

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)
DENGAN KOMBINASI 2,4-DIKHLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN
6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM. 13620123



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

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)
DENGAN KOMBINASI 2,4-DIKHLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN
6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM. 13620123



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

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)
DENGAN KOMBINASI 2,4-DIKHLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN
6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM. 13620123**

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

HALAMAN PERSETUJUAN

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN KOMBINASI 2,4-DIKHLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN 6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO

SKRIPSI

**OLEH:
SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM. 13620123**

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 EMBRIOGENIK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DENGAN KOMBINASI 2,4-DIKHLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN 6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO

SKRIPSI


OLEH:
SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM. 13620123

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>Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd</u> NIP. 19630114 199903 1 001	
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 : SITI MUFIDATUNNISWAH S
NIM : 13620123
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Kombinasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) secara *In Vitro*

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,



Siti Mufidatunniswah S
NIM. 13620123

MOTTO

Merantaulah...

Orang berilmu dan beradab tidak diam beristirahat di
kampung halaman.

Tinggalkan negerimu dan hidup asing (di negeri orang)

Imam Asy-Syafi'i



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, tiada kata terindah selain syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menimba sebagian dari ilmu-Nya ini. Shalawat dan salam tetap terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

Kedua orang tua ku, Bapak Solikhun dan Ibu Muslikah Nurohmani yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, nasihat dan do'a yang tiada henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta Kakakku Siti Makmudah dan Adikku Siti Afifah Komala yang menjadi salah satu motivasiku dan yang selalu cinta kepadaku.

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada sahabatku Laela, Faiq, Nisa, Aida, Ucha yang telah menjadi keluarga kecilku. Terima kasih telah mendengar setiap keluh kesahku dan selalu memberi nasihat, motivasi dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

*Buat teman-teman seperjuanganku Biologi 13 dan *team* KJT (Putro, Ismi, Pipit, Ari, Mas Beri, Mike, Herlina dan Maya) terima kasih sudah memberi motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung.*

Tak lupa kepada pengasuh OmahQu Ustad Sholihin dan Ustadzah Nikmah terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di asrama. Tak lupa pula kepada teman-teman asrama (Mb Fauziah, Mb Winda, Fitria, Lela, Nisa, Diah, Siti) yang selalu membuat suasana ceria dan menghiasi kamar dengan canda tawa hingga pertengkaran kecil 😊

Serta semua pihak yang tidak bisa kusebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua.

Aamiin..

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul “**Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Kombinasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purine (Bap) secara *In Vitro***”. 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 mengucapkan 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 bidang biologi dan dosen bidang integrasi sains islam, yang

senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.

5. Dr. Evika Sandi savitri, MP, 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 Solikhun dan Ibu Muslikah Nurahmani serta kakak Siti Makhmudah dan adik Siti Afifah Komala tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan staff administrasi 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.
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, 29 November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
المخلص	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Hipotesis.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	10
2.1.1 Jintan Hitam dalam Perspektif Islam	10
2.1.2 Deskripsi Tanaman.....	11
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Jintan Hitam.....	13
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan.....	15
2.2.1 Perkembangan Kultur Jaringan	15
2.2.2 Teknik Kultur Jaringan	17
2.2.3 Media	18
2.2.4 Eksplan.....	19
2.2.5 Kultur Kalus	21
2.2.6 Zat Pengatur Tumbuh.....	22
2.2.6.1 2,4-D	23
2.2.6.2 BAP.....	25
2.2.6.3 Kerja Auksin dan Sitokinin.....	26
2.2.7 Efek Hormon pada aktivitas Gen	28
2.2.8 Induksi Kalus Embriogenik.....	31
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Waktu dan Tempat	35
3.3 Alat dan Bahan	35

3.3.1 Alat	35
3.3.2 Bahan	36
3.4 Prosedur Penelitian	36
3.4.1 Sterilisasi Ruang	36
3.4.2 Sterilisasi Alat	36
3.4.3 Pembuatan Media	37
3.4.3.1 Media Perkecambahan	37
3.4.3.2 Media Perlakuan	37
3.4.4 Inisiasi	38
3.4.4.1 Perkecambahan	38
3.4.4.2 Induksi Kalus	39
3.4.5 Parameter	39
3.4.6 Analisis Data	40
3.4.7 Desain Penelitian	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	42
4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	50
4.3 Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	56
4.4 Tekstur Kalus dan Warna Kalus Embriogenik Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	63
4.5 Anatomi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.)	71
4.6 Hasil Penelitian tentang Kalus dalam Perspektif Islam	73
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	77
5.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Jintan	12
Gambar 2.2 Biji Jintan Hitam	14
Gambar 2.3 Karakteristik Kalus Jintan Hitam (A) Kalus Kompak (B) Kalus Campuran (C) Kalus Remah	22
Gambar 2.4 Struktur Kimia 2,4-D	23
Gambar 2.5 Struktur Kimia BAP	25
Gambar 2.6 Perimbangan Auksin dan sitokinin	27
Gambar 4.1 Hubungan antara Konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) Hipokotil Jintan Hitam.....	47
Gambar 4.2 Hubungan antara konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Persentase Terbentuknya Kalus Hipokotil Jintan Hitam	48
Gambar 4.3 Hubungan antara konsentrasi 2,4-D (mg/L) dengan Berat Basah Kalus Hipokotil Jintan Hitam.....	49
Gambar 4.4 Hubungan antara Konsentrasi BAP (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus (HST) Hipokotil Jintan Hitam.....	53
Gambar 4.5 Hubungan antara konsentrasi BAP (mg/L) dengan Persentase Terbentuknya Kalus Hipokotil Jintan Hitam	54
Gambar 4.6 Hubungan antara konsentrasi BAP (mg/L) dengan Berat Basah Kalus Hipokotil Jintan Hitam.....	55
Gambar 4.7 Hubungan antara konsentrasi 2,4-d dan BAP (mg/L) dengan Hari Muncul Kalus Hipokotil Jintan Hitam	60
Gambar 4.8 Hubungan antara konsentrasi 2,4-d dan BAP (mg/L) dengan Persentase Terbentuknya Kalus	61
Gambar 4.9 Hubungan antara konsentrasi 2,4-d dan BAP (mg/L) dengan Berat Basah Kalus	62

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Tabel kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP	35
Tabel 4.1 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	42
Tabel 4.2 Hasil uji DMRT 5% Pengaruh Konsentrasi 2,4-D terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	43
Tabel 4.3 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	50
Tabel 4.4 Hasil uji DMRT 5% Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	50
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	50
Tabel 4.6 Hasil uji DMRT 5% Pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Hipokotil Jintan Hitam secara <i>In Vitro</i>	57
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pemberian 2,4-D dan BAP terhadap Warna dan Tekstur Kalus	64

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Tabel Data Hasil Pengamatan
- Lampiran 2 Hasil Analisis Variansi dan uji Lanjut DMRT 5%
- Lampiran 3 Gambar Hasil Penelitian
- Lampiran 4 Perhitungan Larutan Stok
- Lampiran 5 Perhitungan Pengambilan Larutan Stok
- Lampiran 6 Alat-Alat Penelitian
- Lampiran 7 Bahan-Bahan Penelitian
- Lampiran 8 Foto Kegiatan
- Lampiran 9 Bukti Konsultasi
- Lampiran 10 Determinasi Tanaman Jintan Hitam



ABSTRAK

S, Siti Mufidatunniswah. 2017: **Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Kombinasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) secara *In Vitro***. 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, hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.), 2,4-D, BAP

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) adalah tanaman yang berasal dari daerah Asia Barat dan Mediterania, yang telah digunakan ribuan tahun sebagai obat dan rempah. di Indonesia jintan hitam masih sepenuhnya diimpor dengan total impor sebanyak 510,333 kg/tahun senilai US\$ 364.394. Meningkatnya permintaan Jintan hitam baik pada industri farmasi dan industri rumahan dapat diatasi melalui kultur kalus dengan penambahan 2,4-D dan BAP sehingga produksi budidaya bibit jintan hitam dapat ditingkatkan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh 2,4-D dan BAP serta kombinasinya terhadap induksi kalus jintan hitam.

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 25 perlakuan dan 3 ulangan. Terdapat dua faktor dalam penelitian yaitu: konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L dan konsentrasi BAP meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *Two Way* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5% serta uji regresi korelasi.

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian 2,4-D dan BAP. Konsentrasi 2,4-D yang efektif adalah 1,5 mg/L menginduksi hari muncul kalus 16,27 HST, persentase terbentuknya kalus 100% dan berat basah kalus 0,0893 gr. Sedangkan konsentrasi BAP yang efektif adalah 0,5 mg/L menginduksi hari muncul kalus 17,67 HST, persentase terbentuknya kalus 93% dan berat basah kalus 0,08887 gr. Pada hasil kombinasi 2,4-D dan BAP, kombinasi efektif pada konsentrasi 1,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP dengan hari muncul kalus 15,6667, persentase terbentuknya kalus 100%, berat basah kalus 0,0967 gram dengan warna kalus yang dihasilkan adalah putih kekuningan, dan memiliki tekstur remah. Sedangkan hasil pengamatan anatomi menunjukkan sel kalus berukuran kecil dan memiliki inti sel.

ABSTRACT

S, Siti Mufidatunniswah. 2017: **Induction of Black Cumin Embriogenic Callus (*Nigella Sativa L.*) with a Combination of 2.4-Dichlorophenoxyiacetic (2.4-D) and 6-Benzyl Amino Purine (BAP) In Vitro**. Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisors: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Keywords: Callus, Black Cumin Hypocotyl (*Nigella Sativa L.*), 2.4-D, BAP

Black cumin (*Nigella Sativa L.*) is a plant originating from the Western Asia and Mediterranean regions, which has been used for thousands of years as medicine and spice. In Indonesia black cumin is still fully imported with total amount of 510,333 kg / year worth US\$ 364,394. The growing demand for black cumin both in the pharmaceutical and home industries can be overcome through callus culture with the addition of 2.4-D and BAP so that the production of cumin seed cultivation can be improved. The purpose of this research was to know the effect of 2.4-D and BAP and its combination to the induction of black cumin callus.

This study was experimental, using a completely randomized design (CRD) with 25 treatments and 3 replications. There were two factors in this study: 2.4-D concentration included 0 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5 mg/L and 2 mg/L and BAP concentrations included 0 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5 mg/L and 2 mg/L. Data was analyzed by ANAVA *Two Way Test* $\alpha = 5\%$. If there were significant differences then *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) was conducted with 5% significant level and also correlation regression test.

Results of research showed the effect of giving 2.4-D and BAP. The effective 2.4-D concentration was 1.5 mg/L induced callus emerged day 16.27 HST, the percentage of callus formation 100 % and wet weight of callus 0.0893 gr. While the effective concentration of BAP was 0.5 mg/L induced callus emerged day 17.67 HST, percentage of callus formation 93% and wet weight of callus 0.08887 gr. In result of combination of 2.4-D and BAP, the effective combination was at concentration of 1.5 mg/L 2.4-D + 1 mg/L BAP with callus emerged day 15,6667, percentage of callus formation 100%, wet weight callus 0.0967 gr with the callus produced was yellowish white in colour, and had a crumb texture. While the observation of anatomy showed small callus cells and had nuclei.

