

**PENGARUH PEMBERIAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID
(2,4-D) DAN BENZYLADENINE (BA) TERHADAP INDUKSI KALUS
EMBRIOGENIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei*)**

SKRIPSI

**OLEH:
YULI FITHROTIN
NIM. 13620070**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID
(2,4-D) DAN BENZYLADENINE (BA) TERHADAP INDUKSI KALUS
EMBRIOGENIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei*)**

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:
YULI FITHROTIN
NIM. 13620070**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH PEMBERIAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID
(2,4-D) DAN BENZYLADENINE (BA) TERHADAP INDUKSI KALUS
EMBRIOGENIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei*)**

SKRIPSI

**OLEH:
YULI FITHROTIN
NIM. 13620070**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 9 November 2017

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Suyono, M.P
NIP. 19751006 200312 1 001

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

PENGARUH PEMBERIAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID (2,4-D) DAN BENZYLADENINE (BA) TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei*)

SKRIPSI

**OLEH:
YULI FITHROTIN
NIM. 13620070**

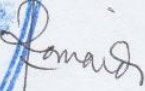
Telah Dipertahankan di Depan Penguji Skripsi
dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 9 November 2017

Penguji Utama	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	Ruri Siti Resmisari, M.Si NIDT. 19790123 20160801 2 063	
Sekretaris Penguji	Suyono, M.P NIP. 19751006 200312 1 001	
Anggota Penguji	Dr. H. Ahmad Barizi, MA NIP. 19731212 199803 1 001	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuli Fithrotin

NIM : 13620070

Jurusan : Biologi


Fakultas : Sains dan Teknolog

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyladenine (BA) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*)

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

Malang, 6 November 2017
Yang membuat pernyataan,




Yuli Fithrotin
NIM. 13620070

MOTTO

“TIDAK PERLU MENJADI ORANG YANG PALING PINTAR
CUKUP MENJADI ORANG YANG PALING TEKUN”

---Trust with processing power ---



HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kuhantarkan ke hadirat Allah SWT Tuhan semesta alam, yang mengizinkan aku menatap masa depan, dan berlari mengejar asa.
Kupersembahkan karya ini untuk orang-orang yang aku cintai.

- ✓ Aba (Moh.Sabiq Mulya) dan Mami (Habasyiah) tercinta, Yang telah membesarkan dan mendidik ananda, yang telah berjuang dalam keadaan apapun dengan penuh ketulusan untuk menjadikan ananda anak yang berbakti dan membanggakan. Terimakasih ananda ucapkan dengan ketulusan hati, semoga kelak ananda bisa menjadi orang yang kalian harapkan.
- ✓ Kakak kandungku tercinta (Erna setiawati, Hermawan, Baharudin Noveriyanto, Maulidatul Rahma) yang selalu menjadi motifatorku. kakak iparku (Suhardi, Minarti N., Erwin Bustomi) keponakanku (salsa, l'an, Daffa, Faras, Raka) dan Keluarga besar H.ALI yang selalu dengan kasihnya membimbing dan mengajarku banyak hal.
- ✓ Keluarga Besar IMM, terlebih khusus komisariatku tercinta REVIVALIS, yang telah memberiku tempat untuk belajar banyak hal.
- ✓ Sahabat-sahabatku terkasih dan tercinta Ganbatte (ismi, magstin, gus ihsan, fajri, yajid, muhaimin, desy, afifah), Roommateku (Setia Alam), teman-teman KJT Club khususon TEAM KJT (ismi, muzdalifa, nadia, yayang, putro, fida, mike, kamel, Ari, maya, mas berry dan herlina), yang sudah menjadi merah, kuning, hijau di perjalanan menuju sarjana.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum, Wr.Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyladenine (BA) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*)”**. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Skripsi ini disusun tidak luput dari berbagai kendala, namun berkat semangat dan keyakinan kepada kebesaran Allah, serta pengarahan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat hadir di hadapan pembaca. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suyono, M.P, dan Dr. Achmad Barizi, MA, selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasihat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua dan saudara-saudaraku tercinta yang tiada henti memberikan dukungan moril maupun materil, selalu menguatkan setiap langka penulis hingga saat ini, serta ketulusan do'a yang tiada henti sehingga penulis dapat mempersembahkan skripsi untuk pembaca.

8. Segenap sahabat (Ganbatte, KJT Club, My RoomMate) dan teman-teman BIOLOGI 2013 yang senantiasa memberikan semangat dan selalu menguatkan dalam penyelesaian skripsi.
9. Petani Ashitaba di Trawas Mojokerto, terimakasih sudah memberikan banyak informasi mengenai tanaman ashitaba, sehingga dapat mengantarkanku menjadi sarjana.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

Semoga segala yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan terbaik dari Allah SWT. Pada akhirnya, penulis persembahkan skripsi ini kepada para pembaca agar dapat menjadi inspirasi dan panduan untuk penelitian lebih lanjut.

Wassalamu'alaikum,Wr.Wb

Malang, 6 November 2017

Penulis

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.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
المخلص	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Hipotesis	9
1.5 Manfaat Penelitian.....	9
1.6 Batasan Masalah.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	11
2.1.1 Ashitaba Dalam Perspektif Islam	11
2.1.2 Klasifikasi Ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>).....	12
2.1.3 Deskripsi Tanaman (<i>Angelica keiskei</i>)	13
2.1.4 Habitat Tanaman Ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	15
2.1.5 Kandungan Kimia dan Manfaat Ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>) ...	16
2.2 Kultur Kalus	19
2.2.1 Tekstur Kalus	21
2.2.2 Warna kalus	22
2.3 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	24
2.3.1 <i>Benzyladenine</i> (BA)	25
2.3.2 <i>2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D).....	26
2.3.3 Interaksi 2,4-D dan BA	29
2.4 Media MS	30
2.5 Induksi Kalus Embriogenik	32
2.6 Kultur Jaringan Tanaman Ashitaba	33
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	36
3.2 Rancangan Penelitian	36
3.3 Alat dan Bahan	37

3.3.1 Alat-alat	37
3.3.2 Bahan-bahan.....	37
3.4 Langkah Kerja	37
3.4.1 Sterilisasi Alat	37
3.4.2 Pembuatan Media Induksi Kalus.....	38
3.4.3 Sterilisasi Media	38
3.4.4 Sterilisasi Ruang Tanam	39
3.4.5 Tahap Inisiasi	39
3.4.5.1 Penanaman Eksplan	39
3.4.5.2 Tahap Pemeliharaan	40
3.4.6 Tahap Pengamatan	40
3.4.6.1 Hari Muncul Kalus	40
3.4.6.2 Warna dan Tekstur Kalus	40
3.4.6.3 Berat Basah Kalus	40
3.4.6.4 Persen Eksplan Berkalus	41
3.4.6.5 Pengamatan Anatomi Kalus	41
3.5 Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba.....	42
4.2 Pengaruh Pemberian BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba	48
4.3 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba	53
4.4 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Morfologi dan Anatomi Kalus Embriogenik Ashitaba	60
4.5 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	66
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	71
5.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian tanaman ashitaba	15
Gambar 2.2 Tekstur Kalus tanaman jarak pagar	21
Gambar 2.3 warna kalus pada eksplan jarak pagar	24
Gambar 2.4 Struktur Kimia <i>Benzyladenine</i> (BA)	26
Gambar 2.5 Struktur Kimia <i>2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D)	27
Gambar 4.1 Kalus pada berbagai perlakuan 2,4-D	44
Gambar 4.2 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap hari muncul kalus	44
Gambar 4.3 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap Berat basah kalus.....	45
Gambar 4.4 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap % eksplan berkalus.....	46
Gambar 4.5 Kalus pada berbagai perlakuan BA	50
Gambar 4.6 Kurva regresi pengaruh BA terhadap hari muncul kalus	50
Gambar 4.7 Kurva regresi pengaruh BA terhadap berat basah kalus	51
Gambar 4.8 Kurva regresi pengaruh BA terhadap % eksplan berkalus.....	52
Gambar 4.9 Kalus pada berbagai perlakuan interaksi BA dan 2,4-D	56
Gambar 4.10 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap hari muncul kalus	57
Gambar 4.11 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap berat basah kalus	58
Gambar 4.12 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap persen eksplan berkalus.....	59
Gambar 4.13 Pengamatan anatomi kalus remah pada berbagai perlakuan interaksi BA dan 2,4-D (perbesaran 100X)	65

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Interaksi perlakuan pemberian ZPT	37
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANAVA) Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	42
Tabel 4.2 Hasil uji DMRT 5% pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	42
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil ANAVA Pengaruh BA terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	48
Tabel 4.4 Hasil uji DMRT 5% pengaruh BA terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	48
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil ANAVA Pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	53
Tabel 4.6 Hasil uji DMRT 5% pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>)	54
Tabel 4.7 Warna dan tekstur kalus ashitaba (<i>Angelica keiskei</i>).....	60

ABSTRAK

Fithrotin, Yuli. 2017 **Pengaruh Pemberian 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Benzyladenine (BA) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Suyono, M.P dan Dr. H. Ahmad Barizi, MA.

Kata Kunci: 2,4-D, BA, Kalus Embriogenik, Daun Ashitaba.

Tanaman ashitaba (*Angelica keiskei*) merupakan tanaman yang potensial sebagai tanaman obat untuk penyembuhan berbagai penyakit. Perbanyak tanaman ashitaba di Indonesia masih dilakukan secara konvensional yaitu menggunakan biji dari tanaman yang berumur 3-4 tahun. Butuh waktu yang lama untuk mendapatkan biji yang digunakan untuk perbanyak. Kultur kalus embriogenik merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk penggandaan bibit secara masal dalam waktu singkat. Keberhasilan kultur kalus bergantung pada peran zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) dan sitokinin (BA) yang diberikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian 2,4-D dan BA serta interaksi keduanya pada pertumbuhan kalus embriogenik ashitaba.

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 16 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu: konsentrasi 2,4-D meliputi (0mg/L; 0,5mg/L; 0,75mg/L dan 1mg/L) dan konsentrasi BA meliputi (0mg/L; 0,5mg/L; 1mg/L dan 1,25mg/L). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan analisis variasi (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji DMRT 5%.

Hasil ANOVA menunjukkan 2,4-D dan BA serta interaksi keduanya memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus. Perlakuan 2,4-D 0,75mg/L berpengaruh nyata terhadap Induksi kalus yaitu 11,01 HST dengan berat basah kalus 0,1788g dan persen ekplan berkalus 43,27%. Perlakuan BA 1mg/L dapat menginduksi kalus 16,02HST dengan berat basah kalus 0,23617g dan persen ekplan berkalus 50,56%. Perlakuan interaksi 1mg/L BA + 0,75mg/L 2,4-D menginduksi kalus pada 14,01HST dengan berat basah kalus 0,3135g dan persen ekplan berkalus 66,6%. Pengamatan morfologi dan anatomi kalus embriogenik ditunjukkan dengan kalus berwarna putih kekuningan bertekstur remah serta memiliki vakuola berukuran kecil, mengandung butir pati dan memiliki inti besar.

ABSTRACT

Fithrotin, Yuli. 2017 **The Effect Of 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) and Benzyladenine (BA) to Embryogenic Callus Induction Leaves Of Ashitaba (*Angelica keiskei*)**. Thesis. Department of Biology Faculty of science and Technology State Islamic Universty Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Suyono, M.P and Dr. H. Ahmad Barizi, MA.

Key word: 2,4-D, BA, Embryogenic Callus, Ashitaba Leaves.

Ashitaba (*Angelica keiskei*) plant is a potential plants for healing various kind of diseases. Propagation of Ashitaba in Indonesia is still doing conventionally using seeds from plants around 3-4 years old. It took a long time to get seeds that used for propagation. Induction of embryogenic callus is an alternative that can be used to propagate the seeds in a short time massively. The success of callus induction depends on growing regulatory substances Auxin (2,4-D) and cytokinin (BA) that given. This research aims to know the effect of giving 2,4-D and BA also the interaction both of them on embryogenic callus induction.

This study was experimental and using a completely randomized design (CRD) with 16 treatment combinations and 3 replications. The treatments in this study were two factors: First factor is 2,4-D concentration including (0mg/L; 0,5mg/L; 0,75mg/L and 1mg/L) and second factor is BA concentration including (0mg/L; 0,5mg/L; 1mg/L and 1,25mg/L). Data were analyzed using Analysis of Variants (ANOVA) and followed by DMRT 5%.

The results of ANOVA showed that 2,4-D and BA and the interaction both of them have a real effect to callus induction. Concentration of 2,4-D 0,75mg/L influence in 11,01 the day after plant, weight callus is 0,1788gr and the percentage of callus is 43,27%. Concentration of BA 1mg/L influence in 16,02 the day after plant, weight callus is 0,2361gr and the percentage of callus is 50,56%. And the interaction of 1mg/l BA + 0,72mg/l 2,4-D can induce callus in 14,01 the day after plat with wet weight of callus 0,3135g and percentage of callus is 66,6%. The morphology and anatomy observation showed that embriogenic callus is white-yellowish color and the texture is crumb, also have a small vacuoles, contain of starch grains and have large nucleus.

ملخص البحث

فطرتين، يولي. ٢٠١٧ تأثير إعطاء ٢،٤ (2,4-D) *Dichlorophenoxy Acetic Acid* و *Angelica keiskei* على الاستقرار الكالس الاجنة الأوراق أشيتابا (*Angelica keiskei*). البحث الجامعي. شعبة البيولوجيا كلية العلوم والتكنولوجيا الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: سويونو، الماجستير والدكتور أحمد بارزي، الحج الماجستير. الكلمات الرئيسية: 2,4-D ، BA ، الكالب الكالس الاجنة ، الأوراق أشيتابا

النبات أشيتابا (*Angelica keiskei*) هو النبات المحتمل كنبات طبي لعلاج الأمراض المختلفة. استخدم ان نشر نباتات أشيتابا في إندونيسيا تقليديا اي باستخدام البذور النباتات التي تتراوح ٣-٤ سنوات. يحتاج وقتا طويلا للحصول على البذور. الثقافات كالوس الاجنة هي بديل الذي يمكن ان يستخدم لضرب الشامل كتلة في وقت قصير. نجاح الثقافات كالوس يعتمد على دور المنظم النمو أوكسين (2,4-D) وستوكسين (BA). يهدف هذا البحث إلى تحديد تأثير إعطاء 2,4-D و BA وتفاعلهما على نمو الكالس الاجنة أشيتابا. وكان هذا البحث التجريبية، اي باستخدام تصميم العشوائية الكاملة (RAL) مع ١٦ معالجات و ٣ مكدرات. كانت معاملات في هذا البحث عاملين هما: تركيز 2,4-D يعني (٠ ملغم / لتر، ٠,٥ ملغم / لتر، ١,٧٥ ملغم / لتر و ١ ملغم / لتر)، و تركيز BA هو (٠ ملغم / لتر، ٠,٥ ملغم / L / ١ ؛ ١ ملغم / لتر و ١,٢٥ ملغم / لتر. تحلل البيانات بتحليل الاختلاف (ANAVA) ثم تليها باختبار DMRT ٥٪. وتدل نتائج ANAVA أن 2,4-D و BA وتفاعلهما يؤثران كثيرا على الاستقرار الكالس. العلاج 2,4-D ٠,٧٥ ملغم/لتر يؤثر كثيرا على الاستقرار الكالس اي ١١,٠١ HST مع الوزن الرطب الكالوس ٠,١٧٨٨ غرام ونسبة قرع مع الكالس ٤٣,٢٧٪. العلاج BA ١ ملغم/لتر يمكن أن يحفز الكالس ١٦,٠٢ HST مع الوزن الرطب الكالس اي ٠,٢٣٦١٧ غرام و نسبة قرع مع الكالس بقدرة ٥٠,٥٦٪. علاج التفاعل ١ ملغم/لتر BA + ٠,٧٥ ملغم/لتر 2,4-D يحفز الكالس على ١٤,٠١ HST مع الرطب الوزن كالوس اي ٠,٣١٣٥ غرام و نسبة قرع مع الكالس اي ٦٦,٦٪. ودلت الملاحظات المورفولوجية والتشريحية للكالس الاجنة مع الكالس أبيض مصفر النسيج الكسرة ولها فجوة صغيرة، تحتوي على الحبوب النشاء ولها نواة كبيرة

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tumbuhan diciptakan dengan berbagai jenis dan macamnya. Dimana alam tumbuhan ditaksir meliputi 300.000 jenis tumbuhan, dan dalam klasifikasinya dibagi-bagi menjadi sejumlah divisi. Tiap divisi seterusnya berturut-turut dibagi-bagi lagi dalam takson yang lebih rendah, yaitu kelas, bangsa, suku, marga, dan jenis (Tjitrosoepomo, 2011). Sebagaimana firman Allah dalam surat Thaha ayat 53 sebagai berikut:

وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن تَبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

Artinya: “Dan kami turunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (Qs. Thaha: 53)”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010) adapun lafadz *أَزْوَاجًا* (*berjenis-jenis*) maksudnya adalah, yang berbeda-beda warna serta rasa dan lain-lainnya. Selanjutnya dalam *Tafsir Ibnu Katsir* (2007) dijelaskan “tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam di sini merupakan tumbuh-tumbuhan berupa tanaman-tanaman dan buah-buahan, ada yang rasanya masam, ada yang manis, dan ada yang pahit, serta berbagai jenis lainnya dari hasil tanaman dan buah-buahan”. Tumbuhan yang bermacam-macam itu ternyata masing-masing memiliki manfaat dan keunggulan tersendiri. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur’an Surat Asy-Syuaraa ayat 7 berikut ini:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Qs. Asy-Syuaraa: 7)

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* (dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi) maksudnya adalah memikirkan tentang bumi, *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* (berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya, *مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* (dari berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya?. Dialah Allah Ta’ala yang maha perkasa, Maha Agung lagi maha kuasa yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan di dalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanaman-tanaman, buah-buahan dan juga hewan. Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, dan ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan. Salah satu jenis tanaman yang saat ini banyak diteliti kandungannya dan banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah tanaman ashitaba.

Tumbuhan ashitaba memiliki nama latin *Angelica keiskei* merupakan spesies dari famili *apiaceae*. Tanaman ashitaba masih satu famili dengan tanaman seledri (*Apium graveolens* L.), secara visual tanaman ashitaba mirip dengan seledri hanya ashitaba keragaannya lebih tinggi dibandingkan dengan seledri. Menurut Tjitrosomo (2010) Hampir seluruh famili *Apiaceae*

berbentuk tumbuhan herba dengan tipe perbungaan terkumpul berbentuk payung, yang terdiri dari bunga kecil-kecil.

Tanaman ashitaba merupakan tanaman yang potensial sebagai tanaman obat untuk penyembuhan berbagai jenis penyakit, seperti kanker, paru-paru, diabetes, hipertensi, jantung coroner, liver, ginjal dan HIV. Tanaman ashitaba juga diketahui berpotensi sebagai antibakteri, antijamur, antitumor, antiinflamasi (Sembiring & Manoi, 2010). Selain itu ashitaba juga berpotensi sebagai sumber antioksidan. Menurut Wicaksono & Syafirudin (2003) efek antioksidan ashitaba melebihi anggur, teh hijau maupun kedelai, yang berfungsi menjaga organ tubuh dan kerusakan sel akibat radikal bebas serta memperlambat proses penuaan.

