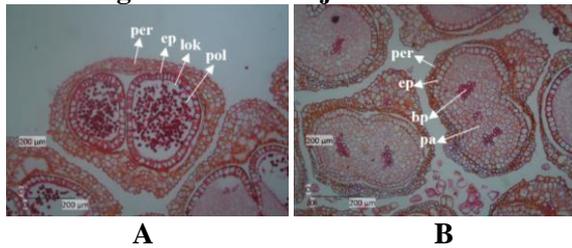
Bagian	Ukuran				
	Ep (µm)	Ko (µm)	Fl (µm)	Xi (µm)	Em (µm)
Pangkal	32,34	616,99	90,19	92,70	624,61
Tengah	27,85	545,57	82,02	75,46	867,36
Ujung	20,18	388,60	72,36	62,19	288,93

Keterangan = ep: epidermis, ko: korteks, fl: floem, xi: xilem, em: empulur.

Hasil pengukuran jaringan penyusun internodus (Tabel 2) menunjukkan bahwa ukuran paling besar di bagian pangkal, diikuti bagian tengah, dan ujung. Jaringan di bagian pangkal berukuran lebih besar dibandingkan dengan bagian tengah dan ujung disebabkan karena jaringan mengalami pertumbuhan. Pertumbuhan jaringan yang membesar dikarenakan bertambahnya ukuran sel penyusun. Hal ini sesuai dengan pendapat Sitompul & Guritno (1995), bahwa pertumbuhan merupakan peristiwa bertambahnya ukuran yang dapat

diukur dari bertambah besar dan tingginya organ tumbuhan. Selain karena pertumbuhan, perbedaan ukuran jaringan juga dipengaruhi oleh perkembangan sel-sel pemula pembentuk jaringan. Menurut Suradinata (1998), pembentukan sel-sel pemula pada bagian pangkal umumnya berlangsung lebih lama dibandingkan dengan bagian ujung sehingga menyebabkan jaringan dapat tumbuh menjadi lebih panjang dan berukuran lebih besar.

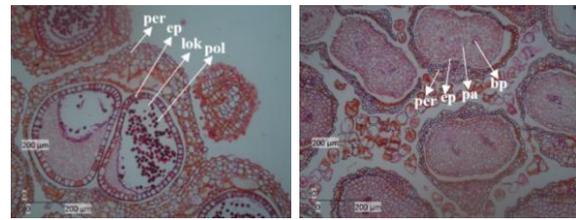
C. Bunga Jantan Melinjo



Gambar 4. Bunga jantan melinjo bagian pangkal strobilus: A. Penampang lintang antera, B. Penampang lintang filamen. Keterangan = per: periantium, ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Hasil sayatan melintang antera bagian pangkal strobilus (Gambar 4A) menunjukkan jaringan penyusun antera dari luar ke dalam tersusun dari jaringan epidermis (Gambar 4A, ep) dengan sel-sel berbentuk pipih yang tersusun rapat dan selapis dengan dinding yang tebal berfungsi untuk melindungi jaringan yang ada di sebelah dalamnya (Hidayat, 1995). Di sebelah dalam epidermis terdapat lokulus yang berisi polen (Gambar 4A, lok, pol), serta pada bagian paling luar dari antera terdapat lapisan yang mengelilingi epidermis yaitu periantium (Gambar 4A, per).

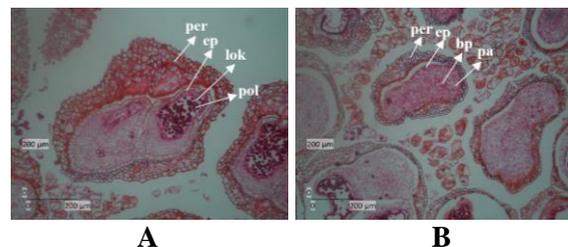
Jaringan penyusun filamen pada bagian pangkal strobilus (Gambar 4B) tersusun dari jaringan epidermis yang tersusun dari satu lapis sel, rapat, dan tidak bercelah (Gambar 4B, ep) dan jaringan parenkim berbentuk poligonal yang tersusun lebih longgar serta terdapat berkas pengangkut di bagian dalam (Gambar 4B, pa, bp). Hal ini didukung Sudarna (1990), bahwa jaringan parenkim sebagai jaringan dasar tersusun dari sel-sel berdinding tipis berbentuk poligonal hingga bulat.