الملخص

سيدتي مفيدة النسوة. 2017: استقراء الكالوس التخليقي الكمون الأسود (*Nigella sativa L.*) مع مجموع 2،4 - *Dikhlorofenoksiasetat* (2،4-D) و *Benzyl Amino Purine-6* (BAP) في المختبر. 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، BAP

الكمون الأسود (*Nigella sativa L.*) هو النبات من مناطق آسيا الغربية والبحر الأبيض المتوسط، الذي كان يستخدم لآلاف السنين كالدواء والتوابل. في إندونيسيا، لا يزال الكمون الأسود مستوردا كاملا ب عدد الاستيراد 510،333 kg/سنة بقيمة 364،394 دولارا أمريكيا. يمكن الازدياد على طلب الكمون الأسود في سواء من صناعة الأدوية والصناعة المنزلية من خلال ثقافة الكالوس مع إضافة D-2،4 و BAP حيث يمكن لزيادة الإنتاج من بذر الكمون الأسود. الغرض من هذا البحث هو معرفة تأثير D-2،4 و BAP ومجموعها على استقراء الكالوس الأسود.

هذا البحث التجريبي، باستخدام تصميم العشوائي الكامل (RAL) مع 25 معالجة و 3 مكررات. كان هناك عاملان في البحث : تركيز D-2،4 يشمل 0 mg/L و 5،0 mg/L و 1 mg/L و 1،5 mg/L و 2 mg/L و تركيز BAP يشمل 0 mg/L، 5،0 mg/L، 1 mg/L، 1،5 mg/L و 2 mg/L. تحليل البيانات باختبار ANAV سبيلين. $\alpha = 5\%$. إذا كان فرق مهمة، فيستمر اختبار دونكان متعدد المدى اختبار (DMRT) مع مستوى الأهمية. 5% واختبار الانحدار المرتبط.

أظهرت نتائج البحث أن هناك تأثير إعطاء D-2،4 و BAP. التركيز الفعال D-2،4 هو 1،5 mg/L يستقرؤ يوم الظهور الكالوس 16،27 HST، النسبة من تشكيل الكالوس 100% والوزن الرطب من الكالوس 0.0893 gr. في حين أن التركيز الفعال من BAP هو 0.5 mg/L يستقرؤ يوم الظهور الكالوس 17.67 HST، النسبة من تشكيل الكالوس 93% والوزن الرطب من الكالوس 0.08887 gr. في نتائج التجميع من D-2،4 و BAP، الجمع الفعال في تركيز 1.5 mg/L D-2،4 + 1 mg/L BAP مع يوم الظهور الكالوس 15،6667، النسبة من تشكيل الكالوس 100%، والوزن الرطب لكالوس 0، 0967 غرام مع لون الكالوس المنتج هو أبيض مصفر، ولها نسيج التوابل. في حين أن نتائج الملاحظة التشريحية خلايا الكالوس الصغيرة ولها نواة الخلية.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai sumber bahan baku obat-obatan selain itu Indonesia merupakan salah satu negara pengguna tumbuhan obat terbesar di dunia bersama negara lain di Asia, seperti Cina dan India. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan juga telah berlangsung ribuan tahun yang lalu. Namun penggunaannya belum terdokumentasi dengan baik (Widjaja *et al.* 2014).

Tradisi pengobatan dapat ditelusuri kembali dari ribuan tahun silam dengan munculnya dokumen tertulis peradaban kuno Cina, India dan di Timur Tengah. Dengan kata lain penggunaan tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan manusia dalam bidang pengobatan adalah suatu seni yang sama tuanya dengan sejarah peradaban umat manusia. Penggunaan ramuan tumbuhan secara empirik, berlangsung selama beberapa abad diikuti oleh penemuan beberapa senyawa bioaktif (Walujo, 2009).

Sehubungan dengan tumbuhan obat Allah telah berfirman dalam Al-Quran surah ash Shuara ayat 7 sebagai berikut.

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. ash Shuara:7).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam Al-Quran surah ash Shuara ayat 7 diatas kata (كريم) berarti baik/mulia. Adapun kata al-karam dalam bahasa arab adalah al-fadl (keutamaan). Kata tersebut menunjuk pada kata anbitsna (انبتنا) yang berarti menumbuhkan tanaman. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang tumbuh subur dan bermanfaat. Dijelaskan dalam tafsir al misbah (Shihab, 2001), betapa banyaknya kami tumbuhkan di bumi ini berbagai macam tumbuhan yang baik lagi berguna, yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dan binatang ternak. Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik untuk dimanfaatkan oleh makhluk hidup yang ada di bumi salah satunya dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Diantara tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat adalah tanaman jintan hitam.

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) mengandung khasiat yang dipercaya sebagai obat dan telah digunakan oleh jutaan masyarakat untuk mengobati penyakit selama berabad-abad diberbagai belahan dunia (Husain, 2016). Tanaman ini memiliki karakter agronomi yang potensial untuk dikembangkan seperti siklus tumbuh yang pendek, kerusakan biji atau benih rendah dan kerentanan terhadap penyakit rendah (D'Antuono *et al.* 2002).

Jintan hitam banyak mengandung khasiat untuk mengatasi berbagai penyakit. Menurut Mbarek *et al* (2007) manfaat dari jinten hitam adalah sebagai obat anti kanker, peningkat imunitas tubuh, antihistamin, antihipertensi, anti inflamasi, aktivitas mikroba, dan antitumor. Khasiat yang ada pada jinten hitam tidak lepas dari kandungan senyawa dan nutrisi didalam biji jinten hitam. Menurut Jamil (2010), biji jinten hitam mengandung nigellisine, nigellidine, nigellimine N-

oksida, thymoquinone, thymohydroquinone, nigellone, thymol, arvacrol, oxycoumarin, 6-methoxycoumarin, dan 7-hydroxi-coumarin, alpha-hedrin, sterylglucoside, selain itu juga mengandung flavonoids, tannins, asam amino esensial, asam askorbat, besi dan kalsium.

Kandungan dan nutrisi yang terkandung dalam jinten hitam mengakibatkan kebutuhan akan permintaan semakin meningkat, baik itu pada bentuk biji yang telah di keringkan maupun pada bentuk yang masih segar. Sedangkan lingkungan tumbuh tanaman jintan hitam berbeda dengan kondisi iklim Indonesia sehingga perlu adaptasi dilingkungan tumbuh yang baru (Suryadi *et al*, 2015). Wahyuni (2009) mengatakan bahwa 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. Sebagian jintan di re-ekspor ke USA 259 kg (US\$ 725). Sebagian lainnya digunakan oleh industri rumahan atau industri kecil (Balittri, 2009).

Penggunaan jintan hitam yang meningkat mengakibatkan permintaan semakin banyak. Menurut Wahyuni (2009), tanaman jintan hitam berpotensi dikembangkan di Indonesia karena selain dapat beradaptasi didaerah beriklim tropis juga mempunyai peluang pasar yang cukup besar untuk memenuhi kebutuhan industri (Suryadi, 2016). Wahyuni (2009) mengatakan jinten hitam belum dibudidayakan di Indonesia. Secara komersial, tanaman jinten berasal dari Mediteranean dan pengembangan tanaman tersebut hanya pada daerah tertentu seperti Dieng dan Lembang. Sebagai wilayah beriklim tropis yang umumnya

memiliki suhu, kelembapan, dan curah hujan yang tinggi dengan tingkat kemasaman yang lebih rendah akan menentukan tingkat keberhasilan tanaman jintan hitam beradaptasi di daerah beriklim tropis (Balitri, 2016).

Saat ini budidaya jintan yang dilakukan adalah dengan cara meyemai biji sehingga harus melewati tahapan perkecambahan sampai panen kapsul. Oleh karena itu upaya yang dilakukan untuk mendapatkan bibit tanaman jintan hitam dalam jumlah banyak yang berkualitas dan dengan waktu yang relatif singkat dibutuhkan suatu metode dari segi budidaya. Perbanyakan jintan hitam dapat dilakukan dengan cara mikropropagasi. Mikropropagasi atau perbanyakan secara *in vitro* merupakan salah satu metode perbanyakan secara vegetatif yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu relatif cepat, memiliki sifat yang sama dengan induknya, dengan proses pembibitan tidak tergantung musim (Suryowinoto, 1996).

Salah satu perbanyakan bibit dalam kultur *in vitro* adalah melalui kultur kalus. Induksi kalus merupakan salah satu teknik dalam kultur jaringan yang bertujuan untuk perbanyakan secara masal. Sudarmadji (2003) mengatakan, kalus adalah sekumpulan sel *amorphous* (belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* atau di dalam tabung. Kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang dan daun. Selain itu, teknik ini didasarkan pada prinsip *totipotensi* yaitu sel atau jaringan dapat tumbuh menjadi tanaman yang sesuai (Maheldaswara, 2008).

Keberhasilan kultur jaringan tidak lepas dari pengaruh zat pengatur tumbuh (ZPT) atau hormon yang diberikan pada media (Rahmi *et al.* 2010). Menurut

Evans *et al* (2003), induksi kalus dipengaruhi oleh rasio auksin dan sitokinin yang seimbang, sehingga diperlukan kombinasi yang tepat agar dapat menginduksi pembentukan kalus yang optimal.

Jenis auksin antara lain adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*) (Litz dan Gray, 1995). Menurut Mahadi *et al* (2014) 2,4-D merupakan auksin yang dapat merangsang pembentukan sel-sel. Konsentrasi yang rendah <5 mg/L hormon 2,4-D pada tanaman dikotil dapat merangsang induksi kalus. Menurut Raghavan (1986) 2,4-D merupakan auksin kuat yang diketahui efektif untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman. Menurut Indah dan Dini (2013), 2,4-D memiliki sifat lebih stabil jika dibandingkan dengan auksin lain seperti IAA, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada saat sterilisasi (Maneses, 2005).

Penambahan sitokinin diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih baik. Menurut Lestari (2012), pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus. Salah satu golongan sitokinin yang sering digunakan dalam metode kultur jaringan adalah BAP (*6-benzyl amino purine*), hal ini dikarenakan sifat BAP yang stabil, mudah diperoleh dan lebih efektif.

Kelebihan dari kultur embriogenik yaitu dihasilkan jumlah propagula yang tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat, kalus embriogenik dapat diperbanyak dan dipercepat dalam media, dan bibit dapat dibuat setiap saat tanpa mengenal musim dan masa istirahat Taryono (2012).

Selanjutnya Liz dan Gray (1995) menyatakan bahwa embrio dapat dihasilkan dari satu sel sehingga produksi bibit jauh lebih banyak dibandingkan penggunaan teknik yang lain.

Beberapa penelitian yang menggunakan ZPT jenis auksin dan sitokinin juga telah dilakukan oleh Guruchandran dan Sasikumar (2013) menunjukkan bahwa induksi kalus stevia (*Stevia rebaudiana*) tertinggi terdapat pada eksplan daun yang dilakukan selama 30 hari pada media MS dengan penambahan 1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP. Sedangkan penelitian Chaudhry (2014) pada tanaman jintan hitam kombinasi ZPT 2 mg/L kinetin + 1mg/L NAA menghasilkan kalus remah dan menginduksi paling cepat. Untuk hasil uji pendahuluan pada konsentrasi 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP mampu menginduksi kalus hipokotil jintan hitam dengan tekstur kalus remah dan warna putih kekuningan.

