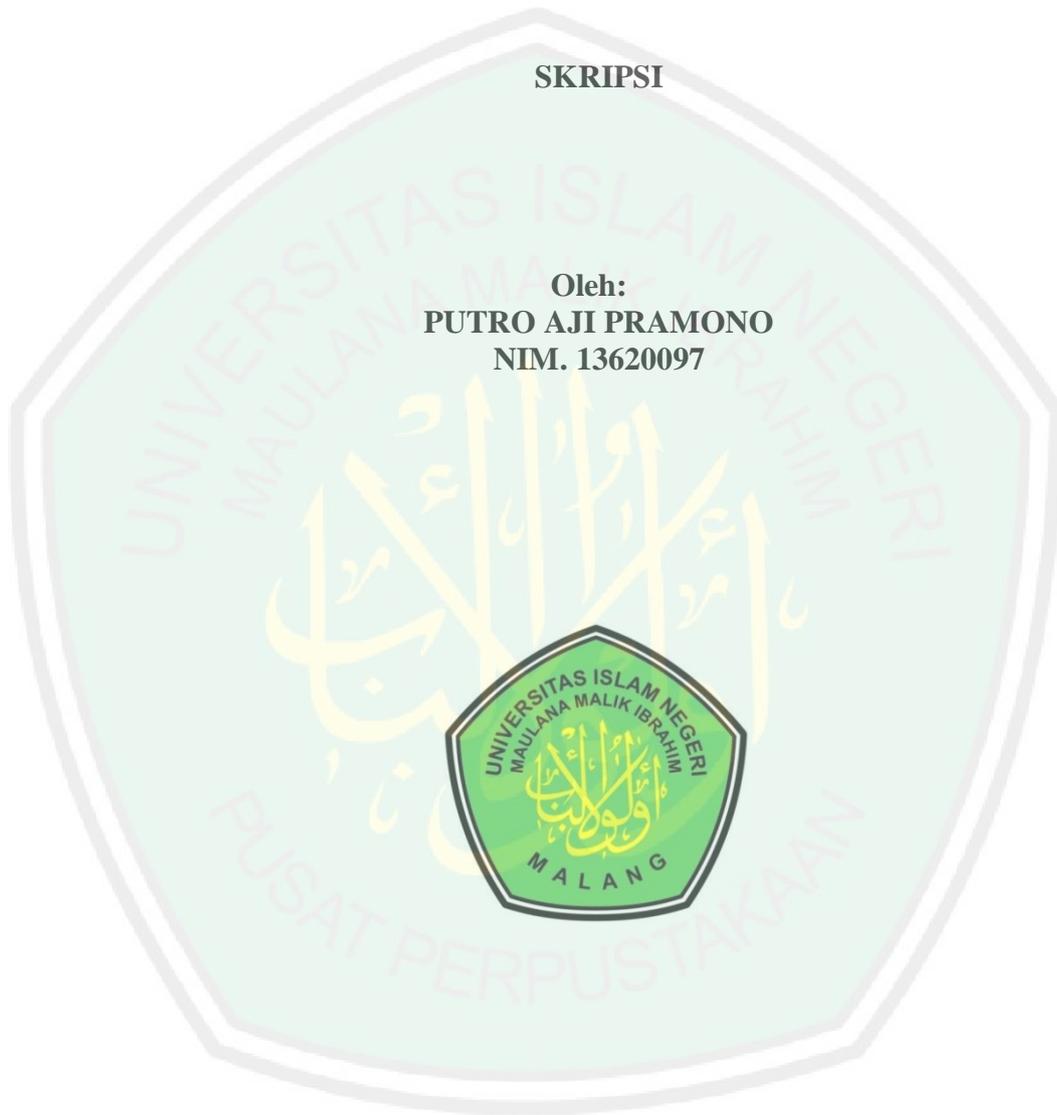


**INDUKSI KALUS JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN
MENGUNAKAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN
KINETIN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

SKRIPSI

Oleh:
PUTRO AJI PRAMONO
NIM. 13620097



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

**INDUKSI KALUS JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN
MENGUNAKAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN
KINETIN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

SKRIPSI

Oleh:
PUTRO AJI PRAMONO
NIM. 13620097



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

**INDUKSI KALUS JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN
MENGUNAKAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN
KINETIN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

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:
PUTRO AJI PRAMONO
NIM. 13620097**

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

HALAMAN PERSETUJUAN

**INDUKSI KALUS JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN
MENGUNAKAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN
KINETIN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

SKRIPSI

**OLEH:
PUTRO AJI PRAMONO
NIM. 13620097**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal, 21 Desember 2017

Pembimbing I,



Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIDT. 19790123 20160801 0263

Pembimbing II,



M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

HALAMAN PENGESAHAN

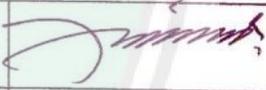
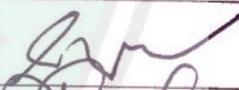
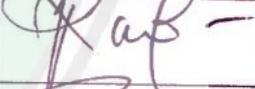
INDUKSI KALUS JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN MENGUNAKAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN KINETIN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN

SKRIPSI

OLEH:
PUTRO AJI PRAMONO
NIM. 13620097

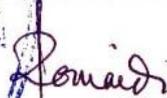
Telah Dipertahankan di Depan Penguji Skripsi
dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 21 Desember 2017

Penguji Utama	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	<u>Suyono, M.P</u> NIP. 19710622 200312 1 002	
Sekretaris Penguji	<u>Ruri Siti Resmisari, M.Si</u> NIDT. 19790123 20160801 0263	
Anggota Penguji	<u>M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I</u> NIPT. 20142011409	

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 : Putro Aji Pramono

NIM : 13620097

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Induksi Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin Melalui Teknik Kultur Jaringan

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, 21 Desember 2017
Yang membuat pernyataan,



Putro Aji Pramono
NIM. 13620097

MOTTO

**PATUH TENG WONG TUO LAN PATUH TENG AGOMO,
DALAN E OREP MESTI DADI LANCAR**



LEMBAR PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT. Atas pemberian nikmat dan karunia-Nya yang diberikan kepada penulis dengan rasa bangga karya tulis ini dipersembahkan kepada:

Kedua orang tua

(R. B. B. Soejorihandono dan Djuljuk Triwardani)

Yang telah memberikan kasih sayang penuh terhadap penulis dari awal hingga akhir, dan mendukung hingga penulisan naskah ini selesai

Guru, Laboran dan Dosen

Yang telah memberikan pengarahan pada penelitian ini dan mendukung berlangsungnya penelitian serta penulisan naskah.

Kerabat dekat serta Sahabat-sahabat

Yang telah membatu segala macam bentuk bantuan dari dukungan moral, materi dan spiritual dari naskah ini awal ditulis hingga naskah ini menjadi naskah yang mengantarkan penulis meraih gelar sarjana yang diinginkan.

Atak Indah

Terima kasih sudah membantuku selama ini hingga penulisan naskah selesai, thank for all.

PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN

Penulisan transliterasi Arab-Latin dalam skripsi ini menggunakan pedoman transliterasi berdasarkan keputusan bersama Menteri Agama RI dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI no.158 tahun 1987 dan no.0543 b/U/1987 yang secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Konsonan

No	Arab	Latin	No	Arab	Latin
1	ا	Tidak dilambangkan	16	ط	t
2	ب	b	17	ظ	z
3	ت	t	18	ع	'
4	ث	ṡ	19	غ	g
5	ج	j	20	ف	f
6	ح	ḥ	21	ق	q
7	خ	kh	22	ك	k
8	د	d	23	ل	l
9	ذ	ẓ	24	م	m
10	ر	r	25	ن	n
11	ز	z	26	و	w
12	س	s	27	ه	h
13	ش	sy	28	ء	'
14	ص	ṣ	29	ي	y
15	ض	ḍ			

2. Vokal Pendek

ـَ = a كَتَبَ kataba
 ـِ = i سُوِّلَ su'ila
 ـُ = u يَذْهَبُ yaẓhabu

3. Vokal Panjang

اَ... = ā قَالَا qāla
 إِي... = ī قِيلَا qīla
 أُو... = ū يَقُولُ yaqūlu

4. Diftong

أَيُّ = ai كَيْفَ kaifa
 أَوْ = au هَاوِلَ ḥaula

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, Wr.Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Induksi Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin Melalui Teknik Kultur Jaringan”**. 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.

Penulis juga haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan *Jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si, dan M.Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing integrasi Sains dan Islam, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Berry Fahkry Hanifa, M.Sc 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 penulis Bapak R.B.B. Soerjorihandono dan Ibu Djudjuk Triwardani serta kedua saudara Ayu Tribuana Dewi dan Bagus Satrio Utomo

tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.

8. Laboran dan staff asministrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2013 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca. *Amin Ya Robbal 'Alamiin.*

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
المخلص	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan	9
1.4 Manfaat	9
1.5 Hipotesis	9
1.6 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Jintan Hitam dalam Prespektif Islam	11
2.2 Deskripsi Tanaman Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	14
2.2.1 Sistematika Tanaman	15
2.2.2 Komposisi Kimia Tanaman	15
2.2.3 Senyawa <i>Thymoquinone</i>	16
2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan	18
2.3.1 Definisi Kultur Jaringan Tumbuhan	18
2.3.2 Media Kultur	19
2.3.3 Eksplan	20
2.3.4 Sterilisasi	21
2.4 Kultur Kalus	21
2.4.1 Tekstur Kalus	23
2.4.2 Warna kalus	24
2.5 Zat Pengatur Tumbuh	26
2.5.1 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid)	27
2.5.2 Kinetin (6-Furfuryl Amino Purine)	29
2.5.3 Interaksi Auksin dan Sitokinin	30

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Percobaan.....	33
3.2 Waktu dan Tempat	34
3.3 Alat dan Bahan	34
3.3.1 Alat	34
3.3.2 Bahan	34
3.4 Prosedur Penelitian	35
3.4.1 Tahap Persiapan	35
3.4.1.1 Sterilisasi Alat	35
3.4.1.2 Pembuatan Stok Hormon	35
3.4.1.3 Pembuatan Media	35
3.4.1.4 Sterilisasi Ruangan	36
3.4.1.5 Sterilisasi Eksplan	36
3.4.2 Penanaman Eksplan Biji	37
3.4.3 Induksi Kalus.....	37
3.5.6 Teknik Pengambilan Data	38
3.6 Analisis Data	39
3.7 Desain Penelitian	40

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	41
4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	48
4.3 Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	54
4.3.1 Pengaruh Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Hari Muncul Kalus, Persentase dan Berat Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	54
4.3.2 Pengaruh Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Warna dan Tesktur Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	59
4.4 Integrasi Hasil Penelitian Induksi Kalus Jintan Hitam dengan Pandangan Islam	68

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran	74

DAFTAR PUSTAKA	75
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	85
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman dan Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	14
Gambar 2.2 Rumus Bangun <i>Thymoquinone</i>	17
Gambar 2.3 Tekstur Kalus	24
Gambar 2.4 Kategori Skoring Warna Kalus pada Eksplan Kotiledon <i>Helianthus annuus</i>	25
Gambar 2.5 Struktur Molekul 2,4-D.....	28
Gambar 2.6 Struktur Molekul Kinetin	29
Gambar 2.7 Interaksi Auksin dan Sitokinin dalam Kultur Jaringan.....	31
Gambar 3.1 Desain Penelitian	40
Gambar 4.1 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) dari Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	45
Gambar 4.2 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	46
Gambar 4.3 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Berat Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	47
Gambar 4.4 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) dari Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	51
Gambar 4.5 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	52
Gambar 4.6 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Berat Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	53
Gambar 4.7 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	57
Gambar 4.8 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) dengan Berat Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella</i> <i>sativa</i> L.).....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Tabel Kombinasi Perlakuan 2,4-D dan Kinetin	34
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	41
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	42
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	48
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	48
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	54
Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	55
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Warna dan Tekstur Kalus Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Data Hasil Pengamatan	85
Lampiran 2 Hasil Analisis Variansi dan uji Lanjut DMRT 5%	93
Lampiran 3 Perhitungan dan Pengambilan Larutan Stok Hormon	102
Lampiran 4 Gambar Hasil Penelitian Ketiga Ulangan	104
Lampiran 5 Alat-alat Penelitian	106
Lampiran 6 Bahan-bahan Penelitian	106
Lampiran 7 Foto Kegiatan	107
Lampiran 8 Kartu Konsultasi Skripsi	108
Lampiran 9 Determinasi Tanaman Jintan Hitam	109



ABSTRAK

Pramono, Putro Aji. 2017. **Induksi Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin Melalui Teknik Kultur Jaringan**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci: Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.), 2,4-D, Kinetin.

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam pengobatan Islam. Kebutuhan biji jintan hitam terus meningkat, dalam dunia medis *thymoquinone* digunakan antara lain sebagai; antimikroba, antiparasit, antikanker, antiinflamasi, imunomodulator, antioksidan dan sebagainya. *Thymoquinone* dapat diperoleh melalui kultur kalus dengan penambahan konsentrasi 2,4-D dan kinetin sehingga produksi metabolit sekundernya meningkat dan dapat dijadikan sebagai protokol konsentrasi ZPT yang paling optimal dalam peningkatan metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh 2,4-D dan kinetin serta kombinasinya terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 35 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu: konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L, 2,5 mg/L dan 3 mg/L, konsentrasi kinetin meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *twoways* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5% serta uji regresi korelasi.

Hasil dari penelitian menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus jintan hitam. Konsentrasi 2,4-D yang paling efisien untuk semua variabel adalah 1,5 mg/L menginduksi kalus selama 20 HST persentase kalus 63,67% dan berat 0,1452gr. Sedangkan konsentrasi kinetin hanya berpengaruh terhadap berat kalus pada konsentrasi 1 mg/L menginduksi kalus selama 22,29 HST persentase kalus sebesar 54,52% dan berat 0,1190 gr. Kombinasi antara 2,4-D dan kinetin terdapat pengaruh terhadap persentase kalus dan berat kalus, yaitu pada konsentrasi yang efisien 2,4-D 2,5 mg/L + Kinetin 2 mg/L dapat menghasilkan 90% kalus tumbuh dengan berat kalus 0,2028 gr dan warna kalus yang dihasilkan adalah kekuningan dengan tekstur kompak.

ABSTRACT

Pramono, Putro Aji. 2017. **Induction of Black Cumin Callus (*Nigella sativa* L.) Using Combination of 2,4-D Growth and Kinetin Growth Substances Through Tissue Culture Technique.** Essay. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Counselor: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: *Black Cumin Callus (Nigella sativa L.), 2,4-D, Kinetin.*

Black cumin (*Nigella sativa* L.) is one of the most widely used plants in the treatment of Islam. The needs for black cumin seeds always increases, especially in the medical world. Thymoquinone is used as; antimicrobial, antiparasitic, anticancer, antiinflammation, immunomodulator, antioxidant, and etc. Thymoquinone can be obtained through callus culture with the addition of 2,4-D concentration and kinetin, so the production of secondary metabolite will increase and it can be used as the most optimal ZPT concentration protocol in the increases of secondary metabolite. The purpose of this study was to investigate the effect of 2,4-D and kinetin and its combination on black cumin callus induction (*Nigella sativa* L.).

This study was experimental, using a complete randomized design (RAL) with 35 treatments and 3 replications. The treatments in this study consist of two factors, such as: the variation of 2,4-D concentrations that consist of 0 mg / L, 0.5 mg / L, 1 mg / L, 1.5 mg / L, 2 mg / L, 2.5 mg / L, and 3 mg / L, the variation of kinetin concentrations that consist of 0 mg / L, 0.5 mg / L, 1 mg / L, 1.5 mg / L, and 2 mg / L. Data were analyzed by ANAVA test twoways $\alpha = 5\%$. If there are significant differences, it will be continued by Duncan Multiple Range Test (DMRT) with 5% significant level and correlation regression test.

The results of this study showed of the effect of 2,4-D and kinetin on black cumin callus inductions. The most efficient from the variation of 2,4-D concentration for all variables was 1.5 mg / L induced callus for 20 Days After Planting (DAP) callus with the percentage 63.67% and the weight was 0.1452gr. Kinetin concentration only influence on callus weight at concentration 1 mg / L induce callus for 22 Days After Planting (DAP) which the callus percentage equal to 54,52% and its weight 0,1190 gr. A combination of 2,4-D and kinetin has an effect on callus' percentage and callus' weight which was at an efficient concentration, such as the combination of 2,4-D 2,5 mg / L + Kinetin 2 mg / L. It can produces 90% of calluses that grow for weight 0, 2028 grams. The result from this study, that the callus color was yellowish with a compact texture.

الملخص

برامونو، بوترا أجاى. 2017. استقراء الكالوس الكمون الأسود (*Nigella sativa* L.) باستخدام المزيج منظم النمو 2,4-D و كينيتين من خلال التقنية ثقافة الشبكة. البحث الجامعي. قسم الأحياء كلية العلوم والتكنولوجيا الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: روري سيدتي ريسميساري، الماجيستر و محمد مخلص فخر الدين الماجيستر

كلمات البحث: كالوس الكمون الأسود (*Nigella sativa* L.) ، 2,4-D ، كينيتين.

الكمون الأسود (*Nigella sativa* L.) هو واحد من النباتات أكثر استخداما في معالجة الإسلام. محتوى المستقلبات الثانوية الموجودة في بذور الكمون الأسود هو من مجموعة الزيوت الأساسية مع المحتوى من 0,5-1,6% يتكون خاصة من مونوترينيس: β -*pinene* ، α -*pinene* ، γ -*terpinene* ، *p-cymene* ، *thymoquinone* ، *thymol* ، *carvacrol* ، α -*thujene* ، *pinene* لا تزال الحاجة إلى بذور الكمون الأسود في الزيادة، في العالم الطبي يستخدم *thymoquinone* منها ؛ كمضاد للميكروبات، مضاد الطفيليات، مضاد للسرطان، مكافحة التضخم، المناعي، المضاد للأكسدة وهلم جرا. يمكن *Thymoquinone* لنيله من خلال ثقافة كالوس بإضافة التركيز 2,4-D و كينيتين حيث يزداد إنتاج الأيض الثانوي، يمكن استخدامها كما بروتوكول تركيز ZPT الأمثل في زيادة الأيض الثانوي. الغرض من هذا البحث لمعرفة التأثير 2,4-D و كينيتين ومزيجها على استقراء الكالوس الكمون الأسود (*Nigella sativa* L.).

هذا البحث التجريبي، باستخدام تصميم العشوائي الكامل (RAL) مع 25 معالجة و 3 مكررات مع 35 معاملة و 3 مكررات. المعالجة في هذا البحث عاملان هما: تركيز D-2.4 يشمل 0 mg/L و 5,0 mg/L ، 1 mg/L ، 1.5 mg/L ، 2 mg/L و 3 mg/L ، يشمل تركيز كينيتين 0 mg/L ، 5,0 mg/L ، 1 mg/L و 1.5 mg/L و 2 mg/L. تحليل البيانات باختبار ANOVA سبيلين 5% . إذا كان فرق مهمة، فيستمر اختبار دونكان متعدد المدى اختبار (DMRT) مع مستوى الأهمية 5% واختبار الانحدار المرتبط.

أظهرت نتائج البحث أن هناك تأثير التركيز D-2.4 و كينيتين على استقراء الكالوس الكمون الأسود. تركيز 2,4-D أكثر فعالية لجميع المتغيرات هي 2 mg/L يستقر الكالوس لمدة 18 HST، بنسبة 65,67% ووزن الكالوس من 0.1501 gr. في حين أن تركيز الكينيتين يؤثر فقط على وزن الكالوس في التركيز 2 mg/L على الكالوس HST 23، بنسبة 63,09% ووزن الكالوس 0,1391 gr. الجمع بين 2,4-D و كينيتين له تأثير على الكالوس بنسبة كالوس 93,33% ووزن الكالوس 0,2119 gr اي في التركيز 2,4-D + كينيتين 2 mg/L. لون الكالوس المنتج هو مصفر بالنسيج المتفق.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Volume perdagangan tanaman herbal dalam bentuk jamu di Indonesia dan ekspor terbatas keluar negeri mencapai angka 8 triliun rupiah pada tahun 2005, meningkat menjadi 10-11 triliun rupiah pada akhir tahun 2010 (Manoi, 2015). Nilai ekspor obat herbal dunia pada tahun 2013 mencapai US\$ 1,94 miliar, meningkat sebesar 12,4% dari nilai ekspor pada tahun 2012. Ekspor obat herbal dunia selama periode 2009-2013 mengalami pertumbuhan sebesar 4,82% per tahun (Departemen Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2014).

Hal tersebut membuktikan bahwa Allah *Subhanahu wa Ta'ala* menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan di muka bumi untuk memenuhi kebutuhan manusia diantaranya sebagai obat-obatan yang diperoleh dari tanaman herbal, ini sesuai dengan Firman Allah *Subhanahu wa Ta'ala* dalam Al-Qur'an Surat Asy-Syu'araa (26) ayat 7:

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-Syu'araa:7).

Kata (زوج كريم) bermakna “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Menurut tafsir Jalalain kata tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan hewan (Al-Mahally, 1990). Shihab (2001) menjelaskan dalam tafsir Al-Misbah, bahwa ayat ini mengajak umat manusia untuk memandang aneka ragam keajaiban

dalam tumbuh-tumbuhan yang terhampar di muka bumi. Tumbuh-tumbuhan memiliki banyak manfaat yang salah satunya sebagai bahan obat alami.

Hadits tentang manfaat tumbuhan sebagai obat salah satunya adalah jintan hitam. Nabi Muhammad *Sallallahu 'alaihi wasallam* bersabda :

عَلَيْكُمْ بِهَذِهِ الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ فَإِنَّ فِيهَا شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ وَالسَّامُ الْمَوْتُ

Artinya: "Sesungguhnya *habbatus sauda'* ini adalah obat dari segala macam penyakit kecuali saam. Apakah saam itu? Saam adalah kematian."

Habbatus sauda' atau jintan hitam merupakan biji-bijian yang mengandung obat bagi segala macam penyakit. Jintan hitam ini juga dapat dipastikan memiliki hubungan langsung dengan sistem kekebalan tubuh manusia, oleh sebab itu Nabi Muhammad *Shallallahu 'alaihi wasallam* mensunahkan umat islam agar mengkonsumsi jintan hitam disaat terserang penyakit (An-Najjar, 2011).

Jintan hitam atau *Nigella sativa* L. yang merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam pengobatan Islam. Jintan hitam merupakan ramuan tanaman dengan biji yang kecil diyakini masyarakat di wilayah Mediterania dan telah dibudidayakan di bagian lain dunia termasuk India dan Pakistan (Chaudhry *et al.*, 2014). Jintan hitam menempati tempat utama dalam budaya Asia Timur Selatan dan Asia selatan, karena dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan dan semakin banyak digunakan dalam dunia medis (Bourgou *et al.*, 2008).

Kandungan yang terdapat pada biji jintan hitam yang bermanfaat utama adalah dari golongan minyak atsiri dengan kandungan sebesar 0,5-1,6% terutama terdiri dari monoterpen; *p-cymene*, *γ-terpinene*, *α-pinene*, *β-pinene*, *α-thujene*,

carvacrol, *thymol* dan *thymoquinone* (Burits dan Bucar, 2000). Menurut Mahfur (2012) Jintan hitam juga mengandung senyawa metabolit sekunder lain seperti *propanone*, *sabinene*, *2- β -pinene*, *limonene*, *o-cimene*, *delta-3-carene*, *cis-limonene oxide*, *terpinene-4-ol*, *beta-cyclocytral*, *α -longipinene* dan *junipene*. Salah satu senyawa yang paling banyak terkandung dalam minyak atsiri biji jintan hitam yang bersifat non polar adalah *thymoquinone*. *Thymoquinone* adalah senyawa bioaktif dari golongan terpenoid yaitu monoterpen yang merupakan salah satu senyawa paling banyak terdapat pada minyak esensial biji jintan hitam sekitar 7.8-13.7% (Lewinsohn *et al.* 2012).

Thymoquinone berfungsi sebagai antimikroba, antiparasit, antikanker, antiinflamasi, imunomodulator, antioksidan dan hepatoprotektor (Gali-Muhtasib *et al.*, 2006). Selain itu, *thymoquinone* berguna untuk mencegah penyakit kanker usus dan leukeimia (Maznah *et al.*, 2011), anti mikroba (Chaieb *et al.*, 2011) dan mencegah kerusakan eritrosit (Harzallah *et al.*, 2012). Beberapa hasil penelitian efek farmakologis lainnya dari biji jintan hitam antara lain: antiiskemia (Hosseinzadeh *et al.*, 2006), anti-tumor (Mbarek *et al.*, 2007), efek estrogenik (Parhizkar *et al.*, 2011), dan menurunkan kadar gula darah (Mohtashami *et al.*, 2011).

Permasalahan yang dihadapi saat ini adalah kebutuhan biji jintan hitam di Indonesia yang tinggi. Seperti yang telah dilaporkan oleh Departemen Kementerian Perdagangan Republik Indonesia (2012) di Indonesia, jintan hitam yang beredar umumnya masih impor dalam bentuk biji dari India, Mesir, Siria dan Afrika Selatan. Menurut Wahyuni (2009), Industri farmasi dan pengolahan biji

jintan hitam didalam negeri masih mengimpor biji jintan hitam dari India dan Mesir serta negara Timur Tengah lainnya. Total impor biji jintan hitam dalam setahun sebanyak 510,003 kg dengan nilai US\$ 364,394.

Berdasarkan banyaknya manfaat dan kebutuhan yang tinggi pada biji tanaman jintan hitam. Teknik kultur jaringan dapat digunakan sebagai sarana penghasil senyawa metabolit sekunder tumbuhan. Keunggulan penggunaan teknik kultur jaringan adalah metabolit sekunder yang dihasilkan lebih banyak dan mudah dimurnikan, karena sel-sel yang dihasilkan tidak banyak mengandung pigmen (Vanisree *et al.*, 2003). Kultur kalus menjadi suatu alternatif untuk meningkatkan kadar metabolit sekunder. Teknik kultur jaringan tanaman mempunyai keuntungan antara lain dapat memproduksi metabolit sekunder yang dilakukan sepanjang tahun dan tanpa dipengaruhi oleh cuaca, serta dapat dikembangkan untuk produksi biomassa metabolit secara besar-besaran, sehingga kultur kalus merupakan cara yang dapat digunakan dalam meningkatkan sintesis metabolit sekunder (Habibah, 2009).

Penggunaan kultur kalus untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder terutama senyawa obat, dianggap lebih menguntungkan dibandingkan produksi tanaman utuh, karena dalam kultur kalus pasokan zat hara yang teratur dapat dijamin serta dimungkinkan pula untuk pengaturan proses metabolisme sehingga dapat diperoleh hasil yang maksimal (Kurz dan Constabel, 1991). Berdasarkan penelitian Alemi *et al.* (2013) hasil ujia analisa HPLC ekstrak kalus dan biji jintan hitam menunjukkan bahwa, kandungan thymoquinone kalus dari bagian daun

lebih tinggi 12 kali dibandingkan kandungan thymoquinone pada ekstrak biji segar.

Menurut Indah dan Ermavitalini (2013) Kualitas kalus yang baik sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yaitu mempunyai ciri-ciri warna dan tekstur yang sesuai dengan metabolit sekunder yang diinginkan, dalam penelitian ini metabolit sekunder yang diinginkan adalah golongan minyak atsiri. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Ermavitalini, 2013).

Pembentukan kalus ditentukan sumber aksplan, komposisi nutrisi pada media dan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Andaryani, 2010). Keberhasilan kultur *in vitro* ditentukan oleh media dan macam tanaman. Media mempunyai 2 fungsi utama, yaitu untuk menyuplai nutrisi dan untuk mengarahkan pertumbuhan melalui zat pengatur tumbuh (Elimasni dan Zaidun, 2006). Menurut Evans *et al* (2003) dalam Hayati (2010), induksi kalus dipengaruhi oleh rasio auksin dan sitokinin yang seimbang, sehingga diperlukan kombinasi yang tepat agar dapat menginduksi pembentukan kalus yang optimal. Selain itu pemberian ZPT yang sesuai juga dapat mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder tertentu pada kultur sel maupun kultur kalus (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

Auksin sebagai salah satu zat pengatur tumbuh bagi tanaman mempunyai pengaruh terhadap pengembangan sel, pembentukan kalus dan respirasi

(Suprpto, 2004). Auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah *indole-3-acetic acid* (IAA), *α -naphthalenacetic acid* (NAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) (Zulkarnain, 2014). Golongan auksin yang umumnya digunakan pada media kultur jaringan adalah 2,4-D dan IAA. Dibandingkan dengan IAA, auksin jenis 2,4-D memiliki sifat stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono dan Wijayanti, 1994). Menurut Mahadi *et al*, (2016) salah satu hormon yang sering digunakan dan sangat efektif adalah 2,4-D, yaitu auksin yang dapat merangsang pembentukan sel-sel. Konsentrasi yang rendah <5mg/L 2,4-D pada tanaman dikotil dapat merangsang induksi kalus.

Pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan. Menurut Sitingjak dkk. (2015) menyatakan Penggunaan auksin (2,4-D) dan sitokinin jenis BA (Benzil Adenin) atau kinetin akan meningkatkan proses induksi kalus. Kinetin merupakan sitokinin sintetik yang mempunyai aktifitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sitokinin alami (Santoso dan Nursandi, 2003). Pembelahan sel dalam kultur jaringan yang disebabkan oleh kinetin telah banyak dilakukan penelitian oleh para ahli. Konsentrasi kinetin yang berimbang dengan auksin dapat menyebabkan pertumbuhan kalus (Fitrianti, 2006). Pemberian ZPT adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah (< 1 mM) mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Widyastuti dan Tjokrokusumo, 2001).

Penelitian terdahulu diketahui bahwa dengan modifikasi media yang menggunakan ZPT berupa 2,4-D dan kinetin mampu menginduksi kalus dengan baik. dalam penelitian Nouroz and Chaudry (2016) menyatakan dengan perlakuan berbagai macam jenis dan kombinasi ZPT yang telah dilakukan, pada eksplan internodus tanaman jintan hitam pada perlakuan kombinasi 2 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin dapat menghasilkan kalus terbaik dengan warna hijau dan tekstur kalus yang kompak serta diperoleh waktu tumbuh kalus yang singkat hanya delapan hari setelah tanam. Menurut Alemi, et al. (2013) menyatakan kalus jintan hita berasal dari eksplan daun dengan konsentrasi 0,22 mg/L 2,4-D dan 2,15 mg/L kinetin selama 2 minggu dapat menghasilkan senyawa *thymoquinone* tertinggi 8,78 mg/ml.

Sedangkan dalam penelitian ini digunakan eksplan berupa kotiledon hingga hipokotil pada kecambah jintan hitam, sesuai dengan hasil uji pendahuluan yang dimana eksplan daun dan batang (internodus) tumbuhan jintan hitam dari lapang sulit untuk disterilisasi karena tekstur daun dan batangnya yang sangat lunak, oleh karena itu eksplan yang digunakan adalah kotiledon hingga hipokotil kecambah jintan hitam, selain itu eksplan kotiledon hingga hipokotil saat diinisiasi kedalam media induksi kalus mudah membentuk kalus dan tidak cepat browning. Pemilihan kombinasi ZPT yang digunakan dalam penelitian ini, menggunakan kombinasi dari penelitian Nouros dan Chaudry (2016) yang dikembangkan konsentrasi masing-masing ZPT 2,4-D dan kinetin, sesuai penelitian uji pendahuluan dengan membandingkan dua kombinasi dari penelitian terdahulu 2 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin dengan 0,22 mg/L 2,4-D dan 2,15 mg/L kinetin

pada eksplan hipokotil hingga kotiledon, kombinasi yang lebih cepat menginduksi kalus pada 2 mg/L dan 1,5 mg/L.

Pemilihan ZPT dan konsentrasi yang tepat merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan pertumbuhan kalus pada tanaman yang dikulturkan (Indah dan Ermavitalini, 2013). Oleh karena itu penelitian mengenai penentuan konsentrasi ZPT perlu dilakukan lebih lanjut untuk mendapatkan kalus jintan hitam penghasil metabolit sekunder yang optimal dengan konsentrasi yang sesuai. Berdasarkan latar belakang masalah diatas, maka penelitian yang berjudul Induksi Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) 2,4-D dan Kinetin melalui Teknik Kultur Jaringan ini penting untuk dikaji.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
2. Adakah pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
3. Adakah pengaruh interaksi 2,4-D dan kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
2. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
3. Mengetahui pengaruh interaksi 2,4-D dan kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

1.4 Manfaat

Manfaat yang didapat dari penelitian ini ialah:

1. Sebagai cara alternatif memproduksi metabolit sekunder dari biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) melalui kalus hasil teknik kultur jaringan
2. Untuk memberi informasi konsentrasi ZPT yang tepat dalam mendapatkan kalus dan metabolit sekunder jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan teknik kultur jaringan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut :

1. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
2. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

3. Ada pengaruh interaksi 2,4-D dan kinetin pada media dasar MS terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut :

1. Biji tanaman jintan hitam yang digunakan sebagai eksplan berasal dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Eksplan yang digunakan adalah bagian kotiledon hingga hipokotil pada kecambah jintan hitam berukuran 1 cm dari hasil kultur jaringan yang berumur 21 HST.
3. Media dasar yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS).
4. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan adalah; 0 mg/L, 5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L, 2,5 mg/L dan 3 mg/L.
5. Konsentrasi Kinetin yang digunakan adalah; 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/ L.
6. Parameter kualitas kalus *Nigella sativa* L. yang diamati meliputi; warna kalus dan tekstur kalus.
7. Parameter kuantitas kalus *Nigella sativa* L. yang diamati yaitu; hari munculnya kalus, berat kalus, dan persentase tumbuh kalus.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Jintan Hitam dalam Perspektif Islam

Allah *Subhanahu wa Ta'ala* telah menciptakan berbagai macam tumbuhan agar dapat dimanfaatkan oleh manusia. Hal tersebut merupakan rahmat yang diberikan Allah *Subhanahu wa Ta'ala* terhadap manusia. Sebagaimana yang terkandung dalam Al-Qur'an Surat Thahaa (20):53,

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهَاءِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

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

Pengertian dari firman Allah **نبش تابين** adalah jenis yang bermacam-macam bentuk, ukuran, manfaat, warna, bau dan rasanya. Kata **تابين** berarti tumbuhan yang bermacam-macam, sedangkan kata **نبش** merupakan bentuk jamak dari kata **تيتش** yang artinya yang bermacam-macam (Syanqithi, 2007). Kata **نبش** adalah sifat dari kata **اجاوزا** yang mengandung arti bermacam-macam warnanya, rasanya dan sebagainya. Dan kata **نبش** adalah bentuk jamak dari kata **تيتش**, seperti kata **ضيرم** dan **ضرمي**. Berasal dari ungkapan **رملاتش** yang berarti bercerai-cerai (Muhammad, 2010).

Tafsir Maraghi (1993) menjelaskan bahwa “Allah SWT menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Allah SWT mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawija dan buah-buahan, baik yang masam

maupun yang manis. Allah SWT juga mengeluarkannya dengan berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk; sebagiannya cocok untuk manusia dan sebagian lainnya cocok untuk hewan. Disini terdapat penjelasan tentang nikmat-nikmat Allah SWT yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui hujan yang melahirkan berbagai manfaat”.

Surat Thahaa ayat 53 ini menjelaskan bahwa Allah SWT memiliki kekuasaan dan kemampuan-Nya dalam menciptakan segala sesuatu. Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuhan yang bermacam-macam dan dari berbagai jenis tumbuhan itu terdapat manfaat yang terkandung didalamnya. Tumbuhan memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia dalam bidang kesehatan, salah satunya digunakan sebagai obat dari segala macam penyakit yaitu jintan hitam.

Jintan hitam sering dikaitkan sebagai resep pengobatan kuno islam yang dapat mengobati segala macam penyakit. Air hujan yang disinggung dalam surat ini dapat menumbuhkan tanaman contohnya jintan hitam. Untuk mendapatkan manfaat jintan hitam yang dikembangkan dengan teknik kultur kalus, dalam media kultur kalus semisolid juga dibutuhkan air yang cukup dalam pembuatan media kultur jaringan. Allah Maha Kuasa atas segalanya tanaman yang di tumbuhkan dalam laboratorium dengan media yang dimanipulasi tetap membawa syarat utama pertumbuhan tanaman yaitu air yang dapat menumbuhkan tanaman utuh/ kalus baik dalam *in vitro* maupun menumbuhkan tanaman di lapang atau secara *in vivo*.

Allah *Subhanahu wa Ta'ala* juga menjelaskan dalam Surat Al-An'am (6):

99 mengenai tumbuhan yang dikeluarkan dari air hujan sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ
خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ
أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ
وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.

Ayat tersebut tidak menyebutkan kata morfologi secara langsung, tetapi ayat tersebut cukup menjelaskan karakteristik dari aspek morfologi suatu tumbuhan. Hal tersebut dijelaskan dengan adanya kata “hijau” (ارضخ), “biji-bijian” yang banyak (ابح) dan “tangkai-tangkai” yang menjulang (ناونق). Kata “hijau” (ارضخ), pada ayat tersebut secara morfologi menunjukkan warna daun yang mayoritas berwarna hijau (Al-Mahally, 1990).

Salah satu tanaman dengan tangkai menjulang dan biji-bijian yang banyak yaitu tanaman jintan hitam (*Nigella sativa* L.). Jintan hitam pada fase generatif setelah fase vegetatifnya optimal, tanaman ini akan menghasilkan bunga di ujung apikalnya dengan bakal biji dengan jumlah karpel (rongga biji) 4-5 buah, pada saat biji masak setiap karpel yang menjuntai akan membuka dan menghasilkan

banyak biji jintan hitam yang siap dipanen, bagian bijinya yang digunakan terutama sebagai rempah dan obat.

2.2 Deskripsi Tanaman Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Nama lainnya adalah *Black Seed* (Inggris) atau *Habattusauda* (Arab). *Nigella sativa* L. merupakan tumbuhan berbunga yang berasal dari Asia Barat Daya. Meskipun *Nigella sativa* L. merupakan tumbuhan asli daerah mediterania, namun juga telah banyak tumbuh di belahan dunia lain, yang meliputi Arab Saudi, Afrika Utara, dan sebagian Asia (Hosseinzadeh *et al.*, 2007). Tumbuhan ini tumbuh hingga mencapai tinggi 20-30 cm, dengan daun hijau lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beriringit, dan pertulangan menyirip. Bunganya majemuk, bentuk karang, kepala sari berwarna kuning, mahkota berbentuk corong berwarna antara biru sampai putih, dengan 5-10 kelopak bunga dalam satu batang pohon (Hutapea, 1994).



Gambar 2.1. Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) (Yusuf, 2014).

Buahnya berupa kapsul yang besar dan menggelembung terdiri dari 3-7 folikel yang menjadi satu, dimana masing-masing folikel ini mengandung beberapa biji. Biji ini biasanya digunakan sebagai bumbu dapur. Biji jintan hitam berujung tajam seperti bentuk biji wijen, keras, dan lebih menggelembung.

Memiliki bau khas seperti rempah-rempah dan agak pedas, yang akan semakin tajam baunya setelah dikunyah (Katzer, 2004).

2.2.1 Sistematika Tanaman

Klasifikasi dari *Nigella sativa* L. menurut Cronquist (1981) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Familia	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Species	: <i>Nigella sativa</i> L.

2.2.2 Komposisi Kimia Tanaman

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Moretti *et al.* (2004), diketahui bahwa komponen utama dari biji *N. sativa* adalah thymoquinone, thymohydroquinone, thymol, carvacrol, nigellicine, nigellimine, nigellimine-N-oxide, nigellidine, dan alpha hedrin (Al-Jabre dkk, 2003). Sedangkan komponen utama pada minyak *Nigella sativa* adalah *p-cymene* (33,8%), *thymol* (26,8%), dan *thymoquinone* (3,8%).

Komposisi zat-zat kimia alami yang terkandung dalam biji-biji jintan hitam secara umum terdiri dari sekitar 40% minyak konstan (*fatty oil content*), 1,5% minyak esensial (*essential oil content*), 15 asam amino (*alanine, arganine, isoleucine, lysine, tryptophane, thyrosine, threonin, asparagine, cystine, glycine,*

glutamic acid, metionine dan proline). Biji jintan hitam ini juga mengandung protein, ion kalsium, zat besi, ion natrium dan kalium (Hendrik, 2005 dalam Isnaini, 2010).

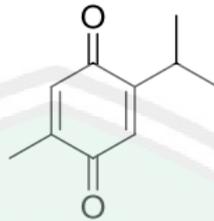
Beberapa hasil penelitian efek farmakologis lainnya dari biji jintan hitam dapat digunakan untuk membantu menurunkan kadar gula darah (Mohtashami *et al.*, 2011). Penelitian lain telah mengungkapkan berbagai macam manfaat dari jintan hitam seperti anti-inflamasi, anti-analgesik, anti-stres, antikanker, antioksidan, antibakteri, antijamur, antiparasit dan antiasthmatic (Roshan, 2010; Burits dan Bucar, 2000). Selain itu menurut (Ahmat, 2014) Jintan hitam juga dapat bertindak sebagai diuretik, stimulan, tonik memori dan antiseptik.

Efek anticestoda biji *N. sativa* telah dipelajari, dengan pemberian 40 mg/kg berat badan biji *N. sativa* dan sejumlah ekstrak ethanol, efektif dalam mengurangi jumlah telur pada feces (Akhtar dan Rifaat, 1991). Dalam penelitian yang lain diketahui pula adanya aktivitas antitrepatoda pada biji *N. sativa*, dengan menggunakan ekstrak methanol dan serbuk bijinya (Korshom *et al.*, 1998).

2.2.3 Senyawa *Thymoquinone*

Thymoquinone adalah senyawa bioaktif dari golongan terpenoid yaitu monoterpen yang merupakan salah satu senyawa paling banyak terdapat pada minyak esensial biji jintan hitam yaitu sekitar 7.8-13.7% (Lewinsohn *et al.* 2012). Hasil penelitian Al-Saleh *et al.* (2006) dalam Suryadi (2014), melaporkan bahwa kandungan thymoquinone dari tiap negara berbeda-beda, yaitu dari Ethiopia 3,098.5 mg/kg, India 2,362.68 mg/kg, Saudi Arabia 2,250.56 mg/kg, Syria

1,371.9 mg/kg dan Sudan 1,274.6 mg/kg. Rumus bangun thymoquinone disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Rumus bangun *thymoquinone* (Khan dan Afzal. 2016)

Thymoquinone berfungsi sebagai anti-mikroba, anti-parasit, anti-kanker, anti-imflamasi, imunomodulator, anti-oksidan dan hepatoprotektor (Gali-Muhtasib 2006). Selain itu, thymoquinone berguna untuk mencegah penyakit kanker usus dan leukeumia (Maznah *et al.* 2011), anti-mikroba (Chaieb *et al.* 2011).

Thymoquinone yang terdapat dalam biji *N. sativa* ini memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas. Selain itu juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesic, antipiretik, antimikroba, dan antineoplastik. Sedangkan manfaat dari minyak biji jintan hitam antara lain adalah menurunkan tekanan darah dan meningkatkan respirasi (Ali dan Blunden, 2003), serta dapat mengurangi derajat parasitemia akibat *Trypanosoma brucei* (Ekanem dan Yusuf, 2008).

2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.3.1 Definisi Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan tumbuhan telah dikenal sejak tahun 1940 dalam skala kecil laboratorium dan penelitian. Pada tahun 1970 mulai dilakukan pada tanaman pangan utama, tanaman hias populer dan skala produksi besar. Sebagian besar tanaman telah banyak dikultur secara *in vitro* dan 50-75% diantaranya merupakan bunga dan tanaman hias (Altman dan Loberant, 1998). Kultur jaringan adalah suatu teknik untuk mengisolasi sel, protoplasma, jaringan, dan organ kemudian menumbuhkan bagian tersebut pada nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman pada kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman sempurna kembali (Mardiana, 2009).

Kultur jaringan pada dasarnya merupakan suatu sistem pertumbuhan sel-sel yang belum berdiferensiasi, sehingga berkemampuan menghasilkan tanaman-tanaman baru. Proses ini umumnya dimulai dengan menghasilkan kalus. Kalus dapat dihasilkan dari bagian-bagian tanaman, antara lain dari daun, batang, dan akar. Agar dapat digunakan, kalus harus dalam kondisis “totipoten” artinya kalus tadi mempunyai informasi genetik yang lengkap dan kemampuan untuk meregenerasikan tanaman dengan organ-organ yang telah berdiferensiasi. Kalus tadi biasanya dibiakkan pada media agar yang terbuat dari kombinasi yang tepat antara hormon tumbuhan dan unsur-unsur kimia tertentu, tergantung jenis tanamannya (Welsh, 1991).

Setelah jaringan kalus tumbuh, sel-selnya dapat dipisahkan dan dipindahkan dalam media cair dan ditumbuhkan sebagai suspensi sel tunggal. Setiap jenis tumbuhan membutuhkan faktor-faktor lingkungan tertentu, agar sel-selnya dapat bereproduksi secara normal dalam media suspensi. Faktor-faktor lingkungan yang sesuai bagi sel-sel jenis tumbuhan tertentu dapat diketahui melalui beberapa perlakuan percobaan. Melalui reproduksi sel ini dapat dihasilkan individu-individu tumbuhan dalam jumlah yang besar (Welsh, 1991).

Pemeliharaan kondisi lingkungan kultur yang optimum dalam kultur *in vitro* merupakan kunci utama dari keseluruhan langkah kerja. Pada kultur *in vitro* dibutuhkan cahaya, suhu, dan RH (*relative humidity*) yang konstan. Seperti halnya pertumbuhan tanaman dalam kondisi *in vivo*, kuantitas dan kualitas cahaya, yaitu intensitas, lama penyinaran dan panjang gelombang cahaya mempengaruhi pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* (Altman dan Loberant, 1998). Pertumbuhan organ atau jaringan tanaman dalam kultur *in-vitro* umumnya tidak dihambat oleh cahaya, namun pertumbuhan kalus umumnya dihambat oleh cahaya. Pada kebanyakan tanaman secara *in vitro*, kultur umumnya diinkubasikan pada ruang penyimpanan dengan penyinaran (Fishel, 2006).

2.3.2 Media Kultur

Media kultur adalah media steril yang digunakan untuk menumbuhkan sumber bahan tanaman menjadi bibit (Mariska dan Sukmadjaja, 2003). Keberhasilan dalam metode kultur jaringan sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan tanaman tidak hanya menyediakan unsur-unsur

hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk mengganti karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis (Gunawan, 1988). Komponen dasar media kultur ialah air, gula sebagai sumber karbon, garam inorganik, hara mikro dan makro, vitamin, dan hormon pertumbuhan. Saat ini sudah banyak dipakai media sintetis sebagai sumber nutrisi bagi tanaman (Altman dan Loberant, 1998).

Komposisi media yang umum digunakan untuk perbanyakan tanaman adalah media Murashige-Skoog (MS) dan Gamborg's (B5). Untuk memudahkan pembuatan media, biasanya komponen tersebut dibuat dalam larutan stok. Larutan stok dari unsur-unsur makro dan mikro biasanya dibuat dalam konsentrasi 100 kali, vitamin, dan zat pengatur tumbuh dibuat dalam 1000 kali. Semua larutan stok sebaiknya disimpan dalam lemari es dengan suhu 10°C (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

2.3.3 Eksplan

Eksplan adalah bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan dapat berasal dari meristem, tunas, batang, antera, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizome, akar atau bagian-bagian lain. Ukuran eksplan yang digunakan bervariasi dari ukuran mikroskopik ($\pm 0,1$ mm) sampai 5 cm (Mariska dan Sukmadjaja, 2003).

Eksplan yang berasal dari lapangan mengandung debu, kotoran- kotoran, dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya. Sterilisasi bahan tanaman mutlak dilakukan (Gunawan, 1988). Menurut Mariska dan Sukmadjaja (2003) sterilisasi eksplan merupakan bagian yang paling sulit dalam proses produksi bibit

melalui kultur jaringan. Sterilisasi biasanya dilakukan dalam beberapa tahap. Menurut Gunawan (1988) sterilisasi dimulai dengan pencucian dan pembuangan bagian-bagian yang kotor dan mati dengan air steril kemudian perendaman dalam larutan aseptik.

2.3.4 Sterilisasi

Inisiasi kultur yang bebas dari kontaminan merupakan langkah yang sangat penting. Bahan tanaman dari lapangan mengandung debu, kotoran-kotoran dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya. Kontaminan hidup dapat berupa cendawan, bakteri, serangga, dan telur inserta spora-spora. Umumnya cendawan berasal dari internal tanaman tetapi untuk bakteri berasal dari internal maupun dari neksternal tanaman. Bila kontaminan ini tidak dihilangkan, maka pada media yang mengandung gula, vitamin, dan mineral, kontaminan terutama cendawan dan bakteri akan tumbuh secara cepat (Gunawan, 1988).

Kontaminan akan memenuhi seluruh botol kultur dalam beberapa hari sehingga eksplan akan tertutup dan mati. Kontaminan tersebut dapat ditanggulangi dengan sterilisasi ruang kerja (dengan LAF), sterilisasi media dan alat-alat, serta sterilisasi eksplan (Indrianto, 2002).

2.4 Kultur Kalus

Kalus adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi. Massa sel ini terbentuk di seluruh permukaan irisan eksplan, sehingga semakin luas permukaan irisan eksplan semakin cepat dan banyak kalus yang terbentuk (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Terbentuknya kalus pada bagian eksplan yang

terluka disebabkan oleh otolisis sel, dan dari sel yang rusak tersebut akan dihasilkan senyawa-senyawa yang akan merangsang pembelahan sel pada lapisan berikutnya (Gunawan, 1992).

Berdasarkan perubahan ukuran sel, metabolisme dan penampakan kalus, proses perubahan dari eksplan menjadi kalus dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pada tahap induksi sel tiap untuk membelah, metabolisme menjadi aktif dan ukuran sel tetap konstan. Tahap pembelahan, sel aktif membelah atau bersifat meristematik dan terjadi penurunan ukuran sel. Akhir pertumbuhan kalus ditandai dengan peningkatan diferensiasi dicirikan dengan pembesaran sel, sel menjadi bervakuola dan penurunan laju pembelahan (Alitalia, 2008).

Metabolit sekunder pada umumnya meningkat pada fase stasioner. Hal ini dimungkinkan karena adanya peningkatan vakuola makanan sel atau akumulasi. Pada fase stasioner pertumbuhan terhenti dan terjadi kematian sel, hal ini karena sejumlah nutrisi telah berkurang atau menjadi akumulasi senyawa toksik yang dikeluarkan kalus dalam medium. Pada fase ini harus dilakukan subkultur agar kalus tetap hidup (Darwati, 2007).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* kalus. Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus adalah auksin. Diantara golongan auksin yang umum digunakan pada media kultur jaringan adalah 2,4-D dan 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. Selain pemberian auksin, pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus (Indah dan Ermavitalini, 2013).

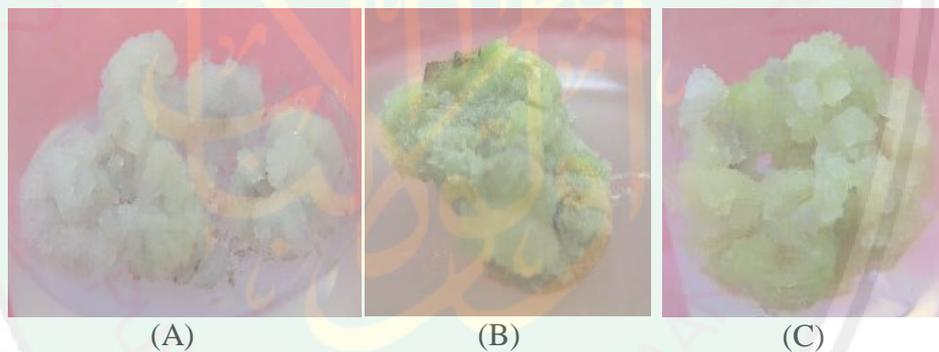
2.4.1 Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan penanda yang digunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu kompak (*non friable*), intermediet dan remah (*friable*) (Andaryani, 2010). Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Ermavitalini, 2013). Menurut Ariati (2012), kalus yang memiliki tekstur yang kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar, dan memiliki banyak pati gandum (karbohidrat). Kalus kompak memiliki struktur seperti nodul. Nodul merupakan massa proembrionik dan dapat digunakan sebagai inokulum untuk induksi sebagai embrio somatik. Pembentukan kalus dapat diinduksi dengan cara mengatur pemberian zat pengatur tumbuh dengan jenis dan konsentrasi yang tepat.

Kalus remah merupakan kalus yang baik untuk memperbanyak jaringan. Kalus remah ialah kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi bagian-bagian yang kecil, mudah lepas, dan mengandung banyak air (Sitorus, 2011). Kalus yang remah dapat diperoleh dengan cara melakukan sub kultur berulang-ulang dengan medium padat. Pembentukan kalus dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam

medium seperti zat pengatur tumbuh. Konsentrasi 2,4 D dan ekstrak khamir yang tinggi akan menghasilkan kalus bertekstur remah (*friable*) (Rahayu dkk., 2003).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Yelnitis (2012) menyatakan bahwa induksi kalus daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) dengan menggunakan penambahan 2,4-D 5 mg/L diinkubasi selama delapan minggu dapat menghasilkan kalus yang kompak, pada kombinasi 2,4-D 5 mg/L + thidiazuron 1 mg/L diinkubasi selama delapan minggu dapat menghasilkan kalus yang intermediet, sedangkan pada kombinasi 2,4-D 6 mg/L + thidiazuron 1 mg/L diinkubasi selama delapan minggu dapat menghasilkan kalus dengan tekstur remah. Gambar tekstur kalus ramin dapat dilihat pada gambar 2.3

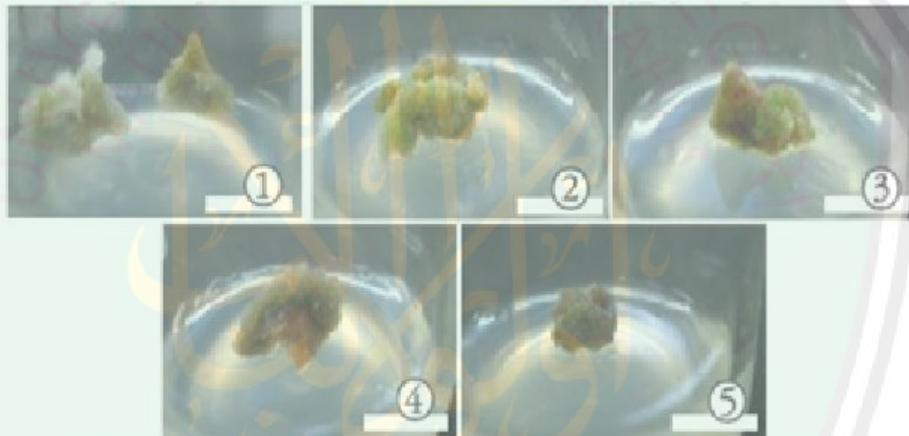


Gambar 2.3. Tekstur Kalus Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.) ditunjukkan pada huruf; (A) kalus remah, (B) kalus kompak, (C) kalus intermediet (Yelnitis, 2012).

2.4.2 Warna Kalus

Warna kalus juga merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus yang baik adalah berwarna putih yang menandakan kalus dalam keadaan membelah. Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya dalam kalus (Dwi *et al.*,

2012). Warna kalus yang hijau disebabkan oleh peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, 2004). Penelitian terdahulu oleh Lutviana (2012) menyatakan dengan penambahan ZPT dan NaCl dapat mempengaruhi warna kalus pada kultur kalus bunga matahari dari bahan eksplan berupa kotiledon, warna-warna kalus bunga matahari dapat ditunjukkan pada gambar 2.4.



Gambar 2.4. Kategori skoring warna kalus pada eksplan kotiledon *Helianthus annuus* L.; (1) kalus berwarna hijau keputihan (2) kalus berwarna hijau kekuningan (3) kalus berwarna hijau kecoklatan (4) kalus berwarna coklat (5) kalus berwarna coklat tua (Lutviana, 2012).

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Tanda bahwa kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas antara lain terjadinya perubahan warna dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, perubahan warna tersebut merupakan tanda adanya morfogenesis (Lestari dan Mariska, 2003).

2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi yang rendah dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Davies, 2004). Salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan adalah giberelin yang banyak berperan dalam mempengaruhi berbagai proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksin. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Pierik, 1987).

Salisbury dan Ross (1995) zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dapat bersifat aktif, jika tiga bagian utama dalam sistem respon terpenuhi yaitu zat pengatur tumbuh harus ada dalam jumlah yang cukup di sel yang tepat, zat pengatur tumbuh harus dikenali dan diikat erat oleh protein penerima dalam jaringan sasaran dan protein penerima tersebut harus menyebabkan perubahan metabolik yang mengarah pada penguatan isyarat sehingga dapat menimbulkan respon.

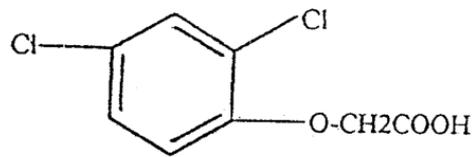
Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman (Gaba, 2005). Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari

jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Dodds dan Roberts, 1982). Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen 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).

2.5.1 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid) dan Pengaruhnya terhadap Kultur Jaringan Kalus

Auksin mempengaruhi pemanjangan suatu sel dengan cara mengaktifkan beberapa enzim yang dapat menurunkan pH pada dinding sel. Enzim tersebut bekerja memutuskan ikatan polisakarida dinding sel dan pertumbuhan yang cepat. Respon auksin terutama pada bagian epidermis. Auksin mengaktifkan gen di epidermis dengan cara mengembangkan dinding epidermis kemudian sel epidermis memanjang lebih cepat, dan pemanjangan ini menyebabkan sel subepidermis yang menempel padanya juga memanjang (Salisbury dan Ross, 1995).



2,4 D (BM : 221.04 g / mol)

Gambar 2.5. Struktur molekul 2,4-D (Fitrianti, 2006)

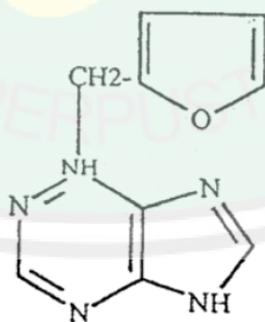
2,4-D (*2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid*) merupakan jenis dari auksin sintetis yang banyak ditambahkan ke dalam medium kultur jaringan. 2,4-D merupakan senyawa sintetis yang dapat digunakan sebagai alat pengatur tumbuh maupun sebagai herbisida. Pemberian 2,4 D dalam jumlah kecil dapat memberikan respon pertumbuhan tapi jika diberikan dalam jumlah yang banyak dapat berfungsi sebagai herbisida yang menyebabkan kematian pada jaringan (Hendaryono dan Wijayani (1994).

Fajroti (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan kalus yang ditunjukkan oleh hari munculnya kalus, warna dan tekstur kalus. Berat basah kalus tertinggi pada daun yaitu konsentrasi 2,4-D 4 mg/L dengan berat rata-rata 0,216 gram, sedangkan berat basah kalus tertinggi pada petiol yaitu konsentrasi 2,4-D 6 mg/L dengan berat rata-rata 0,143 gram. Hasil dari penelitian Hajjah (2012) menunjukkan pengaruh pemberian ZPT 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) terhadap kandungan isoflavon kalus beberapa varietas kedelai (Wilis, Tidar, Anjasmoro dan Detam). Kandungan senyawa isoflavon tertinggi dihasilkan oleh

kultur kalus varietas Anjasmoro pada konsentrasi 1 mg/L yaitu sebanyak 6067.69 ppm.

2.5.2 Kinetin (*6-Furfuryl Amino Purine*) dan Pengaruhnya terhadap Kultur Jaringan Kalus

Sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah kinetin. Kinetin berfungsi mendorong pembelahan sel dan sintesis protein. Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap deferensiasi jaringan (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Dalam penelitian Wardani dkk. (2004) hormon kinetin yang ditambahkan dalam media ternyata menunjukkan beda nyata pada taraf 5%, tetapi hanya kinetin pada konsentrasi 1,5 mg/l saja yang efektif untuk meningkatkan laju pertumbuhan kalus, jadi kinetin dengan konsentrasi di bawah 1,5 mg/l belum mampu mendorong peningkatan laju pertumbuhan kalus.



Kinetin (BM : 215.22 g / mol)

Gambar 2.6. Struktur molekul kinetin (Fitrianti, 2006)

Kinetin berfungsi mendorong pembelahan sel dan sintesis protein. Pemberian kinetin menyebabkan perubahan metabolisme sehingga terjadi penimbunan asam amino, fosfat dan gula di tempat-tempat pemberian sitokinin, hal ini menyebabkan pertumbuhan sel. Selain itu kinetin mempunyai struktur mirip adenin yang terdapat pada DNA dan RNA yang berperan dalam sintesis protein (Wardani dkk., 2004).

Penelitian sebelumnya menyatakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimal untuk berat segar kalus sambung nyawa adalah 2,4-D 0,5 mg/L dan kinetin 0,5 mg/L, menghasilkan rerata berat segar kalus sambung nyawa tertinggi yaitu 0,4749 gram dan untuk berat kering kalus sambung nyawa pada pemberian variasi ZPT 2,4-D 2,0 mg/L dan kinetin 1,0 mg/L menghasilkan rerata berat kering kalus sambung nyawa tertinggi yaitu 0,0240 gram (Indriani dkk., 2016).

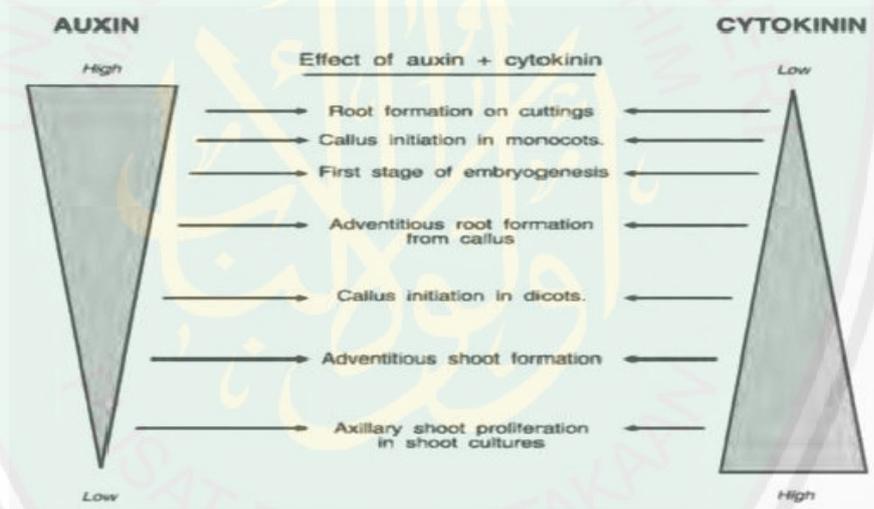
Pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin pada induksi kalus kotiledon sambiloto dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus dengan konsentrasi optimal pada 2,4-D 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L dapat menghasilkan kalus dengan berat 0,33 gr (Rukmi, 2013). Sedangkan untuk kombinasi ZPT yang paling sesuai untuk pertumbuhan kalus dari eksplan daun *Vitex trifolia* adalah 2,4 D 1 mg/L + kinetin 1mg/L (Puspitasari dan Soegihardjo, 2002).

2.5.3 Interaksi Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Kalus

Auksin yang dikombinasikan dengan sitokinin mendorong pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ, juga mengatur morfogenesis. Pada tingkat seluler auksin mengontrol proses dasar yaitu pembelahan sel dan pemanjangan sel. Selama auksin dapat menginisiasi pembelahan sel berarti terlibat dalam

pembentukan meristem yang selanjutnya berkembang menjadi jaringan yang belum terspesifikasi menjadi suatu organ (George, 2008).

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



Gambar 2.7. Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan (George, 2008).

Penelitian terdahulu oleh Argaloka (2013) menyatakan kombinasi terbaik dalam menumbuhkan kalus *Acacia mangium* adalah 1mg/l BAP + 2mg/l 2,4-D. Kombinasi tersebut mampu menumbuhkan kalus pada hari ke-29 dengan persentase 83,3% untuk seluruh eksplan. Sedangkan pada induksi kalus nilam diperlukan penambahan NAA dan kinetin, konsentrasi optimum terhadap laju

pertumbuhan kalus nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) diperoleh pada konsentrasi 2 mg/l NAA dan 1,5 mg/l kinetin (Trimulyono dkk., 2004).

Dalam penelitian induksi kalus *Aglaonema* menyatakan Kombinasi zat pengatur tumbuh 0,1 ppm 2,4-D and 1 ppm BAP adalah kombinasi yang sesuai untuk induksi kalus untuk *Aglaonema* sp. cv. Dynamic Ruby (Wahyuni dkk., 2014). Formulasi media terbaik untuk induksi kalus *Artemisia annua* L. adalah MS dengan penambahan BAP 0.5 mg/l dan NAA 0.5 mg/l dengan bobot basah kalus 844,4 mg, bobot kering kalus 216,6 mg, kandungan artemisinin 0,73%, dan bobot total artemisinin 1,58 mg (Purnamaningsih dan Ashrina, 2011).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor. Faktor pertama adalah auksin jenis 2,4-D terdiri dari:

- 0 mg/ L (D0)
- 0,5 mg/ L (D1)
- 1 mg/ L. (D2)
- 1,5 mg/ L (D3)
- 2 mg/ L. (D4)
- 2,5 mg/L (D5)
- 3 mg/L (D6)

Faktor kedua adalah sitokinin jenis Kinetin dengan terdiri dari:

- 0 mg/L (K0)
- 0,5 mg/ L (K1)
- 1 mg/ L (K2)
- 1,5 mg/ L (K3)
- 2 mg/ L (K4)

Kombinasi perlakuan akan disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut:
Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan 2,4-D dan Kinetin

Perlakuan		Kinetin (mg/L)				
		0	0,5	1	1,5	2
2,4-D (mg/L)	0	K0D0	K1D0	K2D0	K3D0	K4D0
	0,5	K0D1	K1D1	K2D1	K3D1	K4D1
	1	K0D2	K1D2	K2D2	K3D2	K4D2
	1,5	K0D3	K1D3	K2D3	K3D3	K4D3
	2	K0D4	K1D4	K2D4	K3D4	K4D4
	2,5	K0D5	K1D5	K2D5	K3D5	K4D5
	3	K0D6	K1D6	K2D6	K3D6	K4D6

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – Oktober 2017 di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain oven, gelas ukur, pipet, *beaker glass*, timbangan analitik, lemari es, pH meter, hot plate and magnetic stirer, botol kultur, plastik tahan panas petromax, karet gelang, autoclaf, laminar air flow (LAF), alat diseksi (pinset, blade, scapel), cawan petri, bunsen, korek api, aluminium foil, rak kultur, kertas label dan tisu.

3.3.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah bagian hipokotil dari tanaman jinten hitam (*Nigella sativa* L.) sebagai eksplan yang akan ditanam pada media. Bahan untuk sterilisasi adalah aquades, alkohol 70%, alkohol 96%, desinfektan, aquades steril dan antiseptik. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige &

Skoog). ZPT yang digunakan yaitu Kinetin dan 2,4-D. Bahan bahan lain untuk pembuatan media adalah gula dan agar agar.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Persiapan

3.4.1.1 Sterilisasi Alat

Langkah kerja dalam sterilisasi alat adalah alat-alat scalpel, pinset, gunting, alat-alat gelas dan botol kultur dicuci dengan detergen cair dan dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan dengan oven selama 3 jam dengan suhu 121°C. Alat-alat scalpel, pinset, gunting dan cawan petri dibungkus dengan kertas dan selanjutnya disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.4.1.2 Pembuatan Stok Hormon

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan dalam pembuatan media. Langkah kerja dalam pembuatan larutan stok hormon dengan konsentrasi 100 mg/l dalam 100 ml aquades adalah dengan menimbang serbuk Kinetin dan 2,4-D sebanyak 0,1 gr kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml dalam gelas ukur yang berbeda. Larutan dihomogenkan sampai larutan tercampur merata dan dimasukkan dalam botol masing-masing diberi label.

3.4.1.3 Pembuatan Media

Pembuatan media, pertama dengan cara memasukkan 3,34 gr media MS instan ke dalam erlenmeyer berukuran 1 liter, selanjutnya ditambahkan sukrosa 30 gr kemudian ditambahkan aquades steril hingga volume larutan menjadi 1 liter,

kemudian diaduk dengan menggunakan *hotplate stirer* hingga larutan homogen. Selanjutnya ditambahkan agar 8,5 gr, kemudian dipanaskan di atas *hotplate stirer* hingga mendidih. Kemudian setelah mendidih diangkat gelas erlenmeyer dan dituangkan kedalam setiap perlakuan hormon, lalu diukur pH nya apabila pH terlalu asam ditambahkan NaOH apabila pH terlalu basa ditambahkan larutan HCl hingga mencapai pH 5,8 – 5,9. Setelah itu dimasukkan kedalam botol kultur, ditutup dengan aluminium foil. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 30 menit.

3.4.1.4 Sterilisasi Ruangan

Disiapkan alat untuk menanam eksplan seperti petridish, scarpel, pinset dan busen. Dibersihkan meja LAF dan disemprot dengan alkohol 70% lalu disemprotkan lagi dengan alkohol absolut (96%). Kemudian ditutup LAF dan disterilkan dengan lampu UV selama 45-60 menit.

3.4.1.5 Sterilisasi Eksplan

Biji jintan hitam yang didapat dari UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Biji jintan hitam diambil yang morfologinya yang sama dilihat dari ukuran biji yang sama besar dan biji yang kondisinya utuh. Diletakkan ke dalam *beaker glass* dialiri air dengan air keran selama 1-2 jam kemudian dipindahkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 500 ml. Ditambahkan aquades 200 ml dan 3 ml detergen cair selanjutnya dishaker selama 20 menit hingga bersih, lalu dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali dan dipindahkan eksplan biji ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 500 ml yang berbeda. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 200 ml dan 2 ml Dithane (fungisida) kemudian dishaker selama 10 menit. Dibilas biji

jintan hitam dengan aquades 3 kali sampai bersih dan dipindahkan dalam gelas erlenmeyer ukuran 500 ml berbeda. Ditambahkan aquades 100 ml dan 2 ml agrept (bakterisida) kemudian dishaker selama 10 menit. Dibilas biji jintan hitam dengan aquades 3 kali sampai bersih dan dipindahkan dalam gelas erlenmeyer ukuran 500 ml. Direndam kedalam alkohol 70% selama 1 menit lalu dibilas dengan aquades steril didalam LAF sebanyak 3 kali, dicuci dengan NaOCl dengan konsentrasi 0,3% digoyangkan selama 5 menit didalam LAF, selanjutnya dibilas biji jintan hitam dengan aquades sebanyak 3 kali (Alemi *et.l.*, 2012).

3.4.2 Penanaman Eksplan Biji

Diambil eksplan yang sudah disterilkan, diletakkan diatas cawan petri, lalu ditanaman pada medium masing-masing perlakuan ke media $\frac{1}{2}$ MS dengan tanpa penambahan ZPT hal ini dilakukan di *Laminar air flow* dan setiap langkah yang dilakukan didekat api bunsen. Setelah selesai penanaman eksplan ditutup botol kultur dengan plastik dan karet gelang.

3.4.3 Induksi Kalus

Biji jintan hitam yang telah berkecambah pada media $\frac{1}{2}$ MS tanpa ZPT berumur 21 HST, selanjutnya kecambah disubkultur kedalam media perlakuan MS dengan penambahan berbagai kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin dengan total 35 perlakuan kombinasi. Penanaman eksplan dilakukan dengan cara diambil kecambah pada botol kultur dipotong bagian kotiledon hingga hipokotil sepanjang 1 cm - 1,5 cm, lalu ditanamkan kedalam media perlakuan induksi kalus. Hal ini dilakukan di *Laminar Air Flow* dan setiap langkah yang dilakukan didekat api

bunsen. Setelah selesai penanaman eksplan ditutup botol kultur dengan plastik dan karet gelang.

3.5 Teknik Pengambilan Data

Pengamatan dilakukan dengan 2 tahap :

1. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat respon eksplan dan hari pertama munculnya kalus, serta ada tidaknya kontaminasi pada eksplan.
2. Pengamatan akhir yang dilakukan setelah (42 HST) 6 minggu penanaman terdiri dari pengamatan warna kalus, tekstur kalus, berat kalus dan persentase tumbuh kalus.

Parameter pengamatan :

- a. Pengamatan hari munculnya kalus, diamati perubahan eksplan membentuk kalus setiap hari setelah inisiasi.
- b. Persentase tumbuhnya kalus diamati pada hari terakhir dengan menghitung luasan bagian eksplan yang berkalus, dengan rumus:

$$\text{Persentase tumbuh kalus} = \frac{\text{luas kalus yang terbentuk}}{\text{luas eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

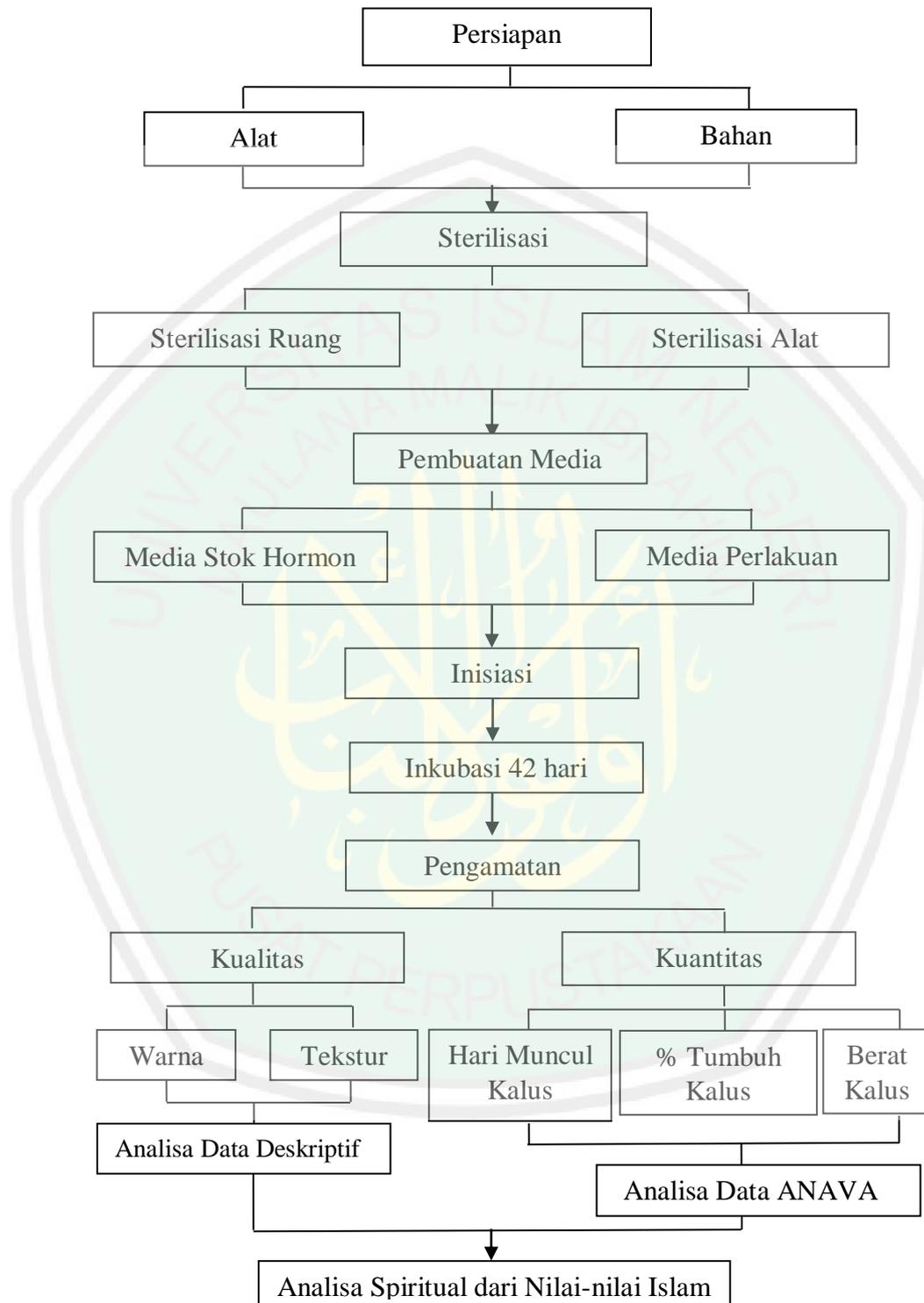
- c. Berat kalus ditimbang berat basah kalus yang didapat setiap perlakuan pada pengamatan terakhir
- d. Pengamatan warna kalus diamati perubahan warna yang terjadi pada setiap kalusnya.
- e. Tekstur kalus diamati secara visual pada penampakan kalus yaitu kalus remah, kalus kompak, dan kalus intermediet.

3.6 Analisa Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif berupa hari munculnya kalus, berat kalus, prosentase eksplan berkalus dan prosentase tumbuh kalus. Data dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin pada media MS terhadap induksi kalus jintan hitam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan DMRT pada tahap 5%.

Data hasil pengamatan selain dianalisis dengan menggunakan analisis variansi, juga dianalisis integrasi Sains dan Islam dengan menggunakan pendekatan spiritual dan nilai-nilai Islam. Analisis ini dikaitkan dengan sumber ayat-ayat Al-Qur'an dan Hadist sebagai pegangan umat muslim yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran dalam pandangan Islam. Analisis ini berguna sebagai petunjuk arah fungsi sebenarnya penelitian ilmuwan islam dan sebagai khalifah di muka bumi.

3.7 Desain Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) (Lampiran 1). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Variabel pengamatan	F hitung	F Tabel 5%
Hari muncul Kalus	15,167*	2,23
Persentase Tumbuh Kalus	38,290*	2,23
Berat Kalus	36,671*	2,23

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Nilai ($F_{hitung} > F_{tabel}$) maka terdapat pengaruh nyata.

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap ketiga variabel pengamatan yaitu; hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung semua variabel pengamatan lebih besar dari nilai F tabel 5%. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Berikut hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Hari muncul kalus (HST)	Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
0	35,60c	3,00a	0,0072a
0,5	26,20b	31,67b	0,0482b
1	22,47ab	51,67c	0,1097c
1,5	20,00a	63,67c	0,1452d
2	18,27a	65,67c	0,1501d
2,5	19,07a	69,67c	0,1563d
3	20,80a	70,67c	0,1490d

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% ditunjukkan tabel 4.2, pada variabel hari muncul kalus perlakuan konsentrasi yang optimal menginduksi kalus jintan hitam pada 2 mg/L 2,4-D dengan 18,27 HST dapat menginduksi kalus jintan hitam, namun dari hasil uji DMRT 5% perlakuan 2 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 mg/L dan 1,5 mg/L 2,4-D dengan hari muncul kalus selama 22,47 HST dan 20,00 HST. Munculnya kalus pada eksplan diawali dengan adanya bagian eksplan yang tumbuh membesar atau membengkak lalu dibagian tersebut terdapat jaringan-jaringan yang tumbuh secara aktif dan tidak dapat didiferensiasikan, proses tersebut yang mengawali terjadinya kalus.

Menurut Ajjjah dkk., (2010) mengatakan bahwa pembengkakan pada eksplan adalah tahap awal pembentukan kalus yang mengindikasikan adanya aktifitas sel pada eksplan. Proses pembengkakan pada jaringan eksplan dilanjutkan dengan mulai tumbuh kalus dengan ditandai terdapat jaringan yang tidak terdiferensiasi. Menurut Gunawan, (1995) dalam Sulandjari, (2008), kalus

merupakan kumpulan zat-zat amorf yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri terus-menerus.

Penelitian yang dilakukan oleh Fajroti (2013) menyatakan bahwa pemberian 2,4-D tunggal dengan konsentrasi 2 mg/L dapat menginduksi kalus dengan cepat rata-rata 16,3 hari setelah tanam pada eksplan daun purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.). Konsentrasi 2 mg/L 2,4-D juga dapat menginduksi kalus dengan waktu yang singkat pada eksplan daun pegagan (*Centella asiatica*) dalam penelitian Nazza (2013) menyatakan bahwa media yang disuplementasi dengan ZPT 2,4-D 2 mg/L dapat menginduksi kalus dengan rata-rata 1,25 hari. Menurut Indah dan Ermavitalini (2013) apabila dibandingkan dengan auksin lainnya seperti IAA, 2,4-D menunjukkan aktifitas yang lebih kuat dan optimal ini disebabkan karena 2,4-D memiliki gugus karboksil yang dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen.

Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D berpengaruh terhadap variabel persentase tumbuh kalus, tabel 4.2 menunjukkan bahwa perlakuan 3 mg/L 2,4-D menghasilkan rata-rata persentase tumbuh kalus tertinggi dengan 70,67% eksplan tumbuh kalus, namun dari hasil uji DMRT 5% konsentrasi 3 mg/L 2,4-D tidak berbeda nyata dengan lebih rendah 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L dan 2,5 mg/L 2,4-D dengan hasil persentase kalus sebesar 51,67%, 63,67%, 65,67% dan 69,67%. Hasil penelitian oleh Fajroti (2013) menunjukkan konsentrasi 4 mg/L 2,4-D dapat menghasilkan kalus purwoceng dengan persentase 100%.

Menurut George et al. (2008) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dalam kultur jaringan salah satunya berperan dalam proses pembentukan kalus, sedangkan pemilihan jenis dan konsentrasinya ditentukan

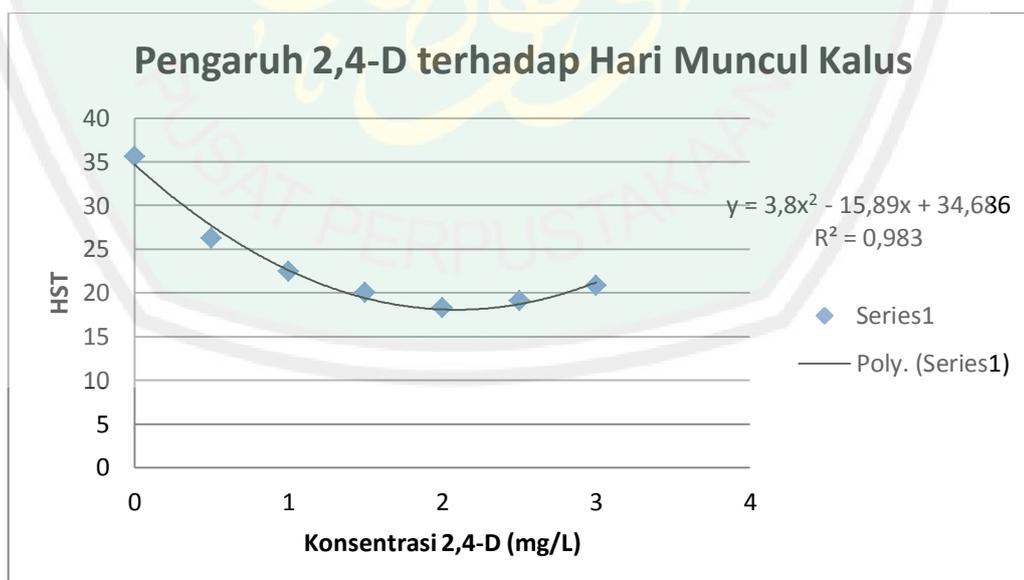
oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Pemberian berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D juga berpengaruh pada variabel berat kalus. Tabel 4.2 menunjukkan bahwa berat kalus tertinggi pada perlakuan 2,5 mg/L 2,4-D dengan rata-rata berat kalus 0,1563gr. Namun dari hasil uji DMRT 5% perlakuan 2,5 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1,5 mg/L dan g/L 2,4-D dengan berat kalus 0,1452 gr dan 0,1501 gr.

Penelitian terdahulu oleh Kasmiyati dkk, (2007) menyatakan kalus tanaman *Pseuderanthemum accuminatissium* dengan penambahan ZPT 2,4-D pada konsentrasi 1,5 mg/L menghasilkan berat kalus yang optimal dengan berat basah 0,349gr dan berat kering 0,050gr. Menurut Rahayu dkk., (2003) perlakuan 3 mg/L 2,4-D memberikan nilai tertinggi diantara perlakuan yang lain yaitu 10160 mg, sedangkan perlakuan 0 mg/L 2,4-D mempunyai nilai rata-rata terendah yaitu 2900 mg. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, maka semakin meningkat berat basah kalus Menurut Pierik (1987), ZPT jenis 2,4-D merupakan auksin yang sering dipakai untuk menginduksi kalus tetapi pada konsentrasi yang tinggi (>10 mg/L) merupakan herbisida dan menyebabkan mutasi. Selain itu konsentrasi tinggi juga mampu menghambat pertumbuhan kalus bahkan dapat menyebabkan kematian sel.

Bhojwani dan Razdan (1983) dalam Kasmiyati dkk (2007), menyatakan bahwa senyawa 2,4-D pada konsentrasi tinggi berfungsi sebagai herbisida yang dapat mematikan sel tanaman, namun pada konsentrasi rendah berfungsi sebagai auksin yang dapat mendorong pembelahan sel tanaman. Pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan diduga menginduksi sekresi ion H^+ keluar melalui dinding

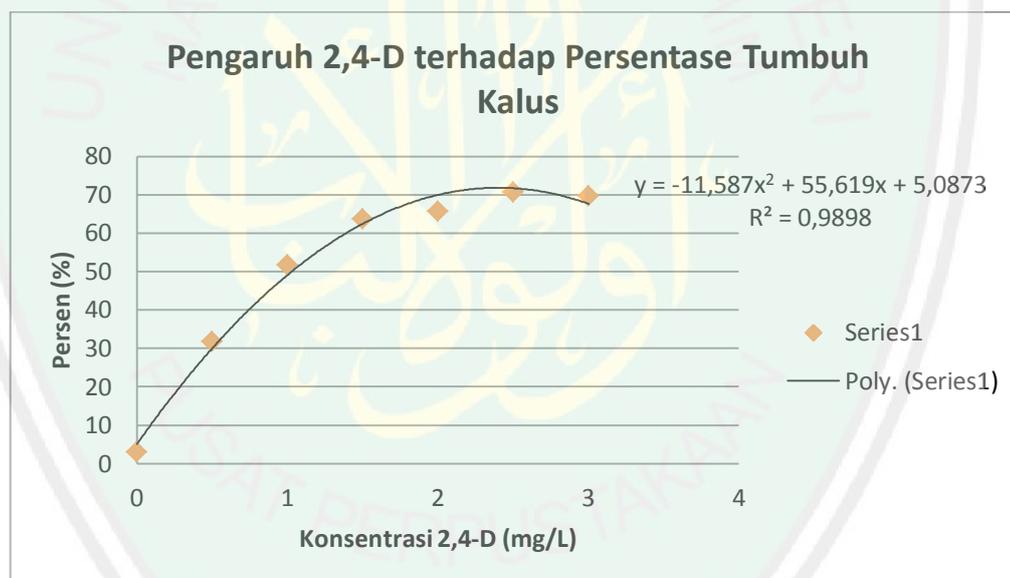
sel. Pengasaman dinding sel menyebabkan K^+ diambil, pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel; akibatnya air mudah masuk ke dalam sel dan sel akan membesar (Harjoko, 1999).

Menurut Salisbury dan Ross (1995) menjelaskan tentang mekanisme auksin, mekanisme ini dikenal sebagai hipotesis pertumbuhan-asam, menyatakan bahwa auksin menyebabkan sel mengeluarkan H^+ ke dinding sel primer yang mengelilinginya dan bahwa ion H^+ ini kemudian menurunkan pH sehingga terjadi pengenduran dinding dan pertumbuhan yang cepat. pH rendah ini diduga bekerja dengan cara mengaktifkan beberapa enzim perusak dinding sel tertentu, yang tidak aktif pada pH yang lebih tinggi. Enzim tersebut diduga memutuskan polisakarida dinding, sehingga memungkinkan dinding sel lebih mudah merenggang. Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus.



Gambar 4.1 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) dari Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

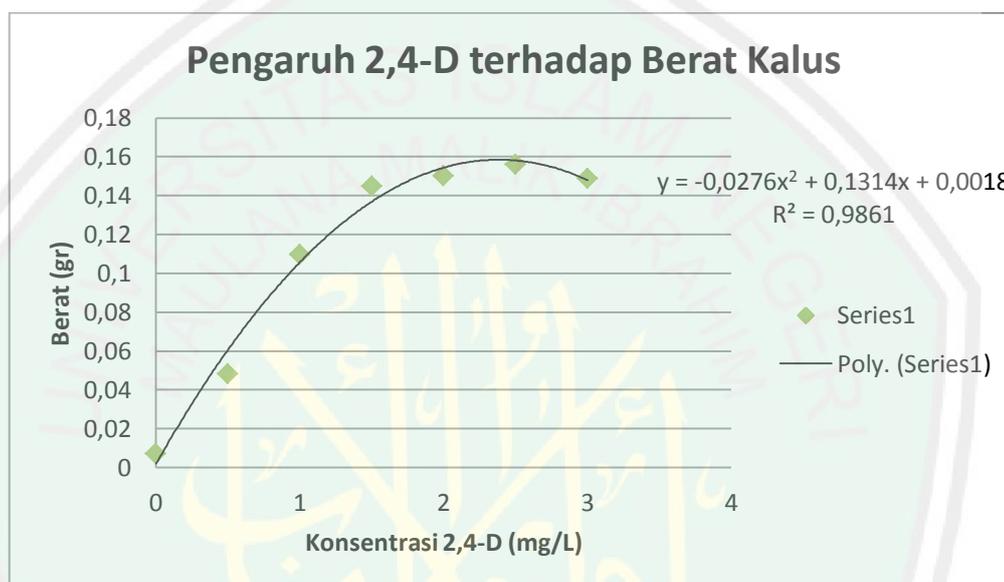
Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.1 untuk variabel pengamatan hari muncul kalus membentuk garis kuadratik dengan $y = 3,8x^2 - 15,89x + 34,686$ dan nilai determinasi $R^2 = 0,983$, terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap hari muncul kalus yaitu sebesar 98,3%. Pada hasil analisis deferensial dengan persamaan $y = 3,8x^2 - 15,89x + 34,686$ bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap hari muncul kalus mencapai titik puncak optimum pada konsentrasi 2,4-D yang efektif untuk munculnya kalus jintan hitam adalah 2,09 mg/L dengan hari muncul kalus 18,07 hari setelah tanam (HST).



Gambar 4.2 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.2 untuk variabel pengamatan persentase tumbuhnya kalus membentuk garis kuadratik dengan $y = -11,587x^2 + 55,619x + 5,0873$ dan determinasi $R^2 = 0,9898$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap persentase

tumbuhnya kalus yaitu sebesar 98,98%. Pada hasil analisis deferensial dengan persamaan $y = -11,587x^2 + 55,619x + 5,0873$ bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap persentase tumbuhnya kalus mencapai titik puncak optimum pada konsentrasi 2,4-D yang efektif untuk pertumbuhan kalus jintan hitam adalah 2,4 mg/L dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 71,83%.



Gambar 4.3 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Berat Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.3 untuk variabel pengamatan berat kalus membentuk garis kuadrat dengan $y = -0,0276x^2 + 0,1314x + 0,0018$ dan determinasi $R^2 = 0,9861$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap berat kalus yaitu sebesar 98,61%. Pada hasil analisis deferensial dengan persamaan $y = -0,0276x^2 + 0,1314x + 0,0018$ bahwa perlakuan konsentrasi 2,4-D terhadap berat kalus mencapai titik puncak optimum pada konsentrasi 2,4-D yang efektif untuk pertumbuhan kalus jintan hitam adalah 2,38 mg/L dengan berat kalus sebesar 0,1582gr.

4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Hasil analisis variansi (ANOVA) pengaruh zat pengatur tumbuh kinetin terhadap induksi kalus dari kecambah jintan hitam (*Nigella sativa* L.) (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Variabel pengamatan	F hitung	F Tabel 5%
Hari muncul Kalus	4,681*	2,50
Persentase Pertumbuhan Kalus	7,453*	2,50
Berat Kalus	8,890*	2,50

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan pemberian kinetin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Apabila nilai (F hitung > F tabel) maka terdapat pengaruh nyata.

Berdasarkan hasil ANOVA, seperti pada pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D, pemberian berbagai konsentrasi kinetin juga berpengaruh nyata terhadap ketiga variabel pengamatan. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung variabel pengamatan lebih besar dari nilai F tabel 5%. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut DMRT 5%. Berikut hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Konsentrasi Kinetin (mg/L)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
0	28,05b	37,62a	0,0754a
0,5	23,29a	47,38b	0,0951ab
1	22,29a	54,52bc	0,1190bc
1,5	21,10a	51,67b	0,1184bc
2	21,29a	63,09c	0,1391c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pada tabel 4.4, variabel hari muncul kalus menunjukkan konsentrasi paling cepat menginduksi kalus pada perlakuan 1,5 mg/L kinetin memiliki rata-rata hari muncul kalus 21,10 HST, namun dari hasil uji DMRT 5% perlakuan 1,5 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 mg/L dan 1 mg/L kinetin dengan hari muncul kalus selama 23,29 HST dan 22,29 HST. Hasil penelitian dari Kresnawati (2006) menunjukkan bahwa pada eksplan daun nilam dengan perlakuan 2 mg/l kinetin dan 1 mg/l NAA dapat memberi pengaruh secara optimum dengan kecepatan pembentukan kalusnya pada hari ke-9 dengan tekstur yang terbentuk yaitu kompak dan warna putih kecoklatan.

Selanjutnya pada variabel persentase tumbuh kalus, pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh kinetin paling optimal menunjukkan bahwa perlakuan 2 mg/L kinetin dengan rata-rata kalus yang terbentuk sebesar 63,09%, namun dari hasil uji DMRT 5% perlakuan 2 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 mg/L kinetin dengan persentase kalus sebesar 54,52%. Hasil penelitian Lina dkk., (2013) menyatakan bahwa eksplan ujung apikal tanaman jati yang diinokulasikan pada media MS secara in vitro dengan penambahan BAP 1 ppm dan kinetin 1 ppm dapat terbentuk adanya pertumbuhan kalus dan tunas, persentase pertumbuhan kalus diperoleh sebesar 18,69%. Menurut Trimulyono (2004) menyatakan bahwa pemberian kinetin mampu memacu pembelahan sel yang ditunjukkan dengan meningkatnya laju pertumbuhan kalus dan berat kalus. Sifat paling penting dari sitokinin adalah perangsangannya terhadap pembelahan sel.

Menurut Liu (1981), menyatakan bahwa untuk pembentukan kalus pada tanaman *Cattleya* sp. dengan eksplan berupa daun muda serta pada *Nephrolepis*

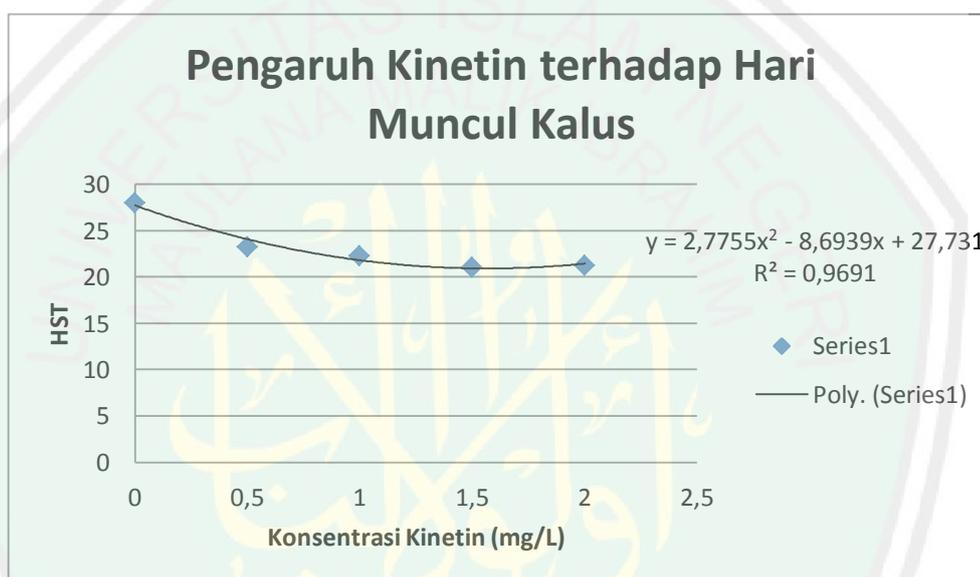
exaltata dan pada *Sacharum officinarum* hanya diperlukan penambahan zat eksogen berupa kinetin saja. Seperti pada hasil penelitian ini dengan penambahan ZPT berupa kinetin saja tanpa ada penambahan 2,4-D sudah dapat menginduksi kalus pada eksplan jintan hitam, dikarenakan kerja hormon endogen pada eksplan yang dapat berinteraksi dengan ZPT eksogen sehingga menumbuhkan kalus meskipun hanya dibagian ujung eksplan saja dan tidak tumbuh optimal.

Pemberian ZPT kinetin juga mempengaruhi pertumbuhan kalus jintan hitam pada variabel berat kalus, ditunjukkan konsentrasi kinetin paling optimal dalam menghasilkan kalus jintan hitam pada konsentrasi 2 mg/L kinetin dengan berat kalus 0,1391gr, namun dari hasil uji DMRT 5% perlakuan 2 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 mg/L dan 1,5 mg/L kinetin dengan berat kalus 0,1190 gr dan 0,1184 gr. Penelitian terdahulu oleh Fitrianti (2006) eksplan daun sambiloto menghasilkan kalus yang optimal pada konsentrasi kinetin 0,1 mg/L dan tanpa pemberian asam 2,4-D menghasilkan berat kalus sebesar 3,61 gram. Kinetin dapat menginduksi pertumbuhan kalus pada jintan hitam melalui proses pengangkutannya melalui pembuluh xilem dari bekas pelukaan di bagian pangkal eksplan hipokotil, dalam Salisbury dan Ross (1995) menyatakan pengangkutan berbagai jenis sitokinin pasti melalui pembuluh xilem, namun tabung tapis juga mengandung sedikit sitokinin.

Fungsi utama sitokinin adalah untuk memacu pembelahan sel, jika empulur batang tembakau, kedelai dan beberapa tumbuhan dikotil lain dipisahkan dan dibiakkan secara aseptik pada medium agar yang mengandung auksin dan hara yang tepat, akan terbentuk massa sel yang tak beraturan, tak terspesialisasi dan

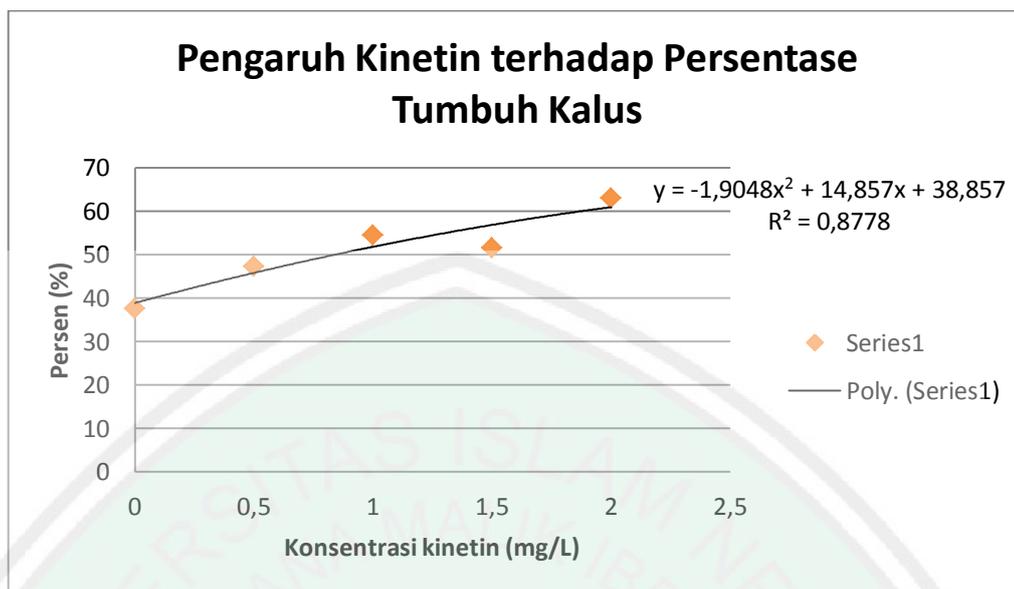
khususnya poliploid yang disebut kalus. Penambahan sitokinin menyebabkan sitokinesis sangat terpacu (Salisbury dan Ross, 1995). Menurut Fosket dkk, (1981) menyatakan sitokinin dapat mendorong pembelahan sel dalam biakan kultur jaringan dengan cara meningkatkan peralihan dari G2 ke mitosis.

Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus.



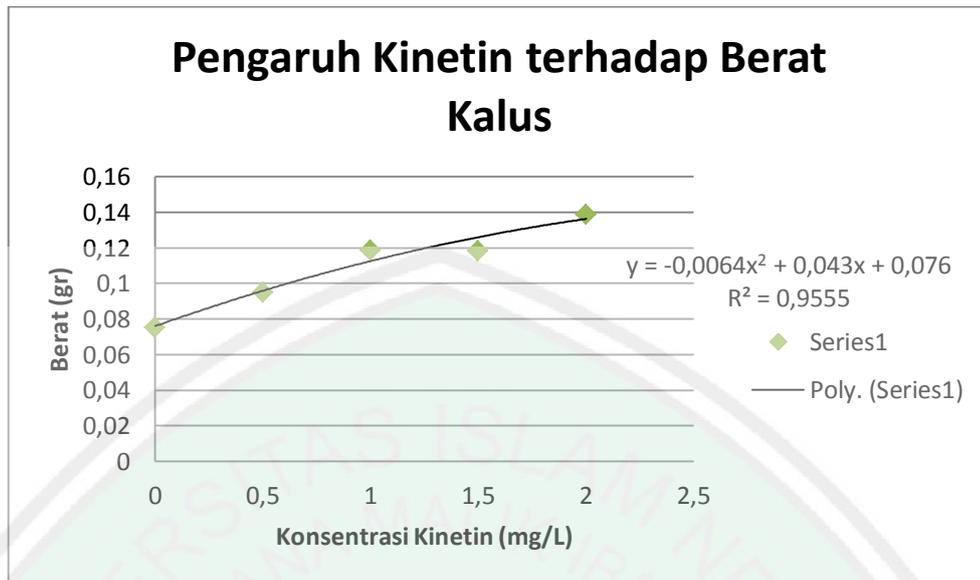
Gambar 4.4 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) dari Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.4 untuk variabel pengamatan hari muncul kalus membentuk garis kuadratik dengan $y = 2,7755x^2 - 8,6939x + 27,731$ dan determinasi $R^2 = 0,9691$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan konsentrasi kinetin terhadap hari muncul kalus yaitu sebesar 96,91%. Pada hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = 2,7755x^2 - 8,6939x + 27,731$ bahwa perlakuan konsentrasi kinetin terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada konsentrasi kinetin yang efektif untuk munculnya kalus jintan hitam adalah 1,57 mg/L dengan hari muncul kalus 20,92 HST.



Gambar 4.5 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.5 untuk variabel pengamatan persentase tumbuhnya kalus membentuk garis kuadratik dengan $y = -1,9048x^2 + 14,857x + 38,857$ dan determinasi $R^2 = 0,8778$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan konsentrasi kinetin terhadap persentase tumbuhnya kalus yaitu sebesar 87,87%. Pada hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = -1,9048x^2 + 14,857x + 38,857$ bahwa perlakuan konsentrasi kinetin terhadap persentase tumbuhnya kalus mencapai titik optimum pada konsentrasi kinetin yang efektif untuk pertumbuhan kalus jintan hitam adalah 3,89 mg/L dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 67,83%. Dari hasil regresi dapat dinyatakan bahwa konsentrasi yang efektif untuk persentase tumbuh kalus pada konsentrasi 3 – 4 mg/L atau dapat dikatakan lebih tinggi dari konsentrasi yang telah dilakukan dalam penelitian ini.



Gambar 4.6 Hubungan antara Konsentrasi Kinetin (mg/L) dengan Berat Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.6 untuk variabel pengamatan berat kalus membentuk garis kuadratik dengan $y = -0,0064x^2 + 0,043x + 0,076$ dan determinasi $R^2 = 0,9555$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan konsentrasi kinetin terhadap berat kalus yaitu sebesar 95,55%. Pada hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = -0,0064x^2 + 0,043x + 0,076$ bahwa perlakuan konsentrasi kinetin terhadap berat kalus mencapai titik puncak optimum pada konsentrasi kinetin yang efektif untuk pertumbuhan kalus jintan hitam adalah 3,36 mg/L dengan berat kalus sebesar 0,1482gr. Dari hasil regresi dapat dinyatakan bahwa konsentrasi yang efektif untuk persentase tumbuh kalus pada konsentrasi 3 – 3,5 mg/L kinetin atau dapat dikatakan lebih tinggi dari konsentrasi yang telah dilakukan dalam penelitian ini yaitu hanya sebesar 2 mg/L kinetin.

4.3 Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

4.3.1 Pengaruh Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Hari Muncul Kalus, Persentase dan Berat Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Hasil analisis variansi (ANAVA) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus dari kecambah jintan hitam (*Nigella sativa* L.) (Lampiran 3). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Variabel pengamatan	F hitung	F Tabel 5%
Hari muncul Kalus	0,662	1,67
Persentase Pertumbuhan Kalus	1.709*	1,67
Berat Kalus	2,593*	1,67

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan pemberian kinetin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Apabila nilai (F hitung > F tabel) maka terdapat pengaruh nyata.

Berdasarkan hasil ANAVA, pemberian berbagai perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin juga berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan yaitu; persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung semua variabel pengamatan lebih besar dari nilai F tabel 5%. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut DMRT 5%. Berikut hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

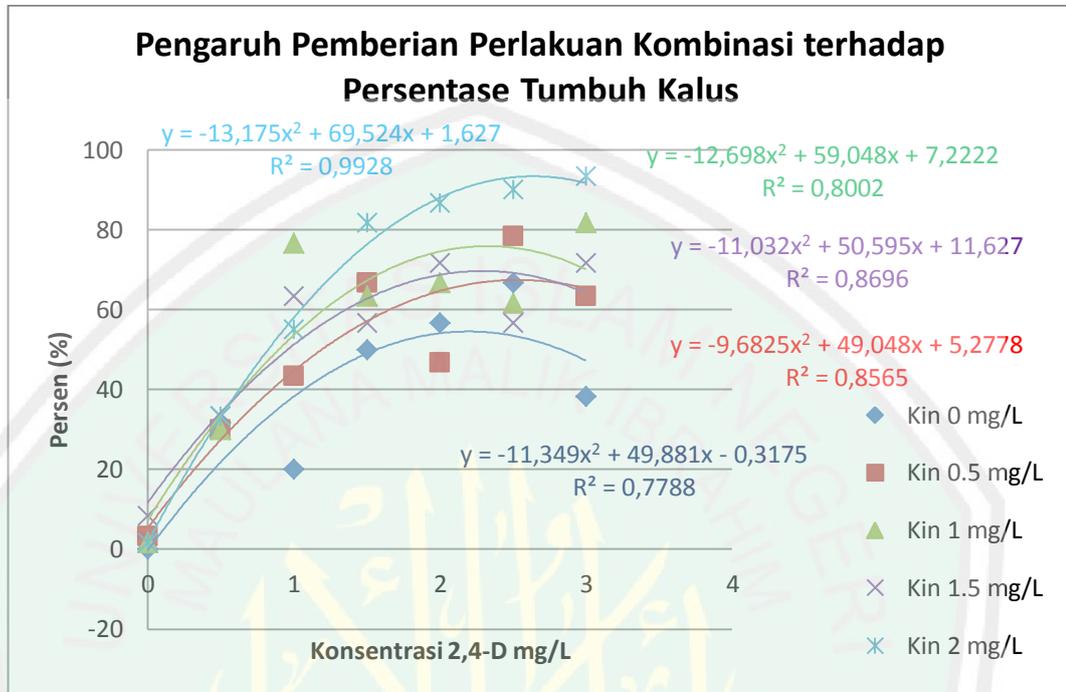
No.	Konsentrasi ZPT (mg/L)		Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
	2,4-D	Kinetin		
1.	0	0	0,00a	0,0000a
2		0,5	3,33abc	0,0083ab
3		1	1,67ab	0,0040ab
4		1,5	8,33abcd	0,0173abc
5		2	1,67ab	0,0064ab
6	0,5	0	31,67cdefg	0,0482abcde
7		0,5	30,00bcdef	0,0452abcd
8		1	30,00bcdef	0,0473abcde
9		1,5	33,33defgh	0,0512abcdef
10		2	33,33defgh	0,0491abcde
11	1	0	20,00abcde	0,0210abc
12		0,5	43,33efghij	0,0745bcdefgh
13		1	76,67klmnop	0,1641jklm
14		1,5	63,33hijklmnop	0,1705jklm
15		2	55,00fghijklm	0,1182efghij
16	1,5	0	50,00efghijkl	0,1453hijklm
17		0,5	66,67ijklmnop	0,1440hijklm
18		1	63,33hijklmnop	0,1306hijkl
19		1,5	56,67fghijklmn	0,1212fghij
20		2	81,67mnop	0,1848jklm
21	2	0	56,67fghijklmn	0,1141defghij
22		0,5	46,67efghijk	0,0853cdefghi
23		1	66,67ijklmnop	0,1665jklm
24		1,5	71,67jklmnop	0,1846jklm
25		2	86,67nop	0,2002klm
26	2,5	0	66,67ijklmnop	0,1413hijklm
27		0,5	78,33lmnop	0,1789jklm
28		1	61,67ghijklmno	0,1319hijkl
29		1,5	56,67fghijklmn	0,1266ghijk
30		2	90,00op	0,2028lm
31	3	0	38,33efghi	0,0580abcdefg
32		0,5	63,33hijklmnop	0,1294hijkl
33		1	81,67mnop	0,1882jklm
34		1,5	71,67jklmnop	0,1577ijklm
35		2	93,33p	0,2119m

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pada tabel 4.6, pada variabel persentase tumbuh kalus, pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh kinetin menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 3 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin menghasilkan rata-rata persentase tumbuh kalus sebesar 93,33%, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dengan kalus terbentuk sebesar 90,00%. Pemberian berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin juga berpengaruh pada variabel berat kalus. Tabel 4.6 menunjukkan bahwa berat kalus tertinggi pada perlakuan kombinasi 3 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dengan rata-rata berat kalus 0,2119 gr, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dengan kalus seberat 0,2028 gr. Hasil penelitian Rohmatin (2014) menyatakan pemberian kombinasi 2,4-D 1,5 mg/L dengan kinetin 1,5 mg/L dapat menginduksi kalus daun gandarusa dengan hari 6-7 HST, berat kalus yang dihasilkan sebesar 0,1147 gr dan persentase kalus yang terbentuk sebesar 100%.

Menurut Skoog dan Miller (1979) yang menyatakan bahwa pertumbuhan kalus lebih banyak dihasilkan pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang seimbang karena didalam tumbuhan itu sendiri terdapat zat pengatur tumbuh endogen. Menurut George dan Sherrington, (1984) dalam Fitrianti (2006) menyatakan kinetin juga digunakan karena kinetin penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Penambahan asam 2,4-D dilakukan karena asam 2,4-D berperan untuk mendorong proses morfogenesis kalus, induksi kalus dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman

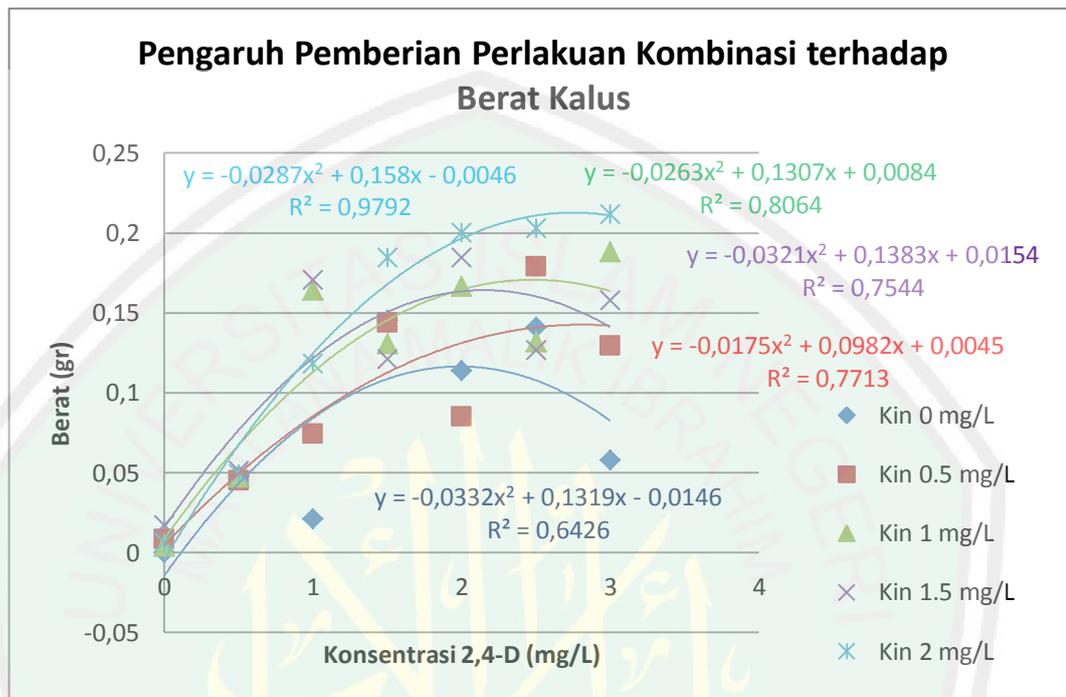
(Santoso dan Nursandi, 2003). Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus.