Gambar 5. Bunga jantan melinjo bagian tengah strobilus: A. Penampang lintang antera, B. Penampang lintang filamen. Keterangan = per: periantium, ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Hasil sayatan melintang antera bagian tengah strobilus (Gambar 5A) menunjukkan antera tersusun dari jaringan epidermis dengan sel-sel berbentuk pipih yang tersusun rapat dan tanpa ruang antar sel (Gambar 5A, ep). Di sebelah dalam epidermis terdapat lapisan tengah dan tapetum yang tersusun dari jaringan parenkim dengan sel-sel berbentuk poligonal yang tersusun lebih longgar (Gambar 5A, pa). Lapisan tengah dan tapetum pada bagian ini mengalami kerusan sel karena isinya secara perlahan yang dimanfaatkan untuk perkembangan polen. Lapisan tapetum berfungsi nutritif yaitu memberikan seluruh isi selnya untuk perkembangan mikrospora (Maheswari, 1950). Serta di sebelah luar antera terdapat lapisan yang mengelilingi epidermis yaitu periantium (Gambar 5A, per).

Jaringan penyusun filamen (Gambar 5B) bagian tengah strobilus menunjukkan tersusun dari jaringan epidermis yang tersusun dari satu lapis sel dan tersusun rapat dan di sebelah dalam epidermis terdapat jaringan parenkim dengan sel-sel berbentuk poligonal yang tersusun longgar dan terlihat adanya berkas pengangkut pada daerah parenkim (Gambar 5B, pa, bp).



Gambar 6. Bunga jantan melinjo (*Gnetum gnemon* L.) bagian ujung strobilus: A. Penampang lintang antera, B. Penampang lintang filamen. Keterangan = per: periantium, ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Hasil sayatan melintang antera bagian ujung strobilus (Gambar 6A) menunjukkan antera tersusun dari jaringan epidermis dengan sel-sel berbentuk pipih yang tersusun rapat dan tanpa ruang antar sel (Gambar 6A, ep). Di sebelah dalam epidermis terdapat lapisan tengah dan tapetum yang tersusun dari jaringan parenkim dengan sel-sel berbentuk poligonal yang tersusun lebih longgar (Gambar 6A, pa). Lapisan tengah dan tapetum pada bagian ini mulai mengalami kerusakan sel karena isinya secara perlahan yang dimanfaatkan untuk perkembangan polen. Pada bagian ini juga terlihat adanya polen muda berasal dari sel induk mikrospora yang mengalami pembelahan secara meiosis sehingga menghasilkan sel mikrospora yang soliter (Bhojwani & Bhatnagar, 1974). Serta di sebelah luar antera terdapat lapisan yang mengelilingi epidermis yaitu periantium (Gambar 6A, per).

Jaringan penyusun filamen (Gambar 6B) bagian tengah strobilus menunjukkan tersusun dari jaringan epidermis yang tersusun dari satu lapis sel dan tersusun rapat dan di sebelah dalam epidermis terdapat jaringan parenkim dengan sel-sel berbentuk poligonal yang tersusun longgar dan terlihat adanya berkas pengangkut pada daerah parenkim (Gambar 6B, pa, bp).

Berikut jaringan penyusun beserta ukurannya disajikan pada Tabel 3 untuk penampang lintang antera dan Tabel 4 untuk penampang lintang filamen :

Tabel 3. Ukuran Jaringan Penyusun Antera Bagian Pangkal, Tengah, dan Ujung Strobilus Jantan Melinjo

Bagian	Ukuran				
	Ep (µm)	Lo (µm)	Pol (µm)	Pa (µm)	Per (µm)
Pangkal	26,76	250,13	14,55	-	42,98
Tengah	18,96	219,01	10,56	22,68	80,44
Ujung	11,54	162,15	7,16	13,20	104,42

Keterangan = ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, per: periantium.

Berdasarkan Tabel 3 dapat diamati adanya perbedaan baik dari struktur jaringan penyusun maupun ukurannya pada antera bagian pangkal, tengah, dan ujung strobilus. Jaringan epidermis tetap terlihat pada antera bagian pangkal hingga ujung strobilus dengan ukuran ketebalan paling besar pada antera bagian pangkal strobilus yaitu 26,76 µm. Hal ini berkaitan dengan fungsi jaringan epidermis sebagai jaringan pelindung untuk melindungi jaringan yang ada di sebelah

dalam dan semakin tebal jaringan epidermis maka akan lebih baik sehingga jaringan di sebelah dalam tidak cepat rusak oleh aktivitas pertumbuhan (Razak *et al.*, 2007).

Struktur jaringan penyusun antera bagian tengah dan ujung terdapat lapisan tengah dan tapetum yang tersusun dari sel parenkim, namun pada bagian pangkal lapisan tengah dan tapetum mengalami lisis sehingga hanya terlihat sisa lapisan tengah dan tapetum. Ketika memasuki fase dewasa maka lapisan tengah dan tapetum sudah tidak terlihat lagi dan terdapat polen yang masak. Selain itu, di sebelah luar antera terlihat jaringan tebal yang mengelilingi epidermis yang memiliki ketebalan dari pangkal hingga ujung berturut-turut 42, 98 µm; 80,44 µm; 104,42 µm. Berdasarkan ukuran dari periantium ini terlihat bahwa semakin ke bagian pangkal maka ukurannya semakin kecil. Hal ini disebabkan karena sel mengalami degradasi sehingga semakin dewasa periantium maka semakin kecil ukurannya.

Tabel 4. Ukuran Jaringan Penyusun Filamen Bagian Pangkal, Tengah, dan Ujung Strobilus Jantan Melinjo

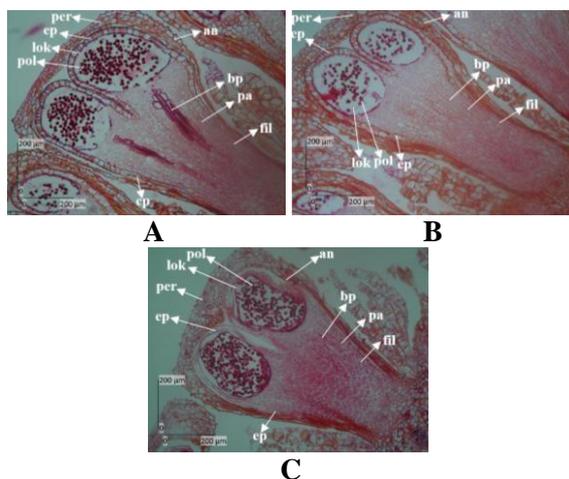
Bagian	Ukuran			
	Ep (µm)	Pa (µm)	Bp (µm)	Per (µm)
Pangkal	24,89	26,26	42,21	37,27
Tengah	14,17	19,71	21,03	38,09
Ujung	10,31	12,81	15,31	69,84

Keterangan = ep: epidermis, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut, per: periantium.

Dari Tabel 4 diketahui adanya penambahan ketebalan pada jaringan epidermis dan parenkim. Filamen pada bagian pangkal strobilus mengalami penebalan epidermis dan parenkim dengan ukuran berturut-turut 24,89 µm dan 26,26 µm. Hal ini dikarenakan terjadi pertambahan ukuran sel sejalan dengan perkembangan bunga jantan yang mengakibatkan perubahan ukuran menjadi semakin besar (Sitompul & Guritno, 1995).

Penampang bujur bunga jantan melinjo menunjukkan bagian antera tersusun dari epidermis dengan satu lapis sel yang tersusun rapat dan disebelah dalam epidermis terdapat lokulus yang berisi polen (Gambar 7A, ep, lok, pol), (Gambar 7B, ep, lok, pol), (Gambar 7C, ep, lok, pol), serta bagian filamen tersusun dari jaringan epidermis dan parenkim serta pada bagian parenkim terlihat adanya berkas pengangkut (Gambar 7A, ep, pa, bp), (Gambar

7B, ep, pa, bp), (Gambar 7C, ep, pa, bp). Di sebelah luar bunga jantan terdapat jaringan pelindung yang mengelilingi epidermis yaitu periantium (Gambar 7A, per; B, per; C, per).



Gambar 7. A. Penampang bujur bunga jantan melinjo bagian pangkal strobilus, B. Penampang bujur bunga jantan melinjo bagian tengah strobilus, C. Penampang bujur bunga jantan melinjo bagian ujung strobilus. Keterangan = per: periantium, ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Struktur anatomis bunga jantan melinjo bagian pangkal, tengah, dan ujung strobilus (Gambar 7A; B; C) menunjukkan struktur jaringan penyusun yang tidak berbeda nyata. Berikut jaringan penyusun bunga jantan bagian pangkal, tengah, dan ujung beserta ukurannya (Tabel 5).

Tabel 5. Ukuran Jaringan Bunga Jantan Bagian Pangkal, Tengah, dan Ujung Strobilus Jantan Melinjo

Bagian	Ukuran (µm)					
	Ep	Lok	Pol	Pa	Bp	Per
Pangkal	19,48	315,49	14,60	21,82	28,21	38,48
Tengah	12,81	257,07	9,17	16,33	18,34	76,99
Ujung	8,95	242,26	7,34	11,80	12,22	90,76

Keterangan = per: periantium, ep: epidermis, lok: lokulus, pol: polen, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Berdasarkan Tabel 5 di atas terlihat bahwa jaringan penyusun bunga jantan memiliki ukuranyang bervariasi dari bagian pangkal, tengah, dan ujung. Ukuran epidermis, lokulus, dan parenkim memiliki ukuran semakin membesar dari bagian ujung hingga pangkal. Hal ini dikarenakan bunga jantan mengalami pertumbuhan yang mengakibatkan perubahan ukuran jaringan penyusun yang semakin besar (Sitompul & Guritno, 1995). Selain perbedaan

ukuran jaringan, terlihat juga perbedaan ukuran polen di dalam lokulus bunga jantan melinjo. Ukuran polen semakin besar dari bagian ujung hingga pangkal strobilus. Hal ini menunjukkan bahwa bahwa proses mikrosporogenesis terjadi sejalan dengan perkembangan bunga jantan. Semakin lama perkembangan bunga jantan maka semakin banyak dan matang mirkrosporangia yang dihasilkan serta apabila mikrosporangia yang dihasilkan banyak maka akan menghasilkan polen dalam jumlah yang banyak dengan usia yang lebih masak (Fauziah & Susanti, 2022). Dari hasil pengamatan terlihat polen melinjo berupa polen tunggal. Hal ini diperkuat oleh Aprianty & Kriswiyanti (2008), yang menyatakan bahwa sebagian besar polen angiospermae merupakan polen yang soliter dan bebas yang masing-masing berkembang dari mikrospora tunggal

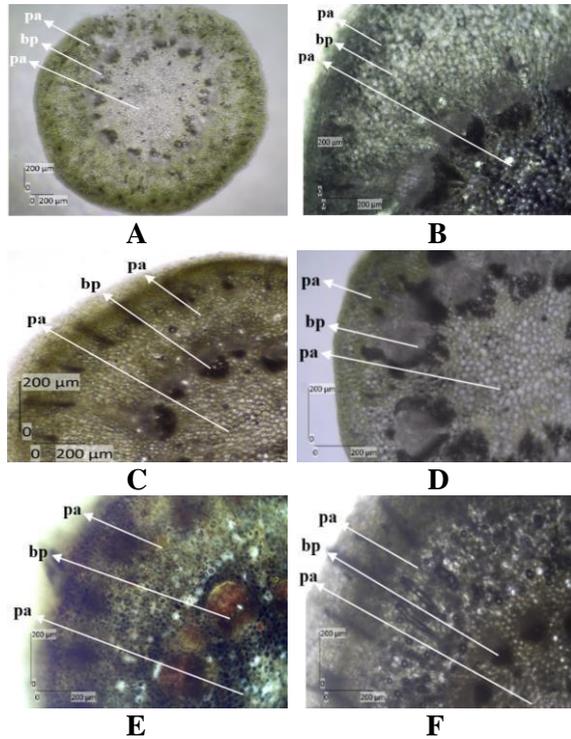
Kajian Histokimia Strobilus Jantan Melinjo

Berdasarkan uji histokimia strobilus jantan melinjo didapatkan hasil positif pada senyawa metabolit sekunder seperti yang ditunjukkan pada Tabel 6.

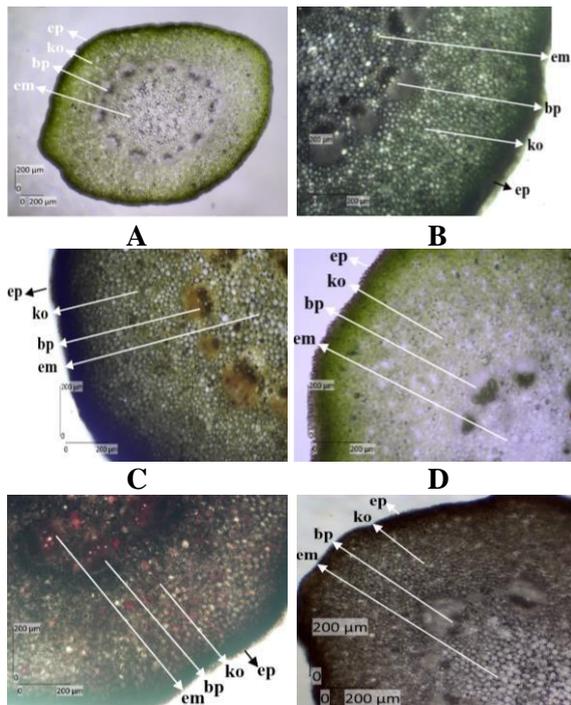
Tabel 6. Hasil Uji Histokimia Senyawa Metabolit Sekunder Strobilus Jantan Melinjo

No	Senyawa metabolit sekunder	Reagen	Warna positif	Ket
1	Fenolik	10% FeCl ₃ & Na ₂ CO ₃	Hijau gelap atau hitam	+
2	Terpenoid	CuSO ₄ 5%	Kuning hingga Coklat	+
3	Flavonoid	5% NaOH	Kuning	+
4	Alkaloid	Dragend off	Jingga hingga Coklat	+
5	Tanin	10% FeCl ₃	Hijau atau hitam	+

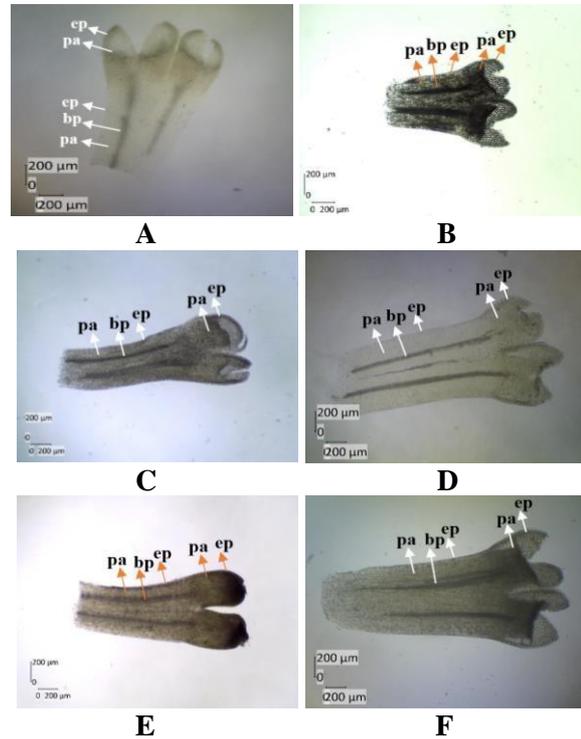
Keterangan :
 - : tidak terdeteksi + : terdeteksi



Gambar 8. Nodus Strobilus Jantan Melinjo: A. Perlakuan kontrol, B. Uji fenolik, C. Uji terpenoid, D. Uji flavonoid, E. Uji alkaloid, F. Uji tanin. Keterangan = pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

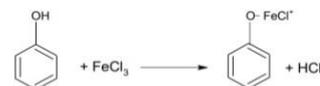


Gambar 9. Internodus Strobilus Jantan Melinjo: A. Perlakuan kontrol, B. Uji fenolik, C. Uji terpenoid, D. Uji flavonoid, E. Uji alkaloid, F. Uji tanin. Keterangan = ep: epidermis, ko: korteks, bp: berkas pengangkut, em: empulur.



Gambar 10. Bunga Jantan Melinjo: A. Perlakuan kontrol, B. Uji fenolik, C. Uji terpenoid, D. Uji flavonoid, E. Uji alkaloid, F. Uji tanin. Keterangan = ep: epidermis, pa: parenkim, bp: berkas pengangkut.

Pada hasil uji histokimia, terdapat senyawa fenolik pada strobilus jantan melinjo bagian nodus, internodus, dan bunga jantan (Gambar 8B, 9B, 10B). Pada dasarnya senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang secara alami terdapat pada berbagai jenis sayuran dan buah-buahan. Senyawa fenolik terdiri atas satu atau lebih gugus fenolik. Gugus fenolik merupakan struktur enam karbon (6-C) yang mengandung cincin aromatik atau cincin benzene dengan satu atau lebih gugus fungsi hidroksil atau OH⁻ sebagai unit dasarnya (Batla & Lal, 2018). Kandungan senyawa fenolik dapat dideteksi menggunakan larutan 10% FeCl₃ dan larutan Na₂CO₃. Reaksi FeCl₃ dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini yang berperan adalah ion Fe³⁺ yang mengalami hibridisasi seperti pada Gambar 11.