Tanaman ashitaba memiliki suatu zat yang berpotensi sebagai obat yang berasal dari getah yang berwarna kuning yaitu zat chalcone (Sembiring & Manoi, 2010). Chalcone yang terkandung dalam ashitaba dianggap sebagai “*the new era of medicines*”. Tumbuhan yang mengandung senyawa chalcone memiliki penyebaran di alam sangat terbatas dan hanya ditemukan pada beberapa golongan tumbuhan dalam jumlah sedikit. Sehingga senyawa chalcone belum banyak tersedia untuk dimanfaatkan sebagai obat padahal chalcone merupakan senyawa yang sangat potensial untuk digunakan sebagai obat.

Di Indonesia tanaman ashitaba sudah dikembangkan di beberapa tempat diantaranya di Malang, di Bandung dan di Gunung Putri (Cipanas). Tetapi pengembangan tanaman ashitaba masih belum luas, masih terbatas pada

skala penelitian (Sembiring & Manoi, 2010). Perbanyak tanaman ashitaba di Indonesia masih dilakukan secara konvensional yaitu dengan menggunakan biji. Biji yang digunakan untuk perbanyak ashitaba menurut Sembiring & Manoi (2011) yakni biji yang dihasilkan dari tanaman yang sudah berumur 3-4 tahun. Butuh waktu yang lama untuk mendapatkan biji dan digunakan untuk perbanyak.

Upaya untuk mendapatkan tanaman ashitaba dalam jumlah banyak dalam waktu relatif singkat belum banyak dilakukan. Menurut Ningsih (2014) Pendekatan bioteknologi seringkali digunakan dalam rangka mencari alternatif perbanyak tanaman, salah satunya adalah kultur jaringan yang memiliki potensi besar. Perbanyak dengan kultur jaringan merupakan salah satu metode perbanyak secara vegetatif yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu relatif cepat, memiliki sifat yang sama dengan induknya, dengan proses pembibitan tidak tergantung musim serta untuk memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional (Suryowinoto, 1996).

Perbanyak tanaman dalam kultur jaringan dapat dilakukan dengan cara kultur kalus embriogenik. Menurut Surbarnas (2011) Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis. Kultur kalus yang bersifat embrionik akan diproduksi bibit jauh lebih banyak dibandingkan penggunaan teknik yang lain karena embrio dapat dihasilkan dari satu sel saja.

Darwati (2007) mengemukakan, keberhasilan kultur kalus embriogenik sangat tergantung pada sejumlah variabel termasuk diantaranya faktor eksplan, zat pengatur tumbuh (ZPT), nutrisi medium (nitrogen, fosfat, sukrosa, ion Cu^{2+}), faktor fisika (cahaya, temperature, pH, aerasi, kepadatan sel) dan faktor biologi (variasi sel, kemampuan biosintesis). Sebagai konsekuensinya, keberhasilan teknik kultur jaringan sangat tergantung pada optimasi variable-variabel tersebut.

Keberhasilan kultur jaringan tidak lepas dari bagian tanaman yang digunakan. Secara umum bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif (Yusnita, 2003). Menurut Wattimena dkk., (1992) Kalus embriogenik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang masih meristematik yakni dari daun yang masih muda, pucuk tunas, akar, epikotil kecambah, kotiledon muda dan hipokotil kecambah.

Media juga menjadi penentu keberhasilan kultur jaringan, dimana tidak semua eksplan tanaman dapat tumbuh dalam media tanam yang sama, karena masing-masing eksplan membutuhkan media tanam sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangan (Sofia, *et al.*, 2005). Media MS (*Murashige and skoog*) merupakan media dasar, menurut Gamborg dan Shyluk (1981) dalam Purwantono & Mardin (2007) media MS dicirikan dengan kandungan garam-garam anorganik yang tinggi. Media MS merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro, mikro yang lengkap dan vitamin untuk pertumbuhan, sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman.

Pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro* dikendalikan oleh keseimbangan dan interaksi dari zat pengatur tumbuh yang berada dalam eksplan (endogen) dengan zat pengatur tumbuh yang diserap dari media tumbuh (eksogen). Pemberian zat pengatur tumbuh yang tepat akan mempengaruhi pertumbuhan dari kalus. Menurut Azriati *et al.* (2010), zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan pada media kultur *in vitro* adalah ZPT golongan auksin dan sitokinin. Selanjutnya menurut Lestari (2011) dalam Sitingjak, *et al.* (2015) bahwa, penambahan auksin atau sitokinin yang seimbang akan berdampak pada munculnya kalus, sehingga diperlukan kombinasi yang tepat agar dapat menginduksi pembentukan kalus yang optimal.

Kurniati (2012) menyatakan, zat pengatur tumbuh 2,4-D memiliki sifat yang lebih baik dibandingkan jenis auksin sintetik lainnya, karena lebih mudah diserap tanaman, tidak mudah terurai dan berfungsi memicu aktivitas morfogenik. Selain itu 2,4-D juga merupakan auksin yang tahan terhadap fotooksidasi. Kartikasari (2013) menambahkan, 2,4-D merupakan golongan auksin sintesis yang mempunyai sifat stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan sel atau pemanasan pada proses sterilisasi. Senyawa 2,4-D berperan dalam memacu hipermethylasi pada DNA, sehingga pembelahan sel selalu dalam fase mitosis. Dengan demikian maka pembentukan kalus menjadi optimal (Maneses, 2005).

Menurut Lestari (2011), pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus. Jenis sitokinin

Benzyladenin (BA) merupakan jenis sitokinin yang paling banyak digunakan untuk memacu peggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang kuat dibandingkan dengan kinetin. BA mempunyai struktur dasar yang sama dengan kinetin tetapi lebih efektif karena BA mempunyai gugus benzyl (Kurniati, 2012).

Penggunaan ZPT jenis auksin dan sitokinin juga telah dilakukan pada beberapa kultur kalus embriogenik. Tavares, *et al* (2010) menginduksi kalus dari daun ashitaba dengan komposisi media MS + 6-BA 1 mg/l + 2,4-D 1 mg/l + NAA 3 mg/l dan dihasilkan kalus yang bertekstur kompak dengan persen eksplan berkalus sebesar 75%. Kalus selanjutnya disubkultur pada media pertumbuhan kalus dengan komposisi media MS + 6-BA 2 mg/l + 2,4-D 1.5 mg/l selama 20-30 hari. Pada penelitian ini hanya digunakan kombinasi 2,4-D dan BA tanpa penggunaan NAA. Lestari (2011) menyatakan penambahan NAA pada media akan menginduksi kalus dengan tekstur kompak. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA untuk menginduksi kalus embriogenik pada kalus ashitaba.

Perbandingan auksin dan sitokinin menentukan bentuk dan struktur kalus. Auksin dan sitokinin yang cukup dan seimbang dibutuhkan dalam kultur *in vitro* karena auksin seperti 2,4-D dapat meningkatkan daya aktivitas dalam memacu pembelahan sel. Pembelahan sel terus menerus tanpa diikuti diferensiasi sel akan menyebabkan terbentuknya kalus. Pada kultur kalus, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT), baik auksin maupun sitokinin, sangat diperlukan. Penggunaan ZPT tersebut secara tunggal atau interaksi dengan

konsentrasi yang tepat diharapkan dapat menginduksi dan meningkatkan pertumbuhan kalus sehingga didapatkan biomassa yang besar.

Dengan konsep interaksi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang diberikan pada media untuk mempercepat pertumbuhan dari kalus maka dilakukan penelitian induksi kalus dari tanaman ashitaba. Jenis eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan asal daun, jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah auksi jenis 2,4-D dan sitokinin jenis BA dan media yang digunakan adalah media dasar MS.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba (*Angelica keiskei*)?
2. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba (*Angelica keiskei*)?
3. Adakah pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba (*Angelica keiskei*)?
4. Bagaimana pengaruh pemberian 2,4-D dan BA terhadap morfologi dan anatomi kalus embriogenik ashitaba (*Angelica keiskei*)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.

2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.
3. Untuk mengetahui pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian 2,4-D dan BA terhadap morfologi dan anatomi kalus embriogenik ashitaba.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.
2. Terdapat pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.
3. Terdapat pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba.
4. Didapatkan morfologi dan anatomi yang menunjukkan kalus embriogenik ashitaba.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan setelah dilakukan penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai alternatif perbanyakan tanaman ashitaba melalui teknik kultur jaringan.
2. Memberikan informasi konsentrasi 2,4-D dan BA yang efektif untuk induksi kalus embriogenik ashitaba.

3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan penelitian selanjutnya.

1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian menggunakan satu media yang seragam, yaitu MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh BA dan 2,4-D.
2. Tanaman ashitaba yang digunakan yang diambil dari perkebunan warga di Desa Ketapang Rame Trawas Mojokerto.
3. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun muda yang berumur 10 hari.
4. Eksplan dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm.
5. Parameter yang diamati adalah hari munculnya kalus, warna kalus, tekstur kalus, berat basah kalus, dan persen ekplan berkalus.
6. Kalus yang diinginkan adalah kalus embriogenik dicirikan dengan kalus yang berwarna putih kekuningan dan bertekstur remah serta memiliki vakuola yang berukuran kecil, mengandung butir pati dan memiliki inti besar.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Ashitaba (*Angelica keiskei*)

2.1.1. Ashitaba dalam Perspektif Islam

Al-Qur'an mengemukakan secara terperinci keindahan kerajaan Tuhan yang hadir dalam dunia tumbuhan dan tumbuh subur karena tersiram air. Demikian pula tanaman yang tumbuh subur itu memiliki keanekaragaman jenis yang juga diikuti dengan keanekaragaman manfaat bagi kehidupan manusia. Sebagaimana firman dalam surat thaha ayat 53 sebagai berikut:

وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن تَبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

Artinya: “Dan kami turunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (Qs. Thaha: 53)”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010) adapun lafal شَتَّىٰ menjadi sifat sifat dari lafal ازواج yang mengandung arti bermacam-macam warnanya, rasanya dan sebagainya. Dan kata شَتَّىٰ adalah bentuk jamak dari kata شَتَّىٰ, seperti kata مَرِيضٌ dan مَرَضِيٌّ. Berasal dari ungkapan شَتَّىٰ الْأَمْرُ yang berarti berbeda-beda. Selanjutnya dalam tafsir *Ibnu Katsir* (2007) dijelaskan tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam di sini merupakan tumbuh-tumbuhan berupa tanaman-tanaman dan buah-buahan, ada yang rasanya masam, ada yang manis, dan ada yang pahit, serta berbagai jenis lainnya dari hasil tanaman dan buah-buahan. Tumbuhan yang bermacam-macam itu ternyata masing-masing memiliki manfaat dan keunggulan tersendiri. Salah satu manfaat dari tumbuhan adalah sebagai bahan

obat untuk berbagai macam penyakit. Allah berfirman dalam Al-Qur'an Surat luqman ayat 10 berikut ini:

وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Qs.Luqman: 10).

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010) (*Dan Kami turunkan*) dimana dalam ayat ini mengandung *إِنْتِفَاتٍ* (berbelok/beralih) dari *عَنْبِهِ*, seharusnya *وَأَنْزَلْنَا* (air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik) dari jenis tumbuh-tumbuhan yang baik. Di antara jenis-jenis tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki manfaat untuk dijadikan obat. Salah satu tumbuhan yang sekarang banyak dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman ashitaba (*Anelica keiskei*) yang mana tanaman ashitaba dianggap sebagai “*the new era of medicines*” (Sembiring & Manoi, 2010).

2.1.2. Klasifikasi Ashitaba (*Angelica keiskei*)

Tanaman ashitaba (*Angelica keiskei*) merupakan tanaman yang tumbuh liar di daerah tandus, berbatu dan berpasir. Ashitaba merupakan tanaman yang masih memiliki kekerabatan dengan tanaman seledri, pegagan, wortel, dan adas. Akan tetapi, dari penampilan fisiknya sangat mirip dengan seledri. Tanaman ashitaba tingginya dapat mencapai 1,2 m. Jauh lebih tinggi dibandingkan dengan seledri (Sembiring & Manoi, 2010).

Klasifikasi dari ashitaba (*Angelica keiskei*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Angelica</i>
Spesies	: <i>Angelica keiskei</i>

2.1.3. Deskripsi Ashitaba (*Angelica keiskei*)

Ashitaba merupakan spesies tanaman dari famili Apiaceae, dimana hampir seluruh famili apiaceae ini berbentuk tumbuhan herba, yang mencakup hampir 3000 spesies. Menurut Tjitrosomo (2010) ciri dari famili apiaceae adalah tipe perbungaan yang terkumpul berbentuk payung, yang terdiri dari bunga kecil-kecil.

Menurut Sembiring & Manoi (2010), Bunga ashitaba termasuk bunga hermaprodit (organ jantan dan betina berada dalam satu bunga) dan penyerbukan dilakukan oleh serangga. Tata letak bunga ashitaba yaitu tumbuh di ujung batang dan terkumpul membentuk suatu rangkaian dengan susunan bunga payung majemuk yaitu suatu bunga yang dari ujung ibu tangkainya mengeluarkan cabang-cabang yang sama panjangnya dan bersusun. Tjitrosomo (2010) menambahkan bunga pada apiaceae terkumpul berbentuk payung, yang terdiri dari bunga kecil-kecil. Sepalnya kecil atau tidak ada, dan kelima petal biasanya berwarna putih. Stamen melekat pada bagian atas bakal buah inferior.

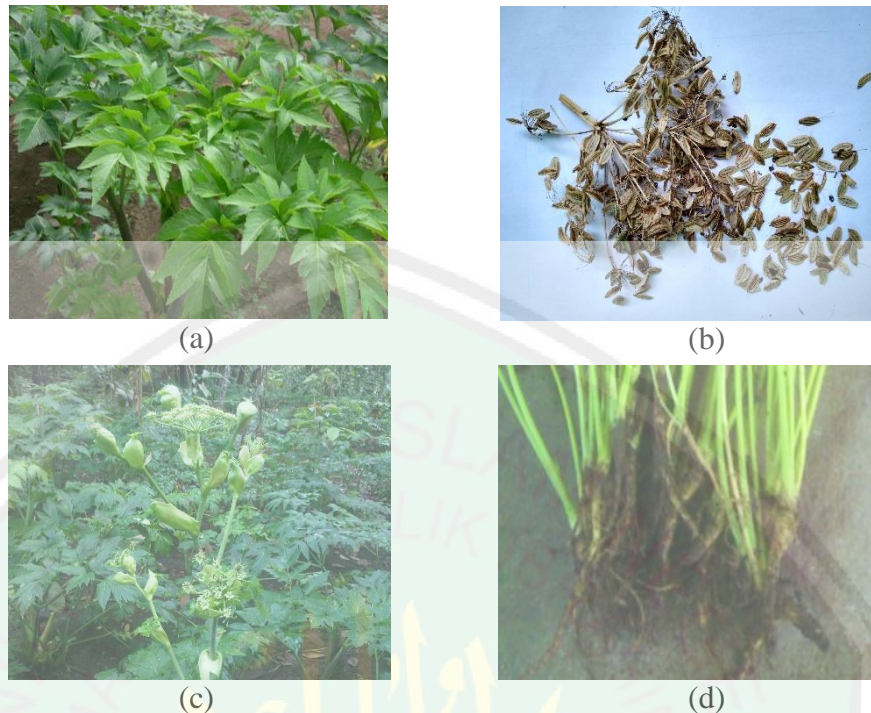
Panjang tangkai 4 - 6 cm yang terdiri dari 12 - 24 tangkai, berwarna hijau muda sampai hijau tua dan pada saat matang berwarna coklat tua.

Ashitaba memiliki batang basah bersusun, berbentuk bulat, beruas dan beralur seperti tanaman herba pada umumnya dan pada saat disayat batangnya akan mengeluarkan getah kuning. Batang ashitaba tumbuh tegak lurus keatas menuju kearah sinar matahari dan memiliki warna hijau muda. Tanaman ashitaba tidak melakukan percabangan, memiliki batang yang lunak dan berkadar air tinggi (Tjitrosomo, 2010).

Daun ashitaba termasuk daun majemuk karena dari mulai pelepah dan ujung tangkai daun-daun mulai tumbuh dengan anak daun yang sebenarnya berjumlah tiga atau lebih (Tjitrosoepomo, 2009). Anak daun mempunyai 3-7 helai daun. Pangkal dan ujung daun meruncing, tepi bergerigi, panjangnya 4-14 cm, lebar 3 - 7 cm, tulangnya menyirip serta tangkai daun panjangnya 4-9 cm.

Ashitaba memiliki sistem perakaran serabut dan dalam perkembangannya akan mengalami modifikasi menjadi akar berbentuk umbi 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 (Sembiring & Manoi, 2011).

Buah skhizokarpium terdiri 2 merikarpium yang memisah ketika masak; biji dengan kulit biji menyatu dengan perikarp, endosperm berminyak (Dasuki, 1991). Biji yang dihasilkan dari tanaman ashitaba berwarna hijau dan ketika sudah tua akan berubah menjadi warna coklat. Tanaman ashitaba bijinya dihasilkan langsung pada bagian bunga yang tersusun dalam payung majemuk.



Gambar 2.1 Bagian tanaman ashitaba (a) daun ashitaba, (b) biji ashitaba, (c) bunga ashitaba, (d) akar ashitaba (<http://ashitaba-jepang.blogspot.co.id/>).

Ashitaba dapat diperbanyak dengan menggunakan biji, yaitu dengan cara merendamnya dalam air dingin selama semalam lalu ditiriskan. Setelah airnya tiris biji disemai dengan cara menaburkannya di atas bedengan pasir yang basah. Selama persemaian, pasir dijaga agar tetap lembab. Setelah kurang lebih 15 hari, benih akan berkecam-bah. Setelah berumur umur 2 bulan, bibit sudah dapat dipindahkan ke lapangan. Pemanenan dapat dilakukan pada umur 4 - 6 bulan, dan biasanya yang dipanen adalah daunnya (Sembiring & Manoi, 2010).

2.1.4. Habitat Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*)

Tanaman ashitaba banyak tumbuh di Jepang tepatnya di pulau Hachijo, yang tumbuh liar di daerah tandus, berbatu dan berpasir dan dekat dengan laut. Ashitaba tumbuh dengan baik di pulau Hachijo dengan ketinggian 584m dari

permukaan laut dengan curah hujan rata-rata 267 mm/tahun serta kondisi tanah yang mengandung kadar unsur hara yang cukup (JNTO, 2017).

Di Indonesia, tanaman ashitaba tumbuh baik di daerah berhawa sejuk dengan ketinggian di atas 500 m dari permukaan laut. Tanaman ashitaba dapat tumbuh di tempat yang terbuka atau terkena cahaya, tahan kering tetapi mampu tumbuh di tempat ternaungi (Sembiring & Manoi, 2010).

Tanaman ashitaba di Indonesia mulai dikembangkan dalam skala percobaan diberbagai daerah diantaranya di Lombok Timur yang berlokasi di Kecamatan Sumbawa Desa Sembalun yang memiliki ketinggian 1200 mdpl. Di Jawa timur ashitaba di kembangkan di daerah Lawang Kabupaten Malang dan di daerah Trawas Mojokerto. Di Jawa Barat ashitaba dikembangbiakan di Kebun Percobaan Manoko, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Senyawa Aromatik Lembang, Bandung (Suhartati & Virgianti, 2015).