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan maka penelitian yang berjudul induksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan kombinasi 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) dan Benzil Amino Purine (BAP) secara *in vitro* ini penting dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang diatas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah;

1. Apakah ada pengaruh ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

2. Apakah ada pengaruh ZPT BAP (*6-benzyl amino purine*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?
3. . Berapa konsentrasi ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan BAP (*6-benzyl amino purine*) yang efektif digunakan dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.)?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.).
2. Mengetahui konsentrasi ZPT BAP (*6-benzyl amino purine*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.).
3. Mengetahui konsentrasi ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan BAP (*6-benzyl amino purine*) yang efektif digunakan dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.)

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.).
2. Ada pengaruh ZPT BAP (*6-benzyl amino purine*) dalam menginduksi kalus embriogenik jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

3. Terdapat konsentrasi ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan BAP (*6-benzyl amino purine*) yang efektif digunakan dalam menginduksi kalus embriogenik dari biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.)

1.5 Manfaat

Adapun manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini dapat bermanfaat untuk pengembangan dalam kultur *in vitro* tanaman yang berkaitan dengan kultur kalus embriogenik *Nigella sativa* L.
2. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ZPT 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan BAP yang efektif digunakan sebagai induksi kalus embriogenik *Nigella sativa* L.
3. Penelitian ini memberikan informasi kepada para petani bagaimana cara mendapatkan bibit dengan cepat dan hasil yang banyak terutama untuk budidaya.
4. Penelitian ini diharapkan dapat berguna sebagai bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai embriogenesis somatik *Nigella sativa* L.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Eksplan yang digunakan adalah jintan hitam yang berasal dari UPT Materia Medika Batu
2. Sumber eksplan didapatkan dari hasil perkecambahan dengan menggunakan media $\frac{1}{2}$ MS.

3. Bagian eksplan yang digunakan berdasarkan hasil uji pendahuluan adalah hipokotil hasil perkecambahan jintan hitam berumur ± 14 hari.
4. Penelitian menggunakan media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan BAP (*6-benzyl amino purine*) yang dikombinasikan menjadi 25 kombinasi.
5. Konsentrasi yang digunakan adalah: konsentrasi 2,4-D ((0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l) dan konsentrasi BAP (0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l dan 1,5 mg/l, 2 mg/l).
6. Parameter yang diamati adalah hari munculnya kalus, persentase terbentuknya kalus, warna kalus, berat kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

2.1.1 Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dalam Perspektif Islam

Tumbuhan yang ada di alam dan segala isinya di ciptakan Allah SWT untuk memenuhi kebutuhan manusia di bumi. Diantaranya Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tanaman di alam yang digunakan sebagai obat alami. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat dan yang dianjurkan oleh Nabi Muhammad SAW yaitu jintan hitam (*Nigella sativa* L.) atau yang dikenal dengan nama *habbatussaudah*.

Sebagaimana telah dikatakan oleh Nabi Muhammad SAW tentang biji jintan hitam, yang diriwayatkan oleh Bukhari.

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: مَا مِنْ دَاءٍ إِلَّا فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ مِنْهُ شِفَاءٌ إِلَّا السَّامُ

Artinya: “Diriwayatkan dari Abu Hurairah bahwa Rasulullah saw bersabda: “Tiada suatu penyakit kecuali di dalam al-Habbah as-Sauda’ ada kesembuhan (obat), kecuali kematian”.”

Ibnu Hajar menjelaskan, makna ”*habbatussaudah* adalah obat segala penyakit” *habbatussaudah* tidak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit begitu saja. Kadang digunakan secara mandiri, kadang dicampurkan dengan unsur lain, sesekali ditumbuk, dimakan, diminum, diteteskan, dioleskan, dan lain sebagainya.

Jintan hitam adalah obat alami yang telah digunakan sejak dulu. Mulanya ini digunakan oleh orang-orang Parsi dalam masakan dan obat-obatan. Jintan hitam adalah herbal yang berasal dari kawasan Mediteranian, namun kini ia juga ditanam di Afrika Utara dan sebagiannya di Asia seperti India. Jintan hitam juga digunakan oleh Cleopatra untuk kesehatan dan kecantikannya (Abdullah, 2011).

Habbatussauda boleh dianggap sebagai bagian dari 'holistic approach' terhadap kesehatan tubuh dan ia paling ideal dijadikan bahan makanan selingan. Berdasarkan pada banyaknya hadis dan penelitian modern, Habbatussauda mampu meningkatkan sistim ketahanan tubuh (immune system) dalam jangka waktu yang lama dengan memenuhi kebutuhan optimal yang diperlukan oleh tubuh untuk mencegah dan melawan penyakit.

2.1.2 Deskripsi Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

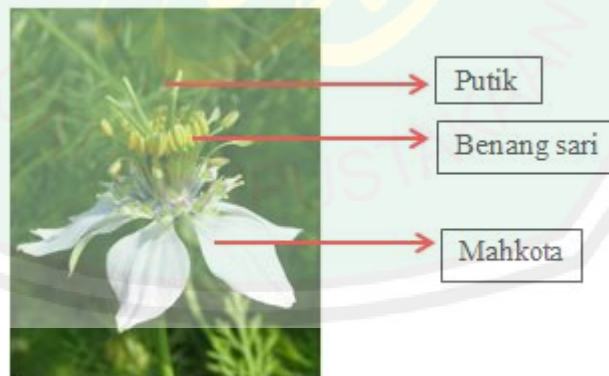
Nama lainnya adalah *Black Seed* (Inggris) atau *Habattusauda* (Arab). Jintan hitam merupakan tumbuhan berbunga yang berasal dari Asia Barat Daya. Meskipun Jintan hitam merupakan tumbuhan asli daerah mediterania, namun juga telah banyak tumbuh di belahan dunia lain, yang meliputi Arab Saudi, Afrika Utara, dan sebagian Asia (Abdullah, 2011).

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

Kingdom	Plantae
Divisio	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Ranunculales
Family	Ranunculaceae
Genus	<i>Nigella</i>
Species	<i>Nigella sativa</i> L.

Jintan hitam merupakan tanaman semusim yang umumnya dibudidayakan pada lahan kering antara bulan November-April. Tanaman ini juga dapat diperbanyak dengan kalus secara *in vitro* dari daun, batang dan akar tanaman yang sehat. Biji di bagian luar berwarna hitam kasar dan bagian dalam putih berminyak, beraroma dan sedikit pahit. Daerah penyebarannya meliputi Asia Barat Daya, wilayah Mediterania, Eropa Selatan, Syria, Turki, Arab Saudi, Pakistan dan India Rajsekhar dan Kuldeep (2011)

Talafih *et al.* (2007) menyatakan bahwa jintan hitam mampu tumbuh di Jordan pada ketinggian 530-800 m dpl dengan suhu rata-rata 6.9-21.4°C dan curah hujan 319.2-462.5 mm tahun-1. Tanaman jintan hitam di Turki tumbuh pada ketinggian 1725 m dpl, suhu rata-rata 14.6 °C dan curah hujan rata-rata 326.4 mm tahun-1 (Tuncturk *et al.* 2005) dan di tumbuhkan Iran pada ketinggian 1209 m dpl, suhu rata-rata 14 °C dengan curah hujan 140 mm tahun-1 (Khoulenjani dan Salamati, 2011).



Gambar 2.1 Tanaman jintan hitam (*Nigella sativa* L.) (Rahyang, 2011).

Jintan hitam dapat tumbuh tinggi sekitar 25-54 cm dan jumlah cabang 6-12 cabang. Biji jintan hitam termasuk dalam golongan biji berkeping dua yang

berbentuk lonjong dengan ukuran panjang 2,76 – 3,10 mm dan lebar 1,54 – 1,87 mm. Permukaan kulit biji berwarna hitam dengan tebal kulit biji 0,34-0,36 mm dan lembaga berwarna putih. Jintan hitam merupakan tanaman biseksual artinya dapat mengembangbiakan dirinya sendiri membentuk kapsul buah yang mengandung biji. Tumbuhan ini mempunyai bunga yang bentuknya beraturan. Bunga ini kemudian menjadi buah bulat panjang, dengan mahkota sebanyak 5-10 yang berwarna biru pucat atau putih. Jenis bunga jintan ada dua macam, satu berwarna ungu kebiru-biruan dan putih. Pertumbuhan bunga terletak pada bagian cabang, sementara itu daunnya saling tumbuh berseberangan secara berpasangan. Daun di bagian bawah bentuknya kecil dan pendek, sedangkan daun bagian atas lebih panjang (6 – 10 cm). Batang bunga tersebut bisa mencapai ketinggian 12 -18 inchi.

2.1.3 Kandungan dan Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Tanaman jintan hitam merupakan salah satu tanaman yang paling banyak diteliti secara fotokemikal dan farmakologi. Ekstrak jintan hitam telah banyak digunakan untuk menyembuhkan gangguan atau penyakit gejala abdominal seperti diare, nyeri perut, dan flatulensi. Penelitian lain menyatakan bahwa tanaman ini memiliki efek anti inflamasi; antibakteri, antikanker; antiparasit; antijamur; antivirus; immunopotentiating; antihipertensi (Muhtasib, 2006). Selain industri jamu/obat tradisional, jintan hitam juga digunakan dalam industri pelumatan buah-buahan, industri kecap dan industri bumbu masak (Balittri, 2009).

Jintan hitam memiliki komposisi yang sangat banyak dan beragam, secara garis besar yaitu asam amino, karbohidrat, fixed dan minyak atsiri. Bahan aktif yang terdapat pada jintan hitam salah satunya adalah thymoquinon (TQ). TQ pada minyak atsiri dianggap sebagai bahan aktif yang memberi efek farmakologi seperti antiinflamasi, antibakteri, antikanker, dan lain-lain. Pada minyak atsiri telah ditemukan mengandung $\pm 54\%$ TQ, dan monoterpenes lainnya seperti p-cymene dan α -pinene, serta carvacrol. Zat inilah yang banyak diteliti tentang kemampuan antibakteri. Selain itu ditemukan juga karbonil polimer dari TQ yaitu nigellon yang memiliki efek antioksidan, antibakteri, dan antitumor (Muhtasib, 2006).



Gambar 2.2 Biji jintan hitam (Tarjih, 2016).

Manfaat- manfaat yang dihasilkan oleh jintan hitam tidak lepas dengan kandungan senyawa yang ada didalam biji. Komposisi biji jintan hitam terdiri dari minyak volatil (0,5 – 1,6%), minyak campuran (35,6–41,6%), protein (22,7%), asam amino seperti: albumin, globulin, lisin, leucin, isoleusin, valin, glycin, alanin, fenilalanin, arginin, asparagin, sistin, asam glutamat, asam aspartat, prolin, serin, threonin, tryptofan, tyrosin, gula reduksi, cairan kental, alkaloid, asam organik, tanin, resin, glukosida toksik, metarbin, melathin, serat, mineral seperti:

Fe, Na, Cu, Zn, P, Ca, dan vitamin seperti asam ascorbat, tiamin, niasin, piridoksin, asam folat (Muhtasib, 2006; Badary, 2001; Salem, 2005).

Jintan hitam juga mengandung asam lemak seperti asam linoleat (50%), asam oleat (25%), asam palmitat (12%), asam stearat (2,84%), 0,34% asam linolenat (0,34%), asam miristat (0,35%). Berdasarkan pada kandungan asam amino dan asam lemaknya, dapat dikatakan kandungan zat gizi jintan hitam cukup tinggi. Jintan hitam mengandung 8 jenis dari 10 asam amino esensial, 7 jenis dari 10 asam amino non-esensial. Selain itu jintan hitam juga mengandung asam lemak esensial (essential fatty acid), yaitu asam linoleat dan asam linolenat yang penting untuk pembentukan Prostaglandin E1 yang menyeimbangkan dan memperkuat sistem imun (Muhtasib, 2006; Badary, 2001; Salem, 2005).

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Perkembangan Kultur Jaringan Tanaman

Sejarah perkembangan teknik kultur jaringan dimulai pada tahun 1838 ketika Schwann dan Schleiden mengemukakan teori totipotensi yang menyatakan bahwa sel-sel bersifat otonom, dan pada prinsipnya mampu beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Teori yang dikemukakan ini merupakan dasar dari spekulasi Haberlandt pada awal abad ke-20 yang mengatakan bahwa jaringan tanaman dapat diisolasi dan dikultur hingga berkembang menjadi tanaman normal dengan melakukan manipulasi terhadap kondisi lingkungan dan nutrisinya (Zulkarnain, 2009).

Kultur jaringan memberikan banyak keuntungan dibandingkan perbanyakan secara konvensional. Perbanyakan tanaman dapat dilakukan dengan

cepat karena siklus perbanyakan yang lebih singkat. Volume perbanyakan yang dihasilkan lebih besar pada tanaman hias seperti anggrek, tanaman berkayu, dan tanaman semak (Evans *et al.*, 2003). Zulkarnain (2009) menambahkan bahwa manfaat utama dari aplikasi kultur jaringan tanaman adalah perbanyakan klon atau perbanyakan massal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Di samping itu teknik kultur jaringan bermanfaat dalam beberapa hal khusus seperti perbanyakan klon secara cepat, keseragaman genetik, kondisi aseptik, seleksi tanaman, stok tanaman mikro, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun, dan memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif.

Perkembangannya teknik kultur jaringan tanaman selain untuk perbanyakan tanaman secara massal dapat juga digunakan untuk produksi metabolit sekunder. Menurut Radji (2005) bahwa kultur suspensi sel tumbuhan dianggap sebagai teknik alternatif dalam mendapatkan metabolit sekunder pada skala industri.

Kemajuan dibidang bioteknologi saat ini menjadikan teknik kultur jaringan sebagai salah satu alternatif untuk menghasilkan jenis-jenis tanaman yang unggul yakni yang biasa dikenal dengan tanaman transgenik. Dimana salah satu keunggulannya dapat mengubah sifat organisme memiliki sifat baru yang lebih unggul. Tanaman yang nantinya diperoleh dengan cara ini diarahkan untuk menjadi tanaman yang memiliki produksi dan nilai gizi yang tinggi, tahan terhadap hama, penyakit dan gulma serta stress lingkungan (Henuhili, 2005).

Teknik kultur jaringan juga dapat digunakan sebagai upaya konservasi (konservasi plasma nutfah secara *ek situ*). Pelestarian plasma nutfah merupakan salah satu aplikasi dari konservasi *ek situ*. Pelestarian *in vitro* dilakukan pada tanaman yang mempunyai viabilitas benih yang singkat, dan pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif. Pelestarian *in vitro* memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah hemat dalam pemakaian ruang, dapat menyimpan tanaman langka, dapat mempertahankan tanaman yang tidak dapat menghasilkan biji, bebas dari gangguan hama dan penyakit dan dapat disimpan dalam waktu lama (Rahayu, 2014).

2.2.2 Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan

Dasar teknik kultur jaringan adalah bahwa sel tanaman mempunyai sifat totipotensi yaitu kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang membentuk tanaman lengkap dalam medium aseptik yang mengandung unsur hara dan zat pengatur tumbuh yang sesuai.

Tahapan yang dilakukan dalam perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan yaitu pembuatan media, inisiasi atau pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Dilanjutkan dengan sterilisasi, yang mana segala kegiatan dalam kultur jaringan harus dilakukan di tempat yang steril atau didalam *laminar air flow* menggunakan alat-alat yang steril. Selanjutnya adalah multiplikasi yaitu kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan pada media. Kegiatan ini dilakukan di *laminar air flow* untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan

eksplan. Pengakaran adalah fase dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Dan tahap terakhir adalah aklimatisasi yaitu kegiatan memindahkan eksplan keluar dari ruangan aseptik ke bedeng. Pemindahan dilakukan secara hati-hati dan bertahap, yaitu dengan memberikan sungkup (Armini *et al.*, 1992).

Teknik perbanyakan secara kultur jaringan dapat dilakukan secara organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis adalah proses terbentuknya organ seperti pucuk dan akar (Gunawan, 1992). Terdapat dua cara terjadinya organogenesis yaitu secara langsung atau tidak langsung. Organogenesis langsung terjadi tanpa terbentuknya kalus terlebih dahulu sedangkan organogenesis tidak langsung diawali dengan pembentukan kalus lalu muncul organ pada kalus. Kalus merupakan massa sel yang tidak terdiferensiasi seperti sel meristem (Acquaah, 2004).

2.2.3 Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu komponen penting dalam penanaman sel dan metode kultur jaringan. Wetherell (1976) juga menyatakan bahwa media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber energi (umumnya menggunakan sukrosa), serta mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat pengatur tumbuh.

Salah satu media yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah media Murashige dan Skoog yang dikemukakan oleh Toshio Murashige pada tahun 1962 (Zulkarnain, 2009). Penelitian Sukmadjaja (2005) secara umum, media dasar MS yang diperkaya dengan BAP menunjukkan respon yang baik dalam membentuk embrio somatik sebesar 71,4%.

Media MS merupakan media dasar yang paling sering digunakan dan yang dapat digunakan untuk hampir semua jenis kultur, menurut Gamborg dan Shyluk (1981) dalam Purwantono & Mardin (2007) media MS memiliki komposisi media berupa makronutrien terdiri atas NH_4NO_3 1.650mg/l, KNO_3 1.900mg/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 332,2mg/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370 mg/l, KH_2PO_4 170mg/l. Komponen mikronutrien terdiri atas KI 0,83 mg/l, H_3BO_3 6,2mg/l, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 16,9mg/l, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,6mg/l, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25mg/l, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, Na_2EDTA 37,3mg/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8mg/l. Komponen vitamin dan asam amino yang terdiri atas Thiamin HCL 0,1mg/l, asam nicotinic 0,5mg/l, pyridoxine HCL 0,5mg/l, Glycine 2,0mg/l, myo-inositol 100mg/l. Disusun juga dari komponen lain berupa sukrosa 30mg/l, dan agar 7 gr/l.

2.2.4 Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman (propagul) yang digunakan untuk menginisiasi pembiakan tanaman secara mikro atau proses kultur jaringan (Hartman *et al*, 1997). Seleksi bahan eksplan yang cocok merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan program kultur jaringan. Sistem

kultur jaringan yang baru dengan spesies dan kultivar yang baru, seringkali menghendaki analisis yang sistematis terhadap potensi eksplan dari setiap tipe jaringan. Tiga aspek yang perlu diperhatikan dalam seleksi bahan eksplan yaitu genotipe, umur, dan kondisi fisiologi bahan tersebut (Zulkarnain, 2009).

Menurut Hartman *et al* (1997) penggunaan sumber eksplan juga mempengaruhi hasil kultur. Eksplant berupa hipokotil akan menghasilkan kalus dan eksplant epikotil akan menghasilkan tunas. Dan kemungkinan dikarenakan penambahan hormon eksogen tidak berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan. (Gunawan, 1995).

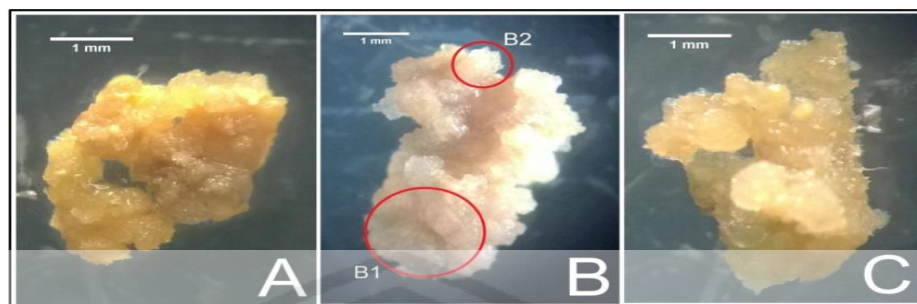
Menurut Gunawan (1992), eksplan harus diusahakan agar dalam keadaan aseptik melalui prosedur sterilisasi dengan berbagai bahan kimia. Melalui eksplan yang aseptik kemudian diperoleh kultur yang *axenik* yaitu kultur dengan hanya satu macam organisme yang diinginkan.

Penelitian Primasari (2008), eksplan hipokotil adalah eksplan terbaik yang mampu menginduksi kalus 95% pada kultur *in vitro* tomat (*Solanum lycopersicum*). Menurut Hartman *et al* (1990) penggunaan sumber eksplan juga mempengaruhi hasil kultur. Eksplant berupa hipokotil akan menghasilkan kalus dan eksplant epikotil akan menghasilkan tunas. Dan kemungkinan dikarenakan penambahan hormon eksogen tidak berpengaruh terhadap jumlah dan kerja hormon endogen untuk mendorong pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Gunawan, 1988).

2.2.5 Kultur Kalus

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tumbuhan (akar, batang, daun, tunas, hipokotil, polen, endosperm dan mesofil), tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Menurut Endress (1994) dalam Surbarnas (2011) bahwa inisiasi kalus sebaiknya menggunakan eksplan dari jaringan muda. Eksplan tersebut mempunyai kondisi fisiologis untuk dapat diinduksi membentuk kalus pada medium nutrisi yang tepat, setelah terlebih dahulu disterilisasi dan dipotong-potong dalam ukuran kecil. Menurut Suryowinoto (1996), kalus merupakan salah satu wujud dediferensiasi, yaitu reversi dari sel-sel hidup yang telah terdiferensiasi menjadi tidak terdiferensiasi lagi, atau dengan kata lain, menjadi meristematik kembali.

Beberapa kalus bertekstur keras dan kompak, sementara beberapa lainnya sangat mudah remuk menjadi remah-remahan kecil. Pertumbuhan kalus yang rapuh dan dapat dengan mudah remuk disebut kalus remah (Dodds dan Roberts, 1983). Beberapa contoh karakteristik tekstur kalus pada tanaman stevia berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Putri (2015).



Gambar 2.3 Karakteristik fisik kalus stevia. (a) kalus kompak (b) kalus campuran (c) kalus remah (Putri, 2015).

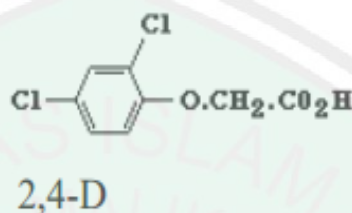
Kultur kalus bermanfaat untuk mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan diferensiasi, misalnya mempelajari aspek nutrisi tanaman, diferensiasi dan morfogenesis sel dan organ tanaman, variasi somakronal, transformasi genetik menggunakan teknik biolistik, produksi metabolik sekunder dan regulasinya (Yuwono, 2008).

2.2.6 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan berpengaruh nyata. Sangat sulit menerapkan kultur jaringan pada upaya perbanyak tanaman tanpa melibatkan ZPT (Zulkarnian, 2009). ZPT pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan termasuk unsur hara (nutrisi), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (*promote*), menghambat (*inhibit*), dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Terdapat beberapa kelas atau fitohormon yang dikenal yaitu auxin, sitokinin, gibberilin, ethylen, dan asam absisat. Namun dalam kultur jaringan kelompok auksin dan sitokinin merupakan ZPT yang paling banyak digunakan. Respon tanaman secara *in vitro* terhadap ZPT berbeda-beda tergantung dari jenis

tanaman yang dikultur dan interaksi antara ZPT endogen dan yang ditambah kedalam media (Mandang, 1993).

2.2.6.1 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D)



Gambar 2.4 Struktur molekul 2,4-D (www.wuzhouchem.com).

Auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi terjadinya kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar atau tunas, mendorong proses embriogenesis, dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2003). Menurut Wattimena (1988), auksin alamiah yang sering terdapat pada tumbuhan adalah IAA (Asam 3-indol Asetat). IAA disintesis dari triptopan pada bagian tanaman tertentu yaitu 18 primordia daun, daun muda dan biji yang sedang berkembang. Sedangkan auksin sintetik yang sering digunakan adalah asam 2,4-D, NAA (Asam α -Naftalen Asetat), dan IBA (Asam 3-Indol Butirat).

Pemakaian zat pengatur tumbuh 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat, antara 2-4 minggu karena merupakan auksin kuat, artinya auksin ini tidak dapat diuraikan di dalam tubuh tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Sebab pada suatu dosis tertentu 2,4-D sanggup

membuat mutasi-mutasi (Suryowinoto, 1996). Menurut Wattimena (1988) 2,4-D mempunyai sifat fitotoksisitas yang tinggi sehingga dapat bersifat herbisida.

2,4-D umum digunakan sebagai sumber auksin eksogen terutama untuk menginisiasi pembentukan kalus embriogenik somatik, tetapi embrio somatik tidak dapat berkembang lebih lanjut sebelum konsentrasi auksin dikurangi atau bahkan dihilangkan sama sekali dari medium kultur (Rusdianto dan Indrianto, 2012).

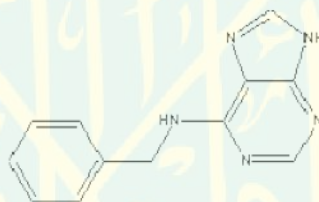
Menurut Abidin (1983), aktivitas auksin ditentukan oleh adanya struktur cincin yang tidak jenuh, adanya rantai keasaman (*acid chain*), pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, dan adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mempunyai *carboxyl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

Respon awal eksplan terhadap 2,4-D adalah pembentukan kalus sebagai wujud dediferensiasi. Dediferensiasi terjadi karena sel-sel tumbuhan (jaringan), yang secara alamiah bersifat autotroph dikondisikan menjadi heterotrof dengan cara memberi nutrisi yang cukup kompleks didalam medium kultur, sehingga sel-sel membelah secara tidak terkendali membentuk massa sel yang tidak terorganisir (kalus) (Rusdianto dan Indrianto, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian Triana (2015), munculnya kalus pertama kali pada media 2,4-D 0,5 ppm, 2,4-D 1 ppm, dan 2,4-D 1,5 ppm adalah 7 HST. Media 2,4-D merupakan pembentukan kalus yang paling efektif pada induksi kalus daun

binahong. Pada kultur kalus pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah dimana secara umum rata-rata berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/l dan 5 mg/l). Pembentukan kalus pegagan yang baik diperoleh dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam konsentrasi rendah (0,1 mg/l–1,0 mg/l). Nazza (2013) juga mengemukakan bahwa media yang di suplementasi dengan 2 mg/L 2,4-D merupakan media yang tepat untuk induksi kalus pegagan dengan cepat yakni 1,25 hari.

2.2.6.2 6-Benzyl Amino Purine (BAP)



Gambar 2.5 Struktur Molekul BAP (www.wuzhouchem.com)

Bentuk dasar dari sitokinin adalah “adenin” (6-amino purin). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktivitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut, akan meningkatkan aktivitas zat pengatur tumbuh ini (Abidin, 1983).

George dan Sherrington (1984), menyebutkan bahwa sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Menurut Wattimena (1988), sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman terutama

mendorong pembelahan sel. Selain itu menurut Rahayu *et al* (2003), media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus. Menurut Gunawan (1995), golongan sitokinin yang sering ditambahkan adalah kinetin, zeatin dan benzyl amino purin (BAP). Kinetin dan BAP bersifat tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah.

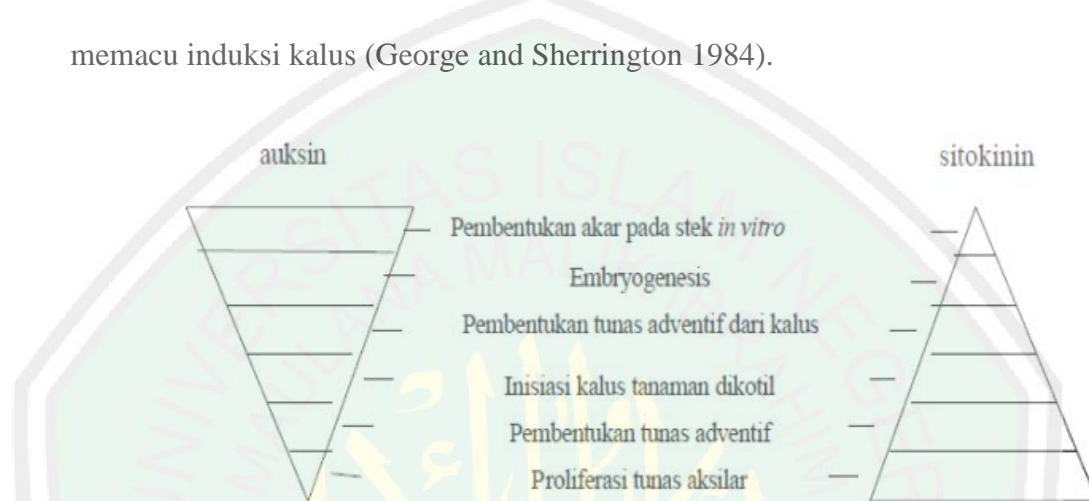
BAP merupakan golongan sitokinin sintetik yang sering digunakan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan BAP mempunyai efektifitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah didapat dan relatif lebih murah dibandingkan dengan kinetin (Krikorian, 1995).

ZPT golongan sitokinin seperti BAP dapat berfungsi untuk pembelahan sel dan pembentukan tunas (Suhartati dan Nuryamsi, 2007). Pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat (Marlin, 2005). Sedangkan pada penelitian Sukmadjaja (2005) secara umum, media dasar MS yang diperkaya dengan BAP menunjukkan respon yang baik dalam membentuk embrio somatik sebesar 71,4%.

2.2.6.3 Kerja Auksin dan Sitokinin

Penggunaan sitokinin dan auksin dalam satu media dapat memacu proliferasi tunas karena adanya pengaruh sinergisme antara zat pengatur tumbuh tersebut (Davies, 1995). Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi kedua ZPT tersebut bekerja secara berinteraksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Ratio sitokinin dan auksin dalam medium menentukan tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang

ditanam (Murasinge and Skoog 1962) dalam (Zulkarnain, 2009) Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan merangsang pembentukan akar sebaliknya jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin akan merangsang pembentukan tunas, sementara konsentrasi yang seimbang dapat memacu induksi kalus (George and Sherrington 1984).



Gambar 2.6 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin (George dan Sherrington, 1984)

Berdasarkan penelitian Manurung (2007) Semakin tinggi konsentrasi BAP yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase pembentukan tunas yang dihasilkan setiap minggunya sampai 8 minggu pengamatan. Sedangkan pada penelitian Fikriyati (2009), Pemberian BA dan NAA dengan kombinasi konsentrasi 5 mg/l dan 7,5 mg/l diketahui memberikan hasil paling efektif terhadap induksi kalus dari eksplan daun karika.

2.2.7 Efek Hormon pada Aktivitas Gen

Lintasan transduksi sinyal merupakan suatu mekanisme yang menghubungkan suatu sinyal (stimulus) mekanik ataupun sinyal (stimulus kimia) menjadi suatu respon fisiologis seluler yang spesifik. dipacu oleh hormon tumbuhan dan stimulus lingkungan. Tahapan-tahapan lintasan transduksi sinyal (Pangaribuan, 2013) :

1. Resepsi (penerimaan)

Proses ini berlangsung di dalam membran plasma sel. Sinyal internal ataupun sinyal eksternal pertama kali dideteksi oleh reseptor. Reseptor adalah suatu protein yang mengalami perubahan penyesuaian di dalam respon terhadap stimulus yang spesifik. Reseptor yang terlibat pada respons greening disebut fitokrom.

2. Transduksi (pengalihan)

Proses ini berlangsung di dalam sitoplasma. Fitokrom mengaktifkan protein G yang tidak aktif (yaitu protein G yang mengikat GDP) menjadi protein yang aktif (yaitu protein G yang mengikat GTP). Pada lintasan yang pertama protein G yang aktif mengaktifkan guanil siklase yaitu enzim yang menghasilkan GMP siklik (cGMP), yang berupa mesenjer ke dua. cGMP akan mengaktifkan untaian protein kinase. Dan pada lintasan yang ke dua Protein G yang aktif menyebabkan saluran Ca^{+2} pada membran plasma membuka dan mempengaruhi perubahan di dalam Ca^{+2} sitosolik, Ca^{+2} kemudian mengikat protein kecil yang disebut kalmodulin dan membentuk kompleks kalmodulin

Ca^{+2} sebagai mesenjer ke dua dan kompleks kalmodulin Ca^{2+} akan mengaktifkan protein kinase spesifik.

3. Respons (tanggapan)

Berlangsung di dalam nukleus. Faktor transkripsi diaktifkan oleh fosforilasi. Pengaktifan faktor transkripsi ada yang tergantung pada cGMP dan ada yang tergantung kalmodulin Ca^{+2} . Faktor transkripsi langsung mengikat daerah spesifik dari DNA dan mengontrol transkripsi gen spesifik. Suatu sinyal akan mempengaruhi pertumbuhan yang tergantung pada pengaktifan faktor transkripsi positif (yang meningkatkan transkripsi gen spesifik), menonaktifkan faktor transkripsi negatif (yang menurunkan transkripsi gen spesifik) dan pengaktifan faktor transkripsi positif dan menonaktifkan faktor transkripsi negatif.

Transkripsi, translasi dan modifikasi protein adalah suatu peristiwa penting yang berhubungan dengan *greening*. Setelah translasi protein dimodifikasi oleh fosforilasi yang dikatalisis oleh protein kinase. Untaian protein kinase akan merangkaikan stimulus inisial ke respon seluler pada tahapan ekspresi gen melalui fosforilasi factor transkripsi. Akhirnya lintasan sinyal dapat mengatur sintesis protein baru dengan merangkaikan atau memutus gen spesifik.

Adapun salah satu hal yang dikerjakan hormon tumbuhan adalah mengendalikan aktivitas gen. Perlu ditekankan bahwa pengaktifan gen mengandung arti terjadi proses penguatan yang tinggi. Ini karena transkripsi berulang DNA menjadi menjadi DNA-kurir (mRNA), yang diikuti oleh

translasi mRNA menjadi enzim yang memiliki aktivitas katalisis yang tinggi pada konsentrasi rendah, dapat menghasilkan banyak salinan produk sel yang penting. Lalu, produk ini menentukan jenis organismenya, dan tentu saja wujud penampilannya (fenotipnya). Ada berbagai titik kendali dalam aliran informasi genetik, dari DNA sampai menjadi sebuah produk molekul. Salah satunya, yang barangkali paling penting, terdapat pada tingkat transkripsi. Titik kendali lainnya, juga terdapat di inti, mencakup pengolahan mRNA, sebab sebagian besar molekul mRNA terurai sebagian dan beberapa bagiannya terangkai kembali sebelum mereka meninggalkan inti. Langkah pengendalian ini dikendalikan oleh enzim yang kerjanya pasti diatur, dan mungkin hormon berperan dalam pengaturan ini. Selanjutnya mRNA meninggalkan inti, barangkali melalui pori inti. Di sitosol mRNA dapat ditranslasikan pada ribosom atau dirusak oleh ribonuklease. Jika mRNA ditranslasi menjadi enzim, perubahan pascatranslasi enzim tersebut dapat melalui berbagai proses, seperti fosforilasi, metilasi, asetilasi, glikosidasi, dan sebagainya. Pemacu hormon pertama akhirnya menyebabkan perubahan aktivitas enzim, proses metabolik yang berbeda, dan akhirnya jenis sel yang berbeda secara fisiologis dan morfologis. Berbagai perubahan seperti itu, yang disebabkan oleh berbagai macam hormon dan pemacu lingkungan, berinteraksi untuk membantu membentuk jaringan, organ, atau tumbuhan yang berlainan (Salisbury, 1992) .

2.2.8 Induksi Kalus Embriogenik

Induksi kalus terjadi proses dediferensiasi, yakni jaringan dewasa yang masih hidup, yang telah mempunyai fungsi tertentu menjadi meristematik kembali. Sel-sel yang meristematik menjadi lebih cepat membelah dan membesar bila berada pada lingkungan yang sesuai dan kebutuhan nutrisi yang tercukupi. Pemberian kombinasi konsentrasi auksin dan sitokinin yang tepat menjadikan konsentrasi eksogen dan endogen dalam eksplan seimbang. Nisbah yang seimbang antara auksin dan sitokinin dapat merangsang induksi kalus (Wattimena 1988).

Terdapat dua macam kalus yang terbentuk dalam kultur *in vitro* suatu tanaman, yaitu kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman (Sukmadjaja, 2005).

Auksin dan sitokinin mempunyai peran berbeda dalam pembentukan kalus. Auksin berperan memudahkan pengembangan sel dengan cara pelenturan dinding sel yang memudahkan air dan nutrisi masuk ke dalam sel. Dengan demikian kebutuhan sel untuk membenteng dapat tercukupi (Fikriati, 2009).

Sementara sitokinin berperan dalam proses sitokinesis atau pembelahan sel. Pada siklus sel, sitokinin bekerja dengan mempercepat durasi salah satu fase pembelahan sel yaitu fase G2. Pada fase tersebut terjadi persiapan material untuk sintesis, sehingga dengan durasi G2 yang lebih pendek menjadikan sel lebih cepat

mengalami pembelahan. Pembentangan dan pembelahan tersebut yang menentukan ukuran maupun laju pertumbuhan kalus (Fikriati, 2009).

Kombinasi yang tepat dan seimbang antara auksin dan sitokinin pada eksplan dapat menyebabkan terjadinya induksi kalus. Dalam hal ini auksin bekerja dalam pembentangan/pembesaran sel sementara sitokinin berperan dalam pembelahan sel. Dengan demikian, pada kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat sel-sel eksplan dapat berdediferensiasi menjadi sel yang meristematik yang selanjutnya melakukan pembelahan dan pembentangan sehingga terjadi penambahan berat dan ukuran kalus (Fikriati, 2009).

Kultur kalus terbentuk melalui tiga tahapan, yaitu induksi, pembelahan sel dan diferensiasi (Yuwono, 2008). Pembentukan sel atau kalus yang embrionik adalah syarat utama dalam produksi embrio somatik. Kalus yang embrionik umumnya diperoleh dari embrio benih atau jaringan yang meristematik. Sel-sel yang embrionik biasanya berukuran kecil dengan sitoplasmik banyak dan banyak mengandung pati. Kebalikannya sel-sel yang tidak embrionik berukuran besar karena vakuolanya besar (Mattjik, 2005).

Estiti (1995) menambahkan, jaringan meristem memiliki ciri-ciri dinding sel tipis, bentuk sel isodiametris dibanding sel dewasa, jumlah protoplasma sangat banyak. Biasanya protoplas sel meristem tidak memiliki cadangan makanan dan kristal, sedangkan plastida masih pada tahap pro plastida. Pada Anggiospermae sel meristem memiliki vakuola kecil yang tersebar diseluruh protoplas. Dalam kaitannya dengan pembentukan kalus embriogenik, Peterson & Smith (1991) mengatakan bahwa kalus yang embriogenik dicirikan dengan warna kalus yang

putih kekuningan dan mengkilat. Wiendi *et al.*, (1991), kalus yang bersifat embriogenik adalah kalus yang memiliki sel berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil dan mengandung butiran pati.

Menurut Turhan (2004) kalus yang embriogenik diasumsikan memiliki tekstur remah (*frable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Sedangkan pada kalus kompak menurut Fitriani (2008), kalus kompak mempunyai tekstur yang sulit untuk dipisahkan dan terlihat padat. Dan pada kalus yang sebagian bertekstur kompak dan remah disebut kalus intermediet (Widiarso, 2010).

Keberhasilan embriogenesis somatik tidak langsung dapat tercapai dengan terbentuknya kalus embriogenik. Sel-sel kalus yang bersifat embriogenik yaitu kalus yang dapat berkembang menjadi embrio somatik setelah kalus tersebut ditransfer ke dalam medium yang sesuai (Rusdianto dan Indrianto, 2012). Kalus embriogenik dicirikan dengan struktur kalus kering, berwarna putih susu atau krem dan berstruktur remah, sedangkan kalus non embriogenik dicirikan dengan struktur kalus kompak, basah, berwarna bening kecokelatan.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi ZPT 2,4-D dan faktor kedua berupa konsentrasi ZPT BAP.

1. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 5 taraf :

- a. $D_0 = 0$ mg/L
- b. $D_1 = 0,5$ mg/L
- c. $D_2 = 1$ mg/L
- d. $D_3 = 1,5$ mg/L
- e. $D_4 = 2$ mg/L

2. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari 5 taraf :

- a. $B_0 = 0$ mg/L
- b. $B_1 = 0,5$ mg/L
- c. $B_2 = 1$ mg/L
- d. $B_3 = 1,5$ mg/L
- e. $B_4 = 2$ mg/L

Kombinasi perlakuan di uraikan dalam table berikut:

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP

ZPT		2,4-D (ppm)				
		D0 (0)	D1 (0,5)	D2(1)	D3 (1,5)	D4 (2)
BAP (ppm)	B0 (0)	D0B0 (0 ; 0)	D1B0 (0,5 ; 0)	D2B0 (1 ; 0)	D3B0 (1,5;0)	D4B0 (2 ;0)
	B1 (0,5)	D0B1 (0 ;0,5)	D1B1 (0,5;0,5)	D2B1 (1;0,5)	D3B1 (1,5;0,5)	D4B1 (2 ; 0,5)
	B2 (1)	D0B2 (0 ;1)	D1B2 (0,5 ; 1)	D2B2 (1 ;1,5)	D3B2 (1,5;1,5)	D4B2 (2 ; 1)
	B3 (1,5)	D0B3 (0 ; 1,5)	D1B3 (0,5;1,5)	D2B3 (1;1,5)	D3B3 (1,5;1,5)	D4B3 (2 :1,5)
	B4 (2)	D0B4 (0 ; 2)	D1B4 (0,5 ; 2)	D2B4 (1 ; 2)	D3B4 (1,5 ; 2)	D4B4 (2 ; 2)

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, pada bulan April-Juni 2017.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur, cawan petri, alat diseksi (*scalpel*, pinset, dan *spatula*), autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), *oven*, timbangan analitik, gelas ukur, *beaker glass*, lampu spirtus, *handsprayer*, PH meter, lemari pendingin, *deg glass*, *cover glass*, rak kultur, kamera, lampu *fluorence*, kertas meter, plastik, bunsen, korek api, karet, *hot plate* dan *stirrer*, tisu, korek api, *alumunium foil*, *pipet tetes*, batang pengaduk, dan kompor gas

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji jintan hitam, hipokoti jintan hitam yang telah dikecambahkan dalam media transisi, media MS (Murashige & Skoog), kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l dan 1,5 mg/l, 2 mg/l) dan BAP (0,1 mg/l, 0,5 mg/l dan 1 mg/l, 2 mg/l), aquades, agar, alkohol 70%, dan 96%, *spirtus*, *fungisida*, *bayclin* dan *bakterisida*.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Ruang

Meja dan dinding *laminar air flow* (LAF) disemprot dengan alkohol 70% lalu dilap dengan kertas tissue. Penyemprotan dengan alkohol 70 % bertujuan untuk membunuh bakteri dan jamur karena pada konsentrasi 70% sudah cukup untuk membunuh bakteri dan jamur. Dimasukkan semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam kegiatan kultur ke dalam LAF kecuali eksplant. Kemudian dinyalakan UV selama 1 jam, setelah 1 jam, sinar *UV* dimatikan dan *blower* dihidupkan. Sebelum melakukan inisiasi alat-alat yang dimasukkan ke dalam LAF disemprot alkohol 70% terlebih dahulu.

3.4.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi dapat dilakukan dengan *oven* dan *autoklaf*. Sterilisasi menggunakan oven disebut sterilisasi kering. Sedangkan sterilisasi dengan *autoklaf* disebut sterilisasi basah. Alat-alat direndam dengan tipol selama sehari (24 jam) kemudian digosok menggunakan spons pencuci. Alat-alat diseksi

(*scalpel*, *spatula*, pinset) dan alat-alat dari gelas atau logam dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan dan disterilisasi menggunakan *oven* dengan suhu 50⁰ C. Setelah itu, alat-alat diseksi dibungkus dengan *aluminium foil* dan alat-alat dari gelas dibungkus dengan kertas disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰ C dengan tekanan 1 atm.

3.4.3 Pembuatan Media

3.4.3.1 Media Perkecambahan

Ditimbang media perkecambahan yang terdiri dari MS 2,21 gr ($\frac{1}{2}$ MS), gula 30 gr dan agar 8 gr. Dimasukkan media MS dan gula kedalam 1000 ml aquades kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* diatas *hot plate*. Larutan media dididihkan diatas kompor dan dimasukkan agar sambil diaduk hingga mendidih. Larutan media MS dituangkan ke dalam botol kultur, masing-masing ± 20 ml. Selanjutnya botol kultur di tutup dengan plastik dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian botol berisi media diinkubasi dalam ruang inkubator

3.4.3.2 Pembuatan Media Perlakuan

Komposisi media perlakuan yaitu 4,3 gr media MS, gula 30 gr, agar 8 gr dan ZPT. Dimasukkan media MS dan gula ke dalam 1000 ml aquades kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* diatas *hot plate*. Masing-masing perlakuan diberi ZPT sesuai konsentrasi kombinasi. Konsentrasi hormon diambil dari larutan stok. larutan stok hormon bertujuan untuk mempermudah dalam pembuatan media.

Setelah ditetesi ZPT diukur pH larutan media dalam *beaker glass* (pH 5,6-5,8) dengan pH meter. Jika $\text{pH} < 5,6$ maka ditambahkan larutan NaOH 1N dan apabila $\text{pH} > 5,8$ maka ditambahkan larutan HCL 1 N. Selanjutnya larutan media perlakuan dididihkan diatas kompor dan ditambahkan agar sambil diaduk terus hingga mendidih. Larutan media perlakuan yang telah jadi dituang ke dalam botol kultur ± 20 ml, botol kultur ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet. Botol berisi media perlakuan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 1 atm selama 15 menit. Media perlakuan yang telah jadi diinkubasi dalam ruang inkubator.

3.4.4 Inisiasi

3.4.4.1 Perkecambahan

Sortir biji jinten hitam dengan cara direndam dengan air dan buang biji yang mengapung. Setelah disortir, biji jintan hitam dialiri air selama 1 jam. Kemudian biji jintan hitam dicuci dengan sunlight dan di *stirrer* selama 15 menit. Penambahan *sunlight* bertujuan untuk merenggangkan ikatan dinding sel sehingga dasinfektan dapat membunuh bakteri sampai jaringan dalam dan menghilangkan menghilangkan kotoran-kotoran pada biji. kemudian dibilas dengan aquades steril 3 kali menggunakan stirrer diatas *hot plate*. Setelah itu biji jinten hitam direndam dalam *bakterisida* selama 15 menit, dan dibilas dengan aquades steril 3 kali menggunakan stirrer diatas *hot plate*. Dilanjutkan dengan biji jinten hitam direndam dalam *fungisida* selama 15 menit dan dibilas dengan aquades steril 3 kali menggunakan stirrer diatas *hot plate*.

Sterilisasi selanjutnya dilakukan dalam LAF dengan cara: biji jintan hitam di rendam dalam etanol 70% selama 1 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Kemudian biji jintan hitam direndam dalam larutan bayclin 0,3% selama 5 menit. Lalu dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 menit.

3.4.4.2 Induksi Kalus

Induksi kalus dilakukan pada media perlakuan. Hasil kecambah pada media transisi yang berumur ± 2 minggu disubkultur pada media perlakuan dengan cara memotong bagian hipokotil kecambah ukuran ± 1 cm.

3.4.5 Parameter

Parameter pengamatan meliputi :

1. Hari munculnya kalus

Diamati setiap hari saat pertama muncul kalus. Pembentukan kalus merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*.

2. Warna kalus

Warna kalus merupakan gambaran visual kalus sehingga sehingga dapat diketahui bahwa kalus yang terbentuk sel-selnya masih aktif membelah atau mati. Pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan meliputi warna kalus putih transparan (P), hijau muda keputihan (HMP), kekuningan (K), kecoklatan (C) dan hijau (H).

3. Berat kalus

Dilakukan pada akhir penelitian. Satuan parameter berat basah kalus adalah massa kalus basah yang diukur menggunakan timbangan analitik dengan satuan gram (g). Berat basah seluruh eksplan dan dicari berat rata-ratanya.

4. Tekstur kalus

Diamati secara visual terhadap penampakan kalus yaitu dengan melihat kalus remah (R) kalus kompak (K) dan kalus intermediet (I).

5. Persentase terbentuknya kalus

Dilakukan pada minggu ke empat atau akhir pengamatan, untuk mengetahui tiap-tiap eksplan yang membentuk kalus, dengan rumus:

$$\% \text{ terbentuknya kalus} = \frac{\text{Luas kalus yang terbentuk}}{\text{Luas eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

6. Anatomi sel kalus

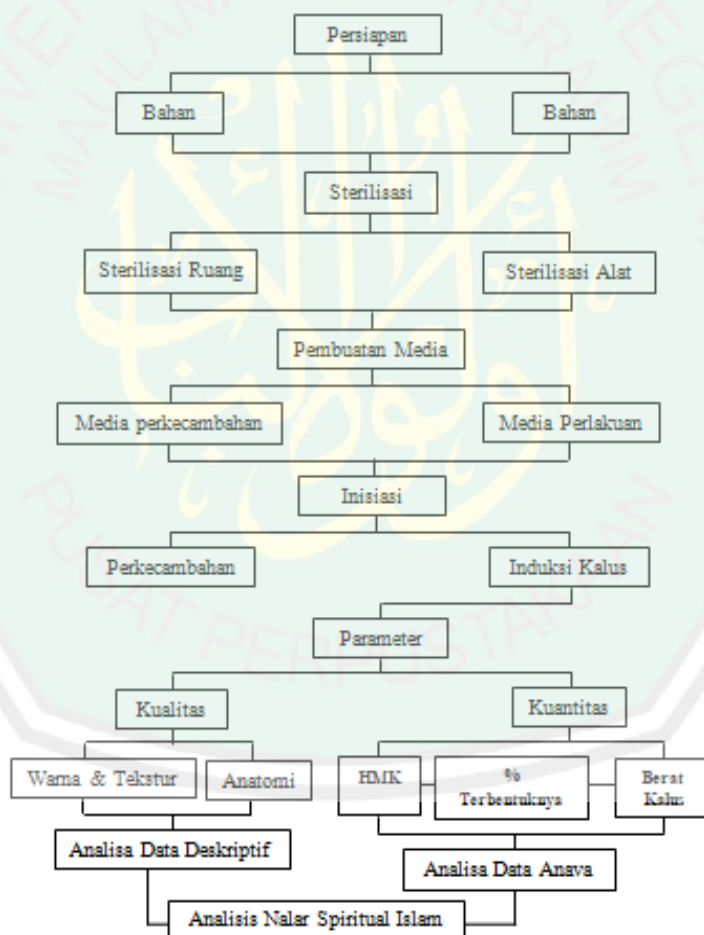
Diamati pada minggu keempat dengan cara mensquash kalus dan diamati penampakan dibawah mikroskop diantaranya inti sel, bentuk sel dan sitoplasma.

3.4.6 Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus yaitu warna dan tekstur. Sedangkan data kuantitatif berupa hari munculnya kalus, berat kalus, persentase terbentuknya kalus dan persentase eksplan berkalus. Data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara diskriptif. Sedangkan data kuantitatif

dianalisis menggunakan uji statistic *Analisis Varian* (ANOVA) *dua jalur* menggunakan aplikasi SPSS 17.0. Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Tes* (DMRT) pada taraf 5% untuk mengetahui konsentrasi ZPT terbaik. Hasil penelitian dianalisis dengan pendekatan integrasi sains dan nalar spiritual islam

3.4.7 Desain Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Hari munculnya kalus (HMK) pada eksplan diamati setiap harinya untuk mengetahui awal terbentuknya kalus. Munculnya kalus pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Data hari muncul kalus yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh 2,4-D dalam pertumbuhan kalus jintan hitam. Hasil analisis varian tersaji pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil analisis ragam pengaruh 2,4-D dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Variabel	F. hitung	F. tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	37.944 *	2.557179
Persen Terbentuknya Kalus	12.643 *	2.557179
Berat Basah Kalus	39.235 *	2.557179

Keterangan: (*) menunjukkan pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variable pengamatan

Berdasarkan ANOVA menunjukkan bahwa F hitung variabel hari muncul kalus, berat basah kalus dan persentase terbentuknya kalus lebih besar dari F tabel, yang artinya konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh nyata terhadap variabel yang diamati, sehingga perlu dilakukan uji lanjut menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%.

Tabel 4.2. Hasil uji DMRT 5% pengaruh 2,4- D dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Pengamatan Hari ke- 30		
	Rata-rata HMK	Rata-rata persen terbentuknya kalus (%)	Rata-rata berat basah kalus (gr)
0	25.3 d	66.6667 a	0,0247 a
0.5	19.93 c	90,0000 b	0,0620 b
1	18.07 b	100,0000 b	0,0893 c
1,5	16.27 a	100,0000 b	0,0893 c
2	18 b	96, 6667 b	0,0773 c

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan kontrol sangat berbeda nyata terhadap semua perlakuan pemberian 2,4-D 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L. Menurut Mahadi *et al.* (2014), salah satu peranan hormon 2,4-D adalah membantu dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel.

Hasil analisis menunjukkan konsentrasi 2,4-D paling cepat menginduksi hipokotil jintan hitam adalah konsentrasi 1,5 mg/L dengan rata-rata 16,27 HST. Indah (2013) menyatakan, kalus pertama kali terbentuk pada sayatan eksplan yang kontak dengan media. Pembentukan kalus diawali dengan pembengkakan eksplan kemudian sayatan eksplan bergelombang (*swelling*). Lizawati (2012) menambahkan bahwa terbentuknya kalus dikarenakan adanya perlukaan pada jaringan dan respon terhadap hormon (ZPT). Munculnya kalus pada bagian yang terluka diduga karena adanya rangsangan dari jaringan eksplan untuk menutupi luka. Pemberian konsentrasi 2,4-D yang tinggi dan tidak adanya penambahan sitokinin dalam media juga mampu memacu terjadinya senesensi yang dapat menghambat proses pertumbuhan kalus.

Hasil penelitian menunjukkan tanpa pemberian auksin eksogen (2,4-D) eksplan hipokotil jantan hitam sudah mampu menginduksi kalus sendiri. Hal ini dikarenakan eksplan hipokotil yang digunakan masih muda dan mudah membelah. Menurut Pratiwi (2013), eksplan yang muda sel-selnya bersifat meristematik sehingga aktif membelah. Begitu juga menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), bagian tanaman yang banyak mengandung jaringan pengangkut adalah yang paling baik untuk dijadikan sebagai bahan eksplan.

Pemberian 2,4-D berpengaruh pada variabel persentase terbentuknya kalus perlakuan kontrol dan penambahan 2,4-D menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Namun keempat perlakuan pemberian 2,4-D yaitu 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Lizawati *et al* (2012) menyatakan bahwa konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D yang diberikan ke dalam media kultur tersebut mampu menginduksi sel-sel yang berpotensi untuk melakukan pembelahan secara terus menerus.

Terbentuknya kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D yang terlarut dalam media akan berdifusi masuk ke dalam sel-sel eksplan hipokotil tanaman melalui luka pada ujung-ujung eksplan. zat pengatur tumbuh 2,4-D akan memacu pelunakkan dinding sel dengan cara mengaktivasi pompa proton (ion H⁺) yang terletak pada membran plasma, sehingga menyebabkan derajat keasaman (pH) pada bagian dinding sel lebih rendah, yaitu mendekati pH pada membran plasma (sekitar pH 4,5). Aktifnya pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan hydrogen diantara mikrofibril selulosa dinding sel hipokotil jantan hitam. Putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding sel hipokotil jantan

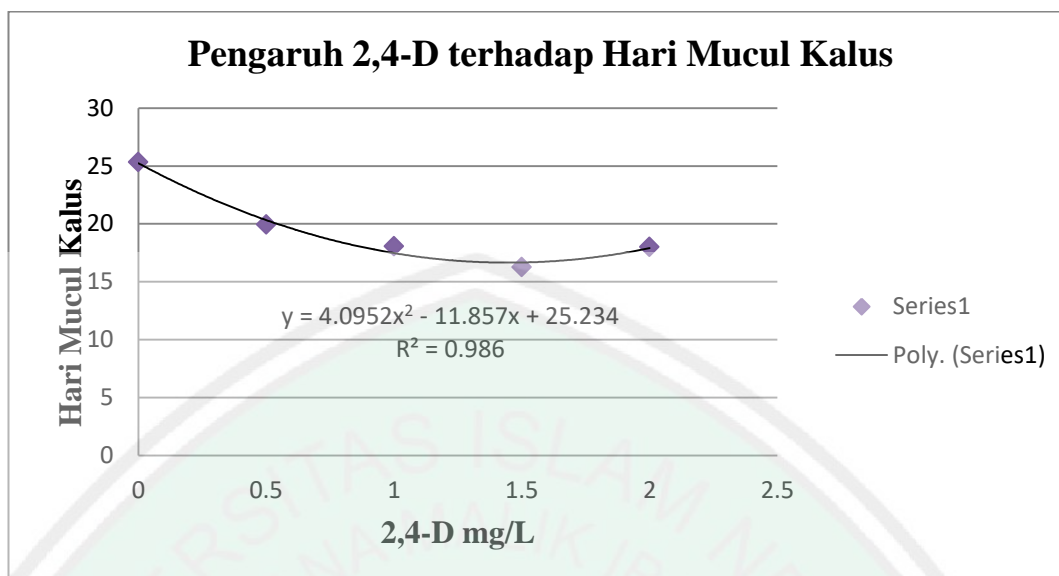
hitam mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel akan menurun dan mengakibatkan pelenturan sel hipokotil jintan hitam. Derajat keasaman yang rendah juga dapat mengaktivasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein atau polisakarida yang menyebar pada dinding sel yang lunak dan lentur, sehingga pembesaran sel hipokotil jintan hitam dapat terjadi (Hayati *et al.*, 2010). Hasil persen terbentuk kalus menunjukkan bahwa pada semua perlakuan menghasilkan rata-rata persentase terbentuknya kalus cukup tinggi. Hal ini dikarenakan media yang digunakan mampu menyuplai nutrisi secara keseluruhan sehingga eksplan dapat berkembang menjadi kalus.

Pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh pada variabel berat basah kalus. Berat basah kalus dihasilkan dari penimbangan kalus pada akhir pengamatan (minggu ke-4). Hanya eksplan yang berkalus yang ditimbang pada setiap media dan ulangan, sedangkan eksplan yang tidak membentuk kalus tidak dilakukan penimbangan. Kalus ditimbang menggunakan timbangan analitik dengan cara destruktif, artinya mengambil satu persatu kalus dari dalam media.

Dari hasil penimbangan diketahui bahwa perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata. Rata-rata perlakuan terbaik adalah pada konsentrasi 1 mg/L yaitu 0,0893 gram. Sedangkan rata-rata berat basah kalus paling rendah yaitu tanpa penambahan 2,4-D 0,0247 gram. Dewita (2015) mengatakan, peningkatan tersebut dipicu oleh daya aktifitas 2,4-D yang sangat tinggi, sehingga jaringan menjadi stres dan akan menyebabkan terjadi pembelahan sel secara terus-menerus di dalam jaringan yang akhirnya berpengaruh terhadap ukuran kalus. Pengamatan serupa mengenai berat basah

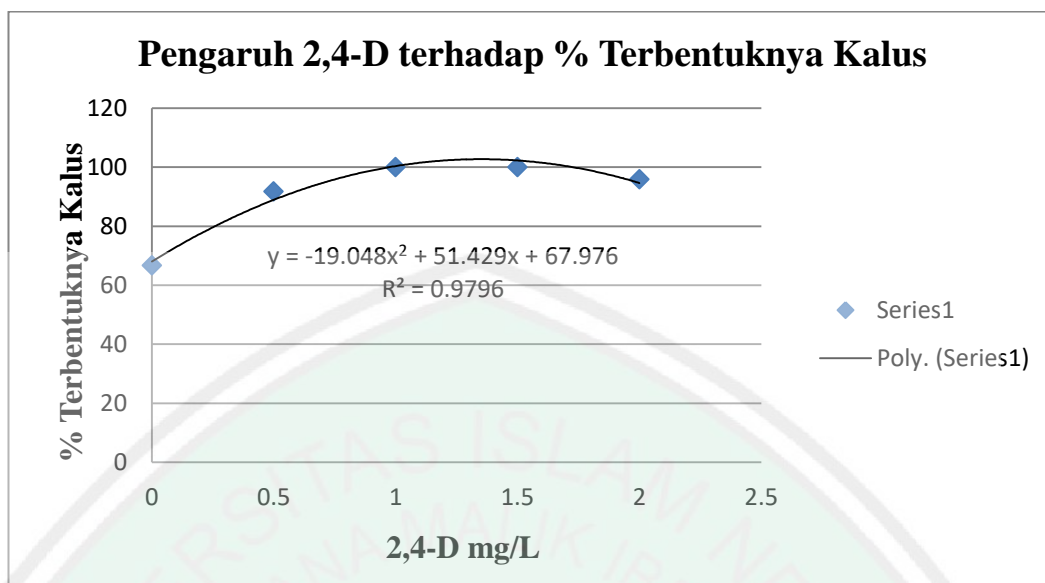
kalus yang dilakukan oleh Fadhilah (2015), bahwa pada konsentrasi 2,4-D 1 mg/L, 1,25 mg/L dan 1,5 mg/L berat basah kalus meningkat hingga 0,7 gr.

Peningkatan bobot basah sejalan dengan penelitian Rahayu *et al* (2003), bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D dapat meningkatkan rata-rata berat basah kalus yang berbeda nyata pada tanaman *Acalypha indica*. Dewita (2015) melaporkan pengaruh pemberian konsentrasi 2,4-D terhadap meningkatnya rata-rata berat segar kalus *A.vulgaris*. Semakin tinggi penambahan konsentrasi 2,4-D, maka akan semakin tinggi peningkatan rata-rata berat segar kalus. Hasil yang serupa didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2005), pada kultur kalus dari tangkai daun pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah dan rata-rata berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/L dan 5 mg/L). Untuk mengetahui konsentrasi pemberian yang optimum terhadap induksi kalus daun nilam dapat dianalisis menggunakan analisis regresi. Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus.



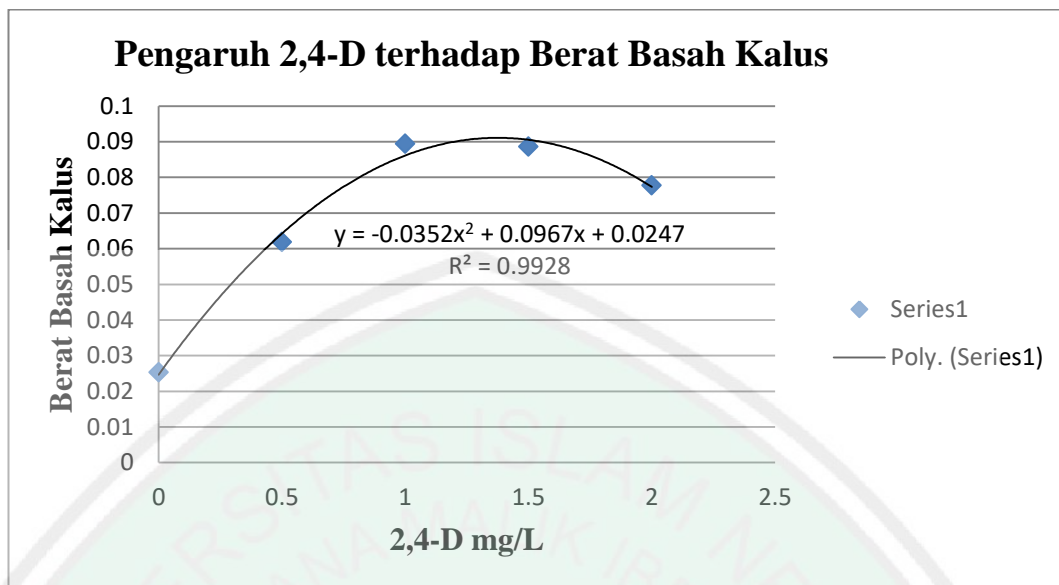
Gambar 4.1. Hasil analisis regresi pengaruh 2,4-D terhadap hari muncul kalus

Hasil analisis regresi pengaruh 2,4-D terhadap hari muncul kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = 4.0952x^2 - 11.857x + 25.234$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.986$. Koefisien determinasi menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian konsentrasi berbagai hormon 2,4-D dengan kecepatan hari muncul kalus sebesar 98,6%. Hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = 4.0952x^2 - 11.857x + 25.234$ bahwa perlakuan pemberian konsentrasi 2,4-D terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,4 ; 16,65). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D yang optimal adalah 1,4 mg/L dengan rata-rata hari muncul kalus 16,65 HST. Diketahui bahwa pada penelitian ini semakin meningkatnya 2,4-D maka semakin cepat menginduksi kalus sampai pada konsentrasi optimum yaitu 1,4 mg/L. Apabila konsentrasi melebihi batas optimum maka induksi kalus akan terhambat.



Gambar 4.2. Hasil analisis regresi pengaruh 2,4-D terhadap % terbentuknya kalus

Hasil analisis regresi pengaruh 2,4-D terhadap persentase terbentuknya kalus berdasarkan pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -19.048x^2 + 51.429x + 67.976$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.9796$. Koefisien determinasi menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian konsentrasi berbagai hormon 2,4-D dengan persentase terbentuknya kalus sebesar 97,96%. Hasil analisis diferensial dengan $y = -19.048x^2 + 51.429x + 67.976$ bahwa perlakuan pemberian konsentrasi 2,4-D terhadap persentase terbentuknya kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,3 ; 100%). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D yang optimal adalah 1,3 mg/L dengan rata-rata persen eksplan berkalus 100%.



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

Hasil analisis regresi pengaruh 2,4-D terhadap berat basah kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -0.0352x^2 + 0.0967x + 0.0247$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.9928$. Koefisien determinasi menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian konsentrasi berbagai zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan berat basah kalus sebesar 99,28%. Hasil analisis diferensial dengan $y = -0.0352x^2 + 0.0967x + 0.0247$ bahwa perlakuan pemberian konsentrasi 2,4-D terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,4 ; 0,09). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D yang optimal adalah 1,4 mg/l dengan rata-rata berat basah kalus 0,0736 gr.

4.2 Pengaruh Pemberian Konsentrasi BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Berdasarkan hasil penelitian 30 hari setelah tanam, pengaruh BAP terhadap pertumbuhan kalus tersaji pada tabel 4.3. Berikut hasil analisis ragam.

Tabel 4.3. Hasil analisis ragam pengaruh BAP dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Variabel	F. hitung	F. tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	10.037 *	2.557179
Persen Terbentuknya Kalus	4.786 *	2.557179
Berat Basah Kalus	25.116 *	2.557179

Keterangan: