

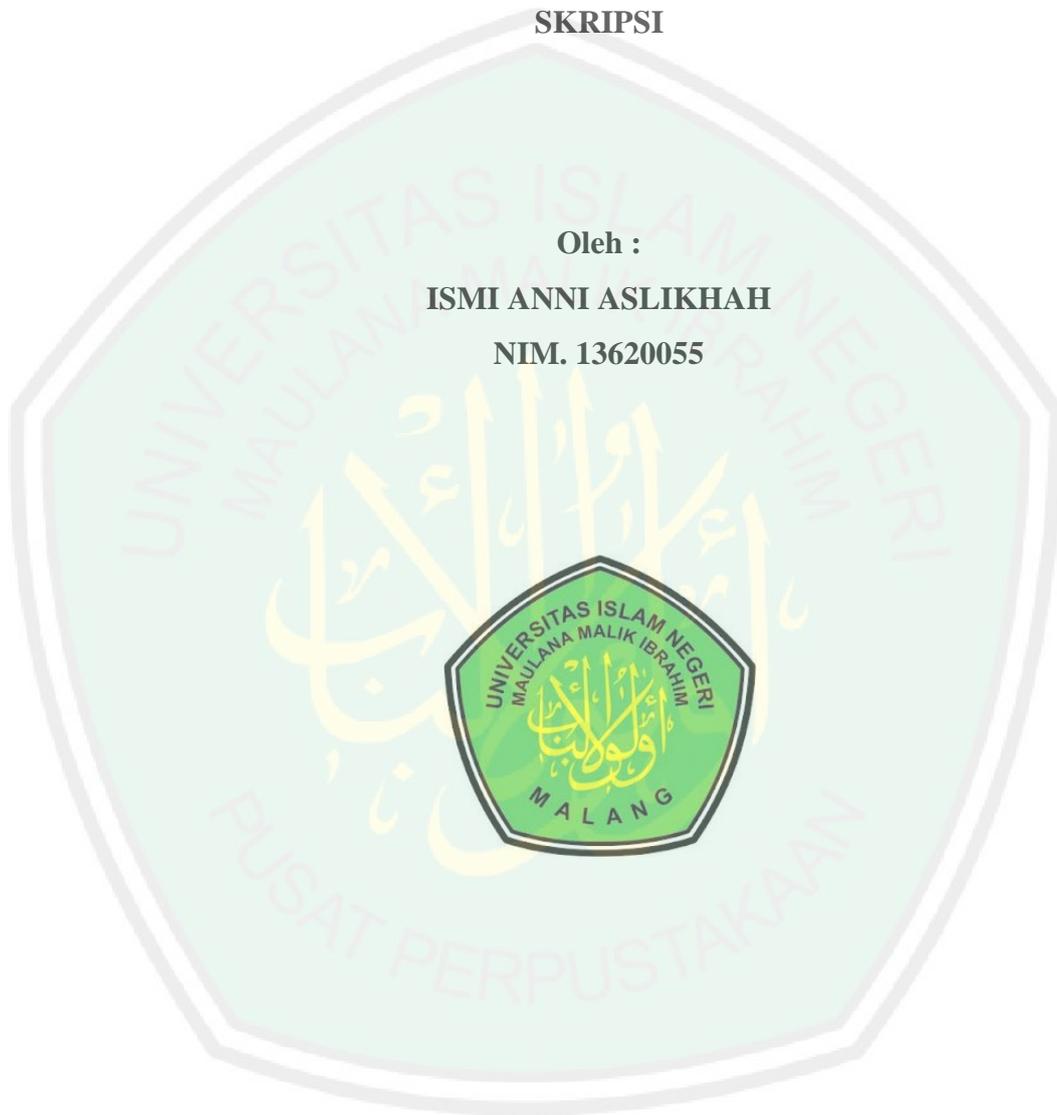
**INDUKSI KALUS DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* Koidzumi)  
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI NAPHTHALENA  
ACETIC ACID(NAA) DAN BENZYL AMINO  
PURIN(BAP) SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh :

**ISMI ANNI ASLIKHAH**

**NIM. 13620055**



**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2017**

**INDUKSI KALUS DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* Koidzumi)  
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI NAPHTHALENA  
ACETIC ACID(NAA) DAN BENZYL AMINO  
PURIN(BAP) SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi**

**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang**

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**

**Memperoleh Gelar Sarjana Sains(S.Si)**

**Oleh**

**ISMI ANNI ASLIKHAH**

**NIM. 13620055**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2017**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**INDUKSI KALUS DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* Koidzumi)  
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI *NAPHTHALENA*  
*ACETIC ACID*(NAA) DAN *BENZYL AMINO*  
*PURIN*(BAP) SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh

**ISMI ANNI ASLIKHAH**

**NIM. 13620055**

**Telah Disetujui Oleh:**

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II

Suyono, M.P

NIP. 19710622 200312 1 002

Dr. H. Ahmad Barizi, MA

NIP. 19731212 199803 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M. Si, D. Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

**HALAMAN PENGESAHAN**

**INDUKSI KALUS DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* Koidzumi)  
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI NAPHTHALENA  
ACETIC ACID(NAA) DAN BENZYL AMINO  
PURIN(BAP) SECARA IN VITRO**

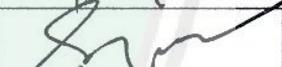
**SKRIPSI**

Oleh

**ISMI ANNI ASLIKHAH**

**NIM. 13620055**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal 9 November 2017

Penguji Utama	Dr. Evika Sandi Savitri	
	NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	Ruri Siti Resmisari, M.Si	
	NIDT. 19790123 20160801 2 063	
Sekretaris Penguji	Suyono, M.P	
	NIP. 19710622 200312 1 002	
Anggota Penguji	Dr. Ahmad Barizi, MA	
	NIP. 19731212 199803 1 001	

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Biologi



**Romadi, M. Si, D. Sc**

NIP. 19810201 200901 1 019

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ismi Anni Aslikhah  
NIM : 13620055  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul : Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei* Koidzumi)  
dengan Penambahan Kombinasi *Naphthalena Acetic Acid*  
(NAA) Dan *Benzyl Amino Purin*(BAP) Secara In Vitro

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 November 2017



Ismi Anni Aslikhah  
NIM. 13620055

## **MOTTO**

**“Tetap tegak berdiri, terus berjalan walaupun terseok-seok, karna aku yakin  
selalu ada ‘KAU’ bersamaku”**

**– أنظر, ففّر. و عمل! –**

**“MELIHAT, BERFIKIR, DAN BERGERAK!”**



## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirabbil'alamin*, puji syukur ku ucapkan kepada Allah SWT yang selalu memberikan rahmat serta hidayah kepada hamba ini yang tak pernah luput dari kelalian, semoga hamba dapat mengamalkan dan memanfaatkan ilmu yang telah Engkau berikan dan semoga hamba dapat selalu menimba ilmu yang Engkau miliki. Shalawat serta salam kuhaturkan kepada Rosulullah SAW.

Ibu(Ninik Istiani) dan Bapak(Zaini) ku, terimakasih atas segala hal terbaik didunia ini yang telah bapak ibu berikan kepadaku, juga terimakasih atas pengorbanan bapak ibu untukku hingga aku dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Bapak dan Ibu akan menjadi sumber semangat untukku. Skripsi ini ku persembahkan kepada bapak dan ibu, serta untuk mas Ajib, mas Ghofur, mbak Layla, Hiroshi dan Tristan.

Gengbatte (pipit, magstin, gus, muhai, yajid, fajr, afifah dan desy), terimakasih untuk hari-hari indah selama kuliah ini, juga terimakasih telah menjadi anugrah dan cobaan untukku. Terkhusus untuk pipit, terimakasih udah mau jadi patner penelitian ku dari pkl sampe sekarang.

Temen lab KJT(muzdhalifah, nadia, yayang, fida, mike, ari, putro, mas bery, kamil, maya, herlina) terimakasih atas kesabarannya hidup satu lab dengan ku. buat laboran lab kultur (mba Lil) terimakasih banyak telah membatu jalannya penelitian. Dan juga buat teman-teman yang ada di lab sebelah(lab mikro dan fiswan) makasih bantuannya juga.

Buat temen seperjuanganku, angkatan biologi '13, khususnya kelas B besar terimakasih untuk motivasi dan suntukan semangat hingga saat ini, dan juga terimakasih untuk hari-hari indah nya. Terkhusus untuk Tiwi makasih atas bantuannya yang amat sangat banyak. See u on top.

Terimakasih juga untuk seseorang yang telah menemani hari-hariku 2 tahun ini, yang kadang jengkelin, nyenengin, nemenin pas susah, pun pas seneng.

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillah* rabbil'alam, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan taufik, rahmat, serta hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei* Koidzumi) Dengan Penambahan Kombinasi *Naphthalena Acetic Acid*(NAA) dan *Benzyl Amino Purin*(BAP) Secara *In Vitro*”**. Seiring dengan rasa syukur atas selesainya penulisan skripsi ini, shalawat serta salam tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Penulis kemudian mengucapkan terimakasih seiring doa dan harapan, *Jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam segala hal sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, Selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Romaidi, M. Si, D. Sc, Selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suyono, M. P dan Dr. H. Ahmad Barizi, M. A selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, karena atas bimbingan dan kesabaran beliau, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Dr. Dwi Suheriyanto, M. P, selaku dosen wali yang memberikan saran dan nasehat yang berguna.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Bapak, Ibu serta mas-masku yang tak pernah lelah untuk tetap mendukung baik secara moril dan materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
8. Laboran dan Staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

9. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2013, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas segala bentuk dukungannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi semua pembaca, Aamiin.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Malang, 17 Oktober 2017

Ismi Anni Aslikhah



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
MOTTO .....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
ABSTRAK .....	xvii
ABSTRACT .....	xviii
المخلص .....	xix
<b>BAB I : PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1.Latar Belakang .....	1
1.2.Rumusan Masalah .....	6
1.3.Tujuan Penelitian .....	6
1.4.Hipotesis.....	7
1.5.Manfaat Penelitian .....	7
1.6.Batasan Masalah.....	7
<b>BAB II : KAJIAN PUSTAKA.....</b>	<b>9</b>
2.1. Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	9
2.1.1. Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) dalam Prespektif Islam .....	9
2.1.2. Klasifikasi Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	11
2.1.3. Deskripsi Ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	11
2.1.4. Budidaya Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	15

2.1.5. Kandungan Senyawa Kimia dan Manfaat Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	17
2.2. Perkembangan Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan .....	18
2.3. Kultur Kalus .....	20
2.3.1. Tekstur Kalus .....	21
2.3.2. Warna Kalus .....	21
2.4. Zat Pengatur Tumbuh .....	22
2.4.1. <i>Naphthalena Acetic Acid</i> (NAA) .....	22
2.4.2. <i>6-Benzyl Amino Purine</i> (BAP) .....	24
2.5. Interaksi NAA dan BAP .....	25
2.6. Kultur Jaringan Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	28
<b>BAB III: METODE PENELITIAN</b> .....	<b>29</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	29
3.2. Rancangan Penelitian .....	29
3.3. Alat dan Bahan .....	30
3.3.1. Alat-alat .....	30
3.3.2. Bahan-bahan .....	30
3.4. Langkah Kerja .....	31
3.4.1. Sterilisasi Alat .....	31
3.4.2. Pembuatan media .....	31
3.4.3. Sterilisasi Media .....	32
3.4.4. Sterilisasi Ruang Tanam .....	32
3.4.5. Induksi Kalus .....	32
3.4.6. Pengamatan .....	33
3.5. Analisis Data .....	34
3.6. Desain Penelitian .....	35
<b>BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>36</b>
4.1. Pengaruh Konsentrasi NAA terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	36
4.2. Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	42

4.3. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	48
4.4. Pengaruh Pemberian Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Warna dan Tekstur Kalus Daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	56
4.5. Hasil Induksi Kalus Daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) dalam Prespektif Islam .....	62
<b>BAB V : PENUTUP .....</b>	<b>66</b>
5.1. Kesimpulan .....	66
5.2.Saran.....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>67</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>74</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman ashitaba.....	12
Gambar 2.2. Akar ashitaba.....	12
Gambar 2.3. a. Daun ashitaba; b. Pelepah daun ashitaba yang telah dipotong dan calchone.....	13
Gambar 2.4. (a) Bunga ashitaba umur 2 minggu yang keluar pada saat tumbuhan berumur 1 tahun lebih; (b) Bunga ashitaba berumur 1 bulan.....	14
Gambar 2.5. (a) Bunga ashitaba; (b) Biji ashitaba yang kering di pohon.....	15
Gambar 2.6. Visualisasi tekstur kalus. (a) kalus kompak; (b) kalus remah.....	21
Gambar 2.7. Contoh warna kalus (a) kuning kehijauan; (b) Putih kehijauan; (c) Putih.....	22
Gambar 2.8. Struktur Kimia <i>Naphthalene Acetic Acid</i> (NAA).....	23
Gambar 2.9. Struktur Kimia <i>6-Benzil Amino Purine</i> (BAP).....	25
Gambar 2.10. Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan .	26
Gambar 3.1. Desain Penelitian.....	35
Gambar 4.1. Hasil terbaik pengaruh NAA terhadap induksi kalus daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	37
Gambar 4.2. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap hari muncul kalus .....	37
Gambar 4.3. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus .....	39
Gambar 4.4. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap presentase eksplan berkalus .....	41
Gambar 4.5. Hasil terbaik pengaruh konsentrasi BAP terhadap induksi kalus daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	44
Gambar 4.6. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus .....	44
Gambar 4.7. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap berat basah kalus .....	46
Gambar 4.8. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap persen eksplan berkalus.....	47

Gambar 4.9. Hasil terbaik pengaruh interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus daun Ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	52
Gambar 4.10. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus daun ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	53
Gambar 4.11. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap berat basah kalus daun ashitaba ( <i>Angelica keiskei</i> koidzumi) .....	54
Gambar 4.12. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap presentase eksplan berkalus .....	55



## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Kombinasi perlakuan NAA dan BAP .....	30
Tabel 4.1. Ringkasan hasil analisis variasi(ANAVA) pada sumber variasi NAA terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus dan persen eksplan berkalus.....	36
Tabel 4.2. Pengaruh pemberian hormon NAA terhadap pertumbuhan kalus daun Ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) (DMRT 5%).....	36
Tabel 4.3. Ringkasan hasil analisis variasi(ANAVA) pada sumber variasi BAP terhadap pertumbuhan kalus daun Ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi).....	42
Tabel 4.4. Pengaruh pemberian konsentrasi hormon BAP terhadap pertumbuhan kalus ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> koidzumi) (DMRT 5%) .....	43
Tabel 4.5. Ringkasan hasil analisis variasi(ANAVA) pada interaksi antara hormon NAA dan BAP terhadap pertumbuhan kalus daun Ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> koidzumi).....	49
Tabel 4.6. Pengaruh interaksi konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap pertumbuhan kalus daun ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> Koidzumi) .....	50
Tabel 4.7. Hasil penganatan warna dan tekstur kalus daun ashitaba( <i>Angelica keiskei</i> koidzumi).....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hari Muncul Kalus .....	74
Lampiran 2. Berat Basah Kalus .....	79
Lampiran 3. Persen Eksplan Berkalus .....	84
Lampiran 4. Gambar Bahan Penelitian.....	89
Lampiran 5. Gambar Alat dan Foto Kegiatan Penelitian.....	90
Lampiran 6. Perhitungan.....	92
Lampiran 7. Bukti Konsultasi .....	94



## ABSTRAK

Ismi Anni Aslikhah. 2017. **Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei Koidzumi*) dengan Penambahan Kombinasi *Naphthalene Acetic Acid*(NAA) dan *Benzyl Amino Purin*(BAP) secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Suyono, M. P (II) Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

Kata Kunci : Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz.), NAA, BAP

---

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) merupakan tanaman herbal yang berasal dari pulau Hachijo Jepang. Tanaman ini mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan glikosida dalam kategori kuat. Ashitaba berfungsi sebagai antitumorigenik, mencegah infeksi, meringankan diabetes, anti kanker, anti bakteri dan sebagainya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *Naphthalene acetic acid* (NAA) dan konsentrasi *Benzyl Amino Purine* (BAP) serta kombinasinya dalam menginduksi kalus daun ashitaba. Sehingga dapat dijadikan acuan dalam menginduksi kalus metabolit sekunder.

Penelitian ini bersifat eksperimental, dengan menggunakan desain rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktor, 25 kombinasi perlakuan dalam 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi NAA, yaitu 0 mg/l, 0.2 mg/l, 0.4 mg/l, 0.6 mg/l, dan 0.8 mg/l. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP, yaitu 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, dan 2 mg/l. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif yang akan dianalisis menggunakan ANAVA dua jalur dengan  $\alpha = 5\%$  dan diuji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf signifikansi 5%, serta uji regresi korelasi. Data kualitatif dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 0,6 mg/l NAA memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus daun ashitaba, yaitu 9 HST, presentase eksplan berkalus 18,33% dengan berat basah kalus 44,09 mg. Konsentrasi 1,5 mg/l BAP berpengaruh nyata pada induksi kalus daun ashitaba, yaitu 11 HST, presentase eksplan berkalus 20,33% dengan berat basah kalus 51,43 mg. Konsentrasi 0,6 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP juga menunjukkan pengaruh nyata pada induksi kalus daun ashitaba, yaitu 10 HST, dan presentasi eksplan berkalus 28% dengan berat basah kalus 72,2 mg/l, dengan kalus berwarna putih kehijauan bertekstur kompak.

## ABSTRACT

Ismi Anni Aslikhah. 2017. **Callus induction of leaf Ashitaba (*Angelica Keiskei* Koidz.) with additional combination of Naphthalene Acetic Acid (NAA) and Benzyl Amino Purin (BAP) in Vitro**. Skripsi. Department of Biologi faculty of Sains and technology State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Counselor : Suyono, M. P and Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

**Keyword : Callus of leaf Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz.), NAA, BAP**

---

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz.) is a herbal plant from Hacıo Japan. It is contain many of alkaloid, saponins, and glycoside. Ashitaba serves as anti-tumorigenic, prevents infection, relieves diabetes, anti-cancer, anti-bacterial, etc. This research purpose is to determine the effect of NAA concentration, BAP concentration and it's combinations to inducing callus of ashitaba leaves. So can use as reference to inductions metabolit secondary callus.

This research design was experimental research, using a complete randomized design (RAL) of 2 factors, 25 treatment combinations in 3 replications. The first factors were NAA concentrations, ie 0 mg / l, 0.2 mg / l, 0.4 mg / l, 0.6 mg / l, and 0.8 mg / l. The second factors were BAP concentration, ie 0 mg / l, 0.5 mg / l, 1 mg / l, 1.5 mg / l, and 2 mg / l. The data obtained in the form of quantitative data were analyzed using two way ANAVA with  $\alpha = 5\%$  and tested continued using DMRT with 5% significance level, and correlation regression test. Qualitative data were analyzed using descriptive analysis.

The results showed that there was an effect of additional of various concentrations of NAA and BAP on callus induction of ashitaba leaves. Concentration of 0,6 mg/l NAA influence is 9 day after planting, and the percentage of callus growth is 18,33% and weight callus is 44,09 mg. concentration of 1,5 mg/l BAP influence is 11 day after planting, percentage of callus growth is 20,33% and weight callus is 51,43 mg. Concentration 0,6 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP influence is 10 day after planting, percentage of callus growth is 28% with weight of callus is 72,2 mg/l, and color of callus is white greenery with compact texture.

## مستخلص البحث

إسمى أنى أصابحة. 2017. استقراء خلية ورقة أشتب (Angelica keiskei koidzumi) بزيادة متّحد النفتالين حمد الاسيتيك (NAA) و بنزيل أمينو بيورين (BAP) في المختبر. البحث الجامعي. قسم الحياة كليت العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشريف سويون الماجستير و أحمد برز الماجستير.

الكلمات الأساسية: خلية ورقة أشتب (Angelica keiskei koidzumi), النفتالين حمد الاسيتيك (NAA), بنزيل أمينو بيورين (BAP).

تحصل نبات أشتب (Angelica keiskei koidzum) نبات عشبة من جزيرة حجيحو, يابن. كان نبات لها مستحضر شبه قلوى, سابونين, و غلقسد في ترتيب عال. تشغل أشتب لي استباق ورم, استباق عدوى, ينقّص داء السكرى, تشغل سرطان, تشغل بكتيريا, و غير ذلك. مهجر هذا الباحث لتعريف وقع اكتراث النفتالين حمض الاسيتيك (NAA) و وقع بنزيل أمينو بيورين (BAP) و تعاون في استقراء خلية ورقة أشتب (Angelica keiskei koidzumi). بحيث للمراجع في الإستقراء خلية مئبضة فرعي.

تستخدم الباحثة البحث التحري على خطة العشوائية الكاملة مدعتيني بجمسة و عشرين معاملات في ثلاث تكرارات. أنّ مدعاة الأول هي اكتراث النفتالين حمد الاسيتيك, هي 0.4 mg/l, 0.2 mg/l, 0 mg/l. مدعاة الثاني هي بنزيل أمينو بيورين, هي 0.5 mg/l, 0.6 mg/l, dan 0.8 mg/l. أنّ وجود البيانات هي البيانات كمّي سوف تحليل بالإستعمال ANAVA صراطيني با  $\alpha=5\%$  و الإختباري با DMRT بمستوى شكل ملحوظ 5%, و ابتلى بتراجع الإرتباط. بيانات نوعي تحليل بتحليل وصفي.

تدل نتائج البحث إلى أثر تركيز 0,6mg/l النفتالين حمد الاسيتيك تثثير وجود استقراء خلية ورقة أشتب, يعني HST9, على نسبة الخلية 18,33% و ثقل الخلية 44,09 mg. تركيز 0,6 mg/l NAA. تركيز 1,5 mg/l BAP + دال على تثثير وجود استقراء خلية ورقة أشتب, هو HST 10, و على نسبة الخلية 28% بثقل خلية 72,2 mg/l, بخلية الضوء الأخضر لون بالتكوينية المكتنزة.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Bumi diciptakan oleh Allah dengan berbagai makhluk di dalamnya. Salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan, sebagaimana firman Allah dalam Quran surat asy-syuaraa/26:7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, *berapakah banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*”(QS. Asy-Syuaraa/26:7).

Kalimat *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* (dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi) yang dimaksudkan dalam kalimat tersebut adalah memikirkan tentang bumi. *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* (berapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu) menunjukkan jumlah yang tak terhingga. *مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* (dari berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik). Menurut Shihab (2010) ayat di atas mengandung perintah untuk merenungi dan mengamati apa yang ada di alam, maka akan didapatkan petunjuk. Allah menciptakan berbagai tumbuhan di bumi yang mendatangkan manfaat. Menurut Mahmud (2007) Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan dan rumput-rumputan sebagai sebuah karunia yang diberikan oleh Allah kepada manusia untuk memakmurkan manusia. Allah menciptakan padang pasir, hutan, gunung-gunung, obat-obatan, menurunkan air dengan menciptakan sungai dan mata air, dan menumbuhkan tanaman dan sayuran adalah untuk kesenangan manusia dan binatang ternaknya. Selain itu pada setiap ciptaan-Nya berfungsi sebagai makanan, obat, dan sebagai pakaian bagi manusia. Sebagaimana firman Allah dalam surat luqman/31: 10 :

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَواسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٣١﴾

Artinya : *“Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (Bumi) tidak menngoyahkan kamu; dan memperkembangbiakan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik (QS. Luqman/31:10).*

Bagian ayat yang bergaris bawah diterjemahkan “dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”. Menurut penafsiran Shihab (2010) kalimat tersebut dimaknai sebagai “dan Kami turunkan hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengannya di bumi segala macam yang baik dan bermanfaat”. Kemudian menurut Katsir (2000) kalimat tersebut ditafsirkan sebagai tumbuh-tumbuhan yang baik dan indah dipandang. Tumbuh-tumbuhan yang baik disini dapat kita artikan sebagai tumbuhan yang bermanfaat, baik sebagai hiasan, makanan ataupun sebagai obat.

Obat yang berasal dari tumbuhan biasanya disebut sebagai obat herbal. Sebagaimana menurut Hidayat (2006) obat herbal merupakan sediaan atau bahan baku berasal dari tumbuhan yang mempunyai efek terapi atau efek lain yang bermanfaat bagi manusia. Menurut survey WHO obat herbal digunakan hingga 65% penduduk negara maju dan 80% penduduk negara berkembang. Faktor pendorong hal tersebut menurut Sukandar dalam Hidayat (2006) adalah meningkatnya harapan hidup pada penderita penyakit kronik, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu, seperti kanker serta meluasnya akses informasi obat herbal di seluruh dunia. Kemudian didukung juga dengan maraknya kampanye “*back to nature*” atau kembali ke alam, merupakan upaya mencari, meneliti dan menggunakan bahan alami nabati untuk mengatasi berbagai

penyakit yang banyak muncul di lingkungan masyarakat akhir-akhir ini, sehingga penggunaan obat herbal semakin luas (Suhartati & Virgianti, 2015).

Ashitaba merupakan salah satu tanaman herbal. Sembiring dan Manoi (2011) tanaman ini berasal dari Jepang yang tumbuh di daerah tandus, berbatu serta berpasir. Xie (2016) Ashitaba berasal dari pulau Hachijo Jepang, yang berada di ketinggian 854 mdpl, dengan curah hujan rata-rata pertahunnya 267 mm (JNTO, 2017). Menurut Siahaan (2016) tanaman ashitaba disebut tanaman tahunan yang tumbuh secara alami di pulau Izu, Bouso, dan Miura. Di Indonesia tanaman ini dikembangkan salah satunya di daerah lereng gunung Welirang, Kecamatan Trawas, Mojokerto (Hotimah, et al., 2010).

Ashitaba merupakan anggota famili *Apiaceae*. Menurut Dasuki (1991) famili *Apiaceae* rata-rata mempunyai habitus herba atau setengah perdu. Susunan daun tersebar, biasanya mempunyai pelepah yang lebar. Bunga tersusun dalam umbela. Tanaman ini berada satu famili dengan adas (*Foeniculum vulgare*), Seledri (*Apium graveolens*), Pegagan (*Centella asiatica*), purwoceng (*Pimpinella pruatjan*), dan lain sebagainya.

Menurut Sembiring dan Manoi (2011) menyatakan bahwa hasil skrining fitokimia, ashitaba mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan glikosida dalam kategori kuat pada semua bagian tanaman. Menurut Adinata (2012) Ashitaba mengandung cairan pekat berwarna kuning pada batang dan daunnya yang disebut *Chalcone*. *Chalcone* adalah cairan berwarna kuning cerah dan pekat pada ashitaba yang tidak terdapat pada tanaman sejenisnya. Pada *chalcone* terdapat dua senyawa flavonoid yaitu xantoangelol dan 4-hydroxyricine.

Menurut Shibata dalam Suhartati dan Nurasih (2016) menyatakan bahwa *chalcone* mempunyai fungsi sebagai antitumorigenik, yaitu untuk melawan pembentukan tumor. Selain itu zat aktif berupa xantoangelol dan 4-hydroxyricine yang terdapat dalam *chalcone* bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi. Menurut Enoki *et al.* (2007) *chalcone* menunjukkan aktifitas mirip insulin. Kemudian Hartini dan Suyatno (2016) menyatakan senyawa ini juga berpotensi sebagai anti kanker. Menurut Suhartati dan Virgianti (2015) zat aktif yang dimiliki ashitaba mempunyai fungsi sebagai anti bakteri.

Ashitaba mulai dapat diambil getahnya pada usia minimal 6-12 bulan sejak penanaman tergantung pada perawatannya. Pegambilan getah dengan cara di potong pelepah daunnya. Satu pelepah hanya dapat menghasilkan 3 - 4 tetes getah, semakin besar ukuran pelepah maka semakin banyak *chalcone* yang dapat dihasilkan. Sehingga untuk mendapatkan satu liter *chalcone* membutuhkan waktu yang lama dan tumbuhan ashitaba yang banyak serta lahan yang luas.

Berkembangnya teknologi kultur jaringan dapat menjadi jawaban atas masalah masalah tersebut. Menurut Lenny (2006) menyatakan bahwa teknik kultur jaringan dewasa ini juga dikembangkan sebagai sarana untuk mendapatkan metabolit sekunder. Teknik kultur jaringan dengan kultur kalus adalah salah satu metode yang berpotensi untuk menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder dapat dihasilkan dalam waktu singkat dan kadar yang tinggi dibandingkan tanaman yang tumbuh di alam (Gusni, et al., 2015). Menurut Pierik (1997) kalus merupakan massa sel yang belum terdeferensiasi, biasanya terbentuk akibat kerja hormon auksin dan sitokinin pada pelukaan jaringan. Auksin

merangsang pertumbuhan hanya dalam konsentrasi tertentu. Pada konsentrasi yang lebih tinggi auksin bisa menghambat pemanjangan sel. Sitokinin bekerja secara bersamaan dengan auksin untuk merangsang pembelahan sel (Campbell & Reece, 2014).

Xiang dkk (2012) dalam penelitiannya menemukan hasil optimal dalam menginduksi kalus ashitaba pada media MS dengan 0,6 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA, 0,2 mg/l GA, 20-40 g/l sukrosa dan 4,5-6,5 g/l agar dengan hasil kalus bertekstur remah. Sedangkan dalam penelitian ini hanya menggunakan kombinasi NAA dan BAP karena kalus yang ingin dihasilkan adalah kalus dengan tekstur kompak yang nantinya dapat digunakan untuk menginduksi metabolit sekunder. Konsentrasi NAA yang digunakan adalah 0-0,8 mg/l, dan konsentrasi BAP yang digunakan adalah 0-2,0 mg/l. Purnamaningsih (2011) melaporkan pemberian 0,5 mg/l NAA dan 1 mg/l BAP mampu menginduksi kalus daun *Artemisia annua* dengan berat basah kalus 468,5 mg, dan warna kalus kuning kecoklatan. Penelitian ini tidak menggunakan GA, karena menurut Zulkarnain (2014) penambahan giberelin (GA) dalam media kultur berfungsi untuk meningkatkan pemanjangan pucuk dan merangsang pembentukan embrio dari kalus.

Kalus dapat diinduksi dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa auksin dan sitokinin (Wahyuningtiyas, 2014). Satu diantara auksin yang banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah NAA. NAA merupakan auksin sintetik yang tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti halnya IAA. Kemudian NAA juga dapat menginduksi kalus yang bertekstur kompak. Sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Jenis sitokinin yang sering

digunakan dalam media kultur *in vitro* adalah kinetin, Benzil Adenin (BA dan BAP) serta Zeatin (Zulkarnain, 2014). Menurut Wahyuningtiyas (2014) BAP memiliki sifat yang stabil, pada umumnya mempunyai respon yang baik dalam menginduksi pembelahan.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus dan kualitas kalus daun ashitaba. Penelitian ini penting dilakukan sebagai langkah awal induksi kalus yang nantinya dapat digunakan untuk induksi metabolit sekunder.

### **1.2. Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)?
2. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)?
3. Adakah pengaruh interaksi NAA dan BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).
2. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).

3. Mengetahui pengaruh interaksi NAA dan BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).

#### 1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).
2. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).
3. Ada pengaruh interaksi NAA dan BAP pada media MS terhadap perkembangan kalus ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi).

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat adanya penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang optimasi hormon NAA dan BAP untuk induksi kalus ashitaba,
2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai langkah awal untuk memproduksi metabolit sekunder melalui kalus yang presentase kandungannya lebih tinggi sehingga bermanfaat untuk industri farmasi dan sebagainya

#### 1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Media dasar yang digunakan adalah media MS
2. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah *naphthalene acetic acid*(NAA) yang dikombinasikan dengan *benzyl amino purine*(BAP)

3. Konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA adalah 0 mg/l; 0,2 mg/l; 0,4 mg/l; 0,6 mg/l; 0,8 mg/l; dan 1 mg/l.
4. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP adalah 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; dan 2 mg/l.
5. Eksplan daun ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) yang digunakan berumur 10 hari pada buku pertama dari tanaman yang berumur 3 tahun.
6. Eksplan dipotong dengan ukuran 1cm<sup>2</sup>.
7. Hasil inisiasi diinkubasi pada suhu 21° C.
8. Parameter yang diamati adalah hari munculnya kalus, berat basah kalus, warna kalus, tekstur kalus dan prosentase eksplan berkalus.
9. Kalus dipanen pada hari ke 40 setelah inisiasi.
10. Kalus yang diinginkan adalah kalus non-embriogenik dengan ciri tekstur kompak dan warna kuning-kuning kecoklatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

##### 2.1.1. Ashitaba(*Angelica keiskei* Koidzumi) dalam Prespektif Islam

Tumbuhan diciptakan oleh Allah bermacam-macam jenisnya untuk memenuhi kebutuhan manusia, sebagaimana firman Allah dalam surat Thaha/20: 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ  
أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikn bagimu bumi sebagai hamparandan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.”(QS. Thaha/20:53)

Lafal فَأَخْرَجْنَا mempunyai makna “maka kami tumbuhkan” dengan air hujan, أَنْوَاجًا mempunyai makna beberapa macam warna. Syanqithi (2007) menafsirkan نبات شتَّى sebagai jenis yang bermacam-macam manfaat, bentuk, warna, ukuran, bau dan rasa. Kemudian kata نبات ditafsirkan sebagai tumbuhan, dan kata شتَّى adalah bentuk jamak dari kata شتيت yang artinya bermacam-macam. Sehingga dapat diartikan bahwa Allah menciptakan tumbuhan yang mempunyai berbagai macam manfaat. Dalam ayat lain juga diungkapkan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan dan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik dalam surat Luqman/31:10.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ  
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia

*(Bumi) tidak mennggoyahkan kamu; dan memperkembangbiakan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik* (QS. Luqman(31):10).

Kalimat bergaris bawah di atas dimaknai sebagai segala macam tumbuhan yang baik dan indah dipandanginya (Al-Sheikh, 2000). Kata tumbuhan yang baik juga dapat diartikan sebagai tumbuhan yang bermanfaat, baik sebagai makanan atau sebagai obat-obatan untuk menyembuhkan ata dapat juga disebut sebagai tumbuhan obat atau obat herbal. Fitriyah (2013) mendefinisikan kata herbal sebagai tumbuhan yang dapat dijadikan obat baik akar, batang, daun, bunga, buah ataupun bijinya. Lebih luas dapat dimaknai sebagai tumbuhan yang seluruh bagiannya mengandung senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai obat.

Ashitaba merupakan satu diantara banyak tumbuhan yang mempunyai kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid yang tergolong tinggi. Berbagai senyawa aktif tersebut menunjukkan aktifitas mirim insulin, yaitu dapat mengontrol kadar gula dalam darah (Sembiring & Manoi, 2011). Kemudian Suhartati dan Nurasiah (2016) bahwa senyawa aktif tersebut bermanfaat meningkatkan daya tahan tubuh untuk melawan infeksi, dan juga berpotensi sebagai anti tumor.

### 2.1.2. Klasifikasi Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) merupakan anggota famili *Apiaceae*. Klasifikasi dari ashitaba sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Apiales

Familia : Apiaceae

Genus : *Angelica*

Spesies : *Angelica keiskei* Koidzumi

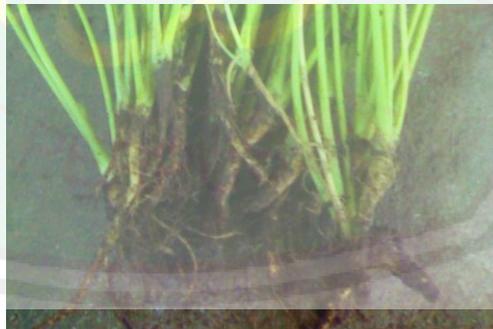
### 2.1.3. Deskripsi Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Ashitaba adalah tanaman asli dari Jepang yang dikenal sebagai harta karun dan sayur-sayuran. Menurut sejarah Bangsa Jepang, ashitaba merupakan tanaman yang dapat memperpanjang umur, yang dulu dicari-cari oleh kaisar pertama Cina dari Dinasti Chin. Pada jaman kekaisaran Edo, *Hachi Jo Island*, ashitaba juga dikenal sebagai jamu umur panjang. Ashitaba mempunyai daya hidup yang sangat kuat, maka jika daunnya dipetik keesokan harinya tunas daun baru muncul (Harmanto, 2004).



Gambar 2.1. Tanaman ashitaba (Ojilombok, 2012)

Sistem perakaran ashitaba adalah serabut, yaitu bila akar lembaga dalam perkembangannya akan mati kemudian akan tumbuh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar. Akar tersebut dalam perkembangannya akan mengalami modifikasi menjadi akar yang membesar sebagaimana akar umbi-umbian yang menyebabkan akar tersebut tampak mempunyai sistem perakaran tunggang. Warna akar coklat tua jika sudah dewasa, tetapi akar muda berwarna putih agak kekuningan hingga coklat muda (Azzamy, 2015).



Gambar 2.2. Akar Ashitaba (Azzamy, 2015)

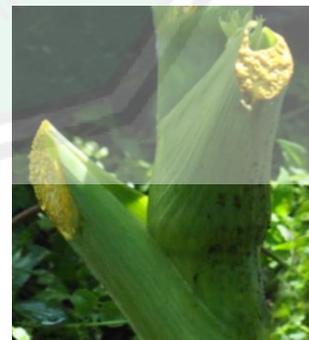
Ashitaba mempunyai batang herba atau setengah perdu sebagaimana tanaman dari famili apiaceae lainnya (Dasuki, 1991). Ashitaba mempunyai batang lunak serta menghasilkan banyak cairan seperti tanaman jenis herba lainnya.

Batang ashitaba termasuk dalam jenis batang lunak dan basah. Batang ashitaba berbentuk silinder dengan serat vertikal pada sepanjang batangnya, disebut juga batang beralur. batang ashitaba tumbuh tegak lurus menuju arah sinar matahari. Tanaman ini tidak mempunyai cabang.

Meurut Dasuki (1991) daun dari famili apiaceae mempunyai susunan daunnya tersebar dan jarang berhadapan, mempunyai pelepah. Daun ashitaba terdiri dari helaian, tangkai, dan pelepah. Tangkai daun berbentuk silinder. Pelepah daun mengalami pelebaran ke samping membentuk upih dan melekat pada batang utama. Daun ashitaba merupakan daun majemuk campuran. Menurut Tjitrosoepomo (2002) daun majemuk campuran adalah daun yang mempunyai cabang-cabang ibu tangkai tersusun seperti jari tangan dan terdapat anak daun yang tersusun menyirip. Tepi daun bergerigi, ujung meruncing, dan pangkat daun tumpul. Susunan tulang daun terdapat dua macam yaitu ada yang menjari dan juga ada yang menyirip. Ashitaba mempunyai bangun daun bulat dengan perbandingan panjang : lebar adalah 1:1. Daging daun tipis seperti kertas dengan permukaan yang kasar. Warna daun muda hijau agak kekuningan, sedangkan warna daun tua berwarna hijau tua.



(a)



(b)

Gambar 2.3. a. Daun Ashitaba (Addawaproduct, 2010), b. Pelepah daun ashitaba yang telah dipotong dan calchone (Azzamy, 2015)

Bunga ashitaba terletak pada ujung batang, yang terkumpul membentuk rangkaian bunga majemuk tak terbatas. Tipe perbungaan majemuk tak terbatas ini berbentuk umbela komposita umumnya dikelilingi oleh involukrum atau invelillum, kaliks umumnya berbentuk cincin di puncak ovarium, petal lepas tetapi melengkung ke dalam, stamen berselingan dengan petal, tumbuh diatas diskus, ginaesium 2 karpel membentuk ovarium inverus, 2 ruang, stilus 2 lepas sering dasarnya membengkak membentuk stilopodium, ovum 1 pada tiap ruang (Nizar, 2011).



(a)



(b)

Gambar 2.4. (a) Bunga ashitaba umur 2 minggu yang keluar pada saat tumbuhan berumur 1 tahun lebih. (b) Bunga ashitaba berumur 1 bulan (Nizar, 2011)

Buah skhizokarpium terdiri 2 merikarpium yang memisah ketika masak, biji dengan kulit biji menyatu dengan perikarp, endosperm berminyak mengandung asam petroselenat dan petroseledat. Terdiri 300 marga dan 3000 jenis, kosmopolitan, terbanyak didaerah temperata utara, dan pegunungan tropis (Dasuki, 1991).



Gambar 2.5. (a) Buah ashitaba berumur, (b) Biji ashitaba yang kering di pohon (Nizar, 2011)

#### 2.1.4. Budidaya Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Menurut Sembiring dan Manoi (2011) tanaman ini berasal dari Jepang yang tumbuh di daerah tandus, berbatu serta berpasir. Xie (2016) Ashitaba berasal dari pulau Hachijo Jepang, yang berada di ketinggian 854 mdpl, dengan curah hujan rata-rata pertahunnya 267 mm (JNTO, 2017).

Di Indonesia ashitaba banyak dibudidayakan di daerah pegunungan atau perbukitan. Tanaman ini akan tumbuh dengan baik pada daerah yang mempunyai tanah yang subur, kelembapan yang tinggi serta mendapat sinar matahari yang cukup. Salah satu daerah yang membudidayakan ashitaba berada di Desa Sembalun Lombok, yang mempunyai ketinggian 1200 mdpl, berada di kaki Gunung Rinjani Lombok (Anonim, 2012). Menurut Hotimah *et al.* (2010) ashitaba juga dibudidayakan di lereng gunung welirang, yaitu di Desa Ketapanrame, Trawas Mojokerto.

Petani di Desa Ketapanrame awalnya mendapatkan bibit ashitaba berkualitas baik dari PT Ambitious Trading Coy., LTD. yang didatangkan langsung dari Jepang (Hotimah, *et al.*, 2010). Kemudian petani melakukan perbanyakan ashitaba dilakukan dengan menggunakan biji yang didapat dari hasil tanaman ashitaba yang sudah berumur 3-4 tahun (Sembiring & Manoi, 2011). Biji

disemai pada saat musim hujan. Sebagai mana firman Allah dalam surat taha/20: 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ  
أَنْبُوتًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”(QS. Thaha/20:53).

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah menurunkan air hujan salah satu fungsinya adalah untuk menumbuhkan bermacam-macam tumbuhan. Hal tersebut sesuai dengan masa penyemaian tumbuhan ashitaba yaitu disemai pada musim hujan. Karena pada waktu penyemaian dibutuhkan air yang banyak untuk proses perkecambahan biji ashitaba.

Menurut Dharmesta (2011) dalam perawatannya ashitaba hanya memerlukan penyiraman dan pemupukan, namun pupuk yang digunakan tidak bukan pupuk kimia. Pemupukan hanya dilakukan dengan pupuk organik seperti pupuk kandang. Perawatan lainnya petani juga tidak membutuhkan pestisida dalam menanggulangi dan mengatasi serangan hama. Ashitaba baru bisa di panen setelah 6-12 bulan setelah inisiasi.

Menurut Sembiring dan Manoi (2011) Bagian tumbuhan ashitaba yang dapat dimanfaatkan adalah daun, batang, umbi dan getahnya, karena mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi dalam menangkap radikal bebas. Namun, selama ini para petani hanya mengambil daun dan getahnya. Pengambilan getah dapat dilakukan setelah inisiasian ashitaba berumur 6-12 bulan. Sedangkan daunnya bisa dipanen pada tumbuhan yang berumur 12 bulan.

### 2.1.5. Kandungan Senyawa Kimia dan Manfaat Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Menurut Wiralaga (2015) batang ashitaba mengandung getah yang berwarna kuning, disebut sebagai "*Chalcone*" termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang mengandung xantoangelol dan 4-hydroxyderricin. Tanaman ashitaba ini kaya akan betakaroten, vitamin B1, B2, B3, B5, B6, dan B12, biotin, asam folik dan vitamin C, juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potasium, fosfor, seng dan tembaga.

Ashitaba mengandung senyawa alkaloid, saponin dan glikosida dengan kategori kuat pada semua bagian tanaman. Kandungan flavonoid, triterpenoid dan tanin tertinggi terdapat pada daun (Sembiring & Manoi, 2011). Ashitaba yang kaya akan vitamin dan mineral menurut Sembiring dan Manoi (2011) dapat meningkatkan produksi sel darah merah, meningkatkan konsentrasi, produksi hormon pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit maupun infeksi. Ekstrak daunnya mempunyai aktivitas sebagai antitumor, kanker (paru-paru dan kulit), juga mempunyai potensi sebagai antioksidan. Efek antioksidasi ashitaba juga berfungsi untuk menjaga organ tubuh dan kerusakan sel akibat radikal bebas serta memperlambat proses penuaan. Ashitaba juga berpotensi untuk menginduksi sekresi susu pada ibu menyusui. Kemudian juga berpotensi menyembuhkan diabetes, asam lambung, hipertensi, jantung koroner, asma, liver, menurunkan kolesterol, osteoporosis, ginjal, magh dan menambah vitalitas, menghambat poliferasi HIV.

Suhartati dan Virgianti (2015) melaporkan, bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in-vitro*. Suhartati dan Nurasih (2016) juga melaporkan, bahwa ekstrak air

daun ashitaba mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara invitro. Zat aktif yang terdapat dalam kalkon bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi, juga berfungsi sebagai antitumor (Suhartati & Nurasiah, 2016). Enoki *et al.* (2007) melaporkan bahwa dua kandungan dari kalkon ashitaba, yaitu xanthoangelol dan 4-hydroxydericin menunjukkan aktifitas mirip insulin. Kemudian Hartini dan Suyatno (2016) juga melaporkan bahwa senyawa hasil isolasi ekstrak dikloro metana batang ashitaba berpotensi sebagai antikanker.

## 2.2. Perkembangan Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan

Menurut Winata (1987) Kultur jaringan adalah istilah umum yang ditunjukkan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, yang diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap.

Tahun 1838 ketika Schwann dan Schleiden mengemukakan teori totipotensi yang menyatakan bahwa sel-sel bersifat otonom, dan pada prinsipnya mampu beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Saat itulah sejarah perkembangan teknik kultur jaringan dimulai. Teori ini merupakan dasar dari spekulasi Haberlandt pada awal abad ke-20 yang menyatakan bahwa jaringan tanaman dapat diisolasi dan dikultur hingga berkembang menjadi tanaman normal dengan melakukan manipulasi terhadap kondisi lingkungan dan nutrisinya (Zulkarnain, 2014).

Beberapa dekade setelah percobaan Haberlandt, penelitian-penelitian kultur *in vitro* tumbuhan lebih ditekankan pada kultur multiselular sebagai

eksplan. White (1939), berhasil menumbuhkan potongan ujung akar tomat pada medium cair yang mengandung garam-garam anorganik, ekstrak yeast, dan sukrosa. Pada waktu yang bersamaan Gauteret dari Prancis berhasil memacu pertumbuhan potongan jaringan kambium *Salix caprea* membentuk kalus dengan menambahkan zat pengatur tumbuh berupa IAA pada medium kultur.

Media mikropropagasi yang digunakan saat ini merupakan hasil dari modifikasi dari medium yang dikembangkan sebelumnya. Gautheret (1939), mengkombinasikan dua kali lipat unsur makro knop dengan unsur mikro Barthelot. Kombinasi antara medium Upenski dan Upenski untuk kultur alga dengan hara mikro Trelease dan Trelease merupakan dasar dari penyusunan medium White.

Nitsch dan Nitsch pada tahun 1956, mengembangkan medium untuk tanaman *Heliantus tuberosus* berdasarkan hasil-hasil penelitian terdahulu, juga melakukan modifikasi sehubungan dengan pengujian keragaman secara terpisah terhadap semua unsur. Murashige dan Skoog berkesimpulan bahwa berkembangnya suatu formulasi medium nutrisi kultur jaringan tanaman didasarkan pada formulasi-formulasi yang telah ada sebelumnya.

Sejak tahun 1980-an sampai sekarang, teknik kultur jaringan tanaman sudah berkembang sangat pesat di seluruh dunia. Pemanfaatan nyata dari teknik kultur jaringan tumbuhan selain untuk perbanyakan tanaman, juga di bidang rekayasa genetika untuk perbaikan mutu genetik tanaman pertanian. Teknik kultur jaringan juga diaplikasikan untuk eliminasi penyakit, terutama penyakit virus dan produksi metabolit sekunder. Perkembangan lebih lanjut, kultur jaringan juga

dapat digunakan sebagai sarana untuk pelestarian plasma nutfah. (Zulkarnain, 2014).

### 2.3.Kultur Kalus

Kalus merupakan suatu kumpulan sel *amorphous* yang terbentuk dari jaringan awal yang membelah secara terus-menerus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ tanaman yang mengalami luka, sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan dengan luka tersebut bersifat meristematik dan dapat membentuk masa sel yang tidak terdiferensiasi. Kalus dapat dihasilkan dari semua bagian tumbuhan, baik akar, batang, daun, tunas, hipokotil, polen, endosperm, dan mesofil. Namun, organ yang berbeda akan menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Subarnas, 2011).

Menurut Aisyah (2007) tujuan utama dari kultur kalus adalah produksi metabolit sekunder, namun sel kalus masih mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi organ tanaman. Selain itu kultur kalus berguna untuk mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan diferensiasinya, seperti mempelajari aspek nutrisi untuk menghasilkan varian somaklonal (genetik atau epigenetik), juga untuk produksi metabolit sekunder dan regulasinya, serta dapat digunakan untuk seleksi *in-vitro*.

Kalus dapat menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak bila dikultur dalam medium kultur cair dibandingkan dengan medium kultur padat. Hal ini disebabkan oleh luas kontak antar sel kalus pada medium cair lebih besar dibandingkan pada medium padat, sehingga meningkatkan efektifitas sel-sel kalus dalam mengabsorpsi nutrisi (Subarnas, 2011).

### 2.3.1. Tekstur Kalus

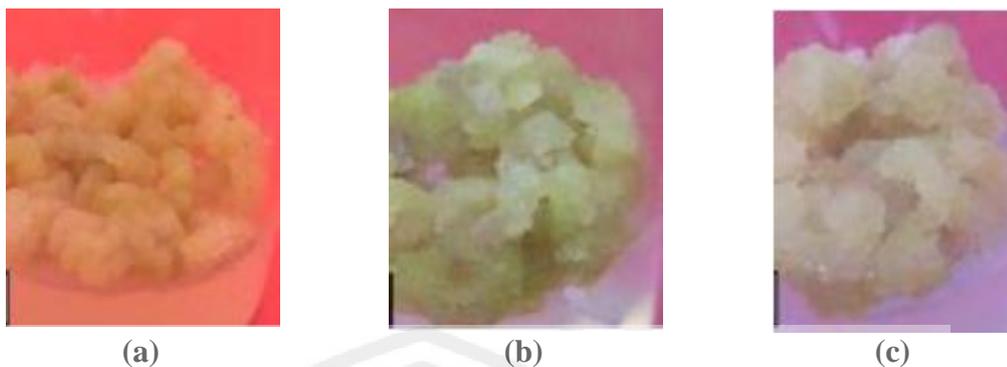
Berdasarkan tekstur dan komposisi sel nya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan kalus remah. Kalus kompak bertekstur padat dan keras, tersusun dari sel kecil yang sangat rapat. Sedangkan kalus remah bertekstur remah lunak tersusun dari sel dengan ruang antar sel yang banyak. Perbedaan tekstur kalus menimbulkan perbedaan untuk memproduksi metabolit sekunder. Kalus kompak menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan kalus remah (Subarnas, 2011).



Gambar 2.6. Visualisasi tekstur kalus. (a) kalus kompak; (b) kalus remah (Yelnitis, 2012)

### 2.3.2. Warna Kalus

Indikator pertumbuhan eksplan budidaya *in vitro* berupa warna kalus. Warna kalus dapat bervariasi, hal tersebut disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan tanaman yang dijadikan eksplan. Eksplan yang berwarna kecoklatan dapat disebabkan oleh kondisi eksplan yang mempunyai kandungan fenol tinggi (Hendaryono & Wijayanti, 1994). Warna kalus yang hijau dapat disebabkan peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Sitokinin yang ditambahkan dalam media kultur dapat menghambat perombakan butir-butir klorofil karena klorofil mampu mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein.



(a) (b) (c)  
Gambar 2.7 contoh warna kalus (a) kuning kehijauan (b) putih kehijauan (c) putih

#### 2.4.Zat Pengatur Tumbuh

Pierik (1997) menyatakan bahwa fitohormon adalah senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi secara endogen. Senyawa tersebut berperan merangsang dan meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ menuju arah diferensiasi tertentu. Senyawa-senyawa lain yang mempunyai karakteristik yang sama dengan hormon, tetapi diproduksi secara eksogen disebut sebagai zat pengatur tumbuh. Zulkarnain (2014) menambahkan bahwa didalam kultur jaringan kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya.

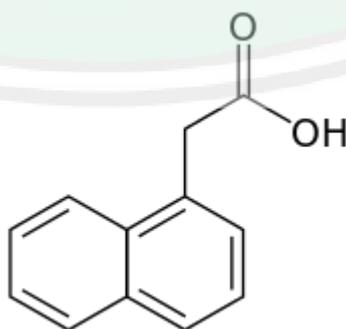
##### 2.4.1. *Naphthalena Acetic Acid* (NAA)

Hormon yang banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (meristem, tunas, dan ujung akar) adalah auksin. Auksin merupakan salah satu hormon yang terdapat dalam tumbuhan (Gunawan, 1987). Menurut Zulkarnain (2014) auksin juga berfungsi meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Kehadiran auksin dalam medium kultur dapat meningkatkan embriogenesis somatik pada kultur suspensi sel. Konsentrasi auksin yang rendah meningkatkan

pembentukan akar adventif, sedangkan auksin dengan konsentrasi tinggi akan meningkatkan pembentukan kalus dan menekan morfogenesis.

Auksin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah indole-3-acetic acid (IAA),  $\alpha$ -naphthalenacetic acid ( $\alpha$ -NAA), dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (Zulkarnain, 2014). Menurut Wetter dan Constabel (1991) Baik 2,4-D atau NAA sangat lambat diuraikan oleh enzim yang dilepaskan oleh sel tumbuhan dan stabil pada pemanasan autoklaf. NAA merupakan auksin sintetik yang tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti halnya IAA. Senyawa ini diberikan dalam medium kultur dengan konsentrasi yang rendah, berkisar antara 0,1-2,0 mg/L.

Auksin mempengaruhi pemanjangan suatu sel dengan cara mengaktifkan beberapa enzim yang dapat menurunkan pH pada dinding sel. Enzim tersebut bekerja memutus ikatan polisakarida dinding sel dan pertumbuhan yang cepat. Respon auksin terutama pada bagian epidermis. Auksin mengaktifkan gen di epidermis dengan cara mengembangkan dinding epidermis kemudian sel epidermis memanjang lebih cepat, dan pemanjangan ini menyebabkan sel epidermis yang menempel padanya juga akan memanjang (Salisbury & Ross, 1995). NAA mempunyai berat molekul 186.21 dengan rumus molekul  $C_{12}H_{10}O_2$ .



Gambar 2.8. struktur kimia *Naphtalena Acetic Acid* (NAA) (Dippy, et al., 1954)

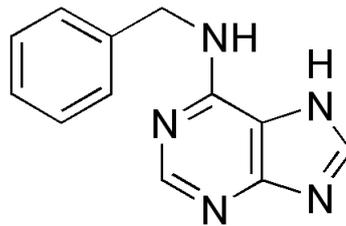
Menurut Widyawati (2010) penambahan NAA 0mg/L pada media MS memberikan waktu muncul kalus daun jarak pagar tercepat yaitu 3,9 hari setelah inisiasi. Sedangkan pada penambahan 2 mg/L NAA membentuk kalus daun jarak pagar cenderung kompak.

#### **2.4.2. BAP (6-Benzyl Amino Purin)**

Sitokinin merupakan ZPT yang penting dalam pengaturan pembelahan sel morfogenesis. Sitokinin di samping merangsang pembelahan sel, juga dapat menghambat pemanjangan sel oleh auksin (Buchory & karjadi, 2007). Kemudian menurut Marlin (2012) adanya penambahan sitokinin kedalam medium dapat menghambat pemanjangan dan perkembangan akar.

Sitokinin BAP berperan memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat mendorong terjadinya pembelahan sel. Selain itu BAP juga dapat memicu jaringan untuk menyerap air dari sekitarnya sehingga proses sintesis protein dan pembelahan sel dapat berjalan dengan baik. BAP merupakan suatu zat pengatur tumbuh sintetis yang tidak mudah dirombak oleh sintesis enzim dari tanaman sehingga dapat memacu induksi dan multiplikasi tunas (Kurnianingsih, 2009).

Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (6-Amino Purin). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan aktifitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya ikatan double akan meningkatkan aktifitas zat pengatur tumbuh.  $\text{NH}_2\text{N NH}$  Adenin(6-Amino purin). Sitokinin mempunyai rantai samping yang kaya akan karbon dan hidrogen, yang menempel pada nitrogen yang menonjol pada puncak cincin purin. BAP mempunyai rumus bangun  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_5$  dan titik lebur  $230\text{-}233^\circ\text{C}$  (Santoso & Nursandi, 2004)



Gambar 2.9. Struktur Kimia 6-Benzil Amino Purine (BAP) (Siddiqui, et al., 2011)

6-Benzyl Amino Purin (BAP) adalah golongan sitokinin sintetik yang paling sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Hal ini karena BAP mempunyai efektifitas cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah di dapat dan relatif lebih murah dibandingkan dengan kinetin (Kurnianingsih, 2009).

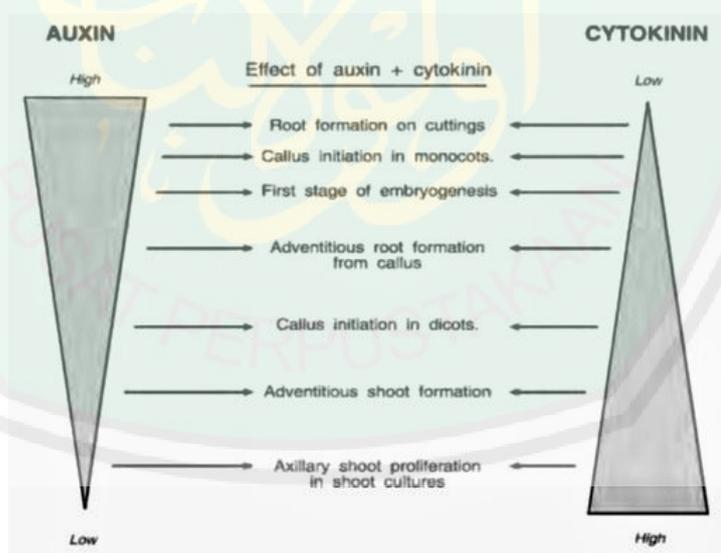
Menurut Ardiana *et al* (2009), kalus yang terbentuk dari kultur kotiledon melon didapatkan dengan penggunaan media MS yang ditambahkan 1 mg/L BAP. Kemudian menurut Indah dan Ermavitalini (2013) pemberian 0.5 mg/L 2,4-D dan 2 mg/L BAP pada media MS memberikan hasil terbaik pada hari munculnya kalus daun nyamplung yaitu 13 hari setelah inisiasi dan berat segar kalus 197,8 mg. Kemudian Sudarmaji (2003) melaporkan bahwa konsentrasi BAP menghasilkan kualitas kalus yang berbeda pada kapas. konsentrasi 2 mg/l BAP menghasilkan kualitas kalus kapas yaitu 3,49 kali eksplan.

### 2.5. Interaksi Auksin dan Sitokinin

Menurut Gunawan (1987) dua golongan zat pengatur tumbuh yang penting dalam kultur jaringan yaitu, auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur.

Auksin yang dikombinasikan dengan sitokinin mendorong pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ, juga mengatur morfogenesis. Pada tingkat seluler auksin mengontrol proses dasar yaitu pembelahan sel dan pemanjangan sel. Selama auksin dapat menginisiasi pembelahan sel berarti terlibat dalam pembentukan meristem yang selanjutnya berkembang menjadi jaringan yang belum terspesifikasi menjadi suatu organ (George, 2008).

Sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Peran auksin dan sitokinin nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel serta pembentukan organ. Pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk dan morfogenesis (Zulkarnain, 2014).



Gambar 2.10. Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan (George & Sherrington, 1984)

Tinggi rendahnya konsentrasi auksin dan sitokinin akan berpengaruh pada hasil kultur. Bila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin maka akan

terbentuk akar. Sedangkan bila konsentrasi auksin lebih rendah dari pada sitokinin maka akan terbentuk tunas aksilar. Namun bila konsentrasi auksin dan sitokinin seimbang maka akan terbentuk kalus (George & Sherrington, 1984).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Pernimbangan konsentrasi dan interaksi antar ZPT yang diberikan dalam media kultur dan yang diproduksi oleh sel akan menentukan arah perkembangan suatu kultur (Suyadi & Julianto, 2009). Pemberian sitokinin dan auksin dalam bentuk BAP dan NAA ke dalam media menyebabkan diferensiasi sel dan jaringan lebih terarah (Marlin, 2005).

Fikriati (2009) diperoleh hasil bahwa pemberian BA dan NAA dengan kombinasi konsentrasi 5mg/L BA dan 7,5 mg/L NAA diketahui memberikan hasil paling efektif terhadap induksi kalus dari eksplan daun kartika. Purnamaningsih (2011) melaporkan induksi kalus dari daun *Artemisia annua L.* optimal pada komposisi media MS yang ditambahkan 0.5mg/L NAA dan 0.5mg/L BAP. Menurut Hayati (2010), penambahan 0mg/L BAP dan 2 mg/L NAA pada media MS merupakan komposisi optimal untuk menginduksi kalus Alfalfa (*Medicago sativa L.*) dari eksplan hipokotil.

Sudrajad (2013) memperoleh hasil bahwa kombinasi NAA 3mg/l dan BAP 4mg/l efektif menghasilkan kalus pegagan (*Centella asiatica (L.) Urb.*). Puteri (2014) melaporkan bahwa pemberian konsentrasi yang paling optimal untuk menghasilkan kecepatan waktu induksi dan viabilitas kalus daun sirsak adalah penambahan NAA 3 mg/L dan BAP 1 mg/L. Zia *et al* (2007) melaporkan bahwa kombinasi antar 0,5 mg/L BAP dan 0,05-0,25 NAA memproduksi kalus tanaman

*Artemisia obsinthium* L. yang hijau, lembut dan friable dari eksplan daun dan batang.

## 2.6. Kultur Jaringan Ashitaba (*Angelica keiskei*)

Furuya (2004) melaporkan bahwa perbanyakannya in-vitro menggunakan tangkai daun memperoleh hasil kalus embrionik didapatkan dengan menggunakan media MS yang ditambahkan lebih dari 0,5 mg/L 2,4-D+ 0,01-0,1mg/L 6-BA, diinkubasi pada 25°C dengan panjang hari terang 16 jam.

Zhi-you (2010) melaporkan bahwa kombinasi optimum yang digunakan dalam induksi kalus daun ashitaba adalah 6-BA 2,0 mg/L+NAA 2,0-2,5 mg/L. Untuk induksi pertunasan di gunakan interaksi hormon 6-BA 2,0mg/L+N6. Sedangkan untuk induksi akar, hasil optimal ditunjukkan oleh kombinasi media N6+NAA 0,5mg/L+AC 3,0mg/L. Kemudian untuk menjaga agar kalus tidak cepat matur, pada media di tambahkan CH 50,0 mg/L.

Menurut Xiu-li (2012) melaporkan bahwa media terbaik untuk induksi tunas ashitaba dengan menggunakan media MS yang ditambahkan dengan 1,0 mg/L 6-BA+0,001 mg/L TDZ+ 0,1 mg/L NAA. Dan media untuk induksi akar dengan menggunakan ½ MS yang ditambahkan 1,0mg/L IBA.

Xiang *et al.* (2012) mengungkapkan, induksi kalus yang berasal dari tunas ashitaba memperoleh hasil optimal pada media MS yang ditambahkan 0,6 mg/L BAP+ 0,2mg/L NAA+ 0,02-0,2 mg/L GA3+ 20 g/L sukrosa dan 5.5g/L Agar. Diinkubasi dengan suhu 25°C, fotoperiode 16jam/hari.

Ping, *et al.* (2012) menggunakan daun *Angelica keiskei* sebagai eksplan untuk menginduksi kalus. Media yang digunakan adalah MS dengan mengandung 0,5-5mg/L zeatin dan 0,5-1 mg/L NAA. pH media diatur antara 5,6-6,0.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2017 di laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan dan Hewan, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini didesain menggunakan rancangan penelitian rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah NAA terdiri dari:

- 0 mg/L (N1)
- 0.2 mg/L (N2)
- 0.4 mg/L (N3)
- 0.6 mg/L (N4)
- 0.8 mg/L (N5)

Faktor kedua adalah BAP dengan terdiri dari:

- 0 mg/L (B1)
- 0.5 mg/L (B2)
- 1.0 mg/L (B3)
- 1.5 mg/L (B4)
- 2.0 mg/L (B5)

Kombinasi perlakuan akan disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1. kombinasi perlakuan NAA dan BAP

Perlakuan		NAA (mg/l)				
		0	0,2	0,4	0,6	0,8
BAP (mg/l)	0	N1B1	N2 B1	N3 B1	N4 B1	N5 B1
	0,5	N1B2	N2 B2	N3 B2	N4 B2	N5 B2
	1,0	N1B3	N2 B3	N3 B3	N4 B3	N5 B3
	1,5	N1B4	N2 B4	N3 B4	N4 B4	N5 B4
	2,0	N1B5	N2 B5	N3 B5	N4 B5	N5 B5

### 3.3. Alat dan Bahan

#### 3.3.1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, elenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, gelas ukur, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), *Laminar Air Flow* (LAF), neraca analitik, pipet, autoklaf, lampu bunsen, penyemprot alkohol, pH meter, lemari pendingin, rak kultur, *Air Conditioner* (AC), lampu fluorescence, oven, kertas label, plastik, karet, *hotplate stirer*, kertas tisu, aluminium foil, dan alat wrap plastik.

#### 3.3.2. Bahan-Bahan

Bahan-bahan utama yang digunakan sebagai eksplan adalah daun tanaman ashitaba muda berumur 10 hari. Bahan untuk sterilisasi adalah aquades, alkohol 75%, alkohol 96%, aquades steril, dan bayclin. Media dasar yang digunakan adalah media *Murashige & skoog* (MS). ZPT yang digunakan adalah NAA yang dikombinasikan dengan BAP. Bahan lain untuk pembuatan media adalah sukrosa dan agar.

### 3.4. Langkah Kerja

#### 3.4.1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara, sebagai berikut:

1. Alat-alat *disecting set*(*scalpel*, pinset, gunting), alat gelas dan botol kultur dicuci dengan detergen cair dan dibilas dengan air bersih.
2. Alat-alat *disecting set*, alat gelas, dan botol kultur dikeringkan dengan oven selama 3 jam dengan suhu 120°C.
3. Alat-alat *disecting set* dibungkus dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam plastik tahan panas. Sedangkan alat gelas ditutup dengan plastik tahan panas dan cawan petri dibungkus dengan kertas. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 3 jam.

#### 3.4.2. Pembuatan Media

##### 3.4.2.1. Media Stok Hormon

Larutan stok hormon dibuat dalam konsentrasi 100mg/l dalam 100 ml. Ditimbang masing-masing 10 mg(Lampiran 7.) hormon NAA dan hormon BAP. Kemudian dilarutkan masing-masing hormon dalam 100 ml aquades. Untuk membuat media dengankonsentrasi hormon yang diinginkan digunakan rumus pengenceran(Lampiran 7).

##### 3.4.2.2. Media Induksi Kalus

Media yang digunakan dalam penelitian ini dalam 1 liter media adalah:

1. Media MS ditimbang sebanyak 4.43 gram, gula 30 gram, dan agar 8 gram.
2. Media MS dan gula dimasukkan dalam gelas beker yang berisi aquades 1000ml kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* di atas hot plate.

3. Media dibagi kedalam 25 bagian dan ditambahkan ZPT untuk masing-masing perlakuan(lampiran 7) kemudian dihomogenkan.
4. Diukur pH media, jika pH <5,8 maka ditambahkan larutan NaOH 0.1 N dan jika >5.8 maka ditambahkan HCl 0,1 N.
5. Ditambahkan agar.
6. Media dipanaskan dan diaduk hingga mendidih.
7. Media dimasukkan kedalam botol kultur masing-masing 10 ml.
8. Botol kultur yang berisi media ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet.

#### **3.4.3. Sterilisasi Media**

Media dalam botol kultur, disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.

#### **3.4.4. Sterilisasi Ruang Tanam**

Langkah kerja dalam sterilisasi ruang tanam, sebagai berikut:

1. Lantai pada ruang tanam dipel dengan karbol yang dicampur dengan air.
2. Lantai dipel dengan karbol murni.
3. Meja LAF dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian disinari dengan UV selama 1 jam.
4. Saat akan digunakan lampu UV dimatikan, lampu neon dan kipas dinyalakan.

#### **3.4.5. Induksi Kalus**

##### **3.4.5.1. Inisiasi**

Eksplan daun ashitaba didapat dari tumbuhan ashitaba yang berada di greenhouse. Daun yang diambil berumur 10 hari sejak munculnya daun. Kemudian dialiri air selama  $\pm$  1 jam kemudian ditiriskan. Sambil menunggu disiapkan alat-alat yang akan digunakan untuk inisiasi, seperti jas lab, scalpel, cawan petri, botol

kosong, alkohol 75%, alkohol 96%, pinset, tisu, bunsen, korek, aquades steril, dan media yang digunakan. Alat atau bahan yang tidak mengandung H<sub>2</sub>O di masukkan ke dalam LAF, dan dinyalakan lampu UV LAF selama  $\pm$  1 jam. Setelah 1 jam lampu UV dimatikan dan dinyakan blower selama 15 menit dengan keadaan ruang inisiasi tertutup. Kemudian eksplan di masukkan ke dalam LAF. Eksplan di rendam dalam alkohol 75% selama 30 detik. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 menit. Lalu di rendam dengan bayclin 2% selama 15 menit. Setelah itu dibilas dengan aquades steril sebanyak 3x, masing-masing 5 menit. Lalu daun di potong dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup> dan dimasukkan ke dalam media yang telah disiapkan. Media yang telah ditanami eksplan dimasukkan ke dalam ruang inkubasi.

#### **3.4.5.2. Pemeliharaan kalus**

Botol-botol kultur yang telah berisi eksplan diletakkan dalam rak kultur dan disemprot dengan alkohol 70% setiap 3 hari sekali. Suhu ruang yang digunakan adalah  $21^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan lama pencahayaan 16 jam/hari dengan lampu *flouresence*.

#### **3.4.6. Pengamatan**

Pengamatan dilaksanakan pada hari ke-40 setelah inisiasi untuk diketahui pertumbuhan kalus. Parameter pengamatan sebagai berikut:

1. Hari Munculnya kalus, pengamatan hari munculnya kalus dilakukan setiap hari dengan melihat eksplan yang telah ditanam.
2. Warna dan tekstur kalus, pengamatan dilakukan pada hari ke-40.
3. Berat kalus, dilakukan secara destruktif pada hari ke-40 setelah inisiasi dengan cara menimbang berat kalus.

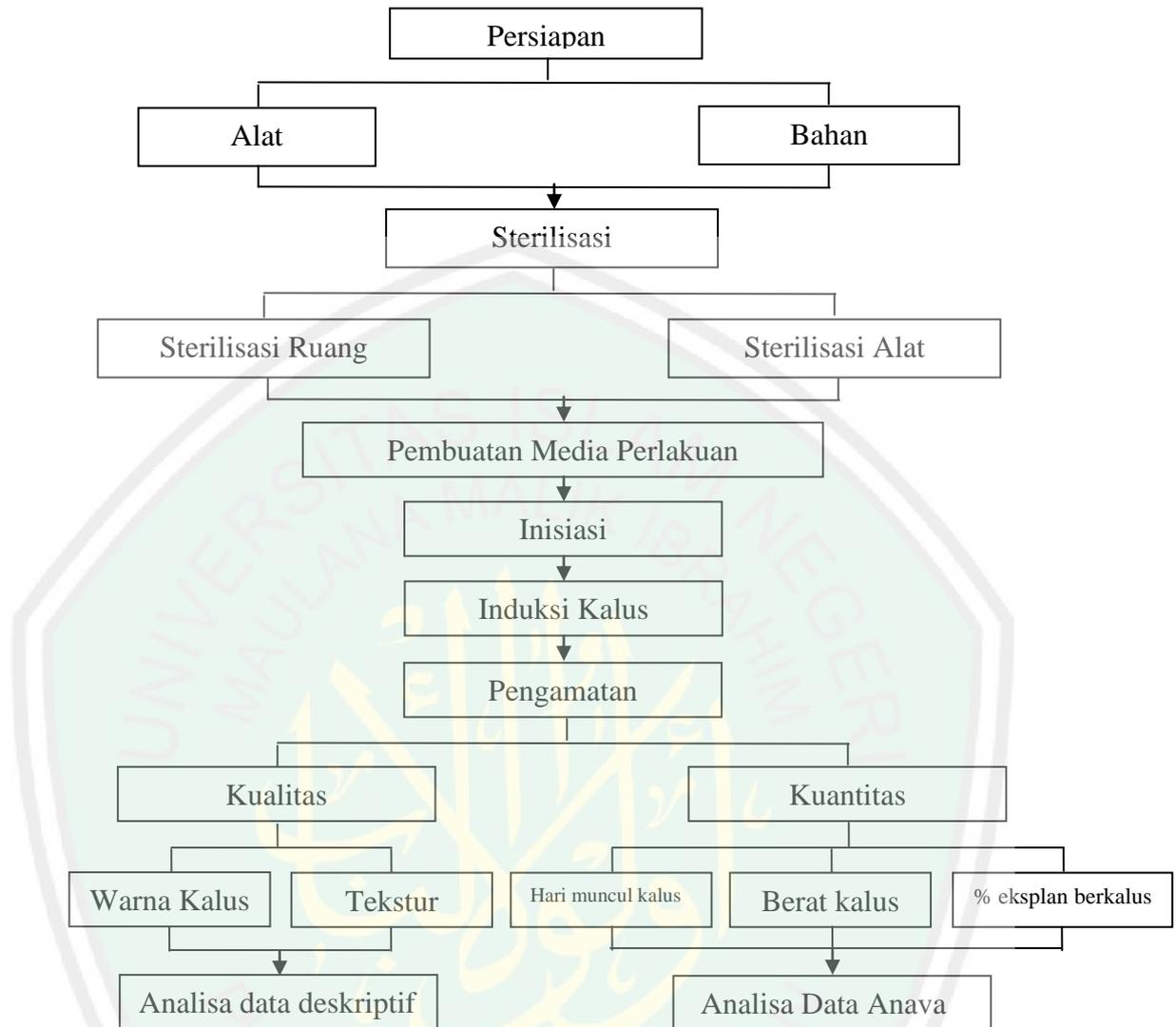
4. Prosentase eksplan berkalus, dilakukan pada hari ke 40 setelah inisiasi untuk mengetahui pertumbuhan pada setiap percobaan. Prosentase eksplan berkalus didapatkan dengan rumus:

$$\% \text{ eksplan Berkalus} = \frac{\text{luas eksplan berkalus}}{\text{luas eksplan}} \times 100\%$$

### 3.5. Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus, sedangkan data kuantitatif berupa berat kalus. Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan uji statistik ANOVA *Two Way*. Bila terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Sedangkan data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara deskriptif.

### 3.6. Desain Penelitian



Gambar 3.1. Desain penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pengaruh Konsentrasi NAA terhadap Pertumbuhan Kalus Daun *Ashitaba* (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa konsentrasi NAA berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus dan persentase eksplan berkalus (lampiran 1, 2, dan 3). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan hasil analisis variansi (ANOVA) pada sumber variasi NAA terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus dan persentase eksplan berkalus

Variabel	F Hitung	F tabel 5%
Hari muncul kalus	63,787*	2,5572
Berat basah kalus	92,483*	2,5572
Persentase eksplan berkalus	28,793*	2,5572

Keterangan: \*konsentrasi NAA berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

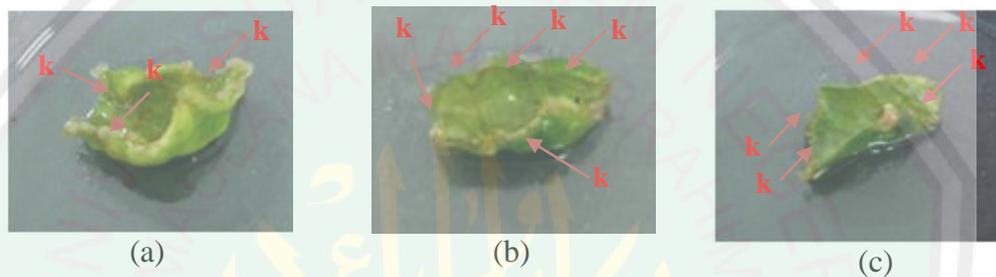
Berdasarkan hasil ANOVA (tabel 4.1) diketahui pada semua variable pertumbuhan kalus mempunyai F hitung lebih besar dari pada F tabel, artinya terdapat pengaruh nyata konsentrasi NAA terhadap variabel pengamatan pertumbuhan kalus. Selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%. Hasil uji lanjut disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Pengaruh pemberian hormon NAA terhadap pertumbuhan kalus daun *Ashitaba* (*Angelica keiskei*) (DMRT 5%).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HSI)	Berat Basah Kalus (mg)	Persentase Eksplan Berkalus (%)
0	11,8667d	14,9a	5,93333a
0,2	11,0667c	24,53b	10,1333b
0,4	10,1333b	34,04c	13,800c
0,6	9,2a	44,09d	18,3333d
0,8	10,2667b	35,99c	14c

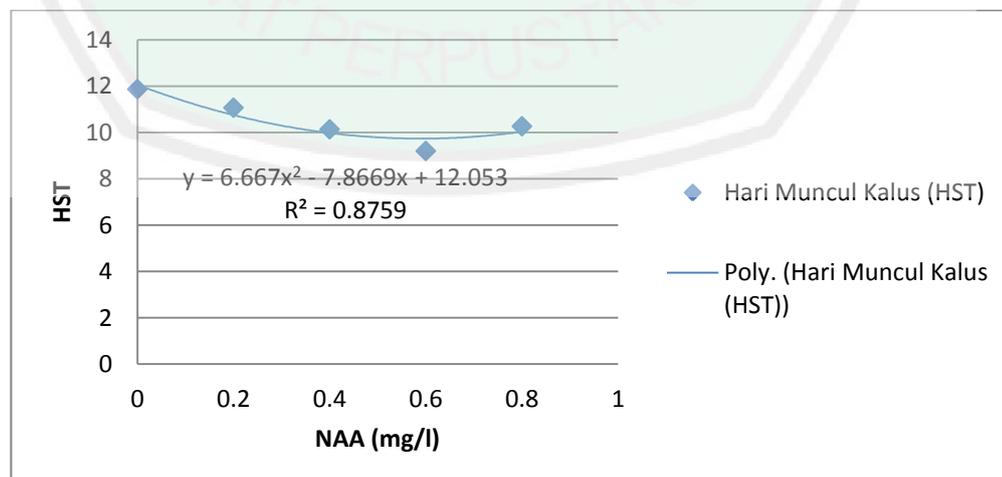
Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan pada uji lanjut DMRT 5%

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5% yang tersaji dalam tabel 4.2 di atas, menunjukkan bahwa hasil terbaik dari variabel hari muncul kalus adalah pada pemberian konsentrasi NAA 0,6mg/l, yaitu pada kisaran 9 hari setelah inisiasi (gambar 4.1.). Variabel berat basah kalus menunjukkan hasil terbaik pada pemberian konsentrasi NAA 0,6 mg/l, yaitu 44,09 mg(gambar 4.1.). Kemudian pada variabel persentase eksplan berkalus diperoleh hasil terbaik pemberian konsentrasi NAA sebanyak 0,6 mg/l yaitu 18,33% (gambar 4.1.).



Gambar 4.1. a. Kalus dengan hari muncul kalus 10 hari setelah inisiasi pada perlakuan 0,6 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP; b. Kalus dengan berat basah 54,07 mg pada perlakuan 0,6 mg/l dan 1 mg/l BAP; c. Kalus dengan persentase eksplan berkalus 18,67% pada pemberian konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan BAP 0,5 mg/l; k: Kalus (gambar koleksi pribadi)

Konsentrasi optimum pemberian NAA untuk pertumbuhan kalus ashitaba memperoleh dengan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi korelasi pada pemberian konsentrasi NAA disajikan pada gambar 4.2, 4.3 dan 4.4.



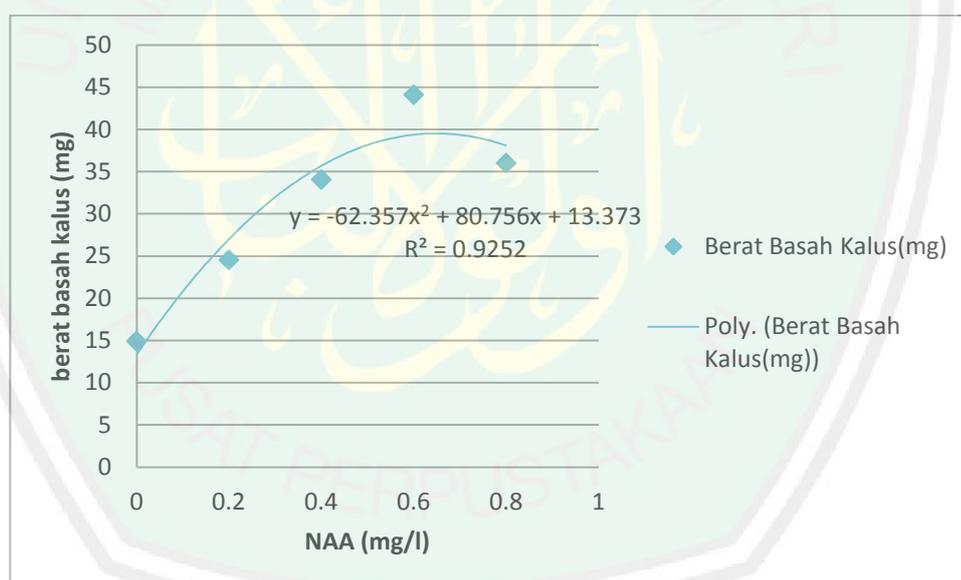
Gambar 4.2. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap hari muncul kalus.

Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap pertumbuhan kalus pada variabel pengamatan mengikuti pola kuadratik. Variabel hari muncul kalus membentuk garis kuadratik dengan persamaan  $y = 6,667x^2 - 7,8669x + 12,053$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,8759, yang mempunyai arti bahwa terdapat hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi hormon NAA dengan kecepatan hari muncul kalus sebesar 87,59%. Hasil analisis diferensial dengan persamaan  $y = 6,667x^2 - 7,8669x + 12,053$  bahwa perlakuan pemberian konsentrasi NAA terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,58 ; 9,73) artinya, bahwa pemberian konsentrasi NAA optimum pada 0,58 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus adalah 9,73 hari setelah inisiasi atau 10 hari setelah inisiasi.

Hasil penelitian Hardiyanto (2004) diperoleh konsentrasi NAA yang efektif pada variabel hari muncul kalus daun *Gynura procumbens* atau daun dewa adalah 1 mg/l pada media MS, dengan rata-rata hari muncul kalus 10,6 hari setelah inisiasi. Kemudian pada penelitian Purnamaningsih dan Ashrina (2011) memperoleh konsentrasi NAA optimum untuk menginduksi kalus daun dari biakan *Artemisia annua* steril dalam botol adalah 0,5 mg/l pada media MS dengan rata-rata hari induksi kalus 15 hari setelah inisiasi. Pada induksi kalus dari nodus muda *Jatropha curcas*, diperoleh konsentrasi NAA 0,5 mg/l dengan kecepatan induksi kalus 7,92 hari setelah inisiasi (Widyawati, 2010). Menurut laporan dari Hayati (2010), bahwa pemberian 1 mg/l NAA dapat menginduksi kalus hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada hari ke 5 setelah inisiasi. Nisa dan Rodinah (2005) melaporkan bahwa pemberian 0,8 mg/l NAA dapat menginduksi kalus jantung pisang pada 11 hari setelah inisiasi.

Perbedaan konsentrasi yang optimum pada berbagai spesies tumbuhan dikarekan kadar hormon endogen yang terkandung dalam masing-masing tanaman berbeda. Hal tersebut juga akan mempengaruhi kecepatan induksi kalus pada masing-masing tanaman. Berdasarkan hasil analisis diferensial di atas diketahui bahwa kecepatan induksi kalus optimum pada pemberian konsentrasi NAA 0,58 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus 10 hari setelah inisiasi. Sebagaimana menurut Indah dan Ermavitalini (2013) Kombinasi antara hormon endogen dan eksogen dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus. Pemberian hormon eksogen yang kurang tepat dapat menghambat pertumbuhan kalus.

Hasil regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus disajikan dalam gambar 4.3.



Gambar 4.3. hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus.

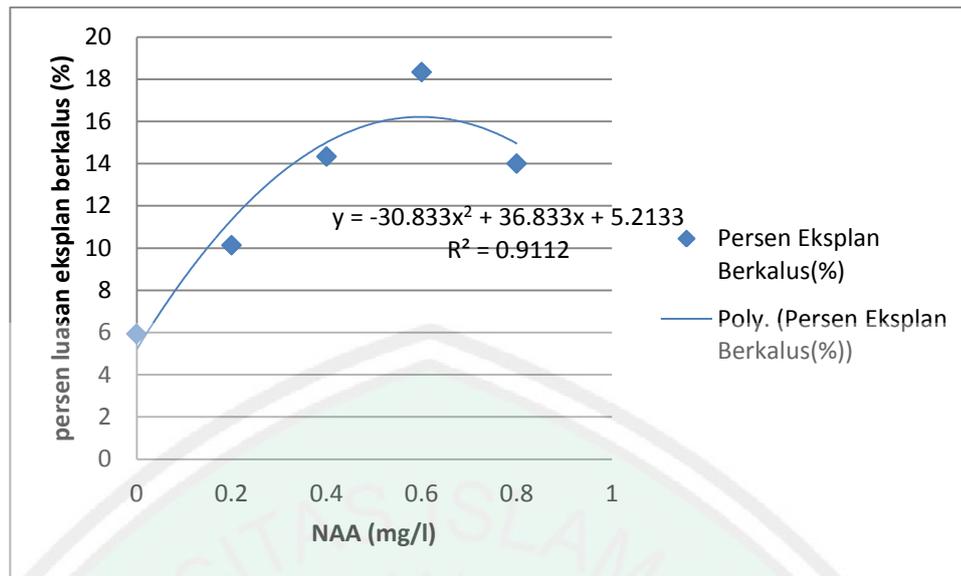
Hasil analisis regresi korelasi tentang pengaruh konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus mengikuti pola kuadratik dengan persamaan  $y = -62,357x^2 + 80,756x + 13,373$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,9252. koefisien determinasi tersebut menunjukkan hubungan antara pemberian hormon NAA

terhadap berat basah kalus, sebesar 92,52%. Hasil analisis diferensial persamaan  $y = -62,357x^2 + 80,756x + 13,373$ , menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus optimum pada titik (0,64 ; 39,51). Hal tersebut berarti bahwa pemberian konsentrasi NAA optimum pada 0,64 mg/l dengan berat basah rata-rata 39,51 mg.

Satu diantara banyak hal yang mempengaruhi berat kalus adalah jenis eksplan dan umur eksplan. Dalam penelitian ini eksplan yang digunakan adalah daun muda berumur 10 hari. Dimana pada usia yang masih muda terkandung banyak auksin di dalamnya. Sebagaimana menurut Campbell (2014) tempat utama sintesis auksin terdapat pada jaringan meristematik tunas apikal dan daun-daun muda. Pemberian zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi konsentrasi hormon yang ada di dalam sel. Pemberian hormon yang kurang tepat dapat menghambat pertumbuhan kalus. Sehingga perlu dilakukan optimasi dalam pemberian zat pengatur tumbuh.

Hasil penelitian Purnamaningsih dan Ashrina (2011) yang mendapatkan konsentrasi NAA yang optimum untuk variabel berat basah kalus adalah 0,5 mg/l pada media MS. Dengan eksplan daun muda tanaman daun dewa. Menurut penelitian Arroisi (2016), penambahan NAA 0,5 mg/l menghasilkan kalus daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* Merr.) dengan berat segar tertinggi, yaitu 0,4417 g.

Analisis regresi korelasi juga dilakukan terhadap pengaruh konsentrasi NAA terhadap persentase eksplan berkalus, yang disajikan dalam gambar 4.4.



Gambar 4.4. hasil analisis regresi korelasi pada pengaruh pemberian konsentrasi NAA terhadap persentase eksplan berkalus.

Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi NAA terhadap persentase eksplan berkalus mengikuti pola kuadratik  $y = -30,833x^2 + 36,833x + 5,2133$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,9112. Nilai koefisien determinasi menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi NAA terhadap persentase eksplan berkalus sebesar 91,12%. Hasil analisis diferensial persamaan  $y = -30,833x^2 + 36,833x + 5,2133$ , menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi NAA terhadap persentase eksplan berkalus optimum pada koordinat (0,59 ; 16,21), yang artinya bahwa pemberian konsentrasi hormon NAA optimum pada 0,59 mg/l dengan rata-rata persentase eksplan berkalus adalah 16,21%.

Nisa dan Rodinah (2005) melaporkan bahwa penambahan 0,4 mg/l NAA memberikan persentase hidup besar pada induksi kalus jantung pisang, yaitu 87,5%. Manorama dan Sindu (2013) melaporkan bahwa pemberian 0,4-0,5 mg/l NAA memberikan persentase hidup pada kalus daun *Piper longum* Linn. Sebesar 60%.

Media yang efektif digunakan untuk induksi kalus daun *Matthiola incana* adalah media MS yang ditambahkan 0,5 mg/l NAA dan 0,5 mg/l Kn (Kaviani, et al., 2013). Fadilah (2013) melaporkan bahwa pemberian 0,5 mg/l NAA efektif untuk memperoleh berat kering tertinggi dari kalus daun *Justicia genderussa* Burm.F. Pemberian NAA yang mana termasuk dalam kelas hormon auksin akan menambah konsentrasi auksin yang ada didalam sel. Sehingga pada taraf tertentu konsentrasi auksin dalam sel akan banyak dan menjadi jenuh. Keadaan hormon auksin yang terlalu banyak akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan kemunculan kalus, sebagaimana menurut Campbell (2014) auksin merangsang pertumbuhan hanya dalam konsentrasi tertentu, berkisar antara  $10^{-8}$  sampai  $10^{-4}$  M. Pada konsentrasi yang lebih tinggi auksin dapat menghambat pemanjangan sel, juga dapat menginduksi produksi hormon etilen, yaitu sejenis hormon yang umumnya menghambat pemanjangan sel.

#### 4.2. Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus dan persentase eksplan berkalus (lampiran 1, 2 dan 3). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Ringkasan hasil analisis variansi (ANOVA) pada sumber variasi BAP terhadap pertumbuhan kalus Ashitaba (*Angelica keiskei*)

Variabel	F Hitung	F tabel 5%
Hari muncul kalus	1054,18*	2,55718
Berat basah kalus	305,177*	2,55718
Persentase eksplan berkalus	78,0197*	2,55718

Keterangan: \*konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan tabel 4.3. diketahui bahwa F hitung variabel pertumbuhan kalus lebih besar dari pada F tabel maka terdapat pengaruh nyata BAP terhadap variabel pengamatan pertumbuhan kalus. Kemudian dilakukan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%. Hasil uji lanjut disajikan pada tabel 4.4.

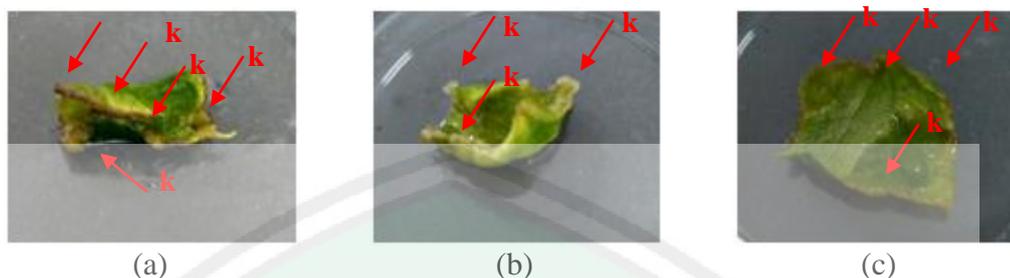
Tabel 4.4. Pengaruh pemberian konsentrasi hormon BAP terhadap pertumbuhan kalus daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) (DMRT 5%)

Konsentrasi BAP (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HSI)	Berat Basah Kalus(mg)	Persentase Eksplan Berkalus(%)
0	-	-	-
0,5	14,6a	21,53a	11,2a
1	13,4b	36,43b	16,2667b
1,5	11,6667c	51,43c	20,3333c
2	12.8667b	44.17d	14,9333ab

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan pada uji lanjut DMRT 5%; tanda - : eksplan tidak berkalus.

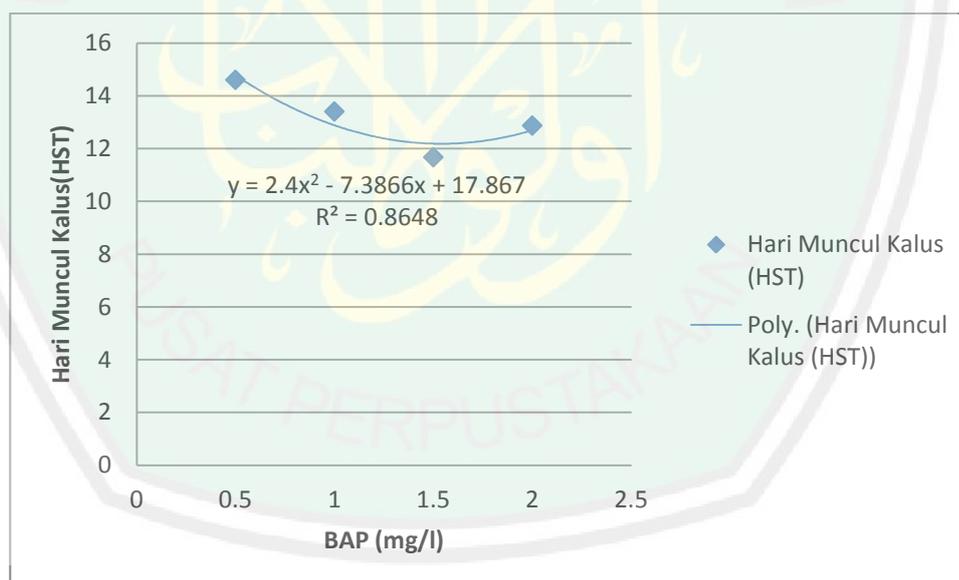
Berdasarkan hasil DMRT 5% yang tersaji dalam tabel 4.4, menunjukkan bahwa hasil terbaik dari variabel hari muncul kalus adalah pada pemberian konsentrasi BAP 1,5 mg/l, yaitu pada kisaran 11,67 hari setelah inisiasi (Gambar 4.5). Variabel berat basah kalus terus meningkat sampai kadar pada pemberian konsentrasi BAP 1,5 mg/l, yaitu 51,43 mg (gambar4.5). Variabel persentase eksplan berkalus diperoleh hasil terbaik pemberian BAP pada konsentrasi 1,5 mg/l yaitu 20,33% (gambar 4.5.). hasil yang didapatkan berbeda dengan penelitian xiang (2012) yang melaporkan bahwa pemberian 0,6 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA + 0,2 mg/l GA3 sudah mampu menginduksi kalus daun ashitaba secara optimal. Hal tersebut di karenakan penambahan hormone GA3. Menurut Campbell (2014) giberelin mengaktivasi enzim-enzim yang melonggarkan dinding sel, sehingga memfasilitasi masuknya protein-protein ekspansin. Ekspansin merupakan enzim

yang mematahkan ikatan hydrogen antara mikrofibril selulosa dan komponen lain penyusun dinding sel.



Gambar 4.5 a. Kalus pada hari muncul kalus sekitar 11 Hari setelah inisiasi pada perlakuan konsentrasi 0,4 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP; b. Kalus pada berat basah 72.2 mg pada perlakuan konsentrasi 0,6 mg/l NAA dan 1,5 BAP; c. Kalus pada persentase eksplan berkalus 21 % pada perlakuan 0,8 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP(koleksi pribadi).

Untuk mengetahui konsentrasi BAP dilakukan uji regresi korelasi. Hasil analisis regresi korelasi pengaruh pemberian BAP terhadap hari muncul kalus disajikan pada gambar 4.6.



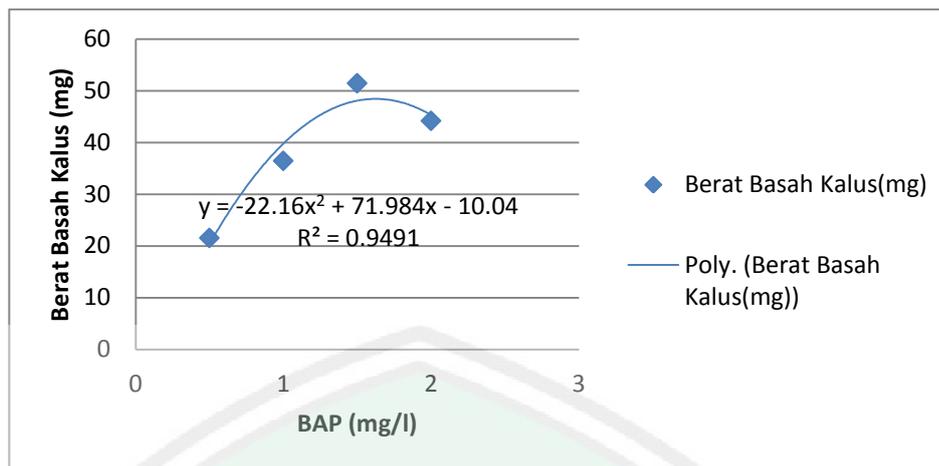
Gambar 4.6. Hasil analisis korelasi regresi pengaruh BAP terhadap hari muncul kalus.

Hasil analisis regresi korelasi pengaruh BAP hari muncul kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan  $y = 2,4x^2 - 7,3866x + 17,867$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,8648. koefisien determinasi menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP dengan

kecepatan hari muncul kalus sebesar 86,48%. Hasil analisis diferensial dengan persamaan  $y = 2,4x^2 - 7,3866x + 17,867$  bahwa perlakuan pemberian konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,5 ; 12,18). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang optimum adalah 1,5 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus adalah 12,18 hari setelah inisiasi atau 12 hari setelah inisiasi. Pada penelitian ini diketahui bahwa semakin meningkatnya sitokinin maka akan semakin cepat menginduksi kalus sampai pada konsentrasi optimum yaitu 1,5 mg/l. Apabila konsentrasi lebih tinggi dari konsentrasi optimum maka induksi kalus akan terhambat. Hal ini sesuai dengan pendapat Anggraeni (2009) kadar ZPT yang lebih tinggi dari titik optimum akan menyebabkan terhambatnya induksi dan pertumbuhan kalus.

Hasil Penelitian ini sesuai dengan Safitri (2017) yang melaporkan bahwa pemberian 1,5 mg/l BAP pada media MS dapat menginduksi kalus daun muda rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada 7 hari setelah inisiasi. Fadillah (2013) juga melaporkan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi 1,5 mg/l dapat menginduksi kalus daun *Justicia gendarusa*. Puteri (2014) Juga melaporkan bahwa penambahan BAP dengan konsentrasi 1 mg/l pada media MS dapat mempercepat induksi kalus daun *Annona muricata* L. Konsentrasi BAP tersebut dapat menginduksi kalus pada hari ke 7 setelah inisiasi. Indah dan Ermavitalini (2013) melaporkan bahwa penambahan BAP dengan konsentrasi 2 mg/l pada media wpm dapat menginduksi kalus daun muda *Calophyllum inophyllum* Linn. nyamplung tercepat yaitu 13 hari setelah inisiasi.

Analisis regresi korelasi juga dilakukan pada variabel berat basah kalus, hasil analisis akan disajikan pada gambar 4.7.



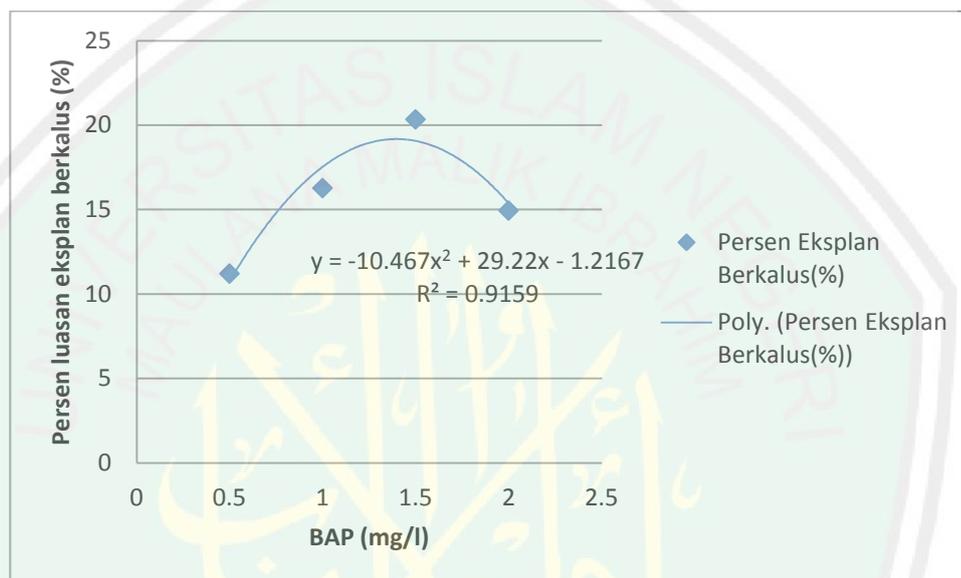
Gambar 4.7. hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap berat basah kalus.

Hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap berat basah kalus membentuk pola garis kuadratik dengan persamaan  $y = -22,16x^2 + 71,984x - 10,04$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,9491. Nilai koefisien diferensial menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian hormon BAP terhadap berat basah kalus, sebesar 94,91%. Hasil analisis diferensial persamaan  $y = -22,16x^2 + 71,984x - 10,04$ , menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi NAA terhadap berat basah kalus optimum pada titik (1,6 ; 48,40). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP optimum pada 1,6 mg/l dengan berat basah rata-rata 48,40 mg.

Hasil dari perhitungan optimasi tentang konsentrasi BAP di atas hampir sesuai dengan hasil penelitian Zuraidassanaaz (2016) yang menghasilkan konsentrasi BAP terbaik pada berat basah kalus daun *Piper betle* L. adalah 1,5 mg/l dengan nilai rata-rata berat basah kalus adalah 659,6 mg. Namun pada penelitian Racmah (2016) mengungkapkan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi 2,0 mg/l pada media MS, menghasilkan berat segar kalus daun sirih hitam (*Piper Betle* L.) tertinggi yaitu 850,7 mg. Namun berbeda dengan hasil penelitian Arroshi (2016), unuk mendapatkan berat segar kalus tertinggi (547 mg)

daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* Merr.) membutuhkan BAP dengan konsentrasi 1,0 mg/l. selaras dengan daun sambung nyawa, menurut Puteri (2014) untuk menginduksi kalus daun sirsak dibutuhkan konsentrasi BAP sebanyak 1 mg/l. dengan konsentrasi BAP 1 mg/l didapatkan kalus sebanyak 0,551 mg.

Analisis korelasi regresi juga dilakukan untuk variabel pesentase eksplan berkalus, hasil analisis akan disajikan pada gambar 4.8.



Gambar 4.8. hasil analisis regresi korelasi pengaruh konsentrasi BAP terhadap persentase eksplan berkalus.

Variabel ke tiga adalah persentase eksplan berkalus yang mempunyai persamaan garis kuadrat  $y = -10,467x^2 + 29,22x - 1,2167$  dengan determinasi ( $R^2$ ) = 0,9159, yang artinya terdapat hubungan antara pemberian konsentrasi BAP terhadap persentase eksplan berkalus sebesar 91,59%. Hasil analisis diferensial persamaan  $y = -10,467x^2 + 29,22x - 1,2167$ , menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP terhadap persentase eksplan berkalus optimum pada koordinat (1,4 ;19,17), yang artinya bahwa pemberian konsentrasi hormon BAP optimum pada 1,4 mg/l dengan rata-rata persentase eksplan berkalus adalah 19,17%.

Ardiana (2009) melaporkan bahwa pemberian 1 mg/l BAP pada media MS dapat memperoleh hasil kalus terbaik pada kultur kotiledon melon. Berbeda dengan hasil Indah dan Ermavitalini (2013) melaporkan bahwa pemberian 2 mg/l BAP pada media MS dapat menginduksi kalus terbaik pada kultur daun nyamplung. Selaras dengan hal tersebut Sudarmaji (2003) juga melaporkan bahwa pemberian 2 mg/l BAP dapat memberikan kualitas kalus terbaik pada kultur kalus kapas.

BAP merupakan hormon kelas sitokinin. Menurut Campbell (2014) sitokinin berfungsi untuk meregulasi pembelahan sel pada tunas dan akar. Sitokinin bekerja secara bersamaan dengan auksin untuk mempengaruhi pembelahan sel dan diferensiasi sel. Dalam kultur jaringan sitokinin tidak dapat berkerja sendiri. Rasio sitokinin dan auksin yang diberikan mengontrol diferensiasi sel. Pada rasio pemberian sitokinin dan auksin tertentu, massa sel akan terus tumbuh membentuk gugusan sel yang tidak terdiferensiasi, disebut kalus.

#### **4.3. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)**

Berdasarkan hasil analisis variansi (ANAVA) pada interaksi antara hormon NAA dan BAP, terdapat pengaruh nyata terhadap variabel pertumbuhan kalus daun ashitaba (lampiran 1, 2, dan 3). Ringkasan hasil analisis variansi (ANAVA) tersaji dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan hasil analisis variasi (ANOVA) pada interaksi antara hormon NAA dan BAP terhadap pertumbuhan kalus daun Ashitaba(*Angelica keiskei*)

Variabel	F Hitung	F tabel 5%
Hari muncul kalus	1,96382*	1,85031
Berat basah kalus	6,42615*	1,85031
Persentase eksplan berkalus	1,9283*	1,85031

Keterangan: \*interaksi hormon NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan tabel 4.5. diketahui bahwa semua variabel pertumbuhan kalus mempunyai  $F_{hitung} > F_{tabel}$ . Hal tersebut mempunyai arti bahwa interaksi konsentrasi antara NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pertumbuhan kalus. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan menggunakan DMRT 5% yang tersaji dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6. Pengaruh interaksi konsentrasi hormon NAA dan Konsentrasi Hormon BAP terhadap pertumbuhan kalus daun *Ashitaba (Angelica keiskei Koidzumi)* (DMRT 5%)

Perlakuan	Hari muncul kalus (HSI)	Berat basah kalus (mg)	Persentase eksplan berkalus (%)
0 mg/l NAA+ 0 mg/l BAP	-	-	-
0,2 mg/l NAA+ 0 mg/l BAP	-	-	-
0,4 mg/l NAA+ 0 mg/l BAP	-	-	-
0,6 mg/l NAA+ 0 mg/l BAP	-	-	-
0,8 mg/l NAA+ 0 mg/l BAP	-	-	-
0 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP	16,33j	3,63a	3,33ab
0,2 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP	15,33ij	13,46b	8bcd
0,4 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP	14fghi	25,13c	13,66def
0,6 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP	13defg	36,66d	18,66fgh
0,8 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP	14,33ghi	28,76c	12,33cdef
0 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP	15hi	16,43b	7bc
0,2 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP	14fghi	28,6c	13,33def
0,4 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP	13defg	41,06de	18efgh
0,6 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP	12bcd	54,07fg	23hi
0,8 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP	13defg	41,97de	20gh
0 mg/l NAA+ 1,5 mg/l BAP	13,33defg	27,43c	12,66cdef
0,2 mg/l NAA+ 1,5 mg/l BAP	12,33bcde	42,2de	17,33efgh
0,4 mg/l NAA+ 1,5 mg/l BAP	11,33bc	56,87g	22,66hi
0,6 mg/l NAA+ 1,5 mg/l BAP	10a	72,2h	28i
0,8 mg/l NAA+ 1,5 mg/l BAP	11,33bc	58,43g	21h
0 mg/l NAA+ 2 mg/l BAP	14,67ghi	27c	6,66bc
0,2 mg/l NAA+ 2 mg/l BAP	13,67efgh	38,4d	12cde
0,4 mg/l NAA+ 2 mg/l BAP	12,33bcde	47,13e	17,33efgh
0,6 mg/l NAA+ 2 mg/l BAP	11bc	57,53g	22hi
0,8 mg/l NAA+ 2 mg/l BAP	12,67def	50,8fg	16,66efgh

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan pada uji lanjut DMRT 5%. tanda - : eksplan tidak berkalus.

Berdasarkan hasil uji lanjut yang dilakukan pada interaksi konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap variabel pertumbuhan kalus, diperoleh hasil yang tersaji di tabel 4.9. Pada kontrol eksplan tidak berkalus(gambar 4.9). Dikarenakan eksplan yang digunakan adalah daun muda berumur 10 hari. Daun tersebut masih bersifat meristematik sehingga hormon belum seimbang dan belum mampu menghasilkan kalus dengan sendirinya. Pemberian konsentrasi NAA tanpa BAP juga tidak menghasilkan kalus(gambar 4.9). Hal ini terjadi karena konsentrasi

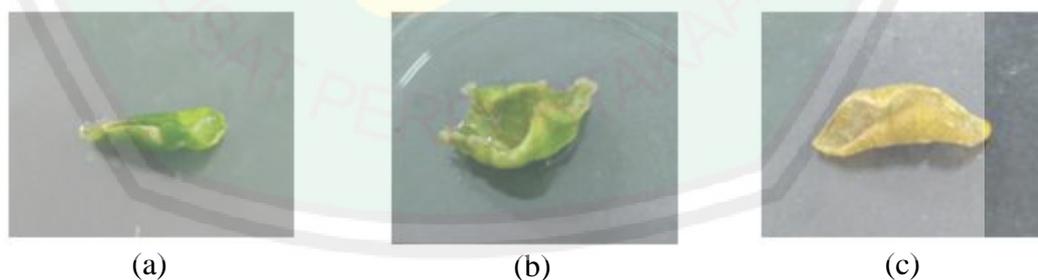
hormon auksin endogen pada daun tinggi. Sebagaimana menurut Campbell (2014) auksin di produksi di jaringan meristematik tunas apikal, daun-daun muda. Sehingga kandungan auksin endogen pada jaringan tersebut tinggi. Kemudian menurut Zulkarnain (2014) pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Sitokinin dapat meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk dan morfogenesis.

Variabel hari muncul kalus tercepat pada perlakuan kombinasi antara konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan BAP 1,5 mg/l, dengan rata-rata hari muncul kalus pada hari ke-10 setelah inisiasi (gambar 4.9). Namun hasil tersebut tidak berbeda dengan pemberian konsentrasi 0,6 mg/l NAA dan 2 mg/l BAP yang dapat menginduksi kalus daun *Ashitaba* pada hari ke-11 hari setelah inisiasi. Menurut Febrinto (2010) melaporkan bahwa pemberian auksin lebih tinggi dari sitokinin (0 mg/l NAA dan 1 mg/l BAP) menunjukkan hasil terbaik pada pertumbuhan kalus rumput laut. Kemudian purnamaningsih (2011) juga melaporkan bahwa pemberian 0,5 mg/l NAA dan 0,5 mg/l BAP dapat menginduksi kalus daun *Artemisia annua* L pada hari ke 15 setelah inisiasi. Safitri (2017) juga melaporkan bahwa dengan pemberian 3 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP dapat menginduksi kalus daun *Rosella* pada hari ke -6 setelah inisiasi. Sebagaimana menurut Wattimena (1988) bahwa penentuan taraf kombunasi antara auksin dan sitokinin disesuaikan dengan tipe eksplan, metode kultur jaringan dan tingkat kultur jaringan.

Berat basah kalus tertinggi dihasilkan dengan interaksi konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan BAP 1,5 mg/l, dengan berat 72,2 mg (Gambar 4.9). Hasil berat basah tersebut berbeda dengan hasil berat basah pada semua perlakuan. Admojo (2014)

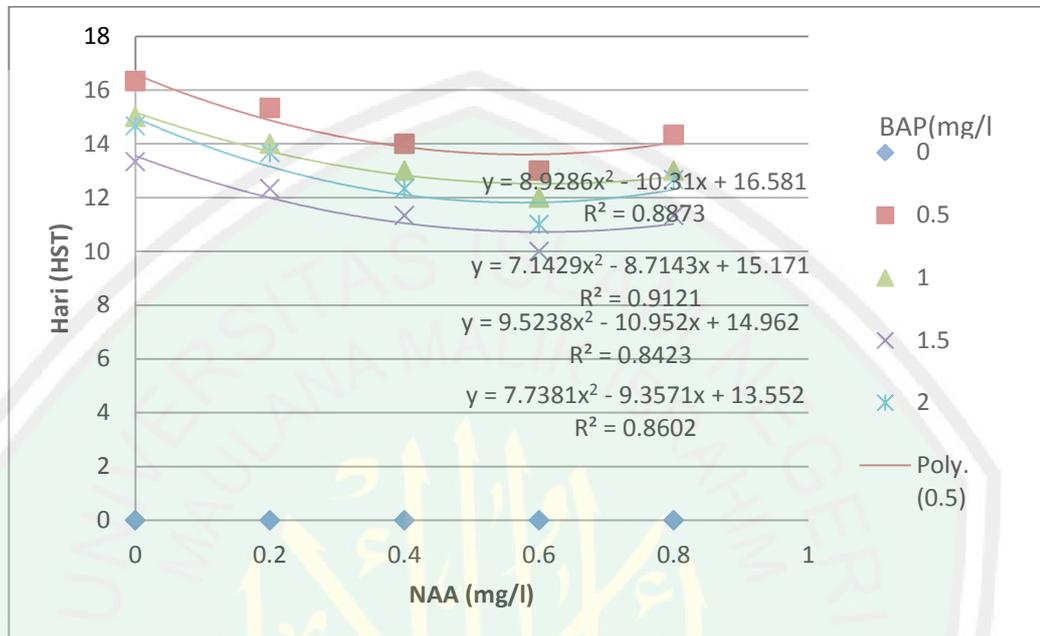
melaporkan bahwa pemberian NAA 0,1 mg/l dan BAP 2 mg/l pada media MS dapat menginduksi kalus daun karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) terbaik. Namun berbeda dengan hasil penelitian Hayati (2010) yang mendapatkan berat basah terbaik (136,8 mg) kalus daun alfalfa dengan konsentrasi NAA 2 mg/l dan BAP 0 mg/l. Jadi konsentrasi NAA atau BAP berbeda pada tiap-tiap tumbuhan, hal tersebut terjadi karena adanya perbedaan kadar hormon endogen pada tiap tumbuhan.

Kemudian pada persentase eksplan berkalus tertinggi pada perlakuan interaksi konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan BAP 1,5 mg/l, yaitu 28% (gambar 4.9). Namun tidak berbeda dengan hasil persentase eksplan berkalus pada pemberian konsentrasi 0,6 mg/l NAA dan 1 mg/l BAP; dan tidak berbeda dengan hasil persentase eksplan berkalus pada pemberian konsentrasi 0,4 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP. Juga tidak berbeda dengan hasil persentase eksplan pada pemberian 0,6 mg/l NAA dan 2 mg/l BAP. Safitri (2017) melaporkan bahwa dengan media MS yang ditambahkan 4 mg/l NAA dan 1,5 mg/l BAP dapat memperoleh persen eksplan berkalus 100% dengan menggunakan eksplan daun Rosella.



Gambar. 4.9 a. Eksplan tidak berkalus pada perlakuan kontrol(NAA 0 mg/l dan BAP 0 mg/l) pada usia 40 hari setelah inisiasi; b. Hasil terbaik induksi kalus daun *Ashitaba* dengan komposisi media 0.6 mg/l NAA dan 1.5 mg/l BAP dengan kecepatan induksi kalus 10 hari setelah tanam, berat basah kalus 72.2 mg dan persentase eksplan berkalus 28%. c. Kondisi eksplan *browning* pada perlakuan 0.2 mg/l NAA dan 0 mg/l BAP pada usia 40 hari setelah inisiasi.

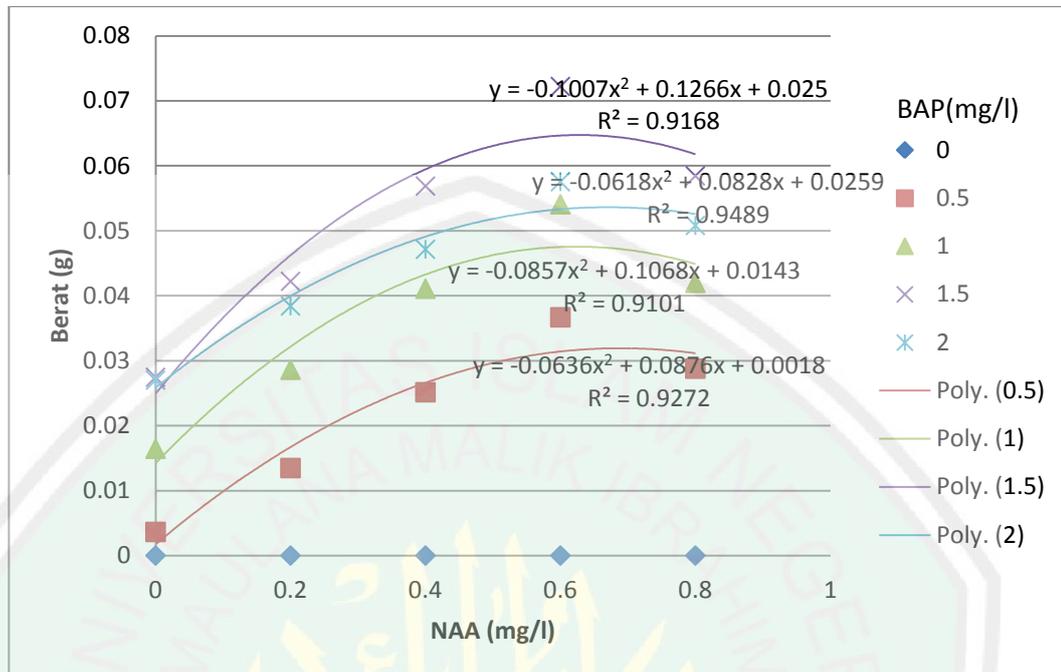
Untuk mengetahui konsentrasi kombinasi optimum maka dilakukan analisis regresi korelasi pada masing-masing variabel pertumbuhan kalus. Hasil analisis regresi korelasi akan tersaji dalam gambar 4.10; 4.11; dan 4.12.



Gambar 4.10. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus.

Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus, diketahui bahwa hari muncul kalus tercepat pada konsentrasi BAP 1,5 mg/l. Dengan garis persamaan  $y = 7,7381x^2 - 9,3571x + 13,55$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,8602$ . koefisien determinasi tersebut menunjukkan hubungan antara interaksi pemberian konsentrasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus sebesar 86,02%. Hasil analisis deferensial dengan persamaan  $y = 7,7381x^2 - 9,3571x + 13,552$  bahwa interaksi antara konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus optimum pada koordinat (0,6 ; 10,7). Artinya bahwa pemberian NAA optimum pada konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan konsentrasi BAP 1,5 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus adalah 10,7 hari setelah inisiasi.

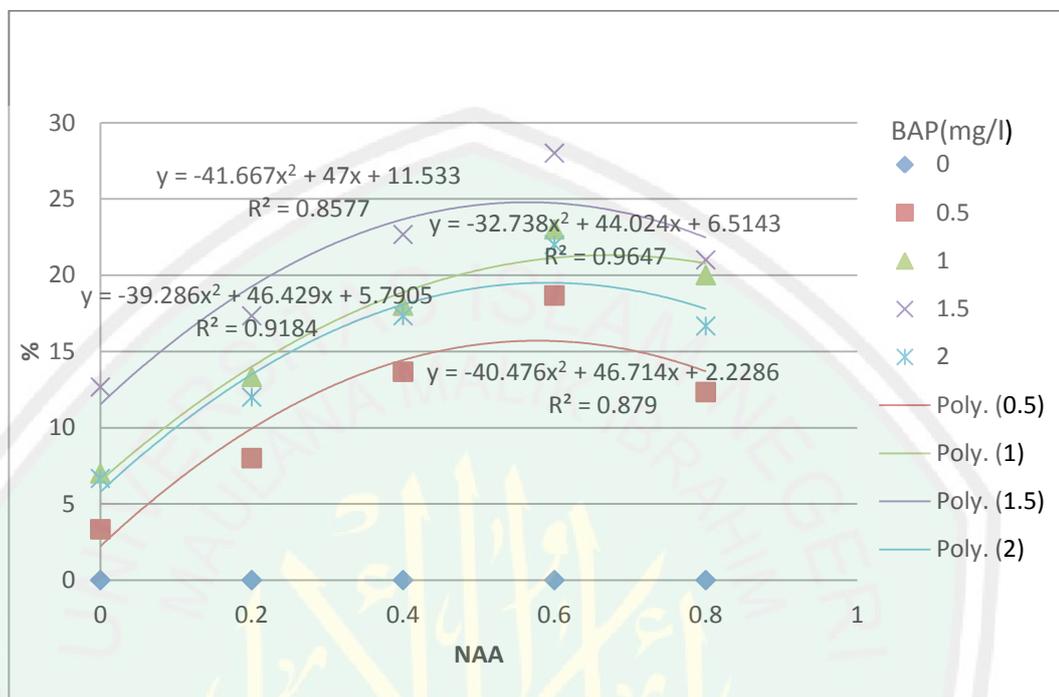
Analisis regresi korelasi juga dilakukan pada interaksi NAA dan BAP terhadap berat basah kalus Ashitaba. Hasil analisis disajikan dalam gambar 4.11.



Gambar 4.11. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus.

Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap berat basah kalus, diketahui bahwa berat basah kalus optimal pada konsentrasi BAP 1,5 mg/l. Dengan garis persamaan  $y = -0,1007x^2 + 0,1266x + 0,025$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,9168$ . koefisien determinasi tersebut menunjukkan hubungan antara interaksi pemberian konsentrasi NAA dan BAP terhadap berat basah kalus sebesar 91,68%. Hasil analisis diferensial dengan persamaan  $y = -0,1007x^2 + 0,1266x + 0,025$  bahwa interaksi antara konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus optimum pada koordinat (0,6 ; 0,0647). Artinya bahwa pemberian NAA optimum pada konsentrasi NAA 0,6 mg/l dan konsentrasi BAP 1,5 mg/l dengan rata-rata berat basah kalus sebesar 64,7 mg.

Analisis regresi korelasi juga dilakukan pada interaksi antara NAA dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus. Hasil analisis regresi korelasi disajikan pada gambar 4.12



Gambar 4.12. Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus.

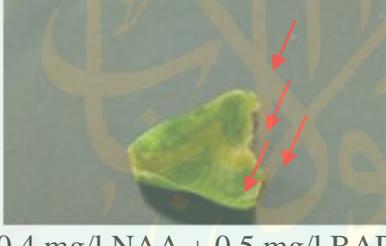
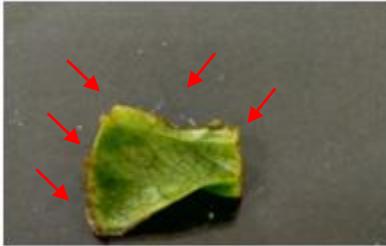
Hasil analisis regresi korelasi pada interaksi antara konsentrasi NAA dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus, diketahui bahwa persentase ekplan optimal pada konsentrasi BAP 1,5 mg/l. Dengan garis persamaan  $y = -41,667x^2 + 47x + 11,533$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,8577$ . koefisien determinasi tersebut menunjukkan hubungan antara interaksi pemberian konsentrasi NAA dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus sebesar 85,77%. Hasil analisis deferensial dengan persamaan  $y = -41,667x^2 + 47x + 11,533$  bahwa interaksi antara konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus optimum pada koordinat (0,56 ; 24,78). Artinya bahwa pemberian NAA optimum pada konsentrasi NAA 0,556 mg/l dan konsentrasi BAP 1,5 mg/l dengan rata-rata persentase ekplan berkalus sebesar 24,78%.

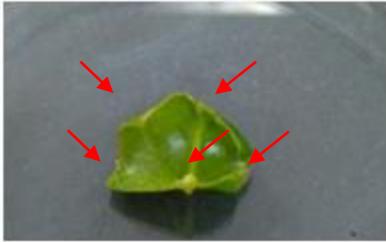
#### 4.4. Pengaruh Pemberian Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Warna dan Tekstur Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

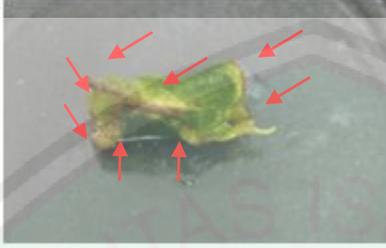
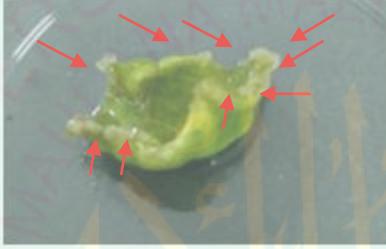
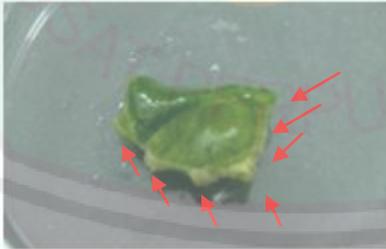
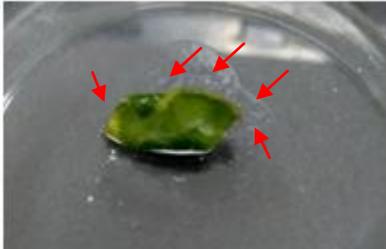
Hasil Pengamatan variabel kialitatif pada hari ke 40 setelah inisiasi, yaitu variabel warna dan tekstur di sajikan dalam tabel 4.7.

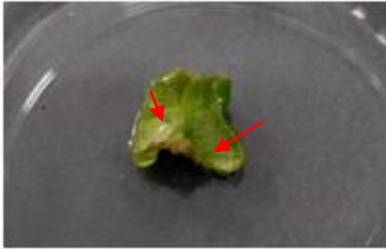
Tabel 4.7. Hasil Pengamatan Warna dan Tekstur Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) pada hari ke 40 setelah inisiasi

No	Gambar	Warna	Tekstur
1.	 <p>0 mg/l NAA + 0mg/l BAP</p>	-	-
2.	 <p>0.2 mg/l NAA + 0 mg/l BAP</p>	-	-
3.	 <p>0.4 mg/l NAA + 0 mg/l BAP</p>	-	-
4.	 <p>0.6 mg/l NAA + 0 mg/l BAP</p>	-	-

5.	 0.8 mg/l NAA + 0 mg/l BAP	-	-
6.	 0 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP	Putih Kecoklatan	Kompak
7.	 0.2 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP	Kuning Kehijauan	Kompak
8.	 0.4 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP	Kuning Kecoklatan	Kompak
9.	 0.6 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP	Kuning Kecoklatan	Kompak
10.	 0.8 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP	Kuning Kecoklatan	Kompak

11.	 <p>0 mg/l NAA + 1 mg/l BAP</p>	Putih Kehijauan	Kompak
12.	 <p>0.2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP</p>	Hijau Kecoklatan	Kompak
13.	 <p>0.4 mg/l NAA + 1 mg/l BAP</p>	Hijau Kecoklatan	Kompak
14.	 <p>0.6 mg/l NAA + 1 mg/l BAP</p>	Coklat	Kompak
15.	 <p>0.8 mg/l NAA + 1 mg/l BAP</p>	Kuning Kehijauan	Kompak
16.	 <p>0 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP</p>	Kuning Kecoklatan	Kompak

17.	 <p>0.2 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP</p>	Kuning Kecoklatan	Kompak
18.	 <p>0.4 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP</p>	Coklat	Kompak
19.	 <p>0.6 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP</p>	Putih kehijauan	Kompak
20.	 <p>0.8 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP</p>	Kuning Kecoklat	Kompak
21.	 <p>0 mg/l NAA + 2 mg/l BAP</p>	Putih Kecoklatan	Kompak
22.	 <p>0.2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP</p>	Hijau Kecoklatan	Kompak

23.		Hijau Kecoklatan	Kompak
24.		Kuning Kecoklatan	Kompak
25.		Hijau Kekuningan	Kompak

Keterangan: tanda panah merah menunjukkan kalus.

Hasil pengamatan warna kalus (tabel 4.7.) pada perlakuan kontrol (0 mg/l NAA dan 0 mg/l BAP) tidak membentuk kalus, namun warna eksplan tetap hijau segar. Serupa dengan perlakuan kontrol BAP (0,2 mg/l, 0,4 mg/l, 0,6 mg/l dan 0,8 mg/l NAA) juga tidak membentuk kalus. Namun pada perlakuan kontrol BAP warna eksplan menjadi kuning pada hari ke 21 setelah inisiasi(minggu ke-3) dan menjadi coklat saat memasuki hari ke 30 setelah inisiasi(minggu ke-5). Hal ini dikarenakan sitokinin endogen tidak mampu menghambat penuaan pada daun. Sebagaimana menurut Azizah (2017) kalus yang berwarna kecoklatan atau kehitaman merupakan kalus non-embriogenik yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi. Pencoklatan pada kalus merupakan gejala kemunduran fisiologis eksplan, juga menandakan terjadinya sintesis fenol.

Perlakuan lainnya diketahui bahwa kalus yang tumbuh mempunyai warna bermacam-macam pada pengamatan hari ke-40. Dari mulai putih kehijauan hingga coklat. Perbedaan warna kalus disebabkan oleh fase pertumbuhan sel yang berbeda-beda tiap perlakuan. Kalus yang pertama muncul berwarna putih kemudian kehijauan dan menjadi coklat seiring dengan berjalannya waktu. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyawati (2010) bahwa perbedaan warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan dari kalus. Kalus pertama kalu muncul dengan warna cerah putih, kekuningan atau kehijauan, selanjutnya warna kalus akan berubah semakin gelap dan akhirnya menjadi coklat. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh mendewasanya umur sel atau jaringan kalus.

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 4.7. terhadap tekstur kalus didapatkan bahwa kalus daun ashitaba bertekstur kompak kecuali pada kontrol yang tidak terbentuk kalus dan pada perlakuan tanpa BAP. Sebagaimana menurut Krestianai dan Rukmini (2013) kalus bertekstur kompak adalah kalus yang mempunyai ikatan sel yang rapat dan tidak mudah dipisahkan, serta terasa keras bila ditekan. Kalus kompak mempunyai susunan sel yang padat dan sulit dipisahkan. Pada kalus kompak sel bervakuola besar yang memungkinkan kalus dapat menyimpan kandungan air lebih tinggi dan biasanya mempunyai berat basah yang tinggi pula. Pada sel dalam kalus kompak mempunyai dinding polisakarida yang lebih tebal (Widyawati, 2010).

Menurut Santosa dan Nursandi (2002) kalus kompak terbentuk akibat penurunan aktifitas poliferasi yang dipengaruhi oleh auksin yang terdapat dalam eksplan. Penambahan NAA pada media memicu sel pada eksplan untuk aktif melakukan pembelahan, memperbesar ukuran sel, meningkatkan tekanan osmotik

dan meningkatkan sintesis protein. Sebagaimana menurut Wattimena (1988) penambahan auksin akan merubah tekanan osmotik sel yang kemudian mempengaruhi proses biokimia dalam sel. Proses tersebut meningkatkan sintesis protein yang akan mengaktifkan enzim-enzim metabolisme primer dan sekunder yang ada didalam sel guna mensintesis senyawa pertumbuhan yang penting. Salah satunya adalah enzim yang berperan dalam sintesis komponen dinding sel. Enzim tersebut akan diubah oleh NAA dan disusun kembali dalam matriks dinding sel yang utuh sehingga akan mempengaruhi berat sel. Kemudian menurut Panjaitan (2003) sitokinin berperan mendorong terjadinya sintesis material dinding sel.

Kalus yang diinduksi dari jaringan meristematik dengan penambahan sitokinin memiliki tekstur yang lebih kompak daripada kalus yang dihasilkan tanpa sitokinin. Kalus bertekstur kompak dipengaruhi pemberian auksin dan sitokinin yang mengatur potensial air dalam sel (Dwi, 2012). Pada penelitian ini didapatkan kalus yang kompak pada perlakuan yang diberi auksin berupa NAA dan sitokinin berupa BAP. Sedangkan pada kontrol tidak terbentuk kalus, begitu juga dengan perlakuan auksin tunggal atau tanpa BAP.

#### **4.5. Hasil Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) dalam Prespektif Islam**

Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan dan rumput-rumputan sebagai karunia yang diberikan Allah untuk memakmurkan manusia. Padang pasir, hutan, gunung-gunung, obat-obatan, sungai dan mata air, tanaman dan sayuran diciptakan oleh Allah SWT untuk kemakmuran manusia dan binatang ternaknya. Sebagaimana firman Allah dalam Quran surat asy-syuaraa/26:7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “*dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*”(QS. Asy-Syuaraa/26:7).

Shihab (2010) berpendapat bahwa Allah SWT telah menyediakan tumbuhan untuk dimanfaatkan manusia, baik sebagai obat bahan bangunan dan sebagainya. Allah menciptakan segala sesuatu dengan proses dalam pembentukannya yaitu perkembangan dan pertumbuhan. Tumbuhan juga membutuhkan perkembangan dan pertumbuhan, untuk mendukung hal tersebut tumbuhan memerlukan media tanam. Media tanam yang diperlukan harus mengandung unsur hara sehingga tumbuhan dapat tumbuh dengan optimal. Sebagaimana firman Allah dalam quran surat al-a'raf/7:58.

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: “*Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur.*” (QS. Al A'raaf: 58).

Ayat diatas menunjukkan bahwa media tanam yang baik akan menghasilkan tumbuhan yang baik pula dengan perkembangan yang optimum. Media tanam yang baik mengandung unsur hara makro dan mikro yang memenuhi kebutuhan tumbuhan di alam. Sebagaimana menurut Campbell (2014) tanah yang mengandung banyak nutrisi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Tanaman dalam menyelesaikan siklus hidupnya membutuhkan unsur esensial. Unsur esensial yang dibutuhkan oleh tumbuhan adalah mikro nutrien(diantaranya adalah karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, sulfur, dan fosfor)

dan makronutrien(diantaranya adalah klorin, besi, mangan, boron, seng, tembaga, nikel, dan molibdenum).

Penelitian ini berupa induksi kalus daun ashitaba dengan metode kultur in-vitro. Kultur invitro adalah isolasi bagian tanaman yang dikulturkan pada media tanam buatan berupa agar yang diformulasikan sehingga mengandung unsur-unsur esensial yang di butuhkan tanaman, seperti pada alam. Dengan seijin Allah daun ashitaba dapat tumbuh dalam media buatan tersebut. Induksi kalus juga dilakukan dengan media tersebut, dengan melakukan modifikasi pada media tanam yang berupa agar. Media tersebut ditambahkan zat pengatur tumbuh berupa NAA(auksin) dan BAP(sitokinin). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar zat pengatur tumbuh yang optimum dalam menginduksi kalus daun ashitaba. Sebagaimana Allah menciptakan segala sesuatu dengan aturan yang pasti dan dengan ukuran yang tertentu (Q.S. Al-Qomar/54: 49).

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*”  
(QS. Al-Qomar: 49)

Muyasar (2007) menafsirkan ayat diatas bahwa Allah menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannya sesuai dengan ketetapan, ilmu pengetahuan dan suratan takdir-Nya. Jadi semua yang terjadi di alam sesuai dengan ketentuan Allah. Seperti halnya dalam penelitian ini yang di ketahui konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimum untuk NAA dan BAP. Penelitian ini menghasilkan bahwa konsentrasi optimum untuk perlakuan hari muncul kalus adalah 0,58 mg/l NAA dan 1.5 mg/l BAP, kemudian pada variabel Berat basah kalus optimum pada 0.64 mg.l NAA dan 1.6 mg/l BAP, variabel persentase eksplan berkalus optimum pada

kosentrasi 0.59 mg/l NAA dan 1.4 mg/l BAP. Lebih lanjut hasil penelitian ini tidak hanya sebagai penambah hasanah ilmu pengetahuan namun juga sebagai sarana untuk menambah keimanan dan ketakwaan kepada Allah SWT. Dimana segala sesuatu di dunia ini berjalan sesuai dengan kehendaknya dan kekuasaannya.



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian tentang “Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* Koizdumi) dengan Penambahan Konsentrasi Naphthalena *Acetic Acid*(NAA) dan *Benzyl Amino Purine*(BAP) secara *In Vitro*” didapat kesimpulan bahwa:

1. Konsentrasi 0,6 mg/l NAA berpengaruh nyata terhadap Induksi kalus daun Ashitaba, yaitu 9 hari setelah inisiasi dan persentase eksplan berkalus 18,33% dengan berat 44,09 mg.
2. Konsentrasi 1,5 mg/l BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus daun Ashitaba, yaitu 11 hari setelah inisiasi dan persentase eksplan berkalus 20,33% dengan berat 51,43 mg.
3. Konsentrasi 0,6 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP berpengaruh nyata pada induksi kalus daun Ashitaba, yaitu 10 hari setelah inisiasi, dan persentase eksplan berkalus 28% dengan berat basah kalus 72,2 mg

#### **5.2. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian tentang induksi metabolit sekunder kalus Ashitaba dengan menambahkan prekursor dan elisitor.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang kandungan metabolit sekunder Kalus ashitaba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addawaproduct, 2010. *Daun Malaikat Penyembuh dari Negeri Sakura*. [Online] Available at: <https://addawaproduct.wordpress.com/2010/11/30/daun-malaikat-penyembuh-dari-negeri-sakura/> [Diakses 9 April 2017].
- Adinata, M. O., Sudira, I. W. & Berata, I. K., 2012. Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2): 55-62.
- Admojo, L., Indrianto, A. & Hadi, H., 2014. Perkembangan Penelitian kalus embrionik pada Jaringan Vegetatif Tanaman Karet Klonal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). *Warta Perkaratan*, 33(1) : 19-28.
- Aisyah, S. I., 2007. Induksi Kalus Embriogenk pada Kultur in-vitro Jagung (*Zea mays* L.) dalam Rangka Peningkatan Keragaman Genetik Melalui Variasi Somaklonal. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*, 4(3): 344-350.
- Al-Sheikh, A. b. M. b. A. b. I., 2000. *Tafsir Ibnu Katsir Julid 7*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal..
- Anggraeni, F., 2009. Penambahan Zat Pengatur Tumbuh *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *6-benzylamino Purine* (BAP) Untuk Induksi Kalus dan Pertumbuhan Batang Ubi Kayu (*Manihot esculenta* crantz) secara in vitro. *Skripsi* Tidak diterbitkan. Surabaya: UNESA.
- Anonim, 2012. *Ashitaba Angelica*. [Online] Available at: <http://ashitaba-jepang.blogspot.co.id/2012/05/budidaya-tanaman-ashitaba.html> [Diakses 28 februari 2017].
- Ardiyana, D. W., 2009. Teknik Pemberian *Benzil Amino Purine* untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo* L.). *Buletin Teknik Pertanian*, 14(2) :50-53.
- Arroisi, A., 2016. Pengaruh Variasi zat Pengatur Tumbuh NAA, Kinetin dan BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* Merr.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan Surabaya: Uneversitas Airlangga.
- Azizah, R., 2017. Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. Tungkal Jambi) dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin secara *In-Vitro*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Jambi: Universitas Jambi.

- Azzamy, 2015. *Ashitaba, Seledri Jepang Kaya Manfaat*. [Online] Available at: <http://mitalom.com/ashitaba-seledri-jepang-kaya-manfaat/> [Diakses 9 april 2017].
- Buchory, A. & karjadi, A., 2007. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*, 18(1): 1-9.
- Campbell, N. A. & Reece, J. B., 2014. *Biologi Jilid 2*. Edisi 8 penyunt. Jakarta: Erlangga.
- Dasuki, U. A., 1991. *Bahan Kuliah : Sistematis Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- Dharmesta & Rakmanto, B., 2011. *Ashitaba Tanaman Obat Asal Jepang untuk Penangkal Kanker*. [Online] Available at: <http://peluangusaha.kontan.co.id/news/ashitaba-sudah-bisa-panen-ketika-pohon-berumur-satu-tahun-2> [Diakses 1 Maret 2017].
- Dippy, J. F. J., Hughes, S. R. C. & Laxton, J. W., 1954. Chemical Constitution and Dissociation Constants of Monocarboxylic Acids. *Journal of the Chemical Society*, -(-): 4102-4206.
- Dwi, N. M., 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur (*Vitis vinera L.*). *Journal Natural Science*, 1(1): 53-62.
- Enoki, T. et al., 2007. *Antidiabetic Activities of Chalcones Isolated from a Japanese Herb, Angelica keiskei*. *Agricultural and Food Chemistry*. 55(-): 6013-6017.
- Fadilah, N., 2013. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Gandarusa (*Justicia genderussa F.*) dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh NAA, IAA, dan BAP. *Skripsi Tidak Diterbitkan*, Surabaya: Universitas Airlangga.
- Febrianto, J., 2010. Optimasi Media Kultur untuk Induksi Kalus Dengan Penambahan Zat Perangsang Tumbuh pada Kultur Jaringan Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*(Doty)). *Skripsi Tidak Dipublikasikan*. Bogor: IPB.
- Fikriati, U. I., 2009. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Kartika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan IAA. *Skripsi Tidak Dipublikasikan*. Semarang: Universitas Semarang.
- Fitriyah, N. et al., 2013. Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman Binahong. *Juernal KesMaDaSka*, -(-): 116-123.

- Furuya, H. & Hosoki, T., 2004. *Adventitious shoot formation, somatic embryogenesis and plantlet regeneration from in vitro-cultured root tissue of Angelica keiskei (Miq.) Koidz. Food and Agriculture Organization.*
- George, 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd penyunt. Netherlands: Spinger.
- George, E. F. & Sherrington, 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. London: Exegetics Limited.
- Gunawan, L. W., 1987. *Teknik Kultru Jaringan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Institut Pertaian Bogor.
- Gusni, W. R., Suwirman & Noli, Z. A., 2015. Peningkatan Kandungan Alkaloid Kalus Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) dengan Pemberian Prekursor Triptofan pada Medium Murashge & Skoog. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(1): 4-8.
- Hardiyanto, A., Solichatun & Mudyantini, w., 2004. The Effect of Varied NAA Concentration Agains Growth and Flavonoid Content of *Gyunura procumbens* (Lour) Merr. Callus. *Biofasmasi*, 2(2),: 69-74.
- Harmanto, N., 2004. *Mahkota Dewa Panglima Penakluk Kanker*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Hartini, R. S. & Suyatno, 2016. Identifikasi dan Uji Pendahuluan Aktivitas Antikanker Senyawa non Fenolik dari Ekstrak Diklorometana Batang Tumbuhan Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya*.
- Hayati, S. K., Nurchayati, Y. & Setiari, N., 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara *in Vitro* dengan Penambahan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan *Naphthalene Acetic Acid*(NAA). *BIOMA*, 12(1): 6-12.
- Hendaryono, D. & Wijayanti, A., 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hidayat, M. A., 2006. Obat Herbal (*Herbal Medicine*): Apa yang Perlu Disampaikan pada Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran?. *Pengembangan Pendidikan*, 3(1): 141-147.
- Hotimah, H. H., Raharto, S. & Hani, E. S., 2010. Prospek Pengembangan Tanaman Obat Ashitaba(*Angelica keiskei* Kiodz.) dalam Program Pemberdayaan Pertanian Organik. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 10(10): 1-8.
- Indah, P. N. & Ermavitalini, D., 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi

- Konsentrasi *6-Benzyl amino purine* (BAP) dan *2,4-Dichlorophrnoxyacetic* (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1): 2337-3520.
- JNTO, 2017. *Pulau Hachijojima(Tokyo)*. [Online] Available at: [http://www.jnto.go.jp/weather/ind/area\\_detail.php?area\\_id=4430](http://www.jnto.go.jp/weather/ind/area_detail.php?area_id=4430) [Diakses 28 Februari 2017].
- Kaviani, B. et al., 2013. *Effect of Kinetin (Kn) and Naphthalene Acetic Acid (NAA) on The Micropropagation of Matthiola incana using shood tips, and callus induction and root formtion on the leaf Explants*. *African Journal of Agricultural*, 8(30): 4134-4139.
- Krestiani, V. & Rukmini, 2013. Kajian Konsentrasi NAA Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Secara *in Vitro*. *Fakultas Pertanian UMK*, 6(1): 16-21.
- Lenny, S., 2006. *Senyawa Terpeniod dan Steroid*, Medan: USU.
- Mahmud, M. H., 2007. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta: Qultum Media.
- Manorama, S. & SIndu, S., 2013. *In Vitro Micropropagation of piper longum Linn. Trough Meristem Culture*. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 2(2).
- Marlin, 2005. Regenerasi *in-vitro* Plantlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri pada Beberapa Taraf Konsentrasi *6-Benzyl Amino Purine*(BAP) dan *Naphtalena Acetic Acid*(NAA). *Jurnal Ilmu-ilmu Pengetahuan Indonesia*, 7(1): 8-14.
- Muyassar, 2007. *Tafsir Muyassar(Jilid 4)*. Jakarta: Qisthi Press.
- Nisa, C. & Rodinah, 2005. Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa Pradisiaca* L.) dengan Campuran NAA dan Kinetin. *Bioscientiae*, 2(2): 23-36.
- Nizar, N., 2011. *Bunga Ashitaba*. [Online] Available at: <http://scepat-lombok.blogspot.co.id/2011/06/bunga-ashitaba.html> [Diakses 9 April 2017].
- Ojilombok, 2012. *Hentikan Diabetes dengan Ashitaba Herbal*. [Online] Available at: <https://ojilombok.wordpress.com/2012/05/12/khasiat-ashitaba/> [Diakses 9 April 2017].
- Pierik, R. L. M., 1997. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, Dordrecht..
- Ping, C., Hua, B. L. & Jinjiaqing, 2012. *Method for Quickly Propagation Angelica keiskei Koidzmi*. [Online] Available at: <https://www.google.com/patents/CN102657084A?cl=en> [Diakses 13 April 2017].

- Purnamaningsih, R. & Ashrina, M., 2011. *The Effect of BAP and NAA on Callus Induction and Artemisinin Content of Artemesia annua L.. Berita Biologi*, 10(4): 481-490.
- Puteri, R. F., Ratnasari, E. & Isnawati, 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi *Naphthalene acetic acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) *in Vitro*. *Lentera Bio*, 3(3): 154-159.
- Racmah, A., 2016. Induksi Kalus Eksplan Daun Sirih Hitam (*Piper belte L.*) dengan pemberian konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *Indole Butyric Acid* (IBA) dan *6-Benzyl Amino Purine* (BAP). *Skripsi Tidak Dipublikasikan*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Safitri, S. K., Siregar, L. A. M. & Lubis, K., 2017. Induksi Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada jenis Eksplan dan Konsentrasi Auksin yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi FP USU*, 5(3): 593-598.
- Salisbury & Ross, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: ITB Bandung.
- Santosa, U. & Nursandi, F., 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Santoso, U. & Nursandi, F., 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Sembiring, B. B. & Manoi, F., 2011. Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba. *Bul. Litro*, 22(2): 177-185.
- Shihab, M. Q., 2010. *Tafsir Al-Misbah Volume 15*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siahaan, J. & Susilawati, Y., 2016. Review Artikel: Potensi dan Zat Aktif dari Tanaman Ashitaba(*Angelica keiskei* Koidz.). *Farmaka*, 4(3): 1-17.
- Siddiqui, W., Bhattacharjya, A., Chakraborty, I. & Dhua, R. S., 2011. *6-Benzylaminopurine Improves Shelf Life, Organoleptic quality and Promoting Compounds of Fresh-cut Broccoli Florets*. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 70(-): 461-465.
- Subarnas, A., 2011. *Produksi Karatin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung: Lubuk Agung.
- Sudarmaji, 2003. Pengaruh *Benzyl Amino Purine* pada Pertumbuhan Kalus kapas secara *in-vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*, 8(1): 8-10.
- Sudrajad, H., Suharto, D. & Fauzi, 2013. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Eksplan Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.). *Argrovigor*, 8(1): 26-32.

- Suhartati, R. & Nurasih, I., 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 16(1): 113-118.
- Suhartati, R. & Virgianti, D. P., 2015. Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Luka Diabetes. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 14(1): 162-172.
- Suyadi, A. & Julianto, T., 2009. Mikropropagasi Duku(*Lancium domesticum* L.) Melalui Kultur Pucuk. *Agritech*, 11(1): 33-44.
- Syanqithi, S., 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Tjitrosoepomo, G., 2002. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Yogyakarta: UGM press.
- Wahyuningtiyas, L., 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP pada Media MS. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maliki.
- Wattimena, 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU.
- Wetter, L. R. & Constabel, F., 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Ke-Dua penyunt. Bandung: Penerbit ITB.
- Widyawati, G., 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L). *Tesis Tidak Diterbitkan*. Surakarta: Unnes
- Winata, L., 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Wiralaga, I. p. A., Sudira, I. W., Kardena, I. M. & Dharmayudha, A., 2015. Pengeruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Histopatologi Lambung Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 7(1): 27-34.
- Xiang, J. Y., Xinmin, A., Hao, L. & Ying, L., 2012. *Method for Inducing Callus Differentiation of Poplar and Differentiation Culture Medium*. [Online] Available at: <https://www.google.com/patents/CN102550406A?cl=en> [Diakses 12 April 2017].
- Xie, F., Wang, Y., Wu, J. & Wang, Z., 2016. Functional Properties and Morphological Characters of Soluble Dietary Fibers in Different Edible Parts of *Angelica Keiskei*. *Journal of Food Science*, 00(0): c1-c10.

- Xiu-li, L. & dkk, 2012. Study on Tissue Culture of *Angelica Keiskei* Koidzumi. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*.
- Yelnititis, 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(3), pp. 181-194.
- Zhi-You, G., Ying, L. & Shao-fang, Q., 2010. Callus Induction and Rapid Propagation of Leaves of *Angelica Keiskei* Koidz. *Guangdong Agricultural Sciences*, 07(038).
- Zia, M., R, R. & M. F., C., 2007. Hormonal Regulation for Callogenesis and Organogenesis of *Artemisia absinthium* L.. *African Journal of Bioteknologi*, 6(16): 1874-1878.
- Zulkarnain, 2014. *Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya Kultur Jaringan Tumbuhan*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Zuraidassanaaz, N. I., 2016. Induksi Kalus Eksplan Daun Sirih Hitam (*Piper betle* L.) dengan Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *Indole-3-Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Universitas Airlangga.

### Lampiran 1. Hari Muncul Kalus

#### 1. Data Hasil Pengamatan Hari Muncul Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-rata (HMK)
	NAA (mg/l)	BAP (mg/l)	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0.00
2	0.2		0	0	0	0	0.00
3	0.4		0	0	0	0	0.00
4	0.6		0	0	0	0	0.00
5	0.8		0	0	0	0	0.00
6	0	0.5	16	17	16	49	16.33
7	0.2		15	16	15	46	15.33
8	0.4		14	13	15	42	14.00
9	0.6		12	13	14	39	13.00
10	0.8		15	14	14	43	14.33
11	0	1	15	16	14	45	15.00
12	0.2		14	15	13	42	14.00
13	0.4		12	14	13	39	13.00
14	0.6		13	12	11	36	12.00
15	0.8		12	13	14	39	13.00
16	0	1.5	14	13	13	40	13.33
17	0.2		13	12	12	37	12.33
18	0.4		12	11	11	34	11.33
19	0.6		9	11	10	30	10.00
20	0.8		11	11	12	34	11.33
21	0	2	15	14	15	44	14.67
22	0.2		14	14	13	41	13.67
23	0.4		13	12	12	37	12.33
24	0.6		12	11	10	33	11.00
25	0.8		13	13	12	38	12.67
Total			264	265	259	788	

## 2. Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Hari Muncul Kalus

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hari muncul kalus (HST)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2222.053 <sup>a</sup>	24	92.586	173.598	.000
Intercept	8300.280	1	8300.280	15563.025	.000
NAA	63.787	4	15.947	29.900	.000
BAP	2141.253	4	535.313	1003.712	.000
NAA * BAP	17.013	16	1.063	1.994	.033
Error	26.667	50	.533		
Total	10549.000	75			
Corrected Total	2248.720	74			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .982)

## 3. Hasil DMRT 5% Pengaruh Konsentrasi NAA terhadap Hari Muncul Kalus

### Hari muncul kalus (HST)

Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi NAA (mg/l)	N	Subset			
		1	2	3	4
0,6	15	9.20			
0,4	15		10.13		
0,8	15		10.27		
0,2	15			11.07	
0	15				11.93
Sig.		1.000	.619	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .533.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

## 4. Hasil DMRT 5% Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Hari Muncul Kalus

## Hari muncul kalus (HST)

Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi BAP (mg/l)	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	.00			
1,5	15		11.67		
2	15			12.93	
1	15			13.40	
0,5	15				14.60
Sig.		1.000	1.000	.086	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .533.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

## 5. Hasil DMRT 5% Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Hari Muncul Kalus

## Hari muncul kalus (HST)

Duncan<sup>a</sup>

Interaksi antara NAA dan BAP (mg/l)	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
N 0 B 0	3	.00											
N 0,2 B 0	3	.00											
N 0,4 B 0	3	.00											
N 0,6 B 0	3	.00											
N 0,8 B 0	3	.00											
N 0,6 B 1,5	3		10.00										
N 0,6 B 2	3		11.00	11.00									
N 0,4 B 1,5	3			11.33	11.33								
N 0,8 B 1,5	3			11.33	11.33								
N 0,6 B 1	3			12.00	12.00	12.00							
N 0,2 B 1,5	3			12.33	12.33	12.33	12.33						
N 0,4 B 2	3			12.33	12.33	12.33	12.33						
N 0,8 B 2	3				12.67	12.67	12.67	12.67					
N 0,6 B 0,5	3					13.00	13.00	13.00	13.00				
N 0,4 B 1	3					13.00	13.00	13.00	13.00				

N 0,8 B 1	3					13.00	13.00	13.00	13.00			
N 0 B 1,5	3					13.33	13.33	13.33	13.33			
N 0,2 B 2	3						13.67	13.67	13.67	13.67		
N 0,4 B 0,5	3							14.00	14.00	14.00	14.00	
N 0,2 B 1	3							14.00	14.00	14.00	14.00	
N 0,8 B 0,5	3								14.33	14.33	14.33	
N 0 B 1	3									15.00	15.00	
N 0 B 2	3									15.00	15.00	
N 0,2 B 0,5	3										15.33	15.33
N 0 B 0,5	3											16.33
Sig.		1.000	.100	.053	.053	.059	.059	.059	.059	.053	.053	.100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Lampiran 2. Berat Basah Kalus

### 1. Data Hasil Pengamatan Berat Basah Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-rata (mg)
	NAA (mg/l)	BAP (mg/l)	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0.00
2	0.2		0	0	0	0	0.00
3	0.4		0	0	0	0	0.00
4	0.6		0	0	0	0	0.00
5	0.8		0	0	0	0	0.00
6	0	0.5	2.4	5.7	2.8	10.9	3.63
7	0.2		13.9	12.9	13.6	40.4	13.47
8	0.4		25.5	25.1	24.8	75.4	25.13
9	0.6		37.3	35.8	36.9	110	36.67
10	0.8		29.5	28.9	27.9	86.3	28.77
11	0	1	19.9	12.5	16.9	49.3	16.43
12	0.2		28.8	27.7	29.3	85.8	28.60
13	0.4		38.8	39.5	44.9	123.2	41.07
14	0.6		49.9	55.8	56.5	162.2	54.07
15	0.8		39.7	43.5	42.7	125.9	41.97
16	0	1.5	27.6	26	28.7	82.3	27.43
17	0.2		47.8	38.3	40.5	126.6	42.20
18	0.4		56.8	58.9	54.9	170.6	56.87
19	0.6		92.5	61.5	62.6	216.6	72.20
20	0.8		58.2	58.5	58.6	175.3	58.43
21	0	2	23.5	31.3	26.2	81	27.00
22	0.2		39.1	37.8	38.3	115.2	38.40
23	0.4		41.2	41.5	58.7	141.4	47.13
24	0.6		58.4	56.8	57.4	172.6	57.53
25	0.8		54	48.4	50	152.4	50.80
Total			784.8	746.4	772.2	2303.4	

2. Hasil Analisa Variasi pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap Berat Basah Kalus
- 3.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Berat basah kalus (mg)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34765.201 <sup>a</sup>	24	1448.550	70.528	.000
Intercept	70766.593	1	70766.593	3445.552	.000
NAA	7604.065	4	1901.016	92.559	.000
BAP	25049.223	4	6262.306	304.905	.000
NAA * BAP	2111.913	16	131.995	6.427	.000
Error	1026.927	50	20.539		
Total	106558.720	75			
Corrected Total	35792.127	74			

a. R Squared = .971 (Adjusted R Squared = .958)

4. Hasil DMRT 5% Pegaaruh Konsentrasi NAA terhadap Berat Basah Kalus

#### Berat basah kalus (mg)

Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi NAA (mg/l)	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	14.9000			
0,2	15		24.5333		
0,4	15			34.0400	
0,8	15			35.9933	
0,6	15				44.1200
Sig.		1.000	1.000	.243	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 20.539.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

## 5. Hasil DMRT 5% Pegaruh Konsentrasi BAP terhadap Berat Basah Kalus

**Berat basah kalus (mg)**Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi BAP (mg/l)	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	15	.0000				
0,5	15		21.5600			
1	15			36.4267		
2	15				44.1733	
1,5	15					51.4267
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 20.539.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

6. Hasil DMRT 5% Pegaruh Konsentrasi NAA dan NAA terhadap Berat Basah Kalus

Berat basah kalus (mg)

Duncan<sup>a</sup>

Interaksi antara NAA dan BAP (mg/l)	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
N 0 B 0	3	.0000							
N 0,2 B 0	3	.0000							
N 0,4 B 0	3	.0000							
N 0,6 B 0	3	.0000							
N 0,8 B 0	3	.0000							
N 0 B 0,5	3	3.6333							
N 0,2 B 0,5	3		13.4667						
N 0 B 1	3		16.4333						
N 0,4 B 0,5	3			25.1333					
N 0 B 2	3			27.0000					
N 0 B 1,5	3			27.4333					
N 0,2 B 1	3			28.6000					
N 0,8 B 0,5	3			28.7667					
N 0,6 B 0,5	3				36.8000				
N 0,2 B 2	3				38.4000				

N 0,4 B 1	3				41.0667	41.0667			
N 0,8 B 1	3				41.9667	41.9667			
N 0,2 B 1,5	3				42.2000	42.2000			
N 0,4 B 2	3					47.1333	47.1333		
N 0,8 B 2	3					50.8000	50.8000		
N 0,6 B 1	3					54.0667	54.0667		
N 0,4 B 1,5	3						56.8667		
N 0,6 B 2	3						57.5333		
N 0,8 B 1,5	3						58.4333		
N 0,6 B 1,5	3							72.2000	
Sig.		.399	.427	.391	.201	.141	.082	.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### Lampiran 3. Persen Eksplan Berkalus

#### 1. Data Hasil Pengamatan Persen Luasan Eksplan Berkalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-rata (%)
	NAA (mg/l)	BAP (mg/l)	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0.00
2	0.2		0	0	0	0	0.00
3	0.4		0	0	0	0	0.00
4	0.6		0	0	0	0	0.00
5	0.8		0	0	0	0	0.00
6	0	0.5	5	3	2	10	3.33
7	0.2		6	10	8	24	8.00
8	0.4		13	15	13	41	13.67
9	0.6		16	17	23	56	18.67
10	0.8		12	13	12	37	12.33
11	0	1	6	7	8	21	7.00
12	0.2		14	13	13	40	13.33
13	0.4		19	17	18	54	18.00
14	0.6		24	22	23	69	23.00
15	0.8		20	18	22	60	20.00
16	0	1.5	11	14	13	38	12.67
17	0.2		17	22	13	52	17.33
18	0.4		24	26	18	68	22.67
19	0.6		36	35	13	84	28.00
20	0.8		17	19	27	63	21.00
21	0	2	9	6	5	20	6.67
22	0.2		11	13	12	36	12.00
23	0.4		19	20	13	52	17.33
24	0.6		21	23	22	66	22.00
25	0.8		16	17	17	50	16.67
Total			316	330	295	941	

2. Hasil Analisa Variasi pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap Persen Luasan Eksplan Berkalus

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:persentase luasan eksplan berkalus (%)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5227.013 <sup>a</sup>	24	217.792	18.292	.000
Intercept	11581.653	1	11581.653	972.703	.000
NAA	1313.147	4	328.287	27.572	.000
BAP	3552.347	4	888.087	74.587	.000
NAA * BAP	361.520	16	22.595	1.898	.043
Error	595.333	50	11.907		
Total	17404.000	75			
Corrected Total	5822.347	74			

a. R Squared = .898 (Adjusted R Squared = .849)

3. Hasil DMRT 5% Pegaruh Konsentrasi NAA terhadap Persen Luasan Eksplan Berkalus

**persentase luasan eksplan berkalus (%)**

Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi NAA (mg/l)	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	5.8667			
0,2	15		10.1333		
0,4	15			13.8000	
0,8	15			14.0000	
0,6	15				18.3333
Sig.		1.000	1.000	.875	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11.907.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

4. Hasil DMRT 5% Pagaruh Konsentrasi BAP terhadap Persen Luasan Eksplan Berkalus

persentase luasan eksplan berkalus (%)

Duncan<sup>a,b</sup>

Konsentrasi BAP (mg/l)	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	.0000			
0,5	15		11.2000		
2	15			14.3333	
1	15			16.2667	
1,5	15				20.3333
Sig.		1.000	1.000	.131	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11.907.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

## 5. Hasil DMRT 5% Pegaruh Konsentrasi NAA dan NAA terhadap Persen Luasan Eksplan Berkalus

persentase luasan eksplan berkalus (%)

Duncan<sup>a</sup>

Interaksi antara NAA dan BAP (mg/l)	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
N 0 B 0	3	.0000											
N 0,2 B 0	3	.0000											
N 0,4 B 0	3	.0000											
N 0,6 B 0	3	.0000											
N 0,8 B 0	3	.0000											
N 0 B 0,5	3	3.3333	3.3333										
N 0 B 2	3	6.3333	6.3333	6.3333									
N 0 B 1	3		7.0000	7.0000	7.0000								
N 0,2 B 0,5	3		8.0000	8.0000	8.0000	8.0000							
N 0,2 B 2	3			12.0000	12.0000	12.0000	12.0000						
N 0,8 B 0,5	3			12.3333	12.3333	12.3333	12.3333	12.3333					
N 0 B 1,5	3			12.6667	12.6667	12.6667	12.6667	12.6667					
N 0,2 B 1	3				13.3333	13.3333	13.3333	13.3333					
N 0,4 B 0,5	3					13.6667	13.6667	13.6667	13.6667				

N 0,4 B 2	3					14.6667	14.6667	14.6667	14.6667			
N 0,8 B 2	3					16.6667	16.6667	16.6667	16.6667	16.6667		
N 0,2 B 1,5	3					17.3333	17.3333	17.3333	17.3333	17.3333		
N 0,4 B 1	3					18.0000	18.0000	18.0000	18.0000	18.0000		
N 0,6 B 0,5	3						18.6667	18.6667	18.6667	18.6667		
N 0,8 B 1	3							20.0000	20.0000	20.0000		
N 0,8 B 1,5	3								21.0000	21.0000		
N 0,6 B 2	3									22.0000	22.0000	
N 0,4 B 1,5	3									22.6667	22.6667	
N 0,6 B 1	3									23.0000	23.0000	
N 0,6 B 1,5	3										28.0000	
Sig.		.055	.137	.052	.052	.083	.075	.060	.055	.055	.060	.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

#### Lampiran 4. Gambar bahan Penelitian



Gambar 1. Media MS dalam kemasan



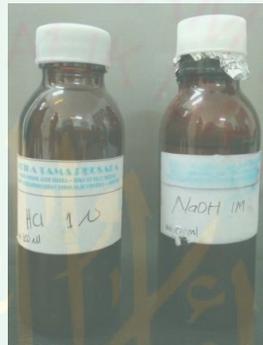
Gambar 2. Hormon NAA serbuk dalam kemasan



Gambar 3. Hormon BAP serbuk dalam kemasan



Gambar 4. Alkohol 96 % untuk sterilisasi alat



Gambar 5. HCl dan NaOH dalam kemasan



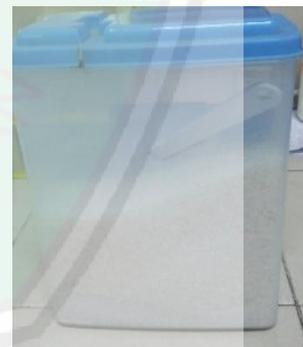
Gambar 6. Bayclin dan alkohol 96% untuk sterilisasi



Gambara agar-agar dan alumuniumfoil



Gambar kertas label, plastik dan karet



Gambar gula pasir dalam kemasan



Gambar 7. Daun muda ashitaba berumur 10 hari

**Lampiran 5. Gambar alat dan foto kegiatan penelitian**



Gambar autoklaf



Gambar pH meter



Gambar Neraca analitik



Gambar kompor untuk memasak media



Gambar hot plate stirer untuk menghomogenkan



Gambar oven untuk sterilisasi alat gelas



Gambar mikropipet



Gambar Laminar air flow (LAF)



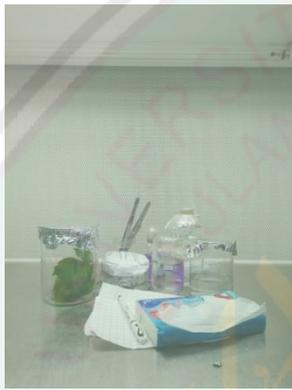
Gambar rak inkubasi



Gambar beaker glass



Gambar alat untuk sterilisasi dan alat diseksi



Gambar persiapan inisiasi



Gambar alat dan bahan yang digunakan untuk inisiasi



Gambar saat sterilisasi



Gambar memotong eksplan



Gambar eksplan

### Lampiran 6. Perhitungan

- Larutan Stok Hormon

$$\frac{100mg}{1l} = \frac{100mg}{1000ml} = \frac{10mg}{100ml}$$

- Pengenceran Hormon

$$M1.V1 = M2.V2$$

- Konsentrasi 0,2 mg/l

$$100 \frac{mg}{l} . V1 = \frac{0,2mg}{l} . 50ml$$

$$V1 = \frac{0,2 \frac{mg}{l} . 50 ml}{100 \frac{mg}{l}}$$

$$V1 = \frac{10 ml}{100}$$

$$V1 = 0,1 ml$$

- Konsentrasi 0,4 mg/l

$$100 \frac{mg}{l} . V1 = \frac{0,4mg}{l} . 50ml$$

$$V1 = \frac{0,4 \frac{mg}{l} . 50 ml}{100 \frac{mg}{l}}$$

$$V1 = \frac{20 ml}{100}$$

$$V1 = 0,2 ml$$

- Konsentrasi 0,5 mg/l

$$100 \frac{mg}{l} . V1 = \frac{0,5mg}{l} . 50ml$$

$$V1 = \frac{0,5 \frac{mg}{l} . 50 ml}{100 \frac{mg}{l}}$$

$$V1 = \frac{25 ml}{100}$$

$$V1 = 0,25 ml$$

- Konsentrasi 0,6 mg/l

$$100 \frac{mg}{l} . V1 = \frac{0,6mg}{l} . 50ml$$

$$V1 = \frac{0,6 \frac{mg}{l} . 50 ml}{100 \frac{mg}{l}}$$

$$V1 = \frac{30 ml}{100}$$

$$V1 = 0,3 ml$$

➤ Konsentrasi 0,8 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot V_1 = \frac{0,8\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{0,8 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

➤ Konsentrasi 1 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot V_1 = \frac{1\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{1 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

➤ Konsentrasi 1,5 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot V_1 = \frac{1,5\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{1,5 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V_1 = \frac{75 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml}$$

➤ Konsentrasi 2 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot V_1 = \frac{2\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{2 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \cdot 50 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

### BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ismi Anni Aslikhah  
NIM : 13620055  
Program Studi : Biologi  
Semester : Ganjil TA 2017/2018  
Pembimbing : Suyono, M. P  
Judul Skripsi : Induksi Kalus Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei* Koidzumi) Dengan Penambahan Kombinasi Naphtalena Acetic Acid(Naa) Dan Benzyl Amino Purin(Bap) Secara In Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	06 Februari 2017	Konsultasi Judul BAB 1	
2	02 Maret 2017	ACC BAB I	
3	05 April 2017	Konsultasi BAB II dan BAB III	
4	10 April 2017	Revisi BAB II dan BAB III	
5	28 April 2017	ACC BAB I, II dan III	
6	01 Juni 2017	Konsultasi Perubahan Eksplan	
7	05 September 2017	Konsultasi data	
8	11 September 2017	Konsultasi Hasil Analisa Data	
9	2 Oktober 2017	Konsultasi BAB IV	
10	5 Oktober 2017	Revisi BAB IV	
11	9 Oktober 2017	Revisi BAB IV	
12	16 Oktober 2017	Revisi BAB IV	
13	23 Oktober 2017	ACC BAB IV	
14	27 Oktober 2017	Konsultasi dan ACC BAB V	
15	30 Oktober 2017	Konsultasi Integrasi	
16	31 Oktober 2017	ACC Integrasi	

Pembimbing Skripsi

Suyono, M.P  
NIP. 19710622 200312 1 002



Malang, 1 November 2017  
Ketua Jurusan,

Romaidi, M. Si, D. Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019