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

Ashitaba (*Angelica keiskei*) mengandung zat aktif yang memiliki fungsi sebagai obat (Suhartati & Virgianti, 2015). Batang, daun maupun umbi tanaman ashitaba jika dipotong akan mengeluarkan getah berwarna kuning disebut chalcone yang termasuk golongan senyawa flavonoid. Shibata (1994) dalam (Sembiring & Manoi, 2011) menyatakan bahwa chalcones mempunyai fungsi sebagai antitumorigenic. Jumlah kandungan bahan aktif dalam 100 g ashitaba terdapat xanthoangelol 0,25%, 4-Hydroxyderricin 0,07% dan total chalcone 0,32%. Total flavonoid di dalam pucuk ashitaba berkisar 219 mg/100g per berat basahnya. Selanjutnya menurut Ma'mun *et al.* (2009) dalam (Sembiring &

Manoi, 2011), di dalam ashitaba terdapat zat asam hexadecanoat 2,42%, asam palmitat 5,08%, xanthotoxin 3,12%, asam linoleat 9,17%, pyrimidin 2,70%, strychnidinone 3,18% dan smenochromena 7,55%. Selain zat tersebut di dalam ashitaba juga terdapat vitamin, asam amino dan unsur mineral.

Hasil skrining fitokimia daun, batang dan umbi ashitaba dari Balai Obat Manoko, secara kualitatif menunjukkan bahwa tanaman ashitaba mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid dan glikosida cukup kuat; dan khusus pada daun terdapat senyawa kimia golongan tanin paling kuat yang disebut juga dengan polifenol (Sembiring, 2005) dalam (Suhartati & Virgianti, 2015).

Tanaman ini berpotensi sebagai obat karena dari getahnya yang berwarna kuning mengandung zat chalcone. Shibata (1994) dalam (Suhartati & Nurasih, 2016) menyatakan bahwa chalcone mempunyai fungsi sebagai antitumorigenik. Zat aktif yang terdapat dalam chalcone bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang sering terjadi di Negara berkembang termasuk Indonesia. Inamori, *et al.*, (1991) dalam (Adinata, *et al.*, 2012) menambahkan, Chalcone mampu membersihkan darah, menstimulasi fungsi hati dalam menetralkan racun dan meningkatkan fungsi ginjal dalam membuang racun dari dalam darah secara efisien.

Ekstrak daun ashitaba mempunyai aktivitas sebagai antitumor, kanker (paruparu dan kulit). Selain itu ashitaba juga berpotensi sebagai sumber antioksidan. Menurut Wicaksono & Syafirudin (2003) efek antioksidan ashitaba

melebihi anggur, teh hijau maupun kedelai, yang berfungsi menjaga organ tubuh dan kerusakan sel akibat radikal bebas serta memperlambat proses penuaan. Nilai total aktivitas antioksidan dari ashitaba berkisar 1890 ± 30 mg/g berat kering (Chen *et al.* 2004) dalam (Sembiring & Manoi, 2011). Ashitaba juga berguna sebagai lactagogen, karena mampu menginduksi sekresi susu ibu. Ashitaba yang diberikan untuk sapi sebagai makanannya dapat meningkatkan produksi susu. Disamping itu juga dapat menyembuhkan diabetes, asam lambung, hipertensi, jantung koroner, asma, liver, menurunkan kolesterol, osteoporosis, ginjal, maag dan menambah vitalitas, penghambat proliferasi HIV dan sebagai antibakteri terutama *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis*.

Tanaman ashitaba dapat digunakan sebagai sumber antioksidan terutama bagian daun karena memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas lebih tinggi dibandingkan dengan batang dan umbi yang ditunjukkan dengan nilai (EC_{50}). Ini sesuai pendapat Robinson (1995) dalam Sembiring & Manol (2011), kelompok senyawa tanin dan fenolik dapat berperan sebagai sumber antioksidan. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa tanaman ashitaba dapat digunakan sebagai sumber antioksidan, terutama bagian daun karena kemampuannya dalam menangkap radikal bebas cukup tinggi. Kemampuan polifenol 100 kali lebih efektif menangkap radikal bebas dibanding dengan vitamin C dan 25 kali dari vitamin E.

Menurut Enoki *et al.* (2007) dalam Suhartati & Virgianti (2015), ashitaba dapat disebut sebagai tanaman insulin karena dapat menyembuhkan penyakit diabetes. Daun ashitaba dapat digunakan dalam keadaan mentah atau

direbus sedangkan batang dan akar harus direbus terlebih dahulu, kemudian sari airnya diminum sebagai obat. Untuk penggunaan dalam bentuk serbuk, satu sendok teh serbuk dicampur dengan 150 mL air panas. Ashitaba dapat diolah menjadi simplisia, serbuk, bentuk kapsul dan teh ashitaba.

2.2. Kultur Kalus

Kalus adalah sekumpulan sel amorphous yang terbentuk dari sel-sel jaringan awal yang membelah diri secara terus menerus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ tumbuhan yang mengalami luka, sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan dengan luka tersebut bersifat meristematik dan dapat membentuk massa sel yang tidak terdeferensiasi (Surbarnas, 2011).

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tumbuhan (akar, batang, daun, tunas, hipokotil, polen, endosperm dan mesofil), tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Menurut Endress (1994) dalam Surbarnas (2011) bahwa inisiasi kalus sebaiknya menggunakan eksplan dari jaringan muda. Eksplan tersebut mempunyai kondisi fisiologis untuk dapat diinduksi membentuk kalus pada medium nutrisi yang tepat, setelah terlebih dahulu disterilisasi dan dipotong-potong dalam ukuran kecil.

Pertumbuhan dan perkembangan yang terjadi pada kalus, Proses pembentukan kalus dimulai dengan terdeferensiasinya sel akibat dari pembelahan sel, pemanjangan sel, dan penambahan volume karena terjadinya tekanan turgor sel sehingga sel menjadi besar. Proses ini disebut dengan tumbuh

dan ini dapat dilihat dengan terjadinya pembengkakan pada jaringan eksplan yang dikulturkan. Setelah terjadi proses diferensiasi sel kemudian jaringan akan mengalami dediferensiasi sel yaitu jaringan yang sudah terdeferensiasi menjadi tidak terdeferensiasi dan pada akhirnya akan terbentuk kalus (Soeryowinoto, 1996) dalam (Siregar, 2006). Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam Qur'an surah Al-insyiqaq ayat 19 berikut ini:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*” (Qs.Al-insyiqaq: 19).

Menurut *Tafsir Jalalain* (2009) adapun kata *لَتَرْكَبُنَّ* maksudnya adalah (*sesungguhnya kalian melalui*) hai manusia. Sedangkan *طَبَقًا عَن طَبَقٍ* (*Tingkat demi tingkat*) fase demi fase, yaitu mulai dari mati, lalu dihidupkan kembali, kemudian menyaksikan keadaan-keadaan di hari kiamat. Dalam tafsir *Nurul Qur'an* (2006) juga dijelaskan bahwa, dalam keadaan apapun yang menimpa manusia sangat jelas menunjukkan adanya perubahan-perubahan pasti yang ajeg, sejak dalam kandungan sampai kematiannya. Ini semua membuktikan bahwa ia adalah ‘sesuatu yang diciptakan’ yang membutuhkan pencipta. Karena segala sesuatu yang berubah adalah makhluk mempunyai pencipta. Dari ayat di atas dapat diketahui bahwa manusia akan mengalami perubahan melalui tahapan-tahapan begitu juga tumbuhan (kalus) akan mengalami perkembangan melalui fase-fase pertumbuhan.

Kultur kalus dapat dikembangkan dengan menggunakan eksplan yang berasal dari berbagai sumber, misalnya tunas muda, daun, ujung akar, dan bunga.

Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada eksplan melalui pembelahan sel berulang-ulang. Kultur kalus tumbuh dan berkembang lebih lambat dibandingkan kultur yang berasal dari suspensi sel. Kalus terbentuk melalui tiga tahapan yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium, dan faktor lingkungan. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem berkembang lebih cepat dibanding jaringan dari sel-sel berdinding tipis dan mengandung lignin. Untuk memelihara kalus, maka perlu dilakukan subkultur secara berkala, misalnya setiap 30 hari (Yuwono, 2008).

2.2.1. Tekstur Kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan meremah. Kalus kompak bertekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus meremah bertekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak. Perbedaan tekstur kalus menimbulkan adanya perbedaan kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder. Kalus kompak menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak daripada kalus meremah (Surbarnas, 2011).



Gambar 2.2 Tekstur kalus tanaman jarak pagar (a) kalus kompak, (b) kalus remah (Lizawati, 2012).

Kalus remah sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspense. Kalus kompak dapat menjadi kalus remah akan tetapi kalus remah tidak dapat menjadi kalus kompak. Kalus remah dan kalus kompak mempunyai komposisi kimia yang berbeda. Kalus kompak mempunyai kandungan polisakarida dengan pectin dan hemiselulosa. Kandungan selulosa yang tinggi meningkatkan sel lebih rigid. Pectin yang tinggi sel kuat dan dapat menahan fragmentasi (Aliata, 2008).

Tekstur kalus yang berbeda disebabkan oleh kombinasi auksin dan sitokinin yang digunakan. Namun respon kombinasi auksin dan sitokinin akan berbeda untuk tiap spesiesnya. Penelitian yang dilakukan oleh Bibi (2011) bahwa pada kultur kalus pegagan dihasilkan kalus dengan tekstur remah dan berwarna hijau terang dalam media yang mengandung $5,3\mu\text{M}$ NAA + $2,21\mu\text{M}$ BA. Selain itu, kalus bertekstur kompak dan berwarna hijau dihasilkan pada media yang mengandung $5,37\mu\text{M}$ NAA + $4,42\mu\text{M}$ BA. Berdasarkan hasil penelitian Nazza (2013) media dengan konsentrasi 1 mg/L 2,4-D + 10% air kelapa dihasilkan kalus pegagan bertekstur kompak. Media dengan konsentrasi 3 mg/L 2,4-D + 10% air kelapa menghasilkan kalus intermediet dan media dengan konsentrasi 3 mg/L 2,4-D + 20% air kelapa dihasilkan kalus dengan tekstur remah.

2.2.2. Warna Kalus

Warna kalus juga merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embriogenik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi (Ariati,

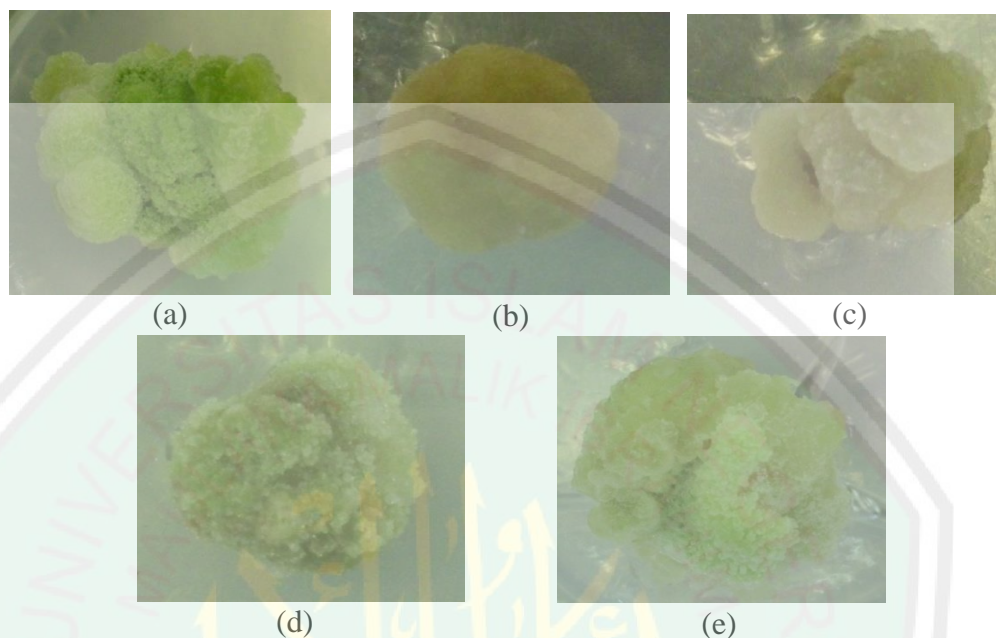
2012). Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya dalam kalus (Dwi, 2012).

Kualitas kalus yang baik memiliki warna hijau. Warna hijau pada kalus adalah akibat efek konsentrasi sitokinin yang tinggi yang mempengaruhi pembentukan klorofil (Riyadi & Tirtoboma, 2004). Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, *et al.*, 2004).

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono & Wijayani (2004) disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang cenderung berwana kecoklatan disebabkan oleh kondisi eksplan yang secara internal mempunyai kandungan fenol tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh (Lizawati, 2012) pada kultur kalus jarak pagar media dengan perlakuan 0 ppm 2,4-D + TDZ secara bertingkat antara 0,5 ppm sampai 2 ppm rata-rata kalus yang terbentuk berwarna hijau. Hanifah (2007) mengemukakan Pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama. Kalus berwarna putih atau kekuningan terjadi pada sebagian besar perlakuan dari tingkat konsentrasi 2,5 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm 2,4-D yang ditambahkan dengan 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm TDZ. Konsentrasi yang tinggi oleh 2,4-D dan tidak adanya penambahan sitokinin

dalam media juga mampu memacu terjadinya *senescensi* yang dapat menghambat proses pertumbuhan kalus.



Gambar 2.3 warna kalus pada eksplan jarak pagar (a) kalus berwarna hijau pada pemberian 0 ppm 2,4-D+2 ppm TDZ (b) kalus berwarna kuning pada pemberian 10 ppm 2,4-D + 0,5 ppm TDZ (c) kalus berwarna putih pada pemberian 10 ppm 2,4-D + 2 ppm TDZ (d) kalus berwarna hijau keputihan pada pemberian 0 ppm 2,4-D + 1 ppm TDZ (e) kalus berwarna hijau kekuningan pada pemberian 0 ppm 2,4-D + 0,5 ppm TDZ (Lizawati, 2012).

2.3. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Di dalam teknik kultur jaringan kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan, Pierik (1997) dalam Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyakan tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Terdapat lima kategori utama zat pengatur tumbuh, yaitu auksin (IAA, NAA, IBA dan 2,4-D), giberelin, sitokinin (kinetin, benziladenil, zeatin), etilen dan penghambat pertumbuhan seperti asam absisat (ABA) (Zulkarnain, 2009).

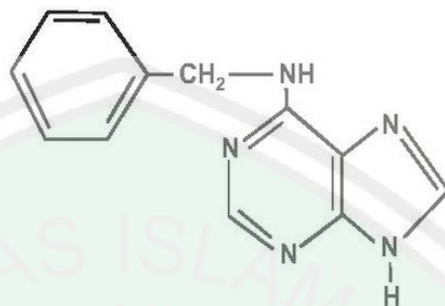
Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman. Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar akan terjadi interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman (Winata, 1987).

Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi “faktor pemicu” dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al.*, 1989) dalam (Lestari, 2011).

2.3.1. Benzyladenine (BA)

Zat pengatur tumbuh BA (*Benzyladenine*) adalah salah satu jenis sitokinin yang mempunyai aktivitas yang kuat dibandingkan dengan kinetin. BA mempunyai struktur dasar yang sama dengan kinetin tetapi lebih efektif karena BA mempunyai gugus benzyl. Flick *et al.* (1993) dalam Lestari (2011) menyatakan bahwa pada umumnya tanaman memiliki respon yang lebih baik terhadap BA dibandingkan terhadap kinetin dan 2-iP sehingga BA lebih efektif untuk produksi tunas *in vitro*. Pada banyak jenis tanaman zat pengatur tumbuh

2-iP merupakan sitokinin yang mempunyai daya aktivitas lebih lemah dibandingkan dengan sitokinin lainnya sehingga jarang digunakan.



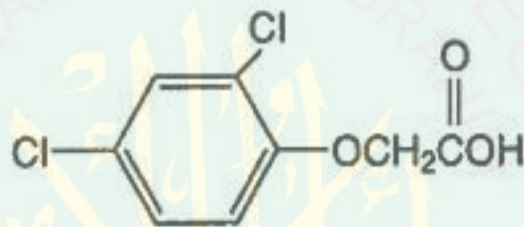
Gambar 2.4 Struktur Kimia *Benzyladenine* (BA) (Abidin, 1983).

Pengaruh pemberian BA dalam teknik kultur jaringan yakni dapat merangsang pembelahan sel (Butar, *et al.*, 2013). Menurut Yusnita (2010) bahwa pemberian BA untuk merangsang perbanyak tunas *in vitro* antara lain untuk meningkatkan jumlah tunas. Butar, *et al.* (2013) melaporkan penambahan BA sebanyak 0,5 ppm lebih berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan tunas tanaman dibandingkan dengan pemberian BA dengan konsentrasi 1,5 ppm pada kultur anggrek. Hasil yang sama juga didapat pada pertumbuhan tunas ubi kayu dimana perlakuan 0,2 mg.l⁻¹ BA diperoleh hasil yang lebih baik dari pada perlakuan BA dengan konsentrasi lebih tinggi yakni 0,8 mg.l⁻¹ (Ardian, *et al.*, 2011).

2.3.2. 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D)

2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) merupakan auksin tiruan yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik (Bhojwani & Razdan, 1996). Dibandingkan dengan golongan auksin IAA, 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah, 2013).

Menurut Abidin (1983), aktivitas auksin ditentukan oleh adanya struktur cincin yang tidak jenuh, adanya rantai keasaman (*acid chain*), pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, dan adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mempunyai *carboxyl group* dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen akan memberikan aktivitas yang optimal. Sebagai contoh yaitu IAA dan 2,4-D mempunyai aktivitas cukup tinggi karena persyaratan di atas terpenuhi.



Gambar 2.5 Struktur Kimia 2,4- *Dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D)
(Zulkarnain, 2009)

Zat pengatur tumbuh yang dikenal, auksin kuat seperti 2,4-D dikenal sebagai komponen media tumbuh yang mampu menginduksi kalus embriogenik pada berbagai jenis tanaman. Penambahan 2,4-D dalam media menurut Rahayu dkk., (2002) akan dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Selain itu menurut Harjadi (2009) 2,4-D juga dapat digunakan untuk herbisida gulma berdaun lebar.

2,4-D sebagai auksin menyebabkan perluasan dan pemanjangan sel tidak terjadi tetapi memicu pembelahan sel. Pembelahan sel yang berlebihan dan tidak diikuti dengan perluasan dan pemanjangan mengakibatkan terjadinya kalus. Pemberian 2,4-D pada medium dasar kultur *in vitro* dapat menginduksi

kalus dan menyebabkan pertumbuhan kalus terus berlangsung (Krinkorian, 1995).

Kisaran konsentrasi hormon 2,4-D yang cocok untuk menginduksi pembentukan kalus adalah antara 0,5-2 mg/l. Pada kultur kalus beberapa kultivar padi penambahan 2,4-D saja dalam media mampu menginduksi kalus. Hasil yang sama juga didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2005) pada kultur kalus pegagan perlakuan 2,4-D saja menghasilkan pengaruh secara nyata terhadap berat basah dan kering kalus yang berasal dari daun dan tangkai daun pada umur 8 dan 16 minggu setelah tanam. Pada kultur kalus pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah dimana secara umum rata-rata berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/l dan 5 mg/l). Pembentukan kalus pegagan yang baik diperoleh dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam konsentrasi rendah (0,1 mg/l – 1,0 mg/l). Nazza (2013) juga mengemukakan bahwa media yang di suplementasi dengan 2 mg/L 2,4-D merupakan media yang tepat untuk induksi kalus pegagan dengan cepat yakni 1,25 hari.

Konsentrasi 2,4-D yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena telah melebihi konsentrasi optimum untuk pertumbuhan eksplan. Disamping itu di dalam vakuola banyak terdapat senyawa flavons dan quinons yang pada proses oksidasi akan berikatan dengan oksigen menghasilkan brown polimers yang menyebabkan eksplan menjadi coklat. Selanjutnya eksplan akan kering dan mati. Hal ini diduga karena pemberian 2,4 D yang berlebihan fungsinya berubah sebagai herbisida (Hendaryono,1994).