Gambar 11. Reaksi fenolik dengan FeCl₃ (Putri dkk., 2012)

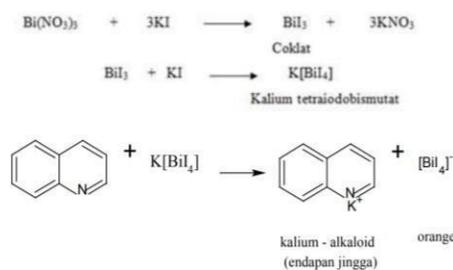
Dari hasil pengujian strobilus jantan melinjo juga positif mengandung terpenoid yang ditunjukkan pada Gambar 8C, 9C, 10C. Terpenoid merupakan salah satu produk dari

metabolit sekunder yang termasuk kelompok senyawa hidrokarbon yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Menurut Yang *et al.*, (2020), terpenoid merupakan produk metabolisme yang dibentuk melalui jalur asam mevalonat (Mevalonic Acid, MVA). Struktur dasar senyawa terpenoid yaitu residu 2 metilbutana atau disebut unit isoprena (C₅H₈)_n. Hal uji positif ini ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan CuSO₄ 5% yaitu kuning kecoklatan (Dorly *dkk.*, 2015).

Selanjutnya terdapat juga senyawa flavonoid (Gambar 8D, 9D, 10D). Flavonoid merupakan derivat dari senyawa fenol yang secara umum merupakan senyawa dengan 15 atom karbon dan memiliki struktur 3 cincin aromatik yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Pambudi *dkk.*, 2014). Senyawa flavonoid dapat dideteksi dengan menambahkan larutan 5% NaOH. Penambahan larutan 5% NaOH akan bereaksi dengan flavonoid dan akan membentuk suatu senyawa yang disebut *acetophenon*. Selanjutnya, NaOH akan melepaskan ion Na⁺ dan akan berikatan dengan *acetophenon* menyebabkan perubahan warna menjadi warna kuning (Fransina *et al.*, 2019).

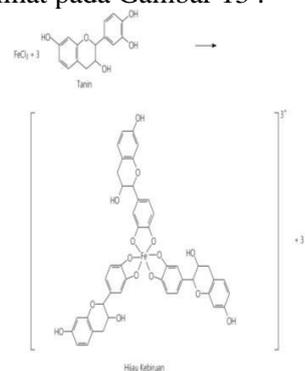
Strobilus jantan melinjo juga positif mengandung alkaloid yang merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen siklik dalam keadaan oksidasi negatif dengan distribusi terbatas di antara organisme hidup (Nugroho, 2018). Hal ini ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan reagen Dragendorf yakni jingga atau oranye hingga coklat (Gambar 8E, 9E, 10E). Perubahan warna disebabkan reaksi penambahan reagen Dragendorf yang mengandung bismuth nitrat atau Bi(NO₃)₃ dan kalium iodide. Ion Bi³⁺ dari bismuth nitrat akan bereaksi dengan kalium iodide dan membentuk endapan Bismut (III) iodida yang larut dalam larutan kalium iodide akan membentuk kalium tetraiodobismutat. Jaringan yang mengandung alkaloid apabila ditambahkan dengan reagen Dragendorf akan menyebabkan reaksi antara nitrogen siklik pada alkaloid akan berikatan dengan ion K⁺ dan menghasilkan kalium alkaloid endapan dan bismut iodida (BiI₄) berwarna jingga atau oranye coklat (Ergina *dkk.*, 2014).

Reaksi yang terjadi antara alkaloid dengan reagen Dragendorf sebagai berikut (Gambar 12):



Gambar 12. Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff (Ergina *dkk.*, 2014)

Hasil uji histokimia strobilus jantan melinjo juga positif mengandung tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Gambar 8F, 9F, 10F). Tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit sekunder golongan polifenol yang dihasilkan oleh tumbuhan. Uji histokimia dengan menggunakan FeCl₃ digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl₃, sehingga apabila uji histokimia dengan FeCl₃ memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987), cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan FeCl₃ 1% dalam air yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl₃ karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺, seperti yang terlihat pada Gambar 13 :



Gambar 13. Reaksi tanin dan FeCl₃ (Manongko *dkk.*, (2020)

Berdasarkan hasil uji histokimia, kandungan senyawa fenolik, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin yang terdeteksi pada jaringan penyusun terakumulasi secara tidak merata pada seluruh jaringan yang ditunjukkan dengan warna yang berbeda kenampakannya. Perbedaan warna ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan struktur jaringan dan kandungan zat yang terdapat pada jaringan tersebut. Menurut Hidayat (1995), struktur sel sekresi dapat terletak pada permukaan organ tumbuhan, namun dapat pula berada di dalam organ tumbuhan sebagai rongga atau saluran sekresi. Sel sekresi merupakan sel yang terspesialisasi untuk menyimpan metabolit. Ukuran sel sekresi sedikit berbeda dengan sel-sel di sekitarnya. Sel sekresi biasanya tersusun tunggal atau dalam barisan yang panjang (Iriawati, 2008). Selain itu keberadaan senyawa metabolit sekunder tidak hanya terdapat di dalam sel sekresi tetapi dapat juga berada di luar sel sekresi misalnya pada vakuola sel yang merupakan tempat menyimpan zat makanan dan penimbunan zat-zat sisa metabolisme, termasuk senyawa metabolit sekunder (Darsono & Kuntorini, 2012).

Beberapa senyawa bioaktif stilbenoids yaitu resveratrol, seperti flavonoid dan tanin berhubungan dengan berbagai manfaat kesehatan sebagai antioksidan, anti kerusakan DNA, antiinflamasi, dan agen antimikroba (Anisong *et al.*, 2022). Aryati *et al.*, (2020) menyatakan bahwa bioaktivitas senyawa bioaktif di kulit buah melinjo telah diuji untuk penghambatan xantin oksidase yang berhubungan dengan aktivitas antigout. Hasilnya menunjukkan bahwa flavonoid, saponin, polifenol, dan alkaloid yang terdeteksi dalam ekstrak kulit buah melinjo dapat berperan sebagai penghambat xantin oksidase. Selain itu hasil penelitian terhadap daun melinjo menunjukkan bahwa memiliki aktivitas antimikroba yaitu penghambatan terhadap pertumbuhan *E. coli* atau *S. aureus*, serta aktivitas melawan bakteri Gram-negatif *E. coli*. Hingga kini *G. gnemon* telah digunakan secara tradisional untuk mengobati malaria oleh penduduk asli India Timur Laut. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman *G. gnemon*, terutama pada strobilus jantan melinjo dalam farmasi dan medis berhubungan dengan berbagai manfaat kesehatan.

Kesimpulan

Struktur anatomis strobilus jantan melinjo bagian nodus dan internodus pada bagian pangkal, tengah, dan ujung tidak mengalami perbedaan struktural yaitu tersusun dari jaringan epidermis, jaringan parenkim, dan jaringan pengangkut yang terdiri atas xilem dan floem, namun terdapat perbedaan ukuran yang semakin kecil dari pangkal hingga ujung, sedangkan bunga jantan mengalami perbedaan struktural yakni adanya diferensiasi atau perkembangan lebih lanjut dari bagian ujung hingga pangkal pada bagian antera yang ditandai dengan pertambahan ukuran sel penyusun jaringan epidermis, lisisnya jaringan parenkim penyusun lapisan tengah dan tapetum, serta terbentuknya polen yang soliter. Kajian histokimia menunjukkan hasil adanya senyawa metabolit sekunder fenolik, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan tanin pada strobilus jantan melinjo.

Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada Laboratorium Struktur Perkembangan Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada yang telah memfasilitasi terlaksananya penelitian ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak terkait yang telah berkontribusi selama penelitian, baik pengambilan sampel, pengerjaan di laboratorium.

Referensi

- Anisong, N., Siripongvutikorn, S., Santad Wichienchot, S. & Puttarak, P. (2022). A Comprehensive Review on Nutritional Contents and Functional Properties of *Gnetum gnemon* Linn. *Food Science and Technology*, 42:1-11.
- Aprianty, N. M. D. & Kriswiyanti, E. (2008). Studi Variasi Ukuran Serbuk Sari Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Dengan Warna Bunga Berbeda. *Jurnal Biologi*, 12(1): 14-18.
- Aryati, W. D., Azka, K. M. & Mun'im, A. (2020). Ultrasonic-Assisted Extraction Using A Betaine-Based Natural Deep Eutectic Solvent For Resveratrol Extraction From Melinjo (*Gnetum gnemon*) Seeds. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 12(1): 26-31.

- Barua, I. C. C.C. & Haloi, P. (2015). *Gnetum gnemon* Linn.: A Comprehensive Review on its Biological, Pharmacological and Pharmacognostical Potentials. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(3): 531- 539.
- Batla, S. & Lal, M. A. (2018). *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd. ISBN: 978981132022-4, pp: 1117-1121.
- Bria, E. J. (2018). Analisis Struktur Anatomi Batang Anyelir (*Dianthus caryophyllus* L.) dan Kontribusinya Terhadap Sistemik Ordo Caryophyllales. *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 1(1): 8-9. DOI:10.32938/SLK.VIII.413
- Dorly, B.A., Wiryo, I. Nurfaizah. & Nidyasari, R.R.S. (2015). Struktur Sekretori dan Uji Histokimia Tumbuhan Obat Anggota Suku Asteraceae di Hutan Pendidikan Gunung Walat. *Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*, 14(7): 667-673.
- Ergina., Siti, N. & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 165-172.
- Fauziah, Q. N. & Susanti, S. (2022). Struktur Morfologis dan Fertilitas Polen Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Berbasis Data Mikroskopi. *Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2): 1-12. DOI: 10.22146/bib.v13i2.4380
- Fransina, E.G., Tanasale, M.F.J.D.P., Latupeirissa, J., Malle, D., & Tahapary, R. (2019). Phytochemical Screening of Water Extract of Gayam (*Inocarpus edulis*) Bark and its Amylase Inhibitor Activity Assay. *Journal International Conference on Chemistry*, 509: 1-8. DOI:10.1088/1757-899X/509/1/012074
- Hapsari, A. T., Darmanti, S. & Hastuti, E. D. (2018). Pertumbuhan Batang, Akar dan Daun Gulma Katumpangian (*Pilea microphylla* (L.) Liebm.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3 (1): 79-84.
- Hortensteiner, S. & Krutler, B. (2011). Chlorophyll Breakdown in Higher Plants. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1807(8): 977-988. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2010.12.007
- Lestari, S., Malaka, R. & Garantjang, S. (2007). Pengawetan Telur dengan Perendaman Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn). *Jurnal Sains dan Teknologi*, 13(2): 184-189.
- Liese, W. (1985). *Bamboos Biology, Silvics properties, Philippines utilization*. Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit Schriftenreihe. Eschborn press. ISBN: 3880852731, pp: 29-35.
- Manongko, P.S., Sangi, M.S. & Momuat, L.I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2):64-69.
- Mulyani, S. & Laksana, T. (2011). Analisis Flavonoid dan Tannin dengan Metoda Mikroskopi-Mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3): 109 -114.
- Nisa, R.I. (2017). *Struktur Anatomis dan Profil Fitokimia Kulit Luar Biji Melinjo (Gnetum gnemon L.) pada Empat Tingkat Kemasakan Biji*. Skripsi Universitas Gadjah Mada.
- Nugroho, L.H. (2018). *Struktur dan Produk Jaringan Sekretori Tumbuhan*. UGM Press, Yogyakarta. ISBN:9786023861651, pp: 30-33, 131-135.
- Nurhasanah., & Iriani, D. (2021). Histochemical Test of Root, Petiole, and Leaf of Kelembak (*Rheum officinale* Baill.). *Jurnal Biologi Tropis*, 21(3): 726-733. DOI: 10.29303/jbt.v21i3.2858
- Pambudi, A., Syaefudin., Nita, N., Risa, S. & Purwanty, R.R. (2014). Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi.*, 2(3): 178-187.
- Pellicciari, C. (2015). *Histochemistry in Biology and Medicine: A Message from the Citing*

- Journals. *European Journal of Histochemistry*, 59(2610): 319-325. DOI: 10.4081/ejh.2015.261
- Putri, H.D., Sumpono, & Nurhamidah. (2018). Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea brassiliensis*) dan Aplikasinya dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 2(2): 97-105.
- Rahayu, T., Pratiwi, R. I. A. & Mubarakati, N. J. (2021). Profil Metabolit Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Berdasarkan Analisis Histokimia dan In Silico. *Jurnal Metamorfosa*, 8(1):156-165.
- Razak, W., Janshah, M., Hashim, W. S. & Shirley, B. (2007). Morphological and Anatomical Characteristics of Manage Natural Bamboo Stands (*Gigantochloa scortechinii*). *Journal of Bamboo and Rattan*, 6(2): 115-122.
- Sudarna, N. S. (1990). Anatomi Batang Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 7(3): 111-117.
- Sutikno. (2014). *Petunjuk praktikum: Mikroteknik Tumbuhan*. Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, pp: 28-33.
- Verpoorte, R. (2000). Secondary Metabolism. In: *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, pp: 1-19.
- Yamauchi, N., Harada, K. & Watada, A. E. (1997). In Vitro Chlorophyll Degradation in Stored Broccoli (*Brassica oleracea*) Florets. *Postharvest Biology and Technology*, 12(3): 239-2.
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z. & Yu, X. (2020). Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communication*, 15(3): 1-13. DOI: 10.1177/1934578X20903555.