Gambar 4.7 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) dengan Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.8 untuk variabel pengamatan persentase tumbuhnya kalus membentuk garis kuadratik tertinggi pada garis kinetin 2 mg/L dengan $y = -13,175x^2 + 69,524x + 1,627$ dan nilai determinasi $R^2 = 0,9928$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan kombinasi terhadap persentase tumbuhnya kalus yaitu sebesar 99,28%. Pada hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = -13,175x^2 + 69,524x + 1,627$ bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap persentase tumbuhnya kalus mencapai titik optimum pada koordinat (2,64 ; 93,34) artinya bahwa perlakuan kombinasi yang efektif untuk pertumbuhan kalus jintan hitam adalah

2,64 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 93,34%.



Gambar 4.8 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) dengan Berat Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

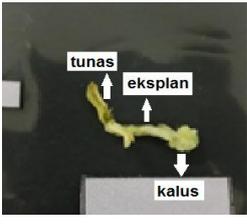
Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.9 untuk variabel pengamatan berat kalus membentuk garis kuadratik tertinggi pada garis kinetin 2 mg/L dengan $y = -0,0287x^2 + 0,158x - 0,0046$ dan determinasi $R^2 = 0,9792$, artinya terdapat hubungan yang erat antara perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap berat kalus yaitu sebesar 97,92%. Pada hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = -0,0287x^2 + 0,158x - 0,0046$ bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap berat kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (2,75 ; 0,2129) artinya bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin yang efektif untuk pertumbuhan berat kalus jintan hitam adalah 2,75 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dengan berat kalus sebesar 0,2129gr.

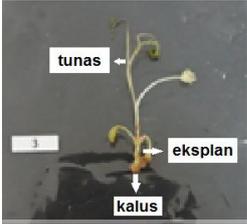
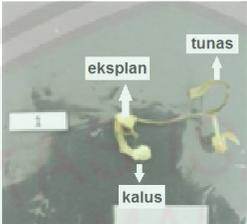
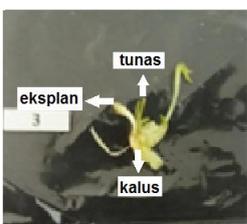
4.3.2 Pengaruh Perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin pada Media Dasar MS terhadap Warna dan Tesktur Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

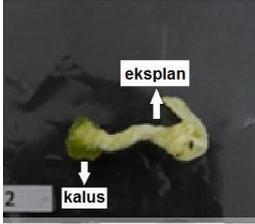
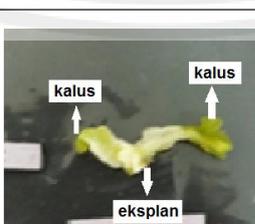
Warna dan tekstur kalus digunakan sebagai indikator kualitas kalus, hasil pengamata perngaruh berbagai perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap warna dan tekstur kalus dapat menghasilkan warna kalus dan tekstur kalus yang berbeda-beda disetiap perlakuan.

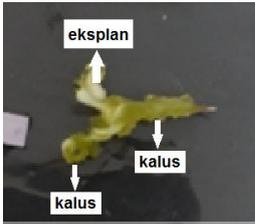
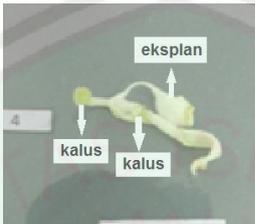
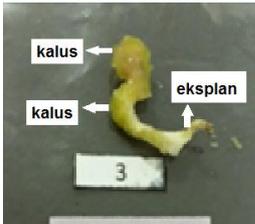
Menurut Kresnawati (2006) bahwa warna kalus yang bermacam-macam diakibatkan oleh adanya pigmentasi cahaya dan asal eksplan. Pigmentasi bisa merata keseluruh permukaan kalus atau hanya sebagian saja, bisa dilihat adanya perbedaan warna dalam satu kalus yaitu putih, hijau, coklat, putih kecoklatan, dan putih kehijauan. (Widyawati, 2010). Menurut Collin dan Edward (1998) konsentrasi auksin dan sitokinin sampai 5 mg/L dapat menghasilkan pertumbuhan kalus secara optimal. Hasil pengamatan pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap warna dan tekstur kalus jintan hitam disajikan pada tabel 4.7

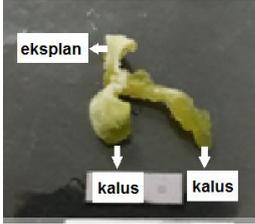
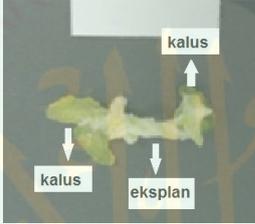
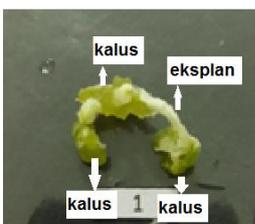
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Warna dan Tekstur Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

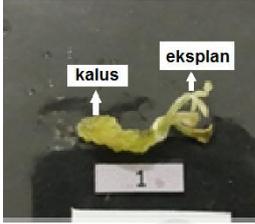
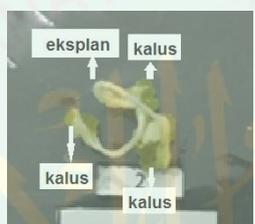
No.	Perlakuan	Gambar Pengamatan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
1.	0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin		-	-
2.	0 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Putih	Kompak

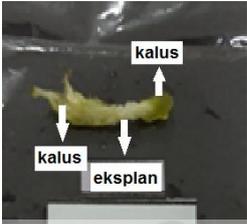
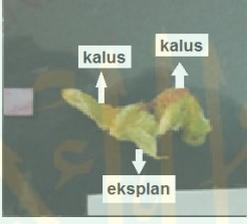
3.	0 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin		Putih- kekuningan	Kompak
4.	0 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Putih	Kompak
5.	0 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Putih- kekuningan	Kompak
6	0,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kinetin		Putih- kehijauan	Intermediet
7	0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Remah
8	0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet

9	0,5 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Kompak
10	0,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Putih- kekuningan	Intermediet
11	1 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Remah
12	1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Remah
13	1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet
14	1 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet

15	1 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Intermediet
16	1,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin		Putih- kekuningan	Intermediet
17	1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Hijau- kekuningan	Remah
18	1,5 mg/L 2,4- D + 1 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet
19	1,5 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet
20	1,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Intermediet

21	2 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top labeled 'eksplan', and two at the bottom labeled 'kalus'.	Putih- kekuningan	Remah
22	2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top labeled 'kalus', one on the left labeled 'kalus', and one at the bottom labeled 'eksplan'.	Putih- kehijauan	Intermediet
23	2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top labeled 'kalus', one on the left labeled 'kalus', and one at the bottom labeled 'eksplan'.	Putih- kehijauan	Intermediet
24	2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top left labeled 'kalus', one at the top right labeled 'eksplan', and one at the bottom labeled '3 kalus'.	Putih- kehijauan	Intermediet
25	2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top left labeled 'eksplan', one at the top right labeled 'kalus', and one at the bottom labeled 'kalus'.	Putih- kehijauan	Kompak
26	2,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin	 A photograph of a plant explant on a dark surface. The explant is a small, yellowish-green piece of tissue. Three white arrows point to specific areas: one at the top left labeled 'kalus', one at the top right labeled 'eksplan', and one at the bottom labeled '1 kalus'.	Kuning- kehijauan	Remah

27	2,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Kuning-kehijauan	Intermediet
28	2,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin		Putih-kehijauan	Intermediet
29	2,5 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Putih-kehijauan	Intermediet
30	2,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Kuning-kehijauan	Kompak
31	3 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kin		Putih-kehijauan	Kompak
32	3 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kin		Putih-kehijauan	Intermediet

33	3 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kin		Putih- kehijauan	Intermediet
34	3 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Kompak
35	3 mg/L 2,4-D + 2 mg/L Kin		Kuning- kehijauan	Kompak

Keterangan: tanda (-) = tidak terbentuk kalus pada eksplan

Tabel 4.7 menunjukkan hasil pengamatan kalus jantan hitam pada hari terakhir 42 HST menghasilkan kalus pada setiap perlakuan kombinasi memiliki warna yang beragam, kalus yang dihasilkan antara lain warna putih, putih-kehijauan, kuning-kehijauan, putih-kekuningan dan hijau-kekuningan.

Warna kalus putih diduga sebagai jaringan parenkim yang mengandung butiran pati yang merupakan simpanan polisakarida pada tumbuhan (Desriatin, 2010) Menurut Robbiani (2010) dalam Nazza (2013), kalus yang berwarna putih tidak mengandung kloroplas, tetapi mengandung plastid yang berisi butir pati yang sedikit-demi sedikit tumbuh menjadi sistem membran yang jelas yang akhirnya terbentuklah butir-butir klorofil dengan paparan cahaya, sehingga kalus menjadi berwarna hijau.

Menurut Wattimena (1988), Kalus yang berwarna hijau dikarenakan peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Dominasi warna hijau pada kalus jintan hitam ini di karenakan adanya peran sitokinin yang ditambahkan pada media MS berupa kinetin, kinetin dapat menyebabkan jaringan kalus mempertahankan kondisi warna hijaunya agar tetap segar atau dapat dikatakan memperlambat penuaan pada kalus.

Seperti yang dijelaskan oleh Thimann (1987) sitokinin mampu melakukan proses penundaan penuaan dengan cara mempertahankan keutuhan membran tonoplas. Bila tidak, protease dari vakuola akan merembes kesitoplasma dan menghidrolisis protein-larut serta protein-protein pada membran kloroplas dan mitokondria. Oleh sebab kloroplas yang dipertahankan keutuhannya maka kalus dominan berwarna hijau. Diperkuat oleh Leshem (1988) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa sitokinin berperan dengan mencegah oksidasi asam lemak-tak jenuh pada membran. Pencegahan ini barangkali terjadi karena sitokinin menghambat pembentukan dan mempercepat penguraian radikal-bebas, seperti superoksida (O_2^-) dan radikal hidroksida (OH^\cdot); bila tidak dicegah pembentukannya, radikal tersebut akan mengoksidasi lipid pada membran.

Menurut Indah dan Ermavitalini (2013) menyatakan bahwa jaringan kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda-beda. Kualitas kalus yang baik sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yaitu mempunyai ciri-ciri warna dan tekstur yang sesuai dengan metabolit sekunder yang diinginkan pada eksplan. Sonwa (2000) menjelaskan bahwa minyak atsiri yang kompleks dibentuk dalam sitoplasma dan secara normal

berbentuk butiran kecil diantara sel dan bersifat volatil dan beraroma, tidak berwarna atauagak kuning dan agak larut dalam air dan etanol.

Menurut penelitian Mahfur (2012) Hasil uji fisik organoleptis minyak atsiri jintan hitam dari Habasyah mempunyai warna kuning kemerahan, dengan bau yang khas dan aromatis, rasa pahit dan pedas. Minyak atsiri jintan hitam dari India mempunyai warna berbeda yaitu kuning tua, tetapi bau dan rasa sama dengan minyak dari Habasyah. Keduanya sama-sama memiliki warna dominan kuning. Seperti pada hasil penelitian ini diperoleh kalus jintan hitam yang berwarna kekuningan, yang berarti kalus tersebut mengakumulasi metabolit sekunder jintan hitam yang berupa minyak atsiri dengan ditandai warna khas dari minyak atsiri yang kekuningan.

Tekstur kalus pada penelitian ini diperoleh ada tiga jenis tekstur yakni; remah, intermediet dan kompak. Dodd (1993), menyatakan kalus yang mempunyai tekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan banyak mengandung pati. Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Ermavitalini, 2013). Menurut Ramawat (1999), menyatakan bahwa kalus akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada saat sel-sel mengalami penurunan aktifitas pembelahan.

Menurut Rahmawati (2007), tekstur kalus yang semakin remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang lebih cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Sel-sel kalus yang terbentuk bersifat remah (*friable*) memiliki ciri-ciri antara satu

sel dengan sel lainnya mudah dipisahkan. Bila diambil menggunakan pinset, maka sel-sel kalus akan mudah menempel pada pinset. Menurut Widiarso (2010) dalam Arianto *et al.* (2013), kalus tipe intermediet merupakan massa kalus yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan sebagian lainnya remah.

4.4 Integrasi Hasil Penelitian Induksi Kalus Jintan Hitam dengan Pandangan Islam

Penelitian induksi kalus jintan hitam ini dengan menggunakan kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin, jintan hitam adalah salah satu tumbuhan yang sering digunakan dalam kehidupan manusia dan diambil manfaatnya dalam pengobatan khususnya dalam pengobatan dunia muslim, tumbuhan jintan hitam ini termasuk golongan tumbuh-tumbuhan baik yang tumbuh dan dibudidayakan di belahan bumi bagian timur tengah. Dalam surah Luqman ayat 10 menerangkan tentang bagaimana kuasa Allah SWT dalam menumbuhkan tumbuh-tumbuhan khususnya tumbuhan yang baik untuk manusia.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا وَاللَّيْلِ فِي الْأَرْضِ رَواسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
 مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”

Menurut tafsir Ibnu Katsir oleh Al-Sheikh (1994), Al-Hasan dan Qatadah mengatakan bahwa langit tidak mempunyai tiang, baik yang tidak terlihat maupun yang terlihat. Dia telah menyebarkan segala macam binatang di bumi dalam jumlah yang tidak diketahui bentuk dan warnanya kecuali hanya oleh

Penciptanya, lalu Allah mengingatkan (manusia) bahwa Dialah yang memberi rezeki, yang hal ini diungkapkan melalui firman-Nya, yakni segala macam tetumbuhan yang baik dan indah pemandangannya.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan air hujan ke bumi dan untuk menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik di muka bumi, tumbuh-tumbuhan yang baik di bumi ada berbagai macam jenis manfaatnya seperti tumbuhan sebagai bahan makanan, bahan bangunan, sebagai pakan ternak, sebagai obat dan lain-lain. Sedangkan salah satunya dalam penelitian ini adalah jintan hitam yang dikenal banyak mengandung metabolit sekunder yang umumnya digunakan sebagai obat adalah dari golongan minyak atsiri, monoterpen diterpen dan lain-lain. Metabolit sekunder yang dapat diambil manfaatnya oleh manusia sebagai obat herba ini sering diekstrak dalam bentuk obat kapsul minyak jintan hitam ini dapat diperoleh dengan cara kultur jaringan.

Kandungan yang terdapat dalam jintan hitam atau habbatus sauda' sangatlah banyak dan bermanfaat bagi kesehatan, kandungan yang ada dalam jintan hitam dapat menyembuhkan segala macam penyakit. Oleh karena itu jintan hitam sangat berpotensi untuk diambil kandungan metabolit sekundernya dalam teknik kultur jaringan kalus, sehingga manfaat dari kandungan metabolit sekunder tersebut dapat mudah diperoleh dan diperbanyak produksinya secara masal sebagai, penelitian untuk mendapatkan kalus yang dapat menghasilkan metabolit sekunder tinggi perlu protokol konsentrasi ZPT yang tepat agar pertumbuhan kalus dapat optimal.

Pemberian berbagai konsentrasi ZPT pada kalus jintan hitam memberikan hasil konsentrasi optimal yang berbeda-beda pada setiap variabel dan konsentrasi ZPT yang diberikan. Karena setiap jenis ZPT atau hormon sintetis ini dapat memberikan respon yang berbeda-beda pada setiap tumbuhan, pemberian berbagai konsentrasi ZPT ini juga pada konsentrasi terlalu rendah kurang memberikan respon pertumbuhan yang cepat sedangkan pada pemberian konsentrasi yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan kematian pada tumbuhan, oleh karena itu penelitian kadar ZPT sangatlah diperlukan untuk mengetahui kadar disetiap perlakuan tanaman yang diteliti. Seperti yang telah ditetapkan Allah SWT yang telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadar masing-masing. Dalam surat Al-A'laa (87) ayat 3,

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ﴿٣﴾

Artinya: “Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk”

Surat Al-A'laa ini menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadar masing-masing. Allah SWT mengisyaratkan bahwa terdapat rahasia di balik kata “kadar” yang harus dikaji dan dipelajari. Sehingga dalam penelitian ini dilakukan beberapa percobaan yaitu dengan menambahkan berbagai konsentrasi kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin pada media perlakuan, tujuannya untuk mengetahui pada konsentrasi mana yang memiliki pengaruh yang nyata dan optimal terhadap pertumbuhan kalus jintan hitam.

Penciptaan Allah SWT tentang dunia seisinya diperuntukkan agar umat manusia berpikir dan menggali ilmu lebih banyak lagi dari alam yang telah Allah ciptakan ini, telah dijelaskan dalam Surah Ali-Imron ayat 191;

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٦١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.”

Menurut tafsir Ibnu Katsir bahwa orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi, Yang mana mereka berkata “Ya Rabb kami, tiadalah engkau menciptakan ini dengan sia-sia.” Artinya, Engkau tidak menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa-apa yang telah mereka kerjakan dan juga memberikan balasan orang-orang yang beramal baik dengan balasan lebih baik (syurga). Kemudian mereka menyucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil seraya berkata “Maha suci Engkau.” Yakni dari menciptakan sesuatu yang sia-sia. “Maka peliharalah kami dari siksa neraka.” Maksudnya wahai Rabb yang menciptakan makhluk ini dengan sungguh-sungguh dan adil. Wahai dzat yang jauh dari kekurangan, aib dan kesia-siaan, peliharalah kami dari adzab Neraka dengan daya dan kekuatan Mu. Dan berikanlah taufik kepada kami dalam menjalankan amal shalih yang dapat mengantarkan kami ke Surga serta menyelamatkan kami dari adzab-Mu yang sangat pedih (Al- Jazairi, 2007).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan

tentang penciptaan langit dan bumi” ini artinya orang-orang yang selalu mengingat Allah dalam segala kondisi. Orang-orang tersebut memanfaatkan akal fikiran yang diberikan Allah untuk berfikir dan mempelajari segala yang diciptakan Allah SWT, sehingga mampu membaca masalah yang terjadi di lingkungan sekitar serta mampu menjadi khalifah di bumi ini dengan menjaga kearifan bumi.

Penelitian kultur jaringan ini juga dapat digunakan sebagai sarana untuk melestarikan bumi yang telah dititipkan Allah kepada kita manusia agar tetap menjaganya hingga anak cucu kita kelak. Kultur jaringan selain digunakan untuk memproduksi kalus yang bertujuan untuk diambil senyawa kimia atau metabolit sekundernya seperti kalus jintan hitam dalam penelitian ini, teknik kultur juga dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara masal dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat untuk tetap menjaga kehijauan bumi ini, agar tetap bisa dimanfaatkan oleh generasi penerus kita.

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) berpengaruh nyata terhadap ketiga variabel pengamatan, dengan konsentrasi yang lebih efisien digunakan pada 1,5 mg/L dengan hari muncul kalus selama 20 HST persentase kalus 63,67% dan berat 0,1452gr.
2. Pemberian berbagai konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) berpengaruh nyata terhadap ketiga variabel, dengan konsentrasi yang lebih efisien digunakan pada 1 mg/L dengan hari muncul kalus selama 22,29 HST persentase kalus sebesar 54,52% dan berat 0,1190 gr.
3. Interaksi kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) memberikan pengaruh nyata terhadap parameter kuantitas pada variabel persentase tumbuh kalus dan berat kalus, dan parameter kualitas dengan perlakuan kombinasi efisien adalah pada penambahan 2,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin yang dapat menghasilkan 90% kalus tumbuh dan berat 0,2028 gr dengan warna kalus kuning-kehijauan dan bertekstur kompak.

5.2 SARAN

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain:

1. Penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh kinetin lebih ditingkatkan lagi agar mendapatkan konsentrasi yang lebih optimal.
2. Perlu dilakukan uji kadar metabolit sekunder thymoquinone dalam kalus dengan bahan eksplan berupa kotiledon hingga hipokotil kecambah jintan hitam.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmat, I. 2014. *Nigella sativa* – A Medicinal Herb with Immense Therapeutic Potential (A Systematic Review). *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research* 5(9): 755-762.
- Ajjjah, N., Tasma, I. M., Hadipoentyanti, E. (2010). Induksi Kalus Vanilli (*Vanilla planifolia* ANDREW.) Dari Eksplan Daun dan Buku. *Buletin RISTRI*. 1(5).
- Akhtar, M.S. and Rifaat, S. 1991. Field Trial of *Saussurea lappa* Roots Against Nematodes and *Nigella sativa* Seeds Against Cestodes in Children. *Journal of The Pakistan Medical Association* 41: 185-187
- Alemi, M., Sabouni, F., Sanjarian, F., Haghbeen, K. dan Ansari, S. 2013. Anti-inflammatory Effect of Seed and Callus of *Nigella sativa* L. Extracts on Mix Glial Cells with Regard to Their Thymoquinone Content. *Journal AAPS PharmSciTech*.14(1)
- Ali, B.H. and Blunden, G. 2003. Pharmacological and Toxicological Properties of *Nigella sativa*. *PubMed* 17(4): 299-305
- Alitalia, Y. 2008. *Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap pertumbuhan dan perkembangan Tunas mikro kantong semar (Nepenthes mirabilis) Secara in vitro*. Skripsi program studi hortikultura Fakultas pertanian Institut pertanian bogor
- Al-Jabre, S., Al-Akloby, O.M., Al-Qurashi, A.R., Akhtar, N., Al-Dossary, A., and Randhawa, M.A. (2003) Thymoquinone, an Active Principle of *Nigella sativa*, Inhibited *Aspergillus niger*. *Pakistan J. Med. Res* 42(3)
- Al-Jazairi, S. 2007. *Tafsir Al Qur'an Al Qurtubi* (jilid 2). Jakarta: Darus Sunnah
- Al-Mahally, Jalaluddin. Imam, As-Sayuthi. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo
- Al-Maraghi, Ahmad Mushthafa. 1993. *Tafsir Al-Maraghi*, (Terjemah), juz 15. Semarang : Toha Putra.
- Al-Sheikh, A. diterjemah oleh Ghoffar, M.1994.*Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal.
- Altman, A. and B. Loberant. 1998. *Micropropagation: Clonal Plant Propagation in vitro*, p. 19-34. In: A. Altman (Ed.) *Agricultural Biotechnology*. Marcel Dekker Inc. New York.

- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi Bap Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) Secara In Vitro. *Skripsi Faperta Universitas Sebelas Maret*. Surakarta.
- An-Najjar, Z. 2011. *Sains dalam Hadis, penerjemah Zaenal Abidin*. Jakarta: Penerbit AMZAH
- Argaloka, A. Yusro. 2013. Pengaruh Kombinasi ZPT BAP dan 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Kotiledon Akasia (*Acacia mangium*) Pada Media MS. *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Arianto, B. Dan M.U. Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Unggul Sulawesi Pada Berbagai Konsentrasi 2,4 DichlorophenoxyAcetic Acid Secara *In Vitro*. *J. Agrotekbis 1 (3)*.
- 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 Science 1(1)*: 78-84
- Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, & Marzouk B. 2008. Phenolic Composition and Biological Activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*; 331(1): 48–55.
- Burits M and Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res 14*: 323-328.
- Chaieb K, Kouidhi B, Jirah H, Mahdouani K, Bakhrouf A. 2011. Antibacterial Activity Of Thymoquinone, An Active Principle of *Nigella sativa* and Its Potency to Prevent Bacterial Biofilm Formation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 1,472-6,882.
- Chaudhry, H., Fatima, N. and Ahmad, I. Zareen. 2014a. Establishment of Callus and Cell Suspension Cultures of *Nigella sativa* L. for Thymol Production. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(1): 788-794
- Chaudhry, H., Fatima, N. and Ahmad, I. Zareen. 2014b. Evaluation of *Nigella sativa* L. Callus Extracts Under Elicitation for Phytochemical and Antibacterial Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(1): 903-916
- Collin, H. A. & S. Edward. 1998. *Plant Cell Culture*. UK: BIOS Scientific Publisher. Pp: 103-1121.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.

- Darwati, I. 2007. Kultur Kalus Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk) Untuk Metabolit Sekunder . *Skripsi tidak diterbitkan* . Institut Pertanian Bogor
- Davies P.J. 2004. *Plant Hormones*. Dordrecht Boston London. Kluwer Academic Publishers
- Departemen Kementrian Perdagangan Republik Indonesia. 2012. *Kontrak Berjangka Mengabdikan dengan Integritas Indonesia; Kontrak Valas BKDI World Class*
- Departemen Kementrian Perdagangan Republik Indonesia. 2014. *Warta Ekspor Obat Tradisional Indonesia*. Jakarta: Kementrian Perdagangan Republik Indonesia.
- Desriatin, N. L., 2010. Pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh IAA dan kinetin terhadap morfogenesis pada kultur in vitro tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L. Var. Prancak-95). *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Surabaya: ITS.
- Dodd, B. 1993. *Plant Tissue Culture for Horticulture*. School of Life Science. Queensland University of Technology.
- Dodds, J. H. and L. R. Roberts. 1982. *Experiments in Plants Tissue Culture*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Dwi, N. M., Waeniati, M. dan Suwastika, I. N. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Medium Ms Dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.). *Jurnal Natural Science*. 1(1) 53-62
- Ekanem, J. T. dan Yusuf, O.K. 2008. Some Biochemical and Haematological Effects of Black Seed (*Nigella sativa*) Oil on *T. brucei* Infected Rat. *African Journal of Biomedical Research*. 11: 79-85
- Elimasni I. N. dan S.M. Zaidun. 2006. Inisiasi In Vitro Biji Muda Terong Belanda (*Solanum Betaceum* Cav.) Berastagi Sumatera Utara pada Komposisi Media dan Zat Tumbuh yang Berbeda. *Jurnal Biologi Sumatera*. 1(1): 15-19.
- Fajroti, N. 2013. Pengaruh Jenis Eksplan dan Konsentrasi 2,4-D (2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Metabolit Sekunder (Stigmasterol Dan Sitosterol) Kalus Purwoceng (*Pimpinella Alpina* Molk.) Pada Media Ms. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Fishel, F. M. 2006. *Plant Growth Regulators*. Institute of Food And Agricultural Science University Of Florida. Florida
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin Pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang
- Fosket, D. E., L. C. Morejohn dan K. E. Westerling. 1981. Control of Growth by Cytokinin: An Examination of Tubulin Synthesis During Cytokinin-Induced Growth In Culture Cell of Pual's Scarlet Rose. *Journal Guern and C. Peaud-Lenoel*. Pg: 193-211
- Gaba, V.P. 2005. *Plant Growth Regulator*. In .N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) *Plant Tissue Culture and Development*. CRC Press. London. p. 87-100.
- Gali-Muhtasib H., El-Najjar N, Schneider SR. 2006. The medicinal potential of black cumin seed (*Nigella sativa*) and its components. *Khan and A. Ather (eds.) Lead molecules from Natural Product*. p 133.
- George, F. E. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology Exegetic*. England
- Gunawan, L. W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor : Pusat Antar Universitas IPB
- Habibah, N. A. 2009. Efektivitas Penambahan Elisitor Asam Jasmonik dalam Peningkatan Sintesis Senyawa Bioaktif Andrografolid pada Kultur Suspensi Sel Sambiloto. *Biosaintifika* 1(1): 11-18.
- Hajjah, J. 2012. Pengaruh Penambahan ZPT 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Senyawa Isoflavon Beberapa Varietas Kedelai Pada Media MS. *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Harjoko, D. 1999. Pengaruh Macam-macam Auksin terhadap Poliploidisasi Kalus Tanaman Semangka pada Kultur in Vitro. Surakarta: Fakultas Pertanian UNS.
- Harzallah, H. J., Grayaa, R., Kharoub, W., Maaloul, A., Hammami, M., Mahjoub T. 2012. *Thymoquinone*, The *Nigella sativa* Bioactive Compound, Prevents Circulatory Oxidative Stress Caused By 1,2-Dimethylhydrazine in Erythrocyte During Colon Postinitiation Carcinogenesis. *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 10:11-55

- Hayati K, Surya NY, Setiari N, 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara in vitro dengan Penambahan Benzyl Amino Purin (BAP) dan α -Naphtalene Acetic Acid (NAA) *Web publication*
- Hendaryono D.P dan A. Wijayanti. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenaan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman secara Vegetatif-Modern*, Yogyakarta: Kanisius
- Hendaryono, S. dan Wijayani, A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hosseinzadeh H, Mahmoud RJ, Khoeib AR, Rahmani M. 2006. Anti Ischemic Effect Of *Nigella sativa* L. Seed In Male Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 1: 53-58.
- Hutapea, J. Ria. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Depkes.
- Indah, N., dan Ermavitalini, D. 2013 . Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn). Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4- *Dichlorophenoxyatic Acid* (2,4 – D). Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 2337 – 3520.
- Indriani, Muhtafharottul D., Manuhara, Y. Sri Wulan dan Utami, Edy Setiti W. 2016. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D, Kinetin dan BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* Merr.). *Skripsi*. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Indrianto, A. 2002. *Bahan Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM
- Isnaini, D. 2010. Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) sebagai Hepatoprotektor pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Isoniazid (INH). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Kasmiyati, S., Atmajaningrum, F. Dan Karwur, Ferry F. 2007. Pengaruh 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus *Pseuderanthenum acuminatissimum*. *Jurnal AGRIC*. 19(1): 68-75
- Katzer, G. (2004) *Nigella* (*Nigella sativa* L.) [http : // www .unigraz.at /% 7Ekatzer /spice_icon.ico](http://www.unigraz.at/%7Ekatzer/spice_icon.ico)
- Khan, A. M. dan Afzal, M. 2016. Chemical composition of *Nigella sativa* Linn: part 2 Recent advances. *Inflammopharmacol* 24:67-79
- Korshom M., Moghney, A.A., and Mandour, A. (1998) Biochemical and Parasitological Evaluation of *Nigella sativa* Against Ruminant Fluke

- (Paramphistomum) in Sheep as Compared with Trematocide "Hapadex". *Assiut. Veterinary Med. J.* 39(78): 238–244
- Kresnawati, E. 2006. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh NAA dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Dari Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Skripsi*. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Kurz, W.G.W., dan F. Constabel. 1991. Produksi dan isolasi metabolit sekunder. Dalam Wetter, L.R. dan F. Constabel (eds.). *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Penerjemah: Widiyanto, M.B. Bandung: ITB Press.
- Leshem, Y. Y. 1988. Plant Senescence Processes and Free Radicals. *Free Radical Biology and Medicine*. 5:39-49
- Lestari, E.G., I. Mariska. 2003. Pengaruh berbagai formulasi media terhadap regenerasi kalus padi indica. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, 257
- Lewinsohn, E., Botnick, I., Xue, W., Bar, E., Ibdah, M., Schwartz, A., Joe, I D.M, Lev, E, Fait, A. 2012. Distribution of primary and specialized metabolites in *Nigella sativa* seeds, a spice with vast traditional and historical uses. *J Molecules*.17: 10159-10177.
- Lina, F. R., Ratnasari, Evie dan Wahyono, Rahmad. 2013. Pengaruh 6-Benzylamino Purine (BAP) dan 6-Furfuryl Amino Purine (Kinetin) pada Media MS terhadap Pertumbuhan Eksplan Ujung Apikal Tanaman Jati secara *In Vitro*. *LenteraBio*. 2(1): 57–61
- Liu, M. 1981. *Plant Tissue Culture, Method and Applications in Agriculture*. NewYork: Academic Press.
- Lutviana, A., Manuhara, S. W. dan Wida, E. S. 2012. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman bunga matahari (*Helianthus annus* L.). *Skripsi Prodi S-1 Biologi*, Departemen Biologi, Fakultass Sains dan Teknologi, Universitass Airlangga
- Mahadi, I., Syafi'i, W. dan Sari, Yeni. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 21 (2): 84–89
- Mahfur. 2012. Perbandingan Profil Kromatogram Minyak Atsiri Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) yang Berasal dari Habasyah, India, dan Indonesia dengan Menggunakan Metode Kromatografi Gas. Naskah Publikasi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta Surakarta

- Manoi, F. 2015. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 15 (2): 156-161
- Maraghi, A.M. 1993. *Tafsir Al-Maragi*. Penerjemah: Abubakar, B., Aly H.N., Sitanggal, A.U. Semarang: Toha Putra.
- Mardiana, N. Tahardi; J.S. Sumaryono. 1997. Initiation and maintenance of embryogenic suspensi on culture of tea (*Camellia sinensis* L.). *Menara Perkebunan*, (65) 1-8
- Mariska dan Sukmadjaja, 2003. *Kultur Jaringan Abaka Melalui Kultur Jaringan*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian
- Maznah I, Norsharina I, Al-Absi A, Al-Naqeeb G. 2011. Thymoquinone Rich Fraction from *Nigella sativa* and Thymoquinone are Cytotoxic Towards Colon and Leukemic Carcinoma Cell Lines. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 3359-3366.
- Mbarek LA, Mouse HA, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A, Kamal M, Dalal A, Zyad A. 2007. Anti-tumor Properties of Blackseed (*Nigella sativa* L.) Extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 40: 839-847.
- Mohtashami, R., et al., 2011, Blood Glucose Lowering Effect of *Nigella sativa* L. Seed Oil in Healthy Volunteers; A Randomized, Double Blind, PlaceboControlled Clinical Trial, *Journal of Medicinal Plants*, 10(39), 90-94.
- Moretti, A., D'Antuono, L.F., and Elementi, S. 2004. Essential Oils of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. Seed. *Journal of Essential Oil Research*.
- Muhammad, A.J. 2010. *Tafsir Jalalain*. Penerjemah: Junaidi, Najib. Surabaya: Pustaka eLBA Fitrah Mandiri Sejahtera.
- Nazza, Y. 2013. Induksi kalus pegagan (*Centella asiatica*) pada media MS dengan penambahan zat pengatur tubuh 2,4-D yang dikombinasi dengan air kelapa. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Nouroz, Faisal and Chaudry, Fayyaz. 2016. Phytohormonal Impact on Callus Inductions and Proliferation in Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Int. J. Agric. Appl. Sci.* 8(2): 196-203
- Parhizkar S, Latiffah AL, Sabariah AR, Mohammad AD, Hanachi P. 2011. Assessing Estrogenic Activity of *Nigella sativa* L. in Ovariectomized Rats Using Vaginal Cornification Assay. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5: 137-142.

- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publisher. Netherland.
- Poonsapaya, P.M.W, Nabors, W. Kersi, and M. Vajrabhaya. 1989. A Comparison Of Methods For Callus Culture and Plant Regeneration of RD-25 rice (*Oryza sativa* L.) in vitro laboratoris. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 16:175-186.
- Purnamaningsih, Ragapadmi dan Ashrina, Misky. 2011. Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi* 10(4):481-189
- Puspitasari, A. dan Soegihardjo, C.J.. 2002. Optimasi Media Penumbuh Kalus sebagai Langkah Awal Upaya Budidaya *In-Vitro* Tanaman *Vitex trifolia* L. *Majalah Farmasi Indonesia*, 13(1) 21-25
- Rahayu, B., Solichatun dan Anggarwulan, E. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1 (1): 1-6
- Rahmawati, P.D. 2007. Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pertumbuhan dan kandungan senyawa isoflavon daidzein dan genistein dari kalus kedelai(*Glycine max* L. Merr.). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN, Malang.
- Ramawat, K.G. 1999. *Secondary plant product in Nature in Biotechnology secondary Metabolism*. U.S.A: Science Publisher, inc. pp 11-37.
- Rohmatin, N. 2014. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.) dengan Pemberian Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D, IBA dan Kinetin. *Skripsi*. Universitas Airlangga.
- Roshan S, Abdullah Khan, Tazneem B and Sadath Ali. 2010. To study the effect of *Nigella sativa* on Various Biochemical Parameters on Stress Induced In Albino Rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 2: 185-189.
- Rukmi, Veronica Krestiani. 2013. Kajian Konsentrasi Naa dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Kalus dari Kotiledon Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Fakultas Pertanian UMK* 6(1): 16-20
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: ITB Press.
- Santoso, U & F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Pusbitan UMM.

- Shihab, Q. 2001, *Membumikan Al-Qur'an, Fungsi dan Peran Wahyu dalam Kehidupan Manusia*, Bandung: Mizan.
- Sitinjak, M. A., Isda, Mayta N. dan Fatonah, Siti. 2015. Induksi Kalus dari Eksplan Daun In Vitro Keladi Tikus (*Typhonium* sp.) dengan Perlakuan 2,4-D dan Kinetin. *Jurnal Biologi Al-Kauniah*. 8(1): 32-39
- Sitorus, E. N. 2007. Induksi Kalus Bianhong (*Basella rubra*) pada Medium MS (Murashige & Skoog) dengan Kombinasi ZPT IBA dan BAP. *Laporan Kerja Praktek*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNDIP. Semarang
- Skoog, F. and Miller, C. O.. 1979. Chemical Regulation Of Growth and Organ Formation In Plant Tissue Cultured *In vitro*. *Symposium Soc. Exp. Biology*. 11: 118-131.
- Sonwa, M. M. 2000. Isolation and Structure Elucidation of Essential Oil Constituents Comparative Study of The Oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. Disertasi. Fakultas Kimia, Universitas Hamburg.
- Sriyanti, D. P. dan Wijayani, A.. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Yayasan Kansius.
- Sulandjari. 2008. *Tanaman Obat Rauwolfia serpentina Ekofisiologi dan Budidaya*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Press.
- Suprpto, A. 2004. Auksin : Zat Pengatur Tumbuh Penting Meningkatkan Mutu Stek Tanaman. *Magelang : Fakultas Pertanian Universitas Tidar Magelang*. 21(1).
- Suryadi, R. 2014. Karakter Morfologi Dan Pemupukan N dan P Anorganik terhadap Pertumbuhan dan Produksi Bioaktif Thymoquinone Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.). *Tesis*. Bogor: IPB
- Syanqithi, S. 2007. Tafsir Adhwa'ul Bayan. Penerjemah: Fakhurrazi. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Thimann, K. V. 1987. Plant senescence: A Proposed Integration of The Constituent Processes. p. 1-19. *Proc. X Annu. Symp. Plant Physiol*. 10:1-19.
- Trimulyono, G., Solichatun dan Dewi, M. S.. 2004. Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Minyak atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Perlakuan Asam α -Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2 (1): 9-14.

- Vanisree, M., et al., 2003. *Studies on The Production of Some Important Secondary Metabolites From Medicinal Plants by Plant Tissue Culture*. Institute Of Biotechnology, Chaoyang University Of Technology Vol.45 P1-22 University Of Technology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan 4023 Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng Taiwan 413(45).1-22
- Wahyuni, D. K., Prasetyo, Dedy dan Hariyanto, Sucipto. 2014. Perkembangan Kultur Daun *Aglaonema* sp. dengan Perlakuan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan 2,4-D dengan BAP. *Jurnal Bioslogos*, 4(1): 9-16
- Wahyuni, S. 2009. Peluang budidaya dan manfaat jintan hitam (*Nigella sativa* L.). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 15:23-25.
- Wardani, D. P., Solichatun dan Setiawan, Ahmad D. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi* 2 (1): 35-43.
- Watimena G.A., 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: Institut Pertanian Bogor..
- Welsh, J.R., 1991. *Dasar-Dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Alih Bahasa J.P. Moge. Erlangga, Jakarta
- Widyastuti, N. dan D. Tjokrokusumo. 2001. Peranan beberapa zat pengatur tumbuh (ZPT) tanaman pada kultur in vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 3: 55- 63.
- Widyawati, Geningsih. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar. *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelah Maret.
- Winata, L. 1987. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan PAU Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 6:181-194
- Yusuf, M. S. 2014. Efektifitas penggunaan Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dalam Proses Percepatan Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi. *Skripsi*. Makasar: UNHAS.
- Zulkarnain, 2014. *Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya Kultur Jaringan Tumbuhan*. Jakarta: PT Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Tabel Hari Muncul Kalus

No.	Perlakuan		Ulangan	HMK	Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kinetin				
1		0	1	43	129	43
			2	43		
			3	43		
2		0,5	1	19	105	35
			2	43		
			3	43		
3	0	1	1	21	107	35,66667
			2	43		
			3	43		
4		1,5	1	18	89	29,66667
			2	28		
			3	43		
5		2	1	43	104	34,66667
			2	43		
			3	18		
6		0	1	24	82	27,33333
			2	28		
			3	30		
7		0,5	1	25	75	25
			2	24		
			3	26		
8	0,5	1	1	28	91	30,33333
			2	24		
			3	39		
9		1,5	1	20	72	24
			2	25		
			3	27		
10		2	1	27	73	24,33333
			2	31		
			3	15		
11	1	0	1	27	84	28
			2	27		
			3	30		
12		0,5	1	25	64	21,33333
			2	22		

			3	17		
13	1		1	20	62	20,66667
			2	22		
			3	20		
14	1,5		1	24	71	23,66667
			2	22		
			3	25		
15	2		1	18	56	18,66667
			2	17		
			3	21		
16	0		1	22	76	25,33333
			2	27		
			3	27		
17	0,5		1	24	66	22
			2	28		
			3	14		
18	1,5	1	1	18	50	16,66667
			2	16		
			3	16		
19	1,5		1	17	52	17,33333
			2	20		
			3	15		
20	2		1	18	56	18,66667
			2	18		
			3	20		
21	0		1	16	51	17
			2	16		
			3	19		
22	0,5		1	19	67	22,33333
			2	29		
			3	19		
23	2	1	1	15	50	16,66667
			2	17		
			3	18		
24	1,5		1	18	54	18
			2	20		
			3	16		
25	2		1	17	52	17,33333
			2	19		
			3	16		
26	2,5	0	1	28	76	25,33333

			2	16		
			3	32		
27		0,5	1	17	51	17
			2	19		
			3	15		
28		1	1	20	50	16,66667
			2	14		
			3	16		
29		1,5	1	18	52	17,333333
			2	15		
			3	19		
30		2	1	20	57	19
			2	21		
			3	16		
31		0	1	27	91	30,333333
			2	29		
			3	35		
32		0,5	1	15	61	20,333333
			2	20		
			3	26		
33	3	1	1	14	58	19,333333
			2	30		
			3	14		
34		1,5	1	14	53	17,666667
			2	16		
			3	23		
35		2	1	19	49	16,333333
			2	17		
			3	13		

2. Tabel Persentase Tumbuh Kalus

No.	Perlakuan		Ulangan	% tumbuh kalus	Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kinetin				
1	0	0	1	0	0	0
			2	0		
			3	0		
2		0,5	1	10	10	3,33333333
			2	0		
			3	0		
3	1	1	5	5	1,66666667	
		2	0			

			3	0		
4	1,5		1	5	25	8,33333333
			2	20		
			3	0		
5	2		1	0	5	1,66666667
			2	0		
			3	5		
6	0		1	15	95	31,6666667
			2	40		
			3	40		
7	0,5		1	40	90	30
			2	30		
			3	20		
8	0,5	1	1	30	90	30
			2	50		
			3	10		
9	1,5		1	50	100	33,3333333
			2	20		
			3	30		
10	2		1	20	100	33,3333333
			2	40		
			3	40		
11	0		1	25	60	20
			2	20		
			3	15		
12	0,5		1	30	130	43,3333333
			2	30		
			3	70		
13	1	1	1	80	230	76,6666667
			2	75		
			3	75		
14	1,5		1	20	190	63,3333333
			2	90		
			3	80		
15	2		1	50	165	55
			2	60		
			3	55		
16	1,5	0	1	70	150	50
			2	45		
			3	35		
17		0,5	1	70	200	66,6666667

			2	70		
			3	60		
18		1	1	40	190	63,333333
			2	60		
			3	90		
19		1,5	1	40	170	56,666667
			2	50		
			3	80		
20		2	1	70	245	81,666667
			2	85		
			3	90		
21		0	1	70	170	56,666667
			2	65		
			3	35		
22		0,5	1	50	140	46,666667
			2	40		
			3	50		
23	2	1	1	60	200	66,666667
			2	60		
			3	80		
24		1,5	1	90	215	71,666667
			2	55		
			3	70		
25		2	1	85	260	86,666667
			2	85		
			3	90		
26		0	1	80	200	66,666667
			2	70		
			3	50		
27		0,5	1	80	235	78,333333
			2	80		
			3	75		
28	2,5	1	1	80	185	61,666667
			2	25		
			3	80		
29		1,5	1	60	170	56,666667
			2	70		
			3	40		
30		2	1	90	270	90
			2	90		
			3	90		

31	0	1	40	115	38,333333
		2	30		
		3	45		
32	0,5	1	100	190	63,333333
		2	50		
		3	40		
33	1	1	80	245	81,666667
		2	80		
		3	85		
34	1,5	1	75	215	71,666667
		2	90		
		3	50		
35	2	1	90	280	93,333333
		2	90		
		3	100		

3. Tabel Berat Kalus

No.	Perlakuan		Ulangan	berat kalus	Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kinetin				
1	0	0	1	0	0	0
			2	0		
			3	0		
2	0,5	0,5	1	0,0249	0,0249	0,0083
			2	0		
			3	0		
3	0	1	1	0,0121	0,0121	0,00403333
			2	0		
			3	0		
4	1,5	1,5	1	0,0311	0,0518	0,01726667
			2	0,0207		
			3	0		
5	2	2	1	0	0,0192	0,0064
			2	0		
			3	0,0192		
6	0,5	0	1	0,0151	0,1445	0,04816667
			2	0,0694		
			3	0,06		
7	0,5	0,5	1	0,0688	0,1355	0,04516667
			2	0,0394		
			3	0,0273		

8		1	1	0,0319	0,1418	0,04726667
			2	0,0972		
			3	0,0127		
9		1,5	1	0,0907	0,15362	0,05120667
			2	0,0285		
			3	0,03442		
10		2	1	0,0247	0,1473	0,0491
			2	0,0622		
			3	0,0604		
11		0	1	0,0255	0,0631	0,02103333
			2	0,0221		
			3	0,0155		
12		0,5	1	0,0395	0,2236	0,07453333
			2	0,0313		
			3	0,1528		
13	1	1	1	0,1573	0,4923	0,1641
			2	0,1671		
			3	0,1679		
14		1,5	1	0,0274	0,4215	0,1405
			2	0,2044		
			3	0,1897		
15		2	1	0,0954	0,3546	0,1182
			2	0,1263		
			3	0,1329		
16		0	1	0,1528	0,4359	0,1453
			2	0,1402		
			3	0,1429		
17		0,5	1	0,1593	0,4319	0,14396667
			2	0,1509		
			3	0,1217		
18	1,5	1	1	0,0601	0,3918	0,1306
			2	0,1253		
			3	0,2064		
19		1,5	1	0,0616	0,3635	0,12116667
			2	0,1205		
			3	0,1814		
20		2	1	0,1584	0,5543	0,18476667
			2	0,1943		
			3	0,2016		
21	2	0	1	0,1514	0,3422	0,11406667
			2	0,1372		

			3	0,0536		
22		0,5	1	0,0922	0,2559	0,0853
			2	0,0696		
			3	0,0941		
23		1	1	0,1541	0,4996	0,16653333
			2	0,1491		
			3	0,1964		
24		1,5	1	0,2095	0,4837	0,16123333
			2	0,1021		
			3	0,1721		
25		2	1	0,1971	0,6007	0,20023333
			2	0,1955		
			3	0,2081		
26		0	1	0,1811	0,4238	0,14126667
			2	0,1511		
			3	0,0916		
27		0,5	1	0,1803	0,5367	0,1789
			2	0,1863		
			3	0,1701		
28	2,5	1	1	0,1853	0,3958	0,13193333
			2	0,0248		
			3	0,1857		
29		1,5	1	0,1214	0,3798	0,1266
			2	0,1585		
			3	0,0999		
30		2	1	0,2043	0,6085	0,20283333
			2	0,1947		
			3	0,2095		
31		0	1	0,0609	0,174	0,058
			2	0,0374		
			3	0,0757		
32		0,5	1	0,2208	0,3882	0,1294
			2	0,0992		
			3	0,0682		
33	3	1	1	0,1891	0,5647	0,18823333
			2	0,1804		
			3	0,1952		
34		1,5	1	0,1654	0,4731	0,1577
			2	0,2139		
			3	0,0938		
35		2	1	0,2027	0,6476	0,21586667

		2	0,1994		
		3	0,2455		

Lampiran 2. Hasil Analisis Variansi (ANAVA) dan uji lanjut DMRT 5%

2.1.A. Hasil Analisis Variansi Pada Hari Muncul Kalus Jintan Hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4570.133 ^a	34	134.416	3.695	.000
Intercept	56515.200	1	56515.200	1.553E3	.000
D	3310.800	6	551.800	15.167	.000
Kinetin	681.181	4	170.295	4.681	.002
D * kinetin	559.676	24	23.320	.662	.870
Error	2546.667	70	36.381		
Total	63632.000	105			
Corrected Total	7116.800	104			

a. R Squared = ,642 (Adjusted R Squared = ,468)

2.1.B. Pengaruh 2,4-D dan Kinetin terhadap HMK

HMK

Duncan

D	N	Subset		
		1	2	3
2	15	18.2667		
2,5	15	19.0667		
1,5	15	20.0000		
3	15	20.8000		
1	15	22.4667	22.4667	
0,5	15		26.2000	
0	15			35.6000

Sig.		.093	.095	1.000
------	--	------	------	-------

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 36,381.

HMK

Duncan

Kineti n	N	Subset	
		1	2
1,5	21	21.0952	
2	21	21.2857	
1	21	22.2857	
0,5	21	23.2857	
0	21		28.0476
Sig.		.291	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 36,381.

2.2.A Hasil Analisis Variansi Pada Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: persentase

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	74356.190 ^a	34	2186.947	8.840	.000
Intercept	271577.143	1	271577.143	1.098E3	.000
D	56832.857	6	9472.143	38.290	.000
Kinetin	7375.238	4	1843.810	7.453	.000
D * kinetin	10148.095	24	422.837	1.709	.043
Error	17316.667	70	247.381		
Total	363250.000	105			

2.2.A Hasil Analisis Variansi Pada Persentase Tumbuh Kalus Jintan Hitam
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:persentase

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	74356.190 ^a	34	2186.947	8.840	.000
Intercept	271577.143	1	271577.143	1.098E3	.000
D	56832.857	6	9472.143	38.290	.000
Kinetin	7375.238	4	1843.810	7.453	.000
D * kinetin	10148.095	24	422.837	1.709	.043
Error	17316.667	70	247.381		
Total	363250.000	105			
Corrected Total	91672.857	104			

a. R Squared = ,811 (Adjusted R Squared = ,719)

2.2.B Pengaruh 2,4-D dan Kinetin terhadap Persentase Tumbuh Kalus
Persentase

Duncan

D	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	3.0000			
0,5	15		31.6667		
1	15			51.6667	
1,5	15				63.6667
2	15				65.6667
3	15				69.6667
2,5	15				70.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	.274

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 247,381.

Persentase

Duncan

kineti n	N	Subset		
		1	2	3
0	21	37.6190		
0,5	21		47.3810	
1,5	21		51.6667	
1	21		54.5238	54.5238
2	21			63.0952
Sig.		1.000	.170	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 247,381.

2.3.A Hasil Analisis Variansi Pada Berat Kalus Jintan Hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: berat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.453 ^a	34	.013	9.347	.000
Intercept	1.256	1	1.256	881.648	.000
D	.314	6	.052	36.671	.000
Kinetin	.051	4	.013	8.890	.000
D * kinetin	.089	24	.004	2.593	.001
Error	.100	70	.001		
Total	1.809	105			
Corrected Total	.553	104			

a. R Squared = ,820 (Adjusted R Squared = ,732)

2.3.B. Pengaruh 2,4-D dan Kietin terhadap Berat Kalus

Berat

Duncan

D	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	,0072			
0,5	15		,0482		
1	15			,1097	
1,5	15				,1452
3	15				,1490
2	15				,1501
2,5	15				,1563
Sig.		1.000	1.000	1.000	.469

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

Berat

Duncan

kineti n	N	Subset		
		1	2	3
0	21	,0754		
0,5	21	,0951	,0951	
1,5	21		,1184	,1184
1	21		,1190	,1190
2	21			,1391
Sig.		.096	.056	.098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

2.4.A. Hasil Analisis Variansi dan Uji DMRT 5% Kombinasi Terhadap Persentase Tubuh Kalus

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0D+0K	3	.000															
0D+1K	3	1.667	1.667														
0D+2K	3	1.667	1.667														
0D+0,5K	3	3.333	3.333	3.333													
0D+1,5K	3	8.333	8.333	8.333	8.333												
1D+0K	3	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000											
0,5D+0,5K	3		30.000	30.000	30.000	30.000	30.000										
0,5D+1K	3		30.000	30.000	30.000	30.000	30.000										
0,5D+0K	3			31.667	31.667	31.667	31.667	31.667									
0,5D+1,5K	3				33.333	33.333	33.333	33.333	33.333								
0,5D+2K	3				33.333	33.333	33.333	33.333	33.333								
3D+0K	3					38.333	38.333	38.333	38.333	38.333							
1D+0,5K	3					43.333	43.333	43.333	43.333	43.333	43.333						
2D+0,5K	3					46.667	46.667	46.667	46.667	46.667	46.667	46.667					
1,5D+0K	3					50.000	50.000	50.000	50.000	50.000	50.000	50.000	50.000				
1D+2K	3						55.000	55.000	55.000	55.000	55.000	55.000	55.000	55.000			

1,5D+1,5K	3					56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667			
2D+0K	3					56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667			
2,5D+1,5K	3					56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667	56.667			
2,5D+1K	3						61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	61.667	
1D+1,5K	3							63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333
1,5D+1K	3							63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333
3D+0,5K	3							63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333	63.333
1,5D+0,5K	3								66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667
2D+1K	3								66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667
2,5D+0K	3								66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667	66.667
2D+1,5K	3									71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667
3D+1,5K	3									71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667	71.667
1D+1K	3										76.667	76.667	76.667	76.667	76.667	76.667	76.667
2,5D+0,5K	3											78.333	78.333	78.333	78.333	78.333	78.333
1,5D+2K	3												81.667	81.667	81.667	81.667	81.667
3D+1K	3												81.667	81.667	81.667	81.667	81.667
2D+2K	3													86.667	86.667	86.667	86.667
2,5D+2K	3														90.000	90.000	90.000
3D+2K	3															93.333	93.333
Sig.		.180	.059	.056	.097	.052	.091	.055	.057	.074	.075	.059	.075	.095	.060	.093	.058

2.4.B. Hasil Analisis variansi dan uji DMRT 5% kombinasi terhadap berat kalus jintan hitam

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0D+0K	3	,0000													
0D+1K	3	,0040	,0040												
0D+2K	3	,0064	,0064												
0D+0,5K	3	,0083	,0083												
0D+1,5K	3	,0173	,0173	,0173											
1D+0K	3	,0210	,0210	,0210											
0,5D+0,5K	3	,0452	,0452	,0452	,0452										
0,5D+1K	3	,0473	,0473	,0473	,0473	,0473									
0,5D+0K	3	,0482	,0482	,0482	,0482	,0482									
0,5D+2K	3	,0491	,0491	,0491	,0491	,0491									
0,5D+1,5K	3	,0512	,0512	,0512	,0512	,0512	,0512								
3D+0K	3	,0580	,0580	,0580	,0580	,0580	,0580	,0580							
1D+0,5K	3		,0745	,0745	,0745	,0745	,0745	,0745	,0745						
2D+0,5K	3			,0853	,0853	,0853	,0853	,0853	,0853	,0853					
2D+0K	3				,1141	,1141	,1141	,1141	,1141	,1141	,1141				
1D+2K	3					,1182	,1182	,1182	,1182	,1182	,1182				

1,5D+1,5K	3					,1212	,1212	,1212	,1212	,1212				
2,5D+1,5K	3						,1266	,1266	,1266	,1266	,1266			
3D+0,5K	3							,1294	,1294	,1294	,1294	,1294		
1,5D+1K	3							,1306	,1306	,1306	,1306	,1306		
2,5D+1K	3							,1319	,1319	,1319	,1319	,1319		
2,5D+0K	3							,1413	,1413	,1413	,1413	,1413	,1413	
1,5D+0,5K	3							,1440	,1440	,1440	,1440	,1440	,1440	
1,5D+0K	3							,1453	,1453	,1453	,1453	,1453	,1453	
3D+1,5K	3								,1577	,1577	,1577	,1577	,1577	
1D+1K	3									,1641	,1641	,1641	,1641	
2D+1K	3									,1665	,1665	,1665	,1665	
1D+1,5K	3									,1705	,1705	,1705	,1705	
2,5D+0,5K	3									,1789	,1789	,1789	,1789	
2D+1,5K	3									,1846	,1846	,1846	,1846	
1,5D+2K	3									,1848	,1848	,1848	,1848	
3D+1K	3									,1882	,1882	,1882	,1882	
2D+2K	3										,2002	,2002	,2002	
2,5D+2K	3											,2028	,2028	
3D+2K	3													,2119
Sig.		.124	.060	.067	.061	.053	.052	.057	.059	.053	.053	.054	.054	.062

Lampiran 3. Perhitungan dan Pengambilan Larutan Stok Hormon

Lampiran stok dibuat 100 ppm dalam 100 ml Aquades dengan perhitungan:

- a. Larutan stok 2,4-D 100 ppm dalam 100 ml

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

- b. Larutan stok Kinetin 100 ppm dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok Kinetin 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Pengambilan larutan stok hormon

1. Perlakuan Pemberian 2,4-D

- a. Konsentrasi 0,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 1 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

- c. Konsentrasi 1,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

- d. Konsentrasi 2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

e. Konsentrasi 2,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 2,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml}$$

f. Konsentrasi 3 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 3 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{3 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1,5 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pemberian Kinetin

a. Konsentrasi 0,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

b. Konsentrasi 1 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

c. Konsentrasi 1,5 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,5 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,75 \text{ ml}$$

d. Konsentrasi 2 ppm

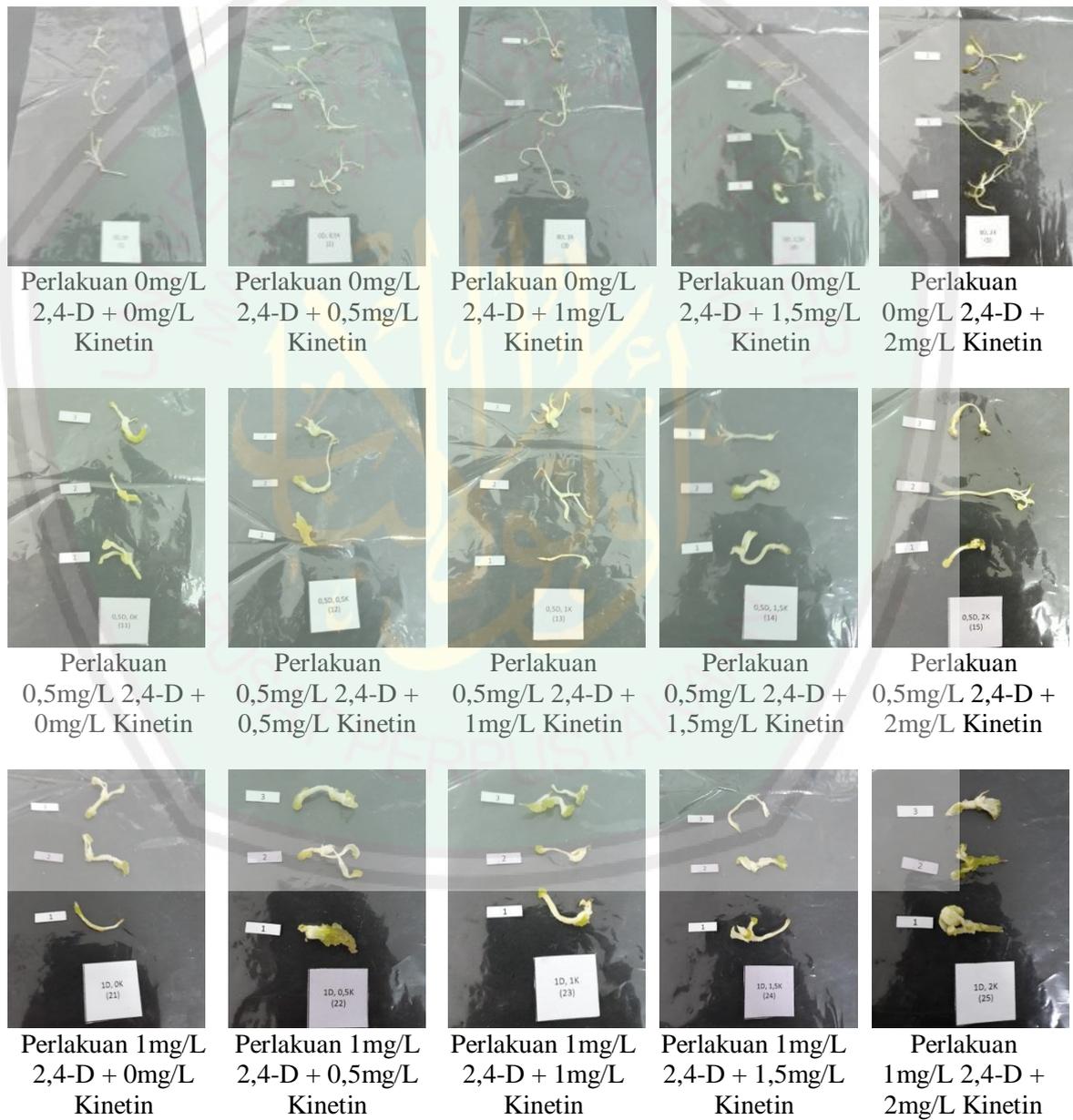
$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian Ketiga Ulangan





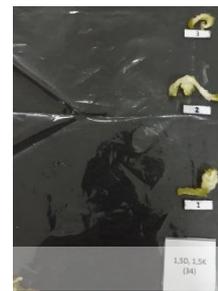
Perlakuan
1,5mg/L 2,4-D +
0mg/L Kinetin



Perlakuan
1,5mg/L 2,4-D +
0,5mg/L Kinetin



Perlakuan
1,5mg/L 2,4-D +
1mg/L Kinetin



Perlakuan
1,5mg/L 2,4-D +
1,5mg/L Kinetin



Perlakuan
1,5mg/L 2,4-D +
2mg/L Kinetin



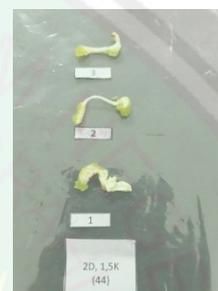
Perlakuan 2mg/L
2,4-D + 0mg/L
Kinetin



Perlakuan 2mg/L
2,4-D + 0,5mg/L
Kinetin



Perlakuan 2mg/L
2,4-D + 1mg/L
Kinetin



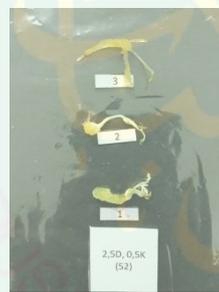
Perlakuan 2mg/L
2,4-D + 1,5mg/L
Kinetin



Perlakuan
2mg/L 2,4-D +
2mg/L Kinetin



Perlakuan
2,5mg/L 2,4-D +
0mg/L Kinetin



Perlakuan
2,5mg/L 2,4-D +
0,5mg/L Kinetin



Perlakuan
2,5mg/L 2,4-D +
1mg/L Kinetin



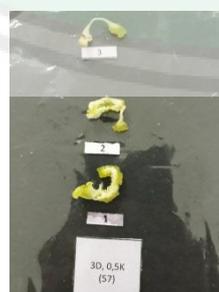
Perlakuan
2,5mg/L 2,4-D +
1,5mg/L Kinetin



Perlakuan
2,5mg/L 2,4-D +
2mg/L Kinetin



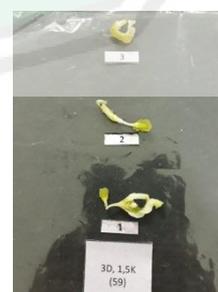
Perlakuan 3mg/L
2,4-D + 0mg/L
Kinetin



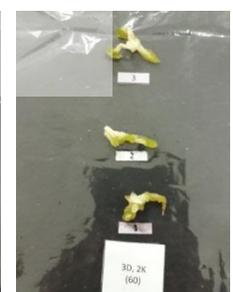
Perlakuan 3mg/L
2,4-D + 0,5mg/L
Kinetin



Perlakuan 3mg/L
2,4-D + 1mg/L
Kinetin



Perlakuan 3mg/L
2,4-D + 1,5mg/L
Kinetin



Perlakuan
3mg/L 2,4-D +
2mg/L Kinetin

Lampiran 5. Alat-alat Penelitian



Autoklaf



Oven



Laminar air flow



Timbangan analitik



Hot plate



Kompur dan panci

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

Mikropipet dan tip



pH meter digital

Lampiran 6. Bahan-Bahan Penelitian

Biji jintan
hitamKecambah
jintan hitam in
vitroZPT 2,4-D dan
Kinetin

Bakterisida



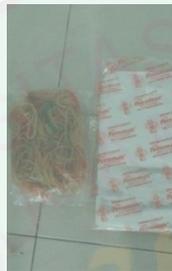
Fungisida

Media MS
instan

Alkohol 70% dan 96%



Bayclin

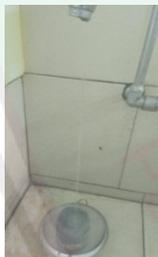
Agar-agar dan
gula pasirKertas label,
plastik, Karet
gelang

HCl dan NaOH



Aquades steril

Lampiran 7. Foto Kegiatan Penelitian

Sterilisasi air
mengalirStrilisasi
dengan
fungisidaSterilisasi dengan
bakterisidaPengamatan hari muncul
kalusPengukuran Ph
mediaProses
penutupan
mediaProses memasak
mediaProses penanaman di
LAF



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Putro Aji Pramono
NIM : 13620097
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2017/2018
Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M. Si
M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
Judul Skripsi : Induksi Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin Melalui Teknik Kultur Jaringan

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	19 Januari 2017	Konsultasi Judul & BAB I	
2.	6 Februari 2017	Konsultasi BAB I	
3.	19 Februari 2017	Konsultasi BAB I & BAB II	
4.	02 Maret 2017	ACC BAB I	
5.	10 April 2017	ACC BAB II & Konsultasi BAB III	
6.	16 April 2017	Revisi BAB III	
7.	20 April 2017	ACC BAB III	
8.	26 April 2017	Konsultasi Integrasi BAB II	
9.	19 Oktober 2017	Konsultasi Data	
9.	1 November 2017	Konsultasi BAB IV	
10.	8 November 2017	Revisi BAB IV	
11.	12 November 2017	Revisi BAB IV	
12.	20 November 2017	Revisi BAB IV	
13.	30 November 2017	ACC BAB IV & ACC BAB V	
14.	28 November 2017	Konsultasi Integrasi	
15.	29 November 2017	ACC Integrasi	

Pembimbing Skripsi,

Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIDT. 1979012320160801 0263

Malang, 21 Desember 2017
Ketua Jurusan,



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



Certificate No. 100911219

Kedalaman Spiritual. Keagungan Akhlak. Keluasan Ilmu. Kematangan Profesional



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396

KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 21 / 102.7 / 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Jintan Hitam**

Memenuhi permohonan saudara .

Nama : PUTRO AJI PRAMONO
NIM : 13620097
Instansi : JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman jintan hitam

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua/ dikotil)
Sub Kelas : Magnoliidae
Ordo : Ranunculales
Famili : Ranunculaceae
Genus : Nigella
Spesies : *Nigella sativa* L.
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44a.

2. Morfologi : Jinten hitam tumbuh berupa semak, semusim, dengan tinggi \pm 30 cm. Batangnya tegak, lunak, beralur, hijau kemerahan. Daunnya tunggal, lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beringgit, pertulangan menyirip, hijau. Bunganya berupa bunga majemuk, bentuk karang, benang sari banyak, tangkai sari dan kepala sari kuning, mahkota bentuk corong, dan berwarna putih kekuningan. Buahnya berupa polong, bulat panjang, coklat kehitaman, sedangkan bijinya kecil, bulat, dan hitam. Akar jintan hitam merupakan akar tunggang dan berwarna coklat.
3. Nama Simplisia : Nigellae sativae semen, Melanthii semen/ Biji jintan hitam
4. Kandungan : Minyak atsiri, melantin (saponin), nigelin (zat pahit), nigelon, timokinon, minyak lemak, dan zat samak. Biji dan daun *Nigella sativa* mengandung saponin dan polifenol.
5. Penggunaan : Penelitian / Tugas Akhir
6. Daftar Pustaka
- Anonim. <http://www.idionline.com/jintanhitam>, diakses tanggal 17 Desember 2008.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/jintanhitam>, diakses tanggal 30 Oktober 2010.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, C.G.G. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 23 Januari 2017
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R.M., Drs., Apt., MKes.
NIP.196111021991031003