2.3.3. Interaksi 2,4-D dan BA

Menurut Chaudhury dan Qu (2000) dalam Sitinjak (2006) auksin yang digunakan bersama-sama dengan sitokinin dapat menstimulasi embriogenesis, namun untuk menginduksi embriogenesis somatik, diperlukan ratio tertentu dari auksin dan sitokinin tersebut. Kombinasi konsentrasi optimum 2,4-D dan BA yang diberikan pada kultur meristem ini, selain merupakan penginduksi kalus embriogenik (yang dibutuhkan pada embryogenesis somatik) yang sangat efektif dan efisien dalam memacu aktivitas morfogenesis, juga dapat memperbaiki kecepatan pembentukan sel dan massa sel embriogenik.

Zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan auksin kuat yang berinteraksi dengan hormon endogen pada jaringan kultur meristem. Sedangkan penambahan BA diduga untuk meningkatkan pembelahan sel yang diinduksi oleh 2,4-D. Dalam hal ini 2,4-D diduga berperan dalam menginduksi kalus, sementara sitokinin menstimulasi struktur kalus remah (Sitinjak, *et al.*, 2006).

Pada umumnya pemberian auksin ke dalam medium padat tanpa sitokinin dapat menginduksi kalus embriogenik, tetapi dengan ditambahkan sitokinin akan meningkatkan proliferasi kalus embriogenik. Contohnya pada kultur bunga muda *Cynodon dactylon* (L.) Pers., dalam medium MS yang mengandung 1-3 mg/L 2,4-D menghasilkan kalus non-embriogenik. Kualitas dan kemampuan regenerasi kultur kalus embriogenik dapat ditingkatkan dengan penambahan 0,01 mg/L BA. Demikian juga pada induksi kalus *Zingiber officinale* Rose) Kombinasi konsentrasi 1 mg/L 2,4-D dengan 3 mg/L BA

berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik hingga mencapai 93,33% per eksplan, 8 minggu setelah kultur (Sitinjak, *et al.*, 2006).

2.4. Media MS

Keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang media yang akan digunakan. Banyak formulasi media yang ada antara lain, media dasar Murashige dan Skoog (1962) yang dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, media dasar B5 untuk kultur sel kedelai dan legume lainnya, media dasar White (1934) sangat cocok untuk kultur akar tanaman tomat, media dasar Vacin Went (1949) digunakan untuk kultur jaringan anggrek, media dasar Nitsch dan Nitsch (1969) digunakan dalam kultur tepung sari (pollen) dan kultur sel, media dasar Schenk dan WPM (Woody Plant Medium, 1981) khusus untuk tanaman berkayu.

Media MS merupakan media dasar yang dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, menurut Gamborg dan Shyluk (1981) dalam Purwantono & Mardin (2007) media MS memiliki komposisi media berupa makronutrien terdiri atas NH_4NO_3 1.650mg/l, KNO_3 1.900mg/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 332,2mg/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370 mg/l, KH_2PO_4 170mg/l. Komponen mikronutrien terdiri atas KI 0,83 mg/l, H_3BO_3 6,2mg/l, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 16,9mg/l, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,6mg/l, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25mg/l, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, Na_2EDTA 37,3mg/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8mg/l. Komponen vitamin dan asam amino yang terdiri atas Thiamin HCL 0,1mg/l, asam nicotinic 0,5mg/l,

pyridoxine HCL 0,5mg/l, Glycine 2,0mg/l, myo-inositol 100mg/l. Disusun juga dari komponen lain berupa sukrosa 30mg/l, dan agar 7 gr/l.

Media MS merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman. Lebih lanjut Marlina (2004) menyatakan bahwa Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium dan ammoniumnya yang tinggi, dan jumlah hara anorganiknya yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak sel tanaman dalam kultur (Wetter, 1991). Firman Allah dalam surat Al-A'raf ayat 58 sebagai berikut:

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

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” (Al-A'raf: 58).

Menurut *Tafsir Jalalain* (2008) adapun kata وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ (Dan tanah yang baik) yang subur tanahnya- يَخْرُجُ نَبَاتُهُ (Tanaman-tanamannya tumbuh subur) tumbuh dengan baik- بِإِذْنِ رَبِّهِ (Dengan seizing Tuhannya) hal ini merupakan perumpamaan bagi orang mukmin yang mau mendengar petuah atau nasihat, kemudian ia mengambil manfaat dari nasihat itu- وَالَّذِي خَبثَ (dan tanah yang tidak subur) jelek tanahnya لَا يَخْرُجُ (tidaklah mengeluarkan) tanamannya- إِلَّا نَكِدًا (kecuali tumbuh merana) sulit dan susah tumbuh. Hal ini merupakan perumpamaan bagi orang yang kafir- كَذَلِكَ (demikianlah) seperti apa yang telah

kami jelaskan **نُصِرْفُ** (kami menjelaskan) menerangkan- **الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ** (ayat-ayat kami kepada orang-orang yang bersyukur) terhadap Allah, kemudian mereka mau beriman kepada-Nya.

Karena alasan inilah perlu adanya kecocokan antara eksplan dari tanaman dengan media yang digunakan dikarenakan media merupakan faktor penting dalam penentu keberhasilan *in vitro*. Sehingga penggunaan media yang memenuhi syarat tumbuh eksplan akan menghasikan tanaman yang subur dan begitu pula sebaliknya. Menurut Fithriyandini, *et al* (2015) media adalah faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan dan berpengaruh sangat besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya.

2.5. Induksi Kalus Embriogenik

Kalus yang terbentuk dalam kultur *in vitro* dibedakan menjadi dua macam, yaitu kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman (Surbarnas, 2011).

Dalam regenerasi melalui embriogenesis, terdapat beberapa tahapan dari eksplan menjadi tanaman lengkap yang meliputi: tahapan induksi, proliferasi, dan diferensiasi jaringan. Proses pembentukan embrio somatic pada umumnya didahului dengan pembentukan jaringan embrionik, selanjutnya

pembentukan struktur embrio globular, hati, torpedo dan kotiledonari (Handayani, 2008).

Kalus yang embrionik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang masih bersifat meristematik. Menurut Wattimena, dkk. (1992) eksplan yang dapat digunakan untuk induksi kalus embrionik adalah daun yang masih muda, pucuk tunas, akar, epikotil kecambah, kotiledon muda, dan hipokotil kecambah. Selanjutnya menurut Gray (2005) dalam Handayani (2008) kalus yang embrionik dapat diinduksi dari sel somatik diduga karena dikendalikan oleh sekumpulan gen dan adanya kemampuan totipotensi sel untuk tumbuh menjadi tanaman lengkap. Sel-sel embrionik biasanya berukuran kecil dengan sitoplasma yang banyak serta banyak kandungan patinya. Dan sebaliknya pada kalus non-embrionik dimana selnya berukuran besar dengan vakuola yang berukuran besar.

Komposisi media kultur merupakan faktor penentu keberhasilan pembentukan kalus embrionik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sitinjak, dkk. (2006) kombinasi konsentrasi terbaik untuk menginduksi kalus embriogenik dari meristem jahe hingga mencapai 93,33% per eksplan adalah 1mg/l 2,4-D + 3 mg/l BA. Dan ketika konsentrasi 2,4-D semakin dinaikkan justru kualitas kaus semakin menurun. Hasil yang berbeda didapat pada penelitian Indria (2016) dimana induksi kalus embriogenik rumput gajah didapatkan dengan komposisi media 2,4-D 3 mg/l + BA 0,9 mg/l.

2.6. Kultur Jaringan Tanaman Ashitaba

Xiu-li (2012) melaporkan, media terbaik untuk induksi tunas ashitaba dengan menggunakan komposisi media berupa MS yang ditambahkan dengan

1.0mg/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.

Tavares, *et al* (2010) menginduksi kalus dari daun ashitaba dengan komposisi media MS + 6-BA 1 mg/l + 2,4-D 1 mg/l + NAA 3 mg/l. Kalus diinduksi pada suhu 24°C dengan intensitas cahaya 2000Lx dan lama pencahayaan 16 jam terang dan 8 jam gelap. Waktu yang dibutuhkan untuk munculnya kalus 20-30 hari. Kalus selanjutnya disubkultur pada media pertumbuhan kalus dengan komposisi media MS + 6-BA 2 mg/l + 2,4-D 1.5 mg/l selama 20-30 hari. Suhu untuk pertumbuhan kalus yakni 25°C dengan lama pencahayaan 16 jam terang dan 8 jam gelap dan digunakan intensitas cahaya 3000LX.

Hasil induksi kalus dari daun ashitaba juga dilaporkan oleh Zhi-you (2010) bahwa kombinasi yang optimum adalah 6-BA 2.0 mg/L + NAA 2.0-2.5 mg/L. Untuk induksi pertunasan di gunakan interaksi hormon 6-BA 2.0 mg/L + N6. Sedangkan untuk induksi akar, hasil optimal ditunjukkan oleh kombinasi media N6 + NAA 0.5 mg/L + AC 3.0 mg/L. Untuk mencegah penuaan kalus dilakukan penambahan CH 50.0 mg/L.

Huang, *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa, induksi kalus *Angelica sinensis* dengan menggunakan tangkai daun didapatkan hasil terbaik untuk induksi kalus dengan komposisi media terbaik 5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BA + 0,7 mg/L 2,4-D + 30 g/L sukrosa dan 7,5 g/L agar.

Komposisi media yang efektif untuk menginduksi kalus dengan eksplan berupa tangkai daun adalah MS yang ditambahkan dengan 1-2 mg/L 2,4-D dan

0, 0.01 dan 0.1 mg/L BA pada suhu 25⁰C. Untuk kultur yang berasal dari akar digunakan media MS yang ditambahkan dengan 0; 0.05; 0.1; 0.5; 1.0 dan 2.0 mg/L 2,4-D pada suhu 25⁰C dalam keadaan gelap (Furuya & Hosoki, 2004).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Juli-Agustus 2017.

3.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 2 faktor perlakuan. Perlakuan yang digunakan yaitu perbedaan konsentrasi hormon 2,4-D dan BA. Masing-masing perlakuan 3 ulangan.

1. Faktor 1: Perlakuan konsentrasi 2,4-D terdiri dari 4 taraf:

D1 = 0 mg/L

D2 = 0,5 mg/L 2,4-D

D3 = 0,75 mg/L 2,4-D

D4 = 1 mg/L 2,4-D

2. Faktor 2: perlakuan konsentrasi BA terdiri dari 4 taraf:

B1 = 0 mg/L BA

B2 = 0,5 mg/L BA

B3 = 1 mg/L BA

B4 = 1,25 mg/L BA

Tabel 3.1 Interaksi perlakuan pemberian ZPT

ZPT		2,4-D			
		D ₀	D _{0.5}	D _{0.75}	D ₁
BA	B ₀	B ₀ D ₀	B ₀ D _{0.5}	B ₀ D _{0.75}	B ₀ D ₁
	B _{0.5}	B _{0.5} D ₀	B _{0.5} D _{0.5}	B _{0.5} D _{0.75}	B _{0.5} D ₁
	B ₁	B ₁ D ₀	B ₁ D _{0.5}	B ₁ D _{0.75}	B ₁ D ₁
	B _{1.25}	B _{1.25} D ₀	B _{1.25} D _{0.5}	B _{1.25} D _{0.75}	B _{1.25} D ₁

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah LAF (*Laminar Air Flow*), timbangan analitik, botol kultur, pengaduk kaca, spatula, gelas ukur, Erlenmeyer, cawan petri, bunsen, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), oven, autoklaf, lampu, *Sprayer*, pH meter, lemari pendingin, rak kultur, AC (*Air Conditioner*), *magnetic stirrer*, tisu, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, plastik, karet, kompor dan panci pemanas.

3.3.2. Bahan-bahan

Bahan utama yang digunakan adalah bagian daun tanaman ashitaba yang berumur 10 hari. Bahan untuk sterilisasi adalah detergen, alkohol 75%, alkohol 96%, desinfektan 2%, dan aquades steril. Media dasar yang digunakan adalah media MS (*Murashige & skoog*). ZPT yang digunakan 2,4-D dan BA. Bahan lain untuk pembuatan media adalah gula dan agar.

3.4. Langkah Kerja

3.4.1. Sterilisasi Alat-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 $\pm 120^{\circ}\text{C}$.
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 dengan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.

3.4.2. Pembuatan Media Induksi Kalus

Media yang digunakan dalam induksi pertumbuhan kalus, dalam 1 liter media adalah:

1. Ditimbang media MS sebanyak 4.43gr, gula 30 gr, dan agar 7 gr.
2. Dimasukkan media MS dan gula kedalam aquades 1000ml kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* di atas hot plate.
3. Dibagi media kedalam 16 botol dan ditambahkan ZPT untuk masing-masing perlakuan.
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-agar 8gr.
6. 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 ruamh 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. Tahap Inisiasi

3.4.5.1. Penanaman Eksplan

1. Diambil daun muda berumur 10 hari dari tanaman yang sudah berumur 3 tahun.
2. Dialiri dengan air selama 1 jam.
3. Direndam dengan 75% alcohol selama 30 detik, kemudian dibilas dengan aquades steril 1 kali.
4. Direndam dengan clorox 2% selama 10 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril 3 kali.
5. Diambil daun ashitaba yang sudah steril dan dipotong 1 x 1 cm.
6. Ditanam pada media MS dengan penambahan ZPT 2,4-D dan BA dengan posisi daun tertelungkup.
7. Botol-botol yang telah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 23°C serta diamati setiap hari selama 40 hari. Keadaan ruang kultur harus steril.

3.4.5.2. Tahap Pemeliharaan

Botol-botol yang telah terisi eksplan diletakkan dalam rak kultur dan disemprot dengan alkohol 70% setiap 3 hari sekali. Suhu yang digunakan adalah $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.4.6. Tahap Pengamatan

3.4.6.1. Hari Munculnya Kalus

Pengamatan hari munculnya kalus dilakukan setiap hari dimulai setelah penanaman. Satuan parameter hari munculnya kalus adalah hari keberapa kalus terbentuk pada eksplan, dihitung dari hari setelah tanam (HST) yang ditandai dengan membengkaknya eksplan dan munculnya bintik-bintik putih.

3.4.6.2. Warna dan Tekstur Kalus

Pengamatan dilaksanakan pada hari ke-40 setelah tanam (HST) dilakukan untuk mengamati warna kalus dan tekstur kalus yang terbentuk.

1. Satuan parameter warna kalus adalah dilihat dari warna kalus yang terbentuk, misalnya warna putih kehijauan (PH), putih kekuningan (PK), kekuningan (K), dan hijau (H).
2. Satuan parameter tekstur kalus adalah dilihat dari bentuk kalus yang nampak, misalnya tekstur kalus remah (R), tekstur kalus kompak (K), tekstur kalus campuran (C).

3.4.6.3. Berat Basah Kalus

Pengamatan dilakukan pada hari ke-40 setelah tanam (HST). Berat basah kalus didapatkan dengan cara memotong bagian eksplan yang sudah terbentuk kalus dan ditimbang menggunakan timbangan analitik dengan satuan gram (g).

3.4.6.4. Persen Eksplan Berkalus

Dilakukan pada hari ke-40 setelah tanam (HST). Persen eksplan berkalus didapatkan dengan menghitung berapa persen (%) dari eksplan yang sudah membentuk kalus.

3.4.6.5. Pengamatan Anatomi Kalus

Dilakukan pada hari ke-40 setelah tanam (HST). Pengamatan anatomi dilakukan dengan cara membuat preparat kalus menggunakan teknik *squash* dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop.

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, persentase eksplan berkalus. Data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara diskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji statistic *Analisis Varian (ANOVA) dua jalur* menggunakan aplikasi SPSS 17.0. Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range (DMRT)* pada taraf 5% untuk mengetahui konsentrasi ZPT terbaik.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba.

Hasil analisis variasi (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus daun ashitaba (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variasi disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Variabel	F-hitung	F tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	102,9333*	2.90112
Berat Basah Kalus	309,4368*	2.90112
Persen eksplan berkalus	434,9333*	2.90112

Keterangan : * Kadar 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa F hitung variabel hari muncul kalus, berat basah kalus dan persen eksplan berkalus lebih besar dari F tabel, yang artinya konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap semua variabel yang diamati. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%.

Tabel 4.2 Hasil uji DMRT 5% pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Konsentrasi 2,4-D (mg/l)	Rata-rata hari muncul kalus	Rata-rata berat basah kalus (g)	Rata-rata persen eksplan berkalus (%)
0	15,0833d	0,02882a	7,5a
0.5	12,3333b	0,1548b	37,91b
0.75	10a	0,18527c	45c
1	13,25c	0,16403b	38,75b

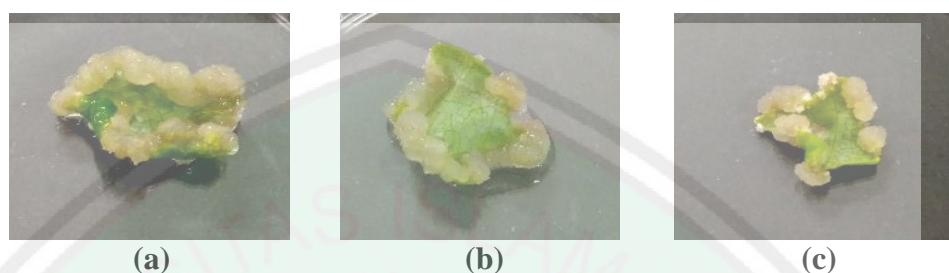
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan berdasarkan uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil DMRT 5% menunjukkan bahwa pada variabel hari muncul kalus, konsentrasi 2,4-D 0,75 mg/l merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi kalus ashitaba yakni pada 10 HST dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lama adalah perlakuan 2,4-D 0 mg/l yaitu pada 15,08 HST. Pada penelitian ini tanpa kehadiran auksin sudah mampu menginduksi kalus. Munculnya kalus diduga karena kandungan auksin endogen pada daun ashitaba tinggi, sehingga tanpa adanya auksin eksogen sudah mampu menginduksi kalus. Hal ini sesuai dengan Wattimena (1998) yang menyatakan bahwa, pada daun yang masih meristematik disintesis hormon jenis auksin, sehingga tanpa penambahan zat pengatur tumbuh jenis auksin sudah bisa terbentuk kalus.

Selanjutnya pada variabel berat basah kalus pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 0 mg/l menghasilkan rata-rata berat basah kalus paling rendah yakni 0,02882g. Dan rata-rata berat basah kalus tertinggi didapatkan pada perlakuan 2,4-D 0,75 mg/l dengan berat basah kalus sebesar 0,18527g. Hasil yang serupa didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Fitriani (2006) konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D pada eksplan daun sambiloto mampu menghasilkan berat basah kalus paling tinggi yakni sebesar 0,33g.

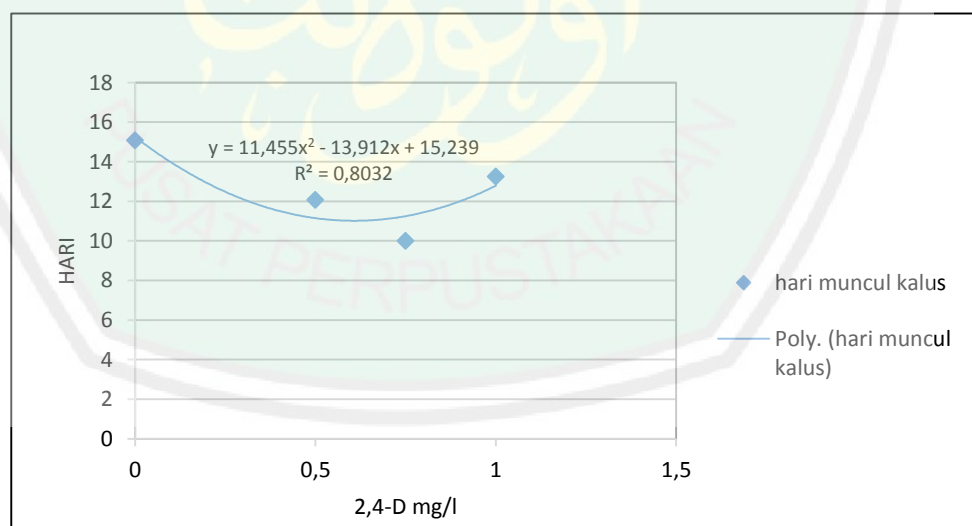
Pada variabel persen eksplan berkalus didapatkan persen eksplan membentuk kalus tertinggi pada perlakuan 2,4-D 0,75 mg/l yakni sebesar 45% dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Sedangkan rata-rata persen eksplan berkalus yang paling rendah dihasilkan oleh perlakuan 2,4-D 0 mg/l yaitu sebesar 7,5%. Hal ini serupa dengan Nazza (2013) bahwa media dengan

perlakuan 1 mg/l 2,4-D didapatkan persentase kalus daun pegangan tertinggi yakni 60% dibandingkan dengan perlakuan 2 mg/l 2,4-D dengan persen ekplan berkalus 16,08%.



Gambar 4.1. Kalus pada berbagai perlakuan 2,4-D (a) kalus 11 HST pada pemberian BA 1 mg/l + 2,4-D 0,75 mg/l (b) kalus dengan berat basah 0,18527g pada pemberian BA 1,25 mg/l + 2,4-D 0,75 mg/l (c) kalus dengan persen eksplan berkalus 45 % pada pemberian BA 0,5 mg/l + 2,4-D 0,75 mg/l.

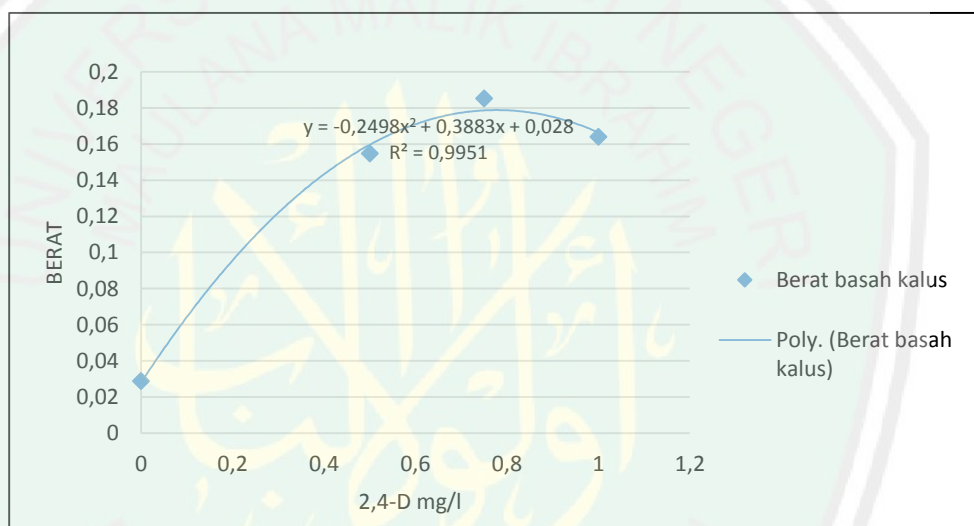
Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari 2,4-D yang dapat meningkatkan induksi kalus dilakukan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi tersaji pada gambar 4.2; 4.3 dan 4.4.



Gambar 4.2 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap hari muncul kalus.

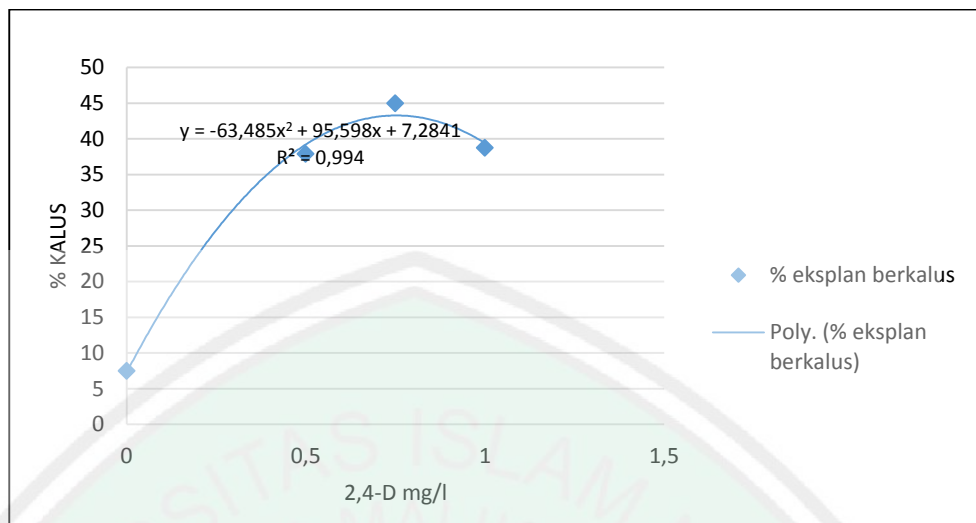
Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variable hari muncul kalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = 11,455x^2 - 13,912x + 15,239$

dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,8032$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus yakni sebesar 80,32%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = 11,455x^2 - 13,912x + 15,239$ bahwa perlakuan 2,4-D terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,60 ; 11,01) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah 0,60 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus 11,01 HST.



Gambar 4.3 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap berat basah kalus.

Hasil analisis regresi untuk variable berat basah kalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,2498x^2 + 0,3883x + 0,028$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9951$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dengan berat basah kalus yakni sebesar 99,51%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -0,2498x^2 + 0,3883x + 0,028$ bahwa perlakuan 2,4-D terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,77 ; 0,1788) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk berat basah kalus adalah 0,77 mg/l dengan rata-rata berat basah kalus 0,1788g.



Gambar 4.4 Kurva regresi pengaruh 2,4-D terhadap persen eksplan berkalus.

Hasil analisis regresi untuk variable persen eksplan berkalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -63,485x^2 + 95,598x + 7,2841$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,994$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dengan persen eksplan berkalus yakni sebesar 98,12%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -63,485x^2 + 95,598x + 7,2841$ bahwa konsentrasi 2,4-D terhadap persen eksplan berkalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,75 ; 43,27) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan persentase eksplan kalus adalah 0,75 mg/l dengan rata-rata persentase eksplan kalus adalah 43,27%.

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.2; 4.3 dan 4.4 pertumbuhan kalus mengalami peningkatan dengan bertambahnya konsentrasi 2,4-D (0,6 - 0,75 mg/l) dan mengalami penurunan dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 1 mg/l. hal ini diduga konsentrasi auksin di dalam jaringan telah melebihi konsentrasi optimum. Menurut Lizawati (2012) konsentrasi 2,4-D yang tinggi dan tidak adanya penambahan sitokinin dalam media juga

mampu memacu terjadinya senesensi yang dapat menghambat proses pertumbuhan kalus. Pierik (1997) menambahkan pada konsentrasi tertentu zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi pertumbuhan menjadi optimal, akan tetapi terkadang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan pada konsentrasi tinggi.

Hasil yang serupa didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2005) pada kultur kalus pegagan. Dimana pada kultur kalus dari tangkai daun pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah. Secara umum rata-rata berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/l dan 5 mg/l). Pembentukan kalus pegagan yang baik diperoleh dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam konsentrasi rendah (0,1 mg/l – 1,0 mg/l). Begitu juga penelitian yang dilakukan oleh Nazza (2013), pertumbuhan kalus daun pegagan terbaik didapatkan pada konsentrasi 2,4-D 1 mg/l dengan berat basah kalus 0,75g dan persen eksplan berkalus 60%.

Hasil yang berbeda pada Lizawati (2012) pada kultur tunas apikal tanaman jarak pagar. Didapatkan persentase pembentukan kalus embriogenik tertinggi pada perlakuan 2,5 ppm 2,4-D yakni sebesar 1,77%. Selanjutnya pada penelitian Admojo, dkk. (2014) kombinasi media dasar MS + 2,4-D 5 ppm memberikan respon induksi kalus terbaik pada tangkai dan ketiak tangkai taman karet klonal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg).

4.2. Pengaruh Pemberian BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba.

Berdasarkan hasil analisis variasi (ANAVA) dapat diketahui bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh BA memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus ashitaba (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variasi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Ringkasan Hasil ANAVA Pengaruh BA terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Variabel	F-hitung	F tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	1651,733*	2.90112
Berat Basah Kalus	729,6244*	2.90112
Persen eksplan berkalus	828,1778*	2.90112

Keterangan : * Kadar BA berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis variasi pada variabel hari muncul kalus, berat basah kalus dan persen eksplan berkalus didapatkan F hitung lebih besar dari F tabel. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus ashitaba. Oleh karena itu diuji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%.

Tabel 4.4 Hasil uji DMRT 5% pengaruh BA terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Konsentrasi BA (mg/l)	Rata-rata hari muncul kalus	Rata-rata berat basah kalus (g)	Rata-rata persen eksplan berkalus (%)
0	0a	0a	0a
0.5	17,5833c	0,09078b	30,83333b
1	16,0833b	0,23597d	50,41667d
1.25	17c	0,20613c	47,91667c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan berdasarkan uji DMRT 5%.

Hasil DMRT 5% menunjukkan bahwa pada Perlakuan BA 0 mg/l kalus tidak terbentuk. Pada perlakuan tersebut eksplan hanya mengalami penebalan walaupun sudah dikulturkan dalam jangka waktu 40 hari. Penebalan pada

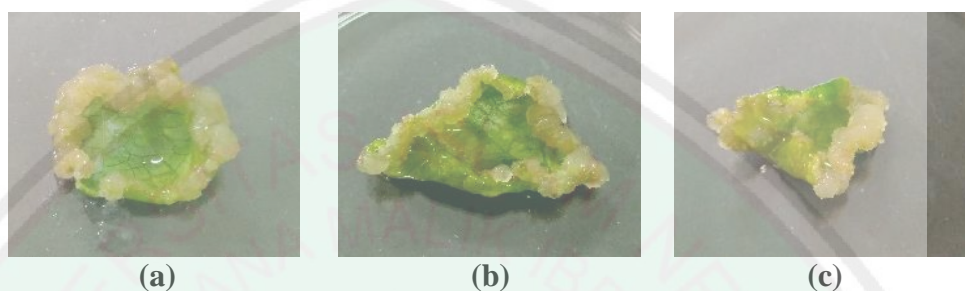
eksplan menurut Gunawan (1987) disebabkan karena terjadi pengasaman pada dinding sel akibat penambahan auksin. Selanjutnya menyebabkan susunan matrix dinding sel merenggang, akibatnya air menjadi masuk ke dalam sel, sehingga sel membesar dan terjadi penebalan pada eksplan. Hasil yang sama didapatkan pada penelitian Sumadji (2015) pada kultur pada tiga jenis biji padi (IR64, Metik wangi, Rojolele) sampai pada 42 HST tidak terbentuk kalus.

Pada variabel hari muncul kalus dapat diketahui bahwa perlakuan 1 mg/l BA dapat menginduksi kalus paling cepat yakni pada 16,08 HST. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lama adalah perlakuan 2,4-D 0,5 mg/l yaitu pada 17,5 HST. Hasil ini sesuai dengan Harahap (2005) pada kultur kalus yang berasal dari tangkai daun, konsentrasi BA 1 mg/l mampu menginduksi kalus paling cepat yakni pada 1 MST jika dibandingkan dengan konsentrasi BA 0,5 mg/l yang baru menginduksi kalus pada 3 MST.

Variabel berat basah kalus perlakuan 2,4-D 1 mg/l merupakan perlakuan konsentrasi yang dapat menghasilkan berat basah kalus paling tinggi yakni sebesar 0,23597g. Sedangkan berat basah kalus paling rendah didapatkan pada perlakuan 2,4-D 0,5 mg/l yakni sebesar 0,09078g. Hal ini sesuai dengan Harahap (2005) dimana konsentrasi BA 1mg/l mampu menghasilkan berat basah kalus paling tinggi yakni sebesar 0,908g yang berasal dari tangkai daun dan 0,587g dari daun tanaman pegagan.

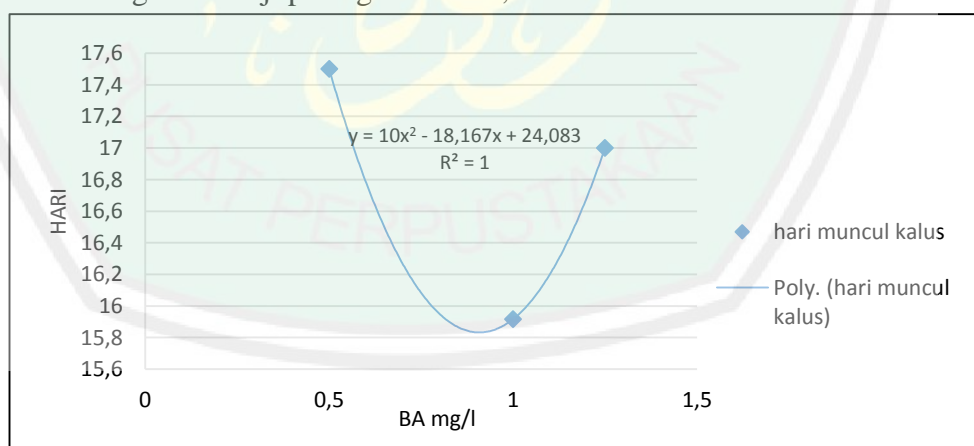
Dan untuk variabel persen eksplan berkalus didapatkan persen eksplan berkalus tertinggi pada konsentrasi 1 mg/l yakni sebesar 50.416%. Dan persen eksplan berkalus paling rendah didapatkan pada perlakuan 0,5 mg/l sebesar

30,833%. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Fikriati (2009) pada kultur kalus daun *C. pubesens*, BA dengan konsentrasi yang tinggi (5ppm) baru mampu menginduksi kalus dengan persentase kalus tertinggi sebesar 35%.



Gambar 4.5. Kalus pada berbagai perlakuan BA (a) kalus 16 HST pada pemberian BA 1 mg/l + 2,4-D 1 mg/l (b) kalus dengan berat basah 0,23597g pada pemberian BA 1,25 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l (c) kalus dengan persen eksplan berkalus 50.41% pada pemberian BA 1,25 mg/l + 2,4-D 1 mg/l.

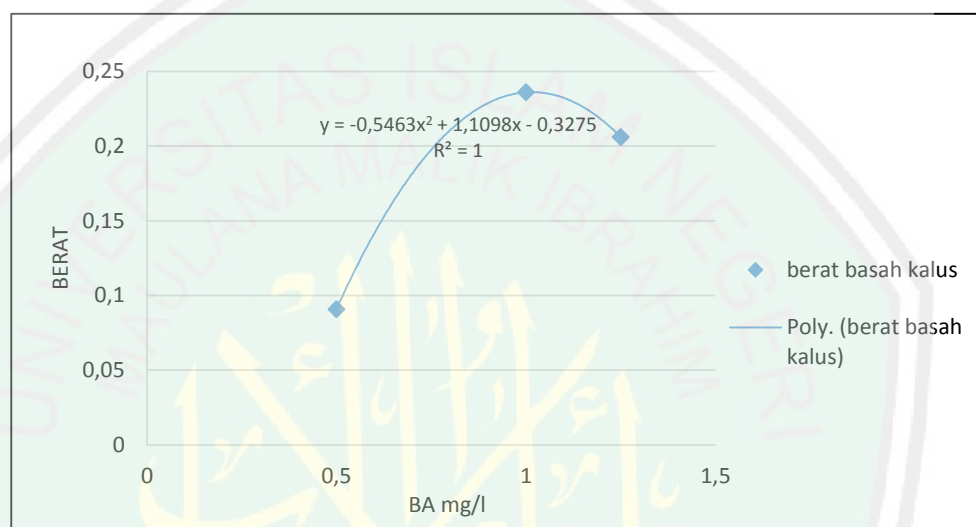
Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari BA yang dapat meningkatkan induksi kalus ashitaba dilakukan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi tersaji pada gambar 4.6; 4.7 dan 4.8.



Gambar 4.6 Kurva regresi pengaruh BA terhadap hari muncul kalus.

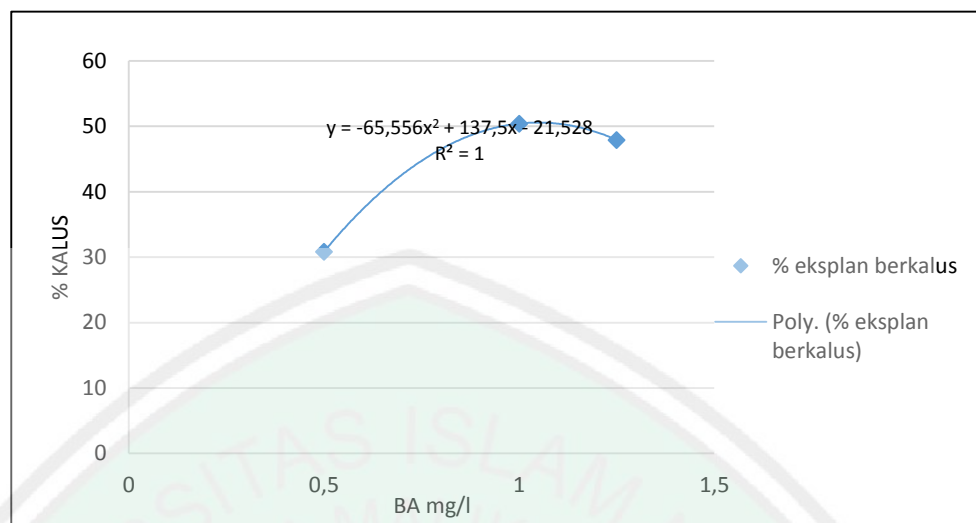
Berdasarkan persamaan kolerasi regresi untuk variabel hari muncul kalus di atas, menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BA memiliki hubungan dengan hari muncul kalus sebesar 100% yang ditunjukkan dengan

$R^2 = 1$. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = 8,8889x^2 - 16,333x + 23,528$ dapat diketahui bahwa perlakuan BA terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,91; 16,02) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah 0,91 mg/l BA dengan hari muncul kalus adalah 17.8 HST.



Gambar 4.7 Kurva regresi pengaruh BA terhadap berat basah kalus.

Selanjutnya pada variable berat basah kalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,5463x^2 + 1,1098x - 0,3275$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 1$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BA dengan berat basah kalus yakni sebesar 100%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -0,5463x^2 + 1,1098x - 0,3275$ bahwa perlakuan BA terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,01 ; 0,2361) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah 1,01 mg/l dengan rata-rata berat basah kalus 0,2361 g.



Gambar 4.8 Kurva regresi pengaruh BA terhadap persen eksplan berkalus.

Variabel persen eksplan berkalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -65,556x^2 + 137,5x - 21,528$ dengan koefisien koefisien determinasi $R^2 = 1$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BA dengan persen eksplan berkalus yakni sebesar 100%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -65,556x^2 + 137,5x - 21,528$ bahwa perlakuan BA terhadap persen eksplan berkalus titik optimum pada koordinat (1,04 ; 50,56) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk mendapatkan persentase eksplan kalus yang baik adalah 1,04 mg/l dengan rata-rata persen eksplan berkalus adalah 50,56%.

Dari hasil analisis regresi pada ketiga variabel dapat diketahui bahwa pertumbuhan kalus mengalami peningkatan dengan konsentrasi BA yang semakin tinggi (0,9 – 1,04 mg/l) dan pertumbuhan kalus mengalami penurunan pada konsentrasi BA 1,25mg/l. Hal ini dapat diduga karena pertumbuhan kalus telah optimum pada kisaran konsentrasi BA 1mg/l. Sehingga dengan

penambahan konsentrasi BA menjadi 1,25mg/l tidak memberikan pengaruh yang baik Terhadap Induksi kalus ashitaba.

Hasil yang serupa didapatkan pada penelitian Indria (2016) dengan penambahan 0,9 mg/l BA dapat menginduksi kalus embriogenik daun rumput gajah varietas hawaii dengan persentase pembentukan kalus embriogenik 20%. Selanjutnya Lestari (2011) mengemukakan, pembentukan embrio somatik tanaman cendana dari eksplan embrio somatik dewasa didapatkan komposisi media yang sesuai yakni MS + BA 1mg/l.

4.3. Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Ashitaba.

Berdasarkan hasil ANAVA, diketahui bahwa terdapat pengaruh nyata interaksi konsentrasi 2,4-D dengan konsentrasi BA terhadap induksi kalus ashitaba (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variasi disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan Hasil ANAVA Pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Variabel	F-hitung	F tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	12,4444*	2,18877
Berat Basah Kalus	59,9339*	2,18877
Persen eksplan berkalus	55,3778*	2,18877

Keterangan : * interaksi 2,4-D dan BA berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan tabel 4.5 menunjukkan adanya pengaruh nyata dari interaksi 2,4-D dengan BA terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen eksplan berkalus yang ditunjukkan dengan F hitung yang lebih besar dari F tabel. Selanjutnya uji lanjut dengan DMRT 5% disajikan pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji DMRT 5% pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Perlakuan (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HMK)	Berat Basah Kalus (g)	Persen Eksplan Berkalus (%)
0 BA + 0 2,4-D	-	-	-
0 BA + 0,5 2,4-D	-	-	-
0 BA + 0,75 2,4-D	-	-	-
0 BA + 1 2,4-D	-	-	-
0,5 BA + 0 2,4-D	20,6667 h	0,0331 a	6,6667 a
0,5 BA + 0,5 2,4-D	16,6667 cd	0,1118 cd	36,6667 c
0,5 BA + 0,75 2,4-D	14,0000 b	0,1262 d	45,0000 d
0,5 BA + 1 2,4-D	19,0000 e	0,0920 c	35,0000 c
1 BA + 0 2,4-D	19,3333 ef	0,0596 b	13,3333 b
1 BA + 0,5 2,4-D	16,3333 c	0,2817 f	58,3333 e
1 BA + 0,75 2,4-D	12,3333 a	0,3173 h	68,3333 f
1 BA + 1 2,4-D	16,3333 c	0,2852 f	61,6667 e
1,25 BA + 0 2,4-D	20,3333 fg	0,0225 a	10,0000 ab
1,25 BA + 0,5 2,4-D	16,3333 c	0,2255 e	56,6667 e
1,25 BA + 0,75 2,4-D	13,6667 b	0,2976 fg	66,6667 f
1,25 BA + 1 2,4-D	17,6667 d	0,2789 f	58,3333 e

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan berdasarkan uji DMRT 5%. Tanda (-) : Tidak terbentuk kalus.

Pada tabel 4.6 terlihat bahwa pemberian 1 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D memberikan rata-rata hari muncul kalus paling cepat yakni 12 HST. Menurut Indah & Ermavitalin (2013) penambahan auksin pada konsentrasi rendah akan memacu pembentukan kalus. Dan hari muncul kalus paling lama 20,6 HST yakni pada perlakuan 0,5 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D. Menurut Zulkarnain (2009) Pemberian auksin dan sitokinin yang seimbang akan berdampak pada munculnya kalus. Sehingga pada hari muncul kalus yang paling lama diduga karena kombinasi zat pengatur tumbuh yang diberikan pada eksplan tidak tepat untuk menginduksi kalus, sehingga menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan.

Pada variabel berat basah kalus, perlakuan 1 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D dapat menghasilkan berat basah kalus paling tinggi yakni sebesar 0,2817g. Dan untuk berat basah paling rendah 0,0331g didapatkan dari perlakuan 0,5 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D. Pada penelitian tanpa adanya auksi eksogen telah mampu menginduksi kalus. Hal ini dimungkinkan karena kandungan auksin endogen telah mampu bekerja secara sinergis dengan BA sehingga dapat menghasilkan pertumbuhan dan perkembangan kalus. Hasil yang serupa pada penelitian Harahap (2005) pada kalus pegagan yang berasal dari tangkai daun, berat basah tertinggi diperoleh dari perlakuan BA 1 mg/l + 0 mg/l 2,4-D yaitu sebesar 3,248g.

Untuk variabel persen eksplan berkalus didapatkan rata-rata persen eksplan berkalus paling rendah yakni 6,6667% dari perlakuan 0,5 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D. Dan rata-rata persen eksplan berkalus tertinggi sebesar 68,3333% pada perlakuan 1 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D. Setelah diinduksi selama 40 hari bagian eksplan tidak seluruhnya bisa membentuk kalus tetapi hanya pada bagian tepi ekplan yang terbentuk kalus, sedangkan sel-sel dibagian tengah tetap. Bagian eksplan yang membentuk kalus menurut Suryowinoto (1996) dimungkinkan karena sel-sel yang kontak dengan media terdorong menjadi bersifat meristematik dibagian yang mengalami pelukaan dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan dan membentuk jaringan penutup luka.



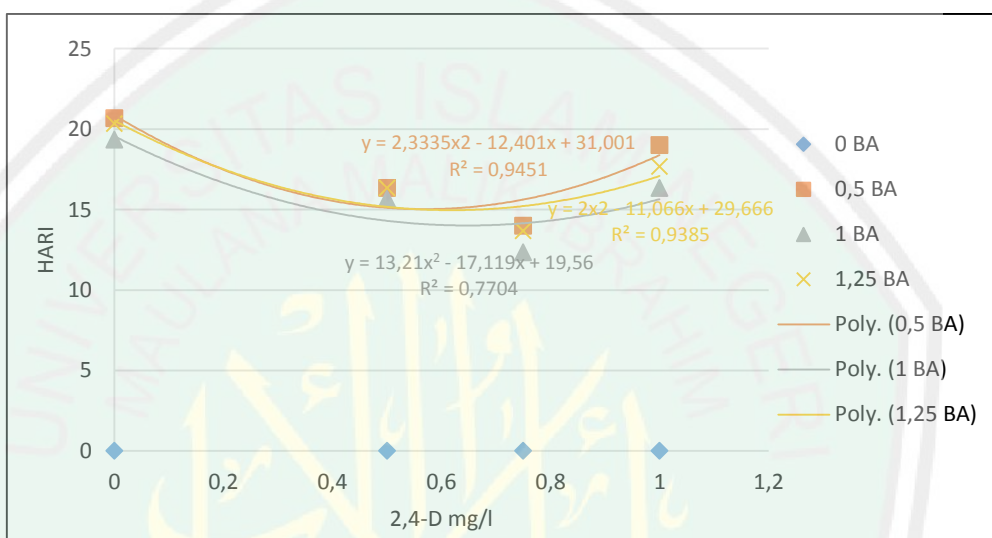
Gambar 4.9. Kalus pada berbagai perlakuan interaksi BA dan 2,4-D (a) kalus tidak terbentuk pada perlakuan BA 0 mg/l + 2,4-D 0 mg/l (kontrol) (b) kalus terbentuk pada 16 HST dengan berat basah 0,23597g dan persen eksplan berkalus 50.41% pada pemberian BA 1 mg/l + 2,4-D 0,75 mg/l.

Media tanpa penambahan zat pengatur tumbuh 0 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D (kontrol) serta perlakuan 0 mg/l BA yang diinteraksikan dengan 2,4-D (0,5 mg/l, 0,75 mg/l dan 1 mg/l) sampai pada 40 HST belum mampu menginduksi kalus dan daun mengalami perubahan warna menjadi kuning kecoklatan. Hal ini diduga karena hormon endogen didalam eksplan belum mampu untuk menginduksi kalus secara mandiri tanpa adanya zat pengatur tumbuh eksogen. Selain itu tidak munculnya kalus dapat dimungkinkan karena pemberian 2,4-D secara tunggal tidak mampu mengimbangi atau bahkan menghambat hormon endogen yang ada dalam eksplan sehingga dibutuhkan kombinasi yang tepat antara auksin dan sitokinin. Karena pemberian auksin dan sitokinin yang seimbang akan berdampak pada munculnya kalus.

Perubahan warna eksplan menjadi kuning kecoklatan pada penelitian ini diduga karena pemberian 2,4-D yang tinggi tanpa penambahan sitokinin. Menurut Siregar (2006) 2,4-D yang diberikan pada konsentrasi yang tinggi akan berubah fungsinya menjadi herbisida. Hal ini dapat terjadi karena pada vakuola banyak terkandung senyawa *flavons* dan *quinon* yang akan berikatan

dengan oksigen pada saat oksidasi dan menghasikan *brown polimers* sehingga menyebabkan eksplan berwarna coklat.

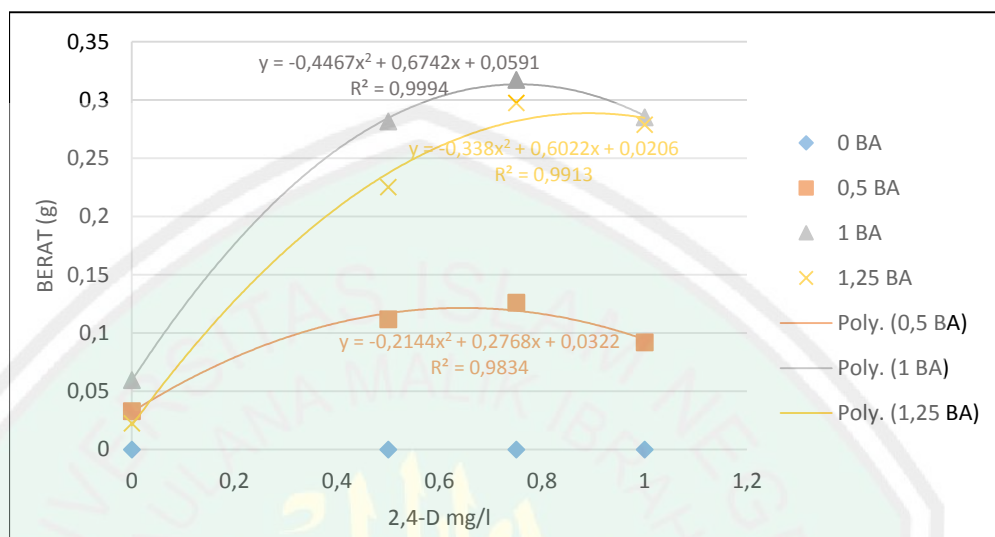
Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari interaksi 2,4-D dan BA yang dapat meningkatkan induksi kalus ashitaba dilakukan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi tersaji pada gambar 4.10, 4.11 dan 4.12.



Gambar 4.10 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap hari muncul kalus.

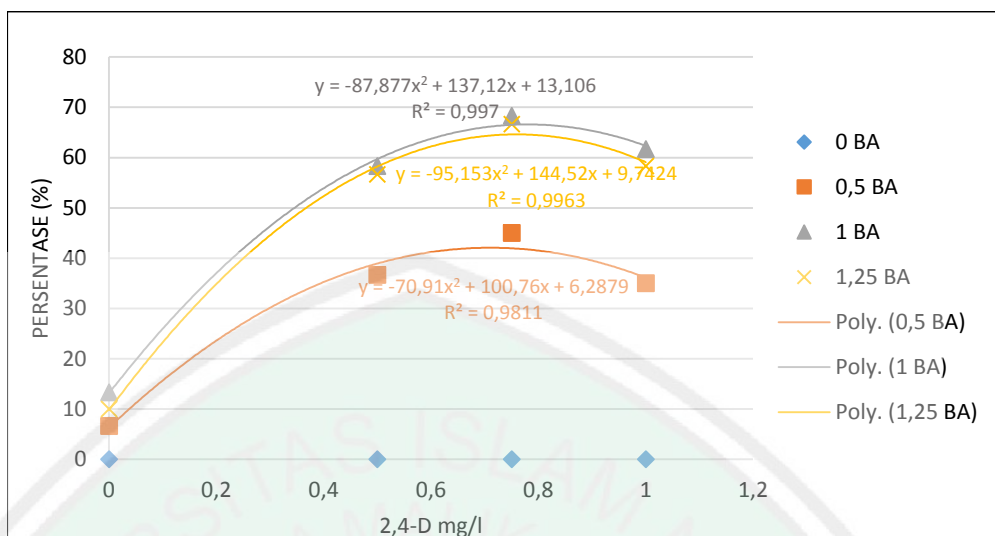
Berdasarkan hasil analisis regresi pada pengaruh ineraksi 2,4-D dan BA untuk variable hari muncul kalus didapatkan hari muncul tercepat pada 1 mg/l BA dan terbentuk garis kuadratik dengan persamaan $y = 13,21x^2 - 17,119x + 19,56$ dengan determinasi $R^2 = 0,7704$ yang artinya hubungan antara perlakuan interaksi 2,4-D dan BA dengan hari muncul kalus yakni sebesar 77,04%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = 13,21x^2 - 17,119x + 19,56$ bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BA terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,65 ; 14,01) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk mempercepat menginduksi kalus adalah

konsentrasi 0,65 mg/l 2,4-D dan konsentrasi BA yang optimum adalah 1 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus 14,01 HST.



Gambar 4.11 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap berat basah kalus.

Berdasarkan hasil analisis regresi pada pengaruh interaksi 2,4-D dan BA untuk variable berat basah kalus didapatkan berat basah tertinggi pada 1 mg/l BA dan terbentuk garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,4467x^2 + 0,6742x + 0,0591$ dengan determinasi $R^2 = 0,9994$ yang berarti hubungan antara perlakuan interaksi 2,4-D dan BA dengan hari muncul kalus yakni sebesar 99,94%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -0,4467x^2 + 0,6742x + 0,0591$ bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BA terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,75 ; 0,3135) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk meningkatkan berat basah kalus adalah konsentrasi 0,75 mg/l 2,4-D dan konsentrasi BA yang optimum adalah 1 mg/l dengan rata-rata berat basah kalus sebesar 0,3135g.



Gambar 4.12 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BA terhadap persen eksplan berkalus.

Berdasarkan hasil analisis regresi pada pengaruh interaksi 2,4-D dan BA untuk variable persen eksplan berkalus didapatkan hasil tertinggi pada 1 mg/l BA dan terbentuk garis kuadratik dengan persamaan $y = -87,877x^2 + 137,12x + 13,106$ dengan determinasi $R^2 = 0,997$ yang artinya hubungan antara perlakuan interaksi 2,4-D dan BA dengan persen eksplan berkalus yakni sebesar 99,7%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -87,877x^2 + 137,12x + 13,106$ diketahui bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BA terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,78 ; 66,6) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk meningkatkan persentase eksplan berkalus adalah konsentrasi 0,78 mg/l 2,4-D dan konsentrasi BA yang optimum adalah 1 mg/l dengan persen eksplan berkalus sebesar 66,6%.

Dari hasil diatas dapat diketahui bahwa konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah (0,6 - 0,78 mg/l) dari BA (1 mg/l) ternyata mampu meningkatkan induksi kalus embriogenik. Hasil yang sama pada penelitian yang dilakukan


oleh Sitinjak, dkk. (2006) kombinasi konsentrasi terbaik untuk menginduksi kalus embriogenik dari meristem jahe hingga mencapai 93,33% per eksplan adalah 1mg/l 2,4-D + 3 mg/l BA. Dan ketika konsentrasi 2,4-D semakin dinaikkan justru kualitas kaus semakin menurun.

Hasil yang berbeda didapat pada penelitian Indria (2016) untuk induksi kalus embriogenik rumput gajah didapatkan dengan komposisi media 2,4-D 3 mg/l + BA 0,9 mg/l. Menurut Dewi & Darmawati (2016) Pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda untuk setiap jenis Ariati (2012) menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh.

4.4. Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Morfologi dan Anatomi Kalus Embriogenik Ashitaba.


Berdasarkan hasil pengamatan pada 40 hari setelah tanam (HST) didapatkan kalus dengan warna hijau, putih kehijauan dan putih kekuningan dengan tekstur kalus yakni remah, intermediet dan kompak.

Tabel 4.7 warna dan tekstur kalus ashitaba (*Angelica keiskei*).

Perlakuan (mg/l)	Warna	Tekstur
 0 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D	-	-

 0 mg/l BA + 0,5 mg/l 2,4-D	-	-
 0 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D	-	-
 0 mg/l BA + 1 mg/l 2,4-D	-	-
 0,5 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D	Hijau	Kompak
 0,5 mg/l BA + 0,5 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah
 0,5 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	intermediet
 0,5 mg/l BA + 1 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah

 1 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D	Putih Kehijauan	Kompak
 1 mg/l BA + 0,5 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah
 1 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah
 1 mg/l BA + 1 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah
 1,25 mg/l BA + 0 mg/l 2,4-D	Putih Kehijauan	Kompak
 1,25 mg/l BA + 0,5 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah
 1,25 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D	Putih Kekuningan	Remah

 <p>1,25 mg/l BA + 1 mg/l 2,4-D</p>	Putih Kekuningan	Remah
--	------------------	-------

Keterangan = - : Tidak terbentuk kalus.

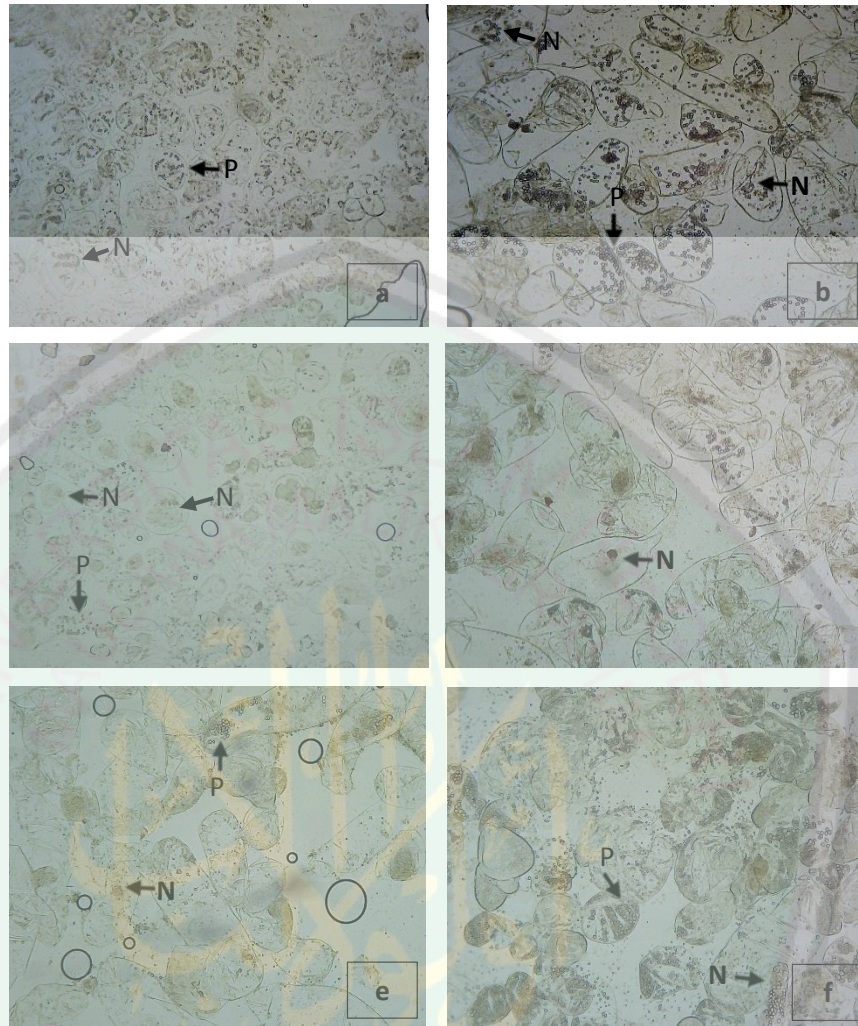
Berdasarkan tabel 4.7 dapat diketahui bahwa perlakuan 2,4-D 0 mg/l yang dikombinasikan dengan BA (0mg/l; 0,5mg/l; 1mg/l; 1,25mg/l) cenderung menghasilkan Kalus yang berwarna hijau atau putih kehijauan dan bertekstur kompak. Warna hijau ataupun putih kehijauan pada kalus disebabkan karena konsentrasi sitokinin yang tinggi tanpa kehadiran auksin. Sitokinin yang ditambahkan pada media berperan dalam memperlambat prosen penuaan serta menghambat perombakan butir-butir klorofil sehingga secara visual kalus akan nampak berwarna hijau.

Tekstur kalus yang cenderung kompak pada perlakuan ini dimungkinkan karena kehadiran sitokinin dalam media yang berperan dalam transpot zat hara. Sistem transpot sitokinin dari bagian basal menuju apeks membawa air dan zat hara lainnya melalui pembuluh floem akan mempengaruhi potensial osmotik di dalam sel. Hal ini kemudian akan membuat dinding sel akan semakin kaku, sehingga tekstur kalus akan menjadi kompak (Melisa, 2011). Hasil yang sama didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Lizawati (2012) pada induksi kalus dari tunas apical jarak pagar dimana TDZ (0,5ppm, 1,0ppm dan 2,0ppm) yang diinteraksikan dengan 2,4-D 0,0ppm menghasilkan kalus yang berstruktur kompak. Hanifah (2007) mengemukakan Pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin

meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama.

Kaitannya dalam pembentukan kalus embriogenik Peterson & Smith (1991) menyatakan bahwa kalus embriogenik dicirikan dengan warna kalus yang putih kekuningan dan mengkilat. Pada penelitian ini perlakuan BA (0,5mg/l, 1mg/l dan 1,25mg/l) yang diinteraksikan dengan 2,4-D (0,5mg/l, 0,75mg/l, 1mg/l) Mampu membentuk kalus dengan warna putih kekuningan dan bertekstur remah. Warna putih kekuningan pada kalus mengindikasikan bahwa kalus tersebut masih aktif melakukan pembelahan. Menurut Rahayu dkk., (2003) kecepatan sel dalam melakukan pembelahan dan perbanyak diri akan memberikan pengaruh pada warna kalus yang dihasilkan. Kalus yang aktif membelah cenderung berwarna putih atau putih kekuningan karena sel masih terus berregenerasi dan membentuk jaringan muda.

Menurut Ayuningrum dkk., (2015) 2,4-D sangat interaktif dalam melakukan pembelahan dan perbesaran sel, dengan penambahan 2,4-D sel-sel akan lebih aktif melakuakn pembelahan dan persberasan sehingga didapatkan kalus yang remah. Kalus dengan tekstur remah memiliki ciri mudah dalam hal pemisahan sel-sel nya menjadi sel tunggal. Secara visual kalus yang memiliki tekstur remah memiliki ikatan antar sel yang renggang, kalus yang remah akan mudah dipisahkan satu sama lain dan mudah pecah serta ketika dilakukan pengambilan dengan pinset sebagian akan lengket pada pinset. Struktur kalus yang remah menunjukkan bahwa sel kalus masih aktif melakukan pembelahan.



Gambar 4.13. Pengamatan anatomi kalus remah pada berbagai perlakuan interaksi BA dan 2,4-D (perbesaran 100X) (a) kalus embriogenik pada perlakuan BA 0,5 mg/l + 2,4-D 1 mg/l (b) kalus embriogenik pada perlakuan BA 0,5 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l (c) kalus embriogenik pada perlakuan BA 1 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l (d) kalus embriogenik pada perlakuan BA 1 mg/l + 2,4-D 0,75 mg/l (e) kalus embriogenik pada perlakuan BA 1,25 mg/l + 2,4-D 0,5 (f) kalus embriogenik pada perlakuan BA 1,25 mg/l + 2,4-D 1 mg/l. P= Plastida, N= Nukleus.

Struktur kalus remah yang didapatkan pada penelitian ini dapat diduga merupakan kalus embriogenik. Struktur kalus embriogenik yang didapat dari pengamatan secara visual (pengamatan morfologi) didukung dengan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop (pengamatan anatomi). Dimana

kalus yang berstruktur remah yang berumur 40 HST bila diamati dibawah mikroskop terlihat memiliki sel-sel kecil dan bergerombol. Menurut Gunawan (1987) kalus embriogenik secara visual dicirikan dengan struktur kalus yang remah dan berwarna putih bening atau kekuningan, serta memiliki sitoplasma yang padat, vakuola kecil-kecil, mengandung butir pati, dan memiliki memiliki inti besar.

Berbagai interaksi 2,4-D dan BA menunjukkan gambaran kalus embriogenik yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi yang berbeda akan mempengaruhi pertumbuhan kalus embriogenik. Kalus yang memiliki inti besar serta mengandung plastida didapatkan pada perlakuan BA 1 mg/l + 2,4-D 0,5 mg/l dimana pada perlakuan ini didapatkan kalus embriogenik dengan sel berukuran kecil serta memiliki susunan sel yang rapat. Kasi & Sumaryono (2008) mengemukakan bahwa kalus embriogenik dengan tekstur remah terdiri atas sel-sel yang bersifat meristematik (yang ditandai dengan ruang antar sel lebih rapat, mempunyai inti yang jelas, sitoplasma padat dan aktivitas pembelahan sel yang tinggi).

4.5. Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam.

Pada proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman tanah merupakan media yang memiliki peranan sangat penting. Sebagai media tanam, tanah harus menyediakan faktor-faktor utama pertumbuhan tanaman, yaitu unsur hara baik makro atau mikro, air, dan udara. Untuk mendapatkan tanah yang subur semua faktor tersebut harus seimbang agar pertumbuhan

tanaman baik dan berkelanjutan. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al-A'raf ayat 58 sebagai berikut:

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” (Al-A'raf: 58).

Menurut *Tafsir Ibnu Katsir* “tanah yang subur yakni tanah yang baik yang mengeluarkan tumbuhan dengan cepat dan subur. Sedangkan tanah yang tidak subur menurut mujahid dll, ialah seperti tanah yang belum digarap dan belum siap untuk ditanami, serta tanah lainnya yang tidak dapat ditanami”. Sehubungan dengan makna ayat di atas bahwa tanah yang subur merupakan tanah mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup. Sedangkan pada tanah yang tidak subur pertumbuhan tanaman akan terhambat karena unsur-unsur pendukung pertumbuhan tidak terpenuhi dengan baik

Media pertumbuhan tanaman pada zaman yang serba modern ini bukan hanya tanah. Dimana pada kultur jaringan tanaman dikenal dengan Media MS (Murasige & skoog), media MS memiliki pengaruhnya sangat besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Media MS dalam hal ini merupakan pengganti tanah sehingga dalam media tersebut harus mengandung unsur hara makro maupun mikro sehingga eksplan dapat tumbuh dengan baik.

Dibalik pentingnya media MS untuk pertumbuhan eksplan tanaman, ternyata pada kultur jaringan masih ada faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan yakni zat pengatur tumbuh. Kebutuhan tanaman akan zat pengatur tumbuh berbeda-beda. Menurut Armini (1991) menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh. Hal telah dituliskan dalam Al-Qur'an surah Al-Qamar ayat 49 sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”

Menurut *Tafsir Ibnu Katsir* (1994) bahwa Allah SWT telah menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut. Allah menciptakan segala sesuatu di alam semesta ini dengan kesempurnaan dengan ukuran yang tepat. Kesempurnaan ciptaan Allah ternyata berkaiatan dengan konsentrasi media yang optimal untuk pertumbuhan kalus ashitaba. Pada penelitian ini komposisi media yang sesuai untuk pertumbuhan kalus embriogenik dari daun ashitaba adalah media MS + 1 mg/l BA + 0,75 mg/l 2,4-D dimana pada komposisi tersebut kalus daun ashitaba dapat tumbuh dengan optimal jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada komposisi ZPT yang lebih rendah dan lebih tinggi kalus daun ashitaba pertumbuhannya mengalami penurunan. Dari sini dapat diketahui bahwa dibutuhkan kadar yang sesuai untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Namun kadar yang optimal untuk tanaman ashitaba akan berbeda dengan tanaman lainnya.

Dengan media pertumbuhan yang sesuai kalus daun ashitaba akan tumbuh dengan optimal. Pertumbuhan dan perkembangan yang terjadi pada kalus, juga mengikuti kurva pertumbuhan dan perkembangan sel secara umum yang berbentuk kurva sigmoid, yang terdiri dari yaitu: fase lag, fase eksponensial dan fase stasioner (Narayanaswamy, 1994) dalam (Harahap, 2005). Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam Qur'an surah Al-insyiqaq ayat 19 berikut ini:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*” (Qs.Al-insyiqaq: 19).

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010) adapun kata لَتَرْكَبُنَّ maksudnya adalah (sesungguhnya kalian melalui) hai manusia. Sedangkan طَبَقًا عَن طَبَقٍ (Tingkat demi tingkat) fase demi fase, yaitu mulai dari mati, lalu dihidupkan kembali, kemudian menyaksikan keadaan-keadaan di hari kiamat. Dalam *Tafsir Nurul Qur'an* (2006) juga dijelaskan bahwa, dalam keadaan apapun yang menimpa manusia sangat jelas menunjukkan adanya perubahan-perubahan pasti yang ajeg, sejak dalam kandungan sampai kematiannya. Ini semua membuktikan bahwa ia adalah ‘sesuatu yang diciptakan’ yang membutuhkan pencipta. Karena segala sesuatu yang berubah adalah makhluk mempunyai pencipta. Dari ayat di atas dapat diketahui bahwa manusia akan mengalami perubahan melalui tahapan-tahapan begitu juga tumbuhan (kalus) akan mengalami perkembangan melalui fase-fase pertumbuhan.

Tahapan-tahan pembentukkan kalus menurut Soeryowinoto (1996) dalam (Siregar, 2006) dimulai dengan terdeferensiasinya sel akibat dari pembelahan sel, pemanjangan sel, dan penambahan volume karena terjadinya tekanan turgor sel sehingga sel menjadi besar. Proses ini disebut dengan tumbuh dan ini dapat dilihat dengan terjadinya pembengkakan pada jaringan eksplan yang dikulturkan. Setelah terjadi proses diferensiasi sel kemudian jaringan akan mengalami dediferensiasi sel yaitu jaringan yang sudah terdeferensiasi menjadi tidak terdeferensiasi dan pada akhirnya akan terbentuk kalus.

Hasil penelitian ini menunjukkan kebesaran dan kekuasaan Allah SWT, bahwa daun yang ditanam pada media yang sesuai akan membentuk kalus dan berdeferensiasi membentuk tanaman yang utuh. Maha suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, dari penelitian ini diharapkan kita sebagai makhluk ciptaan Allah dapat meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kita kepadaNya. Serta mampu menambah rasa syukur kita kepada sang pencipta alam semesta yang tiada henti memberikan kenikmatan kepada hambanya.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus embriogenik daun ashitaba (*Angelica keiskei*), maka dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pemberian konsentrasi 2,4-D 0,75 mg/l berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba yakni pada 10 HST dengan berat basah kalus 0,18527g dan persen eksplan berkalus 45%.
2. Pemberian berbagai konsentrasi BA 1 mg/l berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba yakni pada 16,08 HST dengan berat basah kalus 0,23597g dan persen eksplan berkalus 50,4%.
3. Interaksi 2,4-D 0,75 mg/l + BA 1 mg/l memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik ashitaba yakni pada 12,3 HST dengan berat basah kalus 0,3173g dan persen eksplan berkalus 68,3%.
4. Pengamatan morfologi dan anatomi menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 0,5 mg/l + BA 1 mg/l menunjukkan ciri-ciri kalus embriogenik ditunjukkan dengan kalus yang berwarna putih kekuningan dan bertekstur remah serta memiliki vakuola yang berukuran kecil, mengandung butir pati dan memiliki inti besar.

5.2. Saran

Penelitian lebih lanjut diharapkan untuk :

1. Menggunakan konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/l + BA 1 mg/l untuk mendapatkan kalus embriogenik.
2. Mencari komposisi media yang sesuai untuk sub kultur kalus embriogenik ashitaba, Sehingga, kualitas kalus dapat dipertahankan dalam waktu yang lama.



DARTAR PUSTAKA

- 'Abdurrahman, A. b. M. b., 2007. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abidin, Z., 1983. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Adinata, M. O., Surida, I. W. & Berata, I. K., 2012. Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2), pp. 55-62.
- Admojo, L., Indrianto, A. & Hadi, H., 2014. Perkembangan Penelitian Induksi Kalus Embriogenik Pada Jaringan Vegetatif Tanaman Karet Klonal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). *Warta Per karetan*, 33(1), pp. 19-28.
- Al-Sheikh, A. b. M., 1994. *Tafsir Ibnu Katsir jilid 7*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilal.
- Aliata, Y., 2008. *Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (Nepenthes mirabilis) Secara In vitro*, Bogor: Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Ariati, S. N., 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Sciences*, 1(1), pp. 74-84.
- Ardian, Kresna & Agustiansyah, 2011. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzil adenine dan Asam Naftalen Asetat Pada Kultur In vitro Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 12(1), pp. 43-49.
- Asy-syuyuthi, J. & Muhammad, J., 2010. *Tafsir Jalalain*. Tasikamalaya: myface-online.blogspot.com.
- Bhojwani, S. S. & Razdan, M., 1996. *Plant Tissue Culture: Theory and practice, a Revised Edition*. Amsterdam: Elsevier Science B. V..
- Bibi, Y., 2011. Regeneration of Centella asiatica Plants From Non-Embryogenic Cell Lines and Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of Regenerated Calli and Plants. *J. Biol. Eng*, 5(13).
- Butar, E. W. B. B., A. & Adisarwanto, T., 2013. Pengaruh Media Tumbuh dan Benzyl Adenine (BA) Pada Multiplikasi Anggrek Dendrobium Indonesia Raya Secara Invitro. pp. 1-7.
- Darwati, 2007. *Kultur Kalus Akar Rambut Purwoceng (Pimpinella pruatjan Molk) Untuk Metabolit Sekunder*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Dasuki, U. A., 1991. *Bahan kuliah : Sistematik tumbuhan tinggi*. Bandung: Pusat antar universitas bidang ilmu hayati ITB.
- Dewi, A. W. A. & Darmawati, I. A. P., 2016. Inisiasi Kalus Embriogenik Stroberi (*Fragaria* sp.) dengan Pemberian IBA (*Indolebutyricacid*) dan BAP (*Benzylaminopurine*). *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* , 5(3), pp. 243-253.
- Dwi, N. M., 2012. Pengaruh Pemberian Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur (*Vitis vinera* L.). *Jurnnal Natural Science*, Volume 1, pp. 53-62.
- Fikriati, U. I., 2009. *Induksi Kalus dari Eksplan Karika Dieng Dengan Pemberian ZPT BA dan NAA*, Semarang: Fakultas MIPA UNS.
- Fithriyandini, A., Maghfoer, M. D. & Wardiyati, T., 2015. Pengaruh Media Dasar dan 6-Benzylaminopurine (BAP) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Nodus Tangkai Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) dalam Perbanyakannya Secara In vitro. *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(1), pp. 43-49.
- Fitrianti, A., 2006. *Efektifitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan kinetin pada medium MS dalam induksi kalus sambiloto dengan eksplan potongan daun*, Semarang: Fakultas MIPA UNS.
- Furuya, H. & Hosoki, T., 2004. Adventitious shoot formation, somatic embryogenesis and plantlet regeneration from in vitro-cultured root tissue of *Angelica keiskeri* (Miq.) Koidz. *Food and Agriculture Organization*.
- Gunawan, L., 1987. *Teknik kultur jaringan*. Bogor: PAU IPB.
- Handayani, T., 2008. *Potensi Embriogenesis Beberapa Genotip Kedelai Toleran dan Peka Naungan*, Bogor: IPB.
- Hanifah, N., 2007. *Pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan eksplan jarak pagar (Jatropha curcas L.) secara in vitro*, Surakarta: Fakultas Pertanian Surakarta.
- Harahap, R. A., 2005. *Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (Centella asiatica L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida*, Bogor: Sekolah Pascasarjana ITB.
- Harjadi, S., 2009. *Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan Pada Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hendaryono, D. P. & Wijayani, A., 2004. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakannya Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.

- Henuhili, V., 2005. Tanaman Transgenik dan Pemenuhan Kebutuhan Pangan. *Seminar Nasional Pendidikan, Penelitian, dan Penerapan MIPA*, pp. B.150-B.115.
- Herwinaldo, D. C., 2010. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan dan Induksi Embriogenesis Somatik Kultur Kalus Tapak Dara (Catharanthus roseus (L.)G.Don)*, Surakarta: FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Hotimah, H. H., Raharto, S. & Hani, E. S., 2013. Prospek Pengembangan Tanaman Obat Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) dalam Program Pemberdayaan Pertanian Organik. *Bekala ilmiah Pertanian*, x(x), pp. x-x.
- Huang, B., Han, L., Li, S. & Yan, C., 2015. Optimization of induction, subculture conditions, and growth kinetics of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels callus. *Pharmacogn mag*, 11(43), pp. 574-578.
- Indah, P. N., 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1).
- Indria, W., 2016. *Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus dan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Rumput Gajah Varietas Hawah (Pennisetum purpureum cv. Hawaii) (In vitro)*, Bogor: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- JNTO, 2017. Japan Weather Forecast for Travelers. *pulau Hachijojima*, 28 februari.
- Kasi, P. D. & Sumaryono, 2008. Perkembangan kalus embriogenik sagu (Metroxylon sagu Rottb.) pada tiga sistem kultur in vitro. *Menara Perkebunan*, 76(1), pp. 1-10.
- Krinkorian, A., 1995. *Hormones In Tissue Culture and Micropropagation*. s.l.:Kluwer Academic Publisher.
- Lestari, E. G., 2011. Peran Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agro Biogren*, 7(1), pp. 63-68.
- Lizawati, 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. 1(2), pp. 75-87.
- Marlina, N., 2004. Teknik modifikasi Media Murashige dan Skoog (MS) untuk Konservasi in vitro Mawar. *Bull. Teknik Pertanian*, 9(1), pp. 4-6.

- Nazza, Y., 2013. *Induksi Kalus Pegagan (Centella asiatica) pada Media MS dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasi dengan Air Kelapa*, MALANG: UIN MALIKI MALANG.
- Ningsih, I. Y., 2014. Pengaruh Elisitor Biotik dan Abiotik pada Produksi Flavonoid Melalui Kultur Jaringan Tanaman. *Pharmacy*, 11(02).
- Patra, A., Rai, B., Rout, G. R. & Das, P., 1998. Succesfull Plant Regeneration From Callus Culture of *Centella asiatica* L.. *Plant Regulation* 24, pp. 13-16.
- Pierik, R., 1997. *In Vitro culture of higher plants*. Dordrecht: Kluwer Academic publishers .
- Purnamaningsih, R. & Ashrina, M., 2011. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L.. *Berita Biologi*, 10(4), pp. 481-489.
- Purwanto, P. A. & Mardin, S., 2007. Modifikasi Media MS dan Perlakuan Penambahan Air Kelapa Untuk Menumbuhkan Eksplan Tanaman Kentang. *Jurnal Penelitian dan Informasi Pertanian "Agrin"*, 11(1), pp. 36-42.
- Radji, M., 2005. Peran Mikrobiologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), pp. 113-126.
- Rahayu, B., Solichatun & Endang, A., 2002. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L.. *Biofarmasi*, 1(1), pp. 1-6.
- Rahayu, E. S., 2014. Konservasi Plasma Nutfah Tumbuhan Secara In vitro: Potensi dan Kontribusinya dalam Mewujudkan Unnes Sebagai Universitas Konservasi. *Proceeding Seminar Nasional Konservasi dan Kualitas Pendidikan*, pp. 113-123.
- Riyadi & Tirtoboma, 2004. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah*, 10(2).
- Sembiring, B. B. & Manoi, F., 2011. Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba. *Bul. Littro*, 22(2), pp. 177-185.
- Sembiring, B. & Manoi, F., 2010. Potensi Ashitaba (*Angelica keiskei*) Sebagai Tanaman Obat. *WARTA Penelitian dan Pengembangan Tanaman*, 16(2).
- Siregar, C., 2006. Pengaruh 2,4-D untuk inisiasi kalus jaringan nucellus *Mangifera odorata* Griff. Melalui budidaya jaringan. *J.Floratek*, 2(-), pp. 69-77.
- Sitinjak, M. A., Isda, M. N. & Fatonah, S., 2015. Induksi Kalus dari Eksplan Daun In Vitro Kedelai Tikus (*Typhonium* sp.) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Al-Kaunyah Jurnal Biologi*, 8(1), pp. 32-39.

- Sitinjak, R. R., Rostiana, O., K. & Supriyatun, T., 2006. Pengaruh 2,4-D Dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber officinale* Rose.). *Berita Biologi*, 8(2), pp. 105-120.
- Sofia, D., Bangun, M. & Lince, 2005. Respon Pertumbuhan Eksplan Jeruk Muga (*Citrus nobilis*) Terhadap Pemberian IAA dan BAP secara In vitro. *Stigma An Agricultural Science Journal*, XIII(4).
- Suhartati, R. & Nurashah, I., 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 16(1).
- Suhartati, R. & Virgianti, D. P., 2015. Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus* yang diisolasi dari Luka Diabetes. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 14(1).
- Sumadji, A. R., 2015. Induksi Kalus Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas IR64, Mentik Wangi Dan Rojolele Melalui Kultur In Vitro. *Widya Warta*, 01(-), pp. -.
- Surbarnas, A., 2011. *Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung: CV. Lubuk Agung.
- Suryowonoto, M., 1996. *Pemuliaan tanaman secara in vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tavares, A. C. P., Salgueiro, L. & Caninoto, J., 2010. In Vitro Conservation of *Angelica pachycarpa*, an Iberian endemic Apiaceae of the Portuguese Berlenga Islands. *Revista del Jardin Botánico Nacional*, pp. 109-111.
- Tjitrosoepomo, G., 2009. *Morfologi tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Tjitrosoepomo, G., 2011. *Taksonomi Tumbuhan (Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta, Pteridophyta)*. Yogyakarta: UGM Press.
- Tjitrosomo, S. S., 2010. *Botani Umum 3*. Bandung: Angkasa .
- Wardani, Dian P, Sholichatun & Ahmad, D. S., 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-D dan Kinetin. *Biofarmasi*, 2(1), pp. 35-43.
- Wattimena, G. et al., 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: PAU IPB.
- Wetter, L. d. F. C., 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung: ITB.
- Wicaksono, R. & Syarifudin, H., 2003. Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi). *Prosiding Seminar dan*, Issue XXIV, pp. 270-275.
- Winata, L., 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: PAU Bogor.
- Xiu-li, L., 2012. Study on Tissue Culture of *Angelica Keiskei* Koidzumi. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*.

Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Yusnita, 2010. *Perbanyak In vitro Tanaman Anggrek*. Lampung: Universitas Lampung Press.

Yuwono, T., 2008. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Data Hasil Pengamatan

1. Data Hari Muncul Kalus Asitaba

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	-	-	-	-	-
2	0,5		-	-	-	-	-
3	0,75		-	-	-	-	-
4	1		-	-	-	-	-
5	0	0,5	22	20	20	62	20,6667
6	0,5		16	16	17	49	16,3333
7	0,75		15	14	13	42	14
8	1		20	19	18	57	19
9	0	1	20	19	19	58	19,3333
10	0,5		16	16	15	47	15,6667
11	0,75		13	12	12	37	12,3333
12	1		17	16	16	49	16,3333
13	0	1,25	22	20	19	61	20,3333
14	0,5		17	16	16	49	16,3333
15	0,75		14	14	13	41	13,6667
16	1		17	18	18	53	17,6667
Total Ulangan			209	200	196	605	201,667

2. Data Berat Basah Kalus Ashitaba

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	-	-	-	-	-
2	0,5		-	-	-	-	-
3	0,75		-	-	-	-	-
4	1		-	-	-	-	-
5	0	0,5	0,0233	0,0341	0,042	0,0994	0,03313
6	0,5		0,1195	0,1249	0,0911	0,3355	0,11183
7	0,75		0,1295	0,1181	0,1309	0,3785	0,12617
8	1		0,0899	0,0913	0,0948	0,276	0,092
9	0	1	0,0446	0,069	0,0653	0,1789	0,05963
10	0,5		0,2467	0,3008	0,2977	0,8452	0,28173
11	0,75		0,3013	0,3303	0,3203	0,9519	0,3173
12	1		0,2758	0,2925	0,2873	0,8556	0,2852

13	0	1,25	0,0167	0,0206	0,0302	0,0675	0,0225
14	0,5		0,2027	0,2426	0,2313	0,6766	0,22553
15	0,75		0,2813	0,301	0,3105	0,8928	0,2976
16	1		0,2963	0,2883	0,2521	0,8367	0,2789
Total Ulangan			2,0276	2,2135	2,1535	6,3946	2,13153

3. Data Persen Eksplan Berkalus Ashitaba

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	-	-	-	-	-
2	0,5		-	-	-	-	-
3	0,75		-	-	-	-	-
4	1		-	-	-	-	-
5	0	0,5	5	5	10	20	6,66667
6	0,5		35	40	35	110	36,6667
7	0,75		45	45	45	135	45
8	1		30	35	40	105	35
9	0	1	10	15	15	40	13,3333
10	0,5		55	60	60	175	58,3333
11	0,75		70	70	65	205	68,3333
12	1		60	65	60	185	61,6667
13	0	1,25	5	10	15	30	10
14	0,5		55	55	60	170	56,6667
15	0,75		65	65	70	200	66,6667
16	1		60	60	55	175	58,3333
Total Ulangan			495	525	530	1550	516,667

LAMPIRAN 2. Hasil Analisis Variasi (ANOVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%

1. A. Hasil ANOVA pada Hari Muncul Kalus

Sumber variasi	db	JK	KT	F-hit	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	15	2778,81	185,254	355,688	1,99199	2,65463
2,4-D	3	163,396	54,4653	104,573	2,90112	4,45943
BA	3	2557,56	852,521	1636,84	2,90112	4,45943
Kombinasi	9	57,8542	6,42824	12,3422	2,18877	3,02082
Galat	32	16,6667	0,52083			
Total	47	2795,48				

B. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh 2,4-D Terhadap Hari Muncul Kalus

2,4-D	N	Subset			
		1	2	3	4
0,75	12	10.0000			
0,5	12		12.3333		
1.00	12			13.2500	
.00	12				15.0833
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

C. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh BA Terhadap Hari Muncul Kalus

BA	N	Subset		
		1	2	3
.00	12	.0000		
1.00	12		16.0833	
1,25	12			17.0000
0,5	12			17.5833
Sig.		1.000	1.000	.056

D. Hasil uji lanjut DMRT 5% pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Hari Muncul Kalus

Interaksi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
B0D0	3							
B0D0,5	3							
B0D0,75	3							
B0D1	3							
B1D0,75	3	12.3333						
B1,25D0,75	3		13.6667					
B0,5D0,75	3		14.0000					
B1D0,5	3			16.3333				
B1D1	3			16.3333				
B1,25D0,5	3			16.3333				
B0,5D0,5	3			16.6667	16.6667			
B1,25D1	3				17.6667			
B0,5D1	3					19.0000		
B1D0	3					19.3333	19.3333	
B1,25D0	3						20.3333	20.3333
B0,5D0	3							20.6667
Sig.		1.000	.576	.612	.099	.576	.099	.576

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. A. Hasil ANAVA pada Berat Basah Kalus

Sumber variasi	db	JK	KT	F-hit	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	15	0,71008	0,04734	243,773	1,99199	2,65463
2,4-D	3	0,18027	0,06009	309,437	2,90112	4,45943
BA	3	0,42506	0,14169	729,624	2,90112	4,45943
Kombinasi	9	0,10475	0,01164	59,9339	2,18877	3,02082
Galat	32	0,00621	0,00019			
Total	47	0,71629				

B. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh 2,4-D Terhadap Berat Basah Kalus

2,4-D	N	Subset		
		1	2	3
.00	12	.0288		
0,5	12		.1548	
1.00	12		.1640	
0,75	12			.1853
Sig.		1.000	.114	1.000

C. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh BA Terhadap Berat Basah Kalus

BA	N	Subset			
		1	2	3	4
.00	12	.0000			
0,5	12		.0908		
1,25	12			.2061	
1.00	12				.2360
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

D. Hasil uji lanjut DMRT 5% pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Berat Basah Kalus

interaksi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
B0D0	3							
B0D0,5	3							
B0D0,75	3							
B0D1	3							
B1,25D0	3	.0225						
B0,5D0	3	.0331						
B1D0	3		.0596					
B0,5D1	3			.0920				
B0,5D0,5	3			.1118	.1118			
B0,5D0,75	3				.1262			
B1,25D0,5	3					.2255		
B1,25D1	3						.2789	
B1D0,5	3						.2817	
B1D1	3						.2852	
B1,25D0,75	3						.2976	.2976
B1D0,75	3							.3173
Sig.		.357	1.000	.091	.217	1.000	.143	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. A. Hasil ANAVA pada Persen Eksplan Berkalus

Sumber variasi	db	JK	KT	F-hit	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	15	33497,9	2233,19	285,849	1,99199	2,65463
2,4-D	3	10193,8	3397,92	434,933	2,90112	4,45943
BA	3	19410,4	6470,14	828,178	2,90112	4,45943
Kombinasi	9	3893,75	432,639	55,3778	2,18877	3,02082
Galat	32	250	7,8125			
Total	47	33747,9				

B. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh 2,4-D Terhadap Persen Eksplan Berkalus

2,4-D	N	Subset		
		1	2	3
.00	12	7.5000		
0,5	12		37.9167	
1.00	12		38.7500	
0,75	12			45.0000
Sig.		1.000	.471	1.000

C. Uji lanjut DMRT 5% pengaruh BA Terhadap Berat Basah Kalus

BA	N	Subset			
		1	2	3	4
.00	12	.0000			
0,5	12		30.8333		
1,25	12			47.9167	
1.00	12				50.4167
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

D. Hasil uji lanjut DMRT 5% pengaruh Interaksi 2,4-D dan BA Terhadap Berat Basah Kalus

interaksi	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
B0D0	3						
B0D0,5	3						
B0D0,75	3						
B0D1	3						
B0,5D0	3	6.6667					
B1,25D0	3	10.0000	10.0000				
B1D0	3		13.3333				
B0,5D1	3			35.0000			
B0,5D0,5	3			36.6667			
B0,5D0,75	3				45.0000		
B1,25D0,5	3					56.6667	
B1D0,5	3					58.3333	
B1,25D1	3					58.3333	
B1D1	3					61.6667	
B1,25D0,75	3						66.6667
B1D0,75	3						68.3333
Sig.		.154	.154	.471	1.000	.052	.471

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LAMPIRAN 3. Gambar Hasil Pengamatan



0 BA + 0 2,4-D



0 BA + 0,5 2,4-D



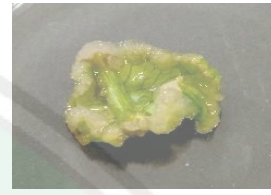
0 BA + 0,75 2,4-D



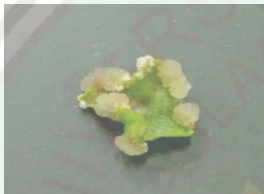
0 BA + 1 2,4-D



0,5 BA + 0 2,4-D



0,5 BA + 0,5 2,4-D



0,5 BA + 0,75 2,4-D



0,5 BA + 1 2,4-D



1 BA + 0 2,4-D



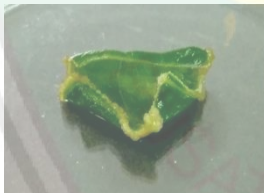
1 BA + 0,5 2,4-D



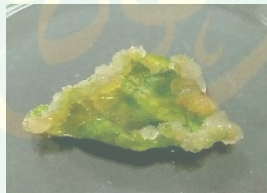
1 BA + 0,75 2,4-D



1 BA + 1 2,4-D



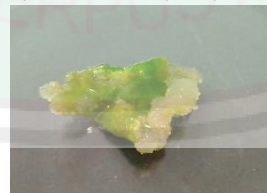
1,25 BA + 0 2,4-D



1,25 BA + 0,5 2,4-D



1,25 BA + 0,75 2,4-D



1,25 BA + 1 2,4-D

LAMPIRAN 4. Alat-alat Penelitian



Oven



Autoklaf



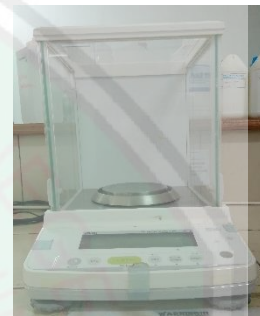
LAF



Kompur



Hot Plate



Timbangan Analitik



PH Meter



Mikro Pipet



Rak Inkubasi



Saringan, botol kultur,
cawan petri, scalpel,
pinset, mata pisau



Beaker glass

LAMPIRAN 5. Bahan-bahan Penelitian



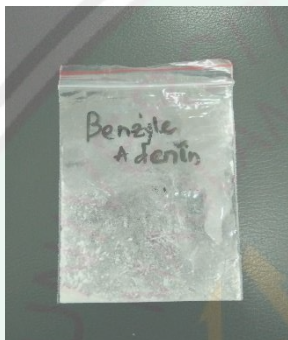
Biakan tanaman ashitaba di greenhouse



Eksplan Daun Ashitaba Berumur 10 Hari



ZPT 2,4-D



ZPT BA



Larutan Stok BA



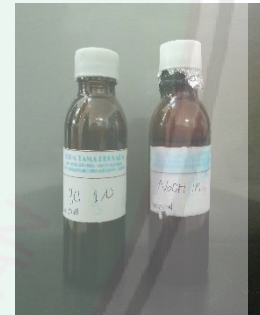
Media MS



Bayclin



Alkohol 70% & 96%



HCL & NaOH



Gula

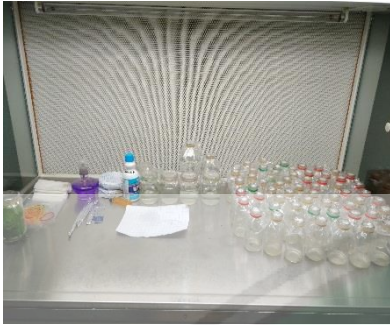


Agar & Aluminium Foil



Kertas Label, Plastik & Karet Gelang

LAMPIRAN 6. Foto Kegiatan



Persiapan Sebelum Inisiasi



Pengukuran PH Media



Sterilisasi Eksplan



Alat dan Bahan untuk Sterilisasi Eksplan



Pemotongan Ekplan 1x1 cm



Penimbangan Kalus

LAMPIRAN 7. Perhitungan Larutan Stok

- a. Larutan stok 2,4-D 100 mg/l dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok 2,4-D 100 mg/l} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

- b. Larutan stokl BA 100 mg/l dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok BA 100 mg/l} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

LAMPIRAN 8. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

1. Perlakuan Pemberian 2,4-D

- a. Konsentrasi 0,5 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 0,5 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 0,75 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 0,75 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,75 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,375 \text{ ml}$$

- c. Konsentrasi 1 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 1 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pemberian BA

a. Konsentrasi 0,5 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 0,5 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 1 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 1 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 1,25 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg/l} \times V1 = 1,25 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,25 \text{ mg/l} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg/l}}$$

$$V1 = 0,625 \text{ ml}$$



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang Telp./Fax.(0341)558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Yuli Fithrotin
NIM : 13620070
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzyladenine (BA) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik pada Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*).
Pembimbing I : Suyono, M.P
Pembimbing II : Dr. Ahmad Barizi, MA

No	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	06 Februari 2017	Konsultasi Judul & BAB I	
2.	02 Maret 2017	ACC BAB I	
3.	05 April 2017	Konsultasi BAB II & III	
4.	10 April 2017	Revisi BAB II & III	
5.	28 April 2017	ACC BAB I,II & III	
6.	1 Juni 2017	Konsultasi Perubahan Eksplan	
7.	5 September 2017	Konsultasi Data	
8.	11 September 2017	Konsultasi hasil analisis ata	
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. 19751006 200312 1 001

Malang, 1 November 2017
Ketua Jurusan Biologi,



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

RIWAYAT HIDUP



Yuli Fithrotin, Lahir di lamongan, 11 Juli 1995. Tinggal di Jl. Agus Salim No.312 RT.01/RW.03 Bulubransi-Laren-Lamongan. Merupakan anak terakhir dari lima bersaudara putri Bapak Moh. Sabiq Mulya dan Ibu Habasyiah.

Pendidikan sekolah dasar ditempuh di MI Muhammadiyah 03 Bulubransi, lulus pada tahun 2007. Pendidikan Sekolah menengah pertama ditempuh di SMPM 12 Sendang agung, lulus pada tahun 2010 dan pendidikan menengah atas ditempuh di MA Al-ISHLAH Sendang agung, lulus pada tahun 2013. Ketika menempuh pendidikan SMP sampai MA penulis juga menjadi santri di PP AL-ISHLAH sendang agung-Paciran-Lamongan, lulus pada tahun 2013. Selanjutnya pada tahun 2013 penulis tercatat sebagai mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selama menjadi mahasiswa, penulis selalu aktif melibatkan diri dalam organisasi kemahasiswaan. Tercatat sejak tahun 2013 sudah menjadi kader di Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah (IMM) UIN Maulana Malik Ibrahim Malang komisariat Revivalis. Selanjutnya sebagai wakil sekretaris umum dan ketua bidang Riset dan Keilmuan periode 2014/2015 dan 2015/2016 serta sebagai Instruktur Cabang IMM Malang Raya periode 2015/2016 dan 2016/2017. Selain itu penulis juga aktif di Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) Biologi sebagai sekertaris umum periode 2014/2015 dan menjadi anggota bidang kesekretariatan IKAHIMBI Wilker V jawa III periode 2015/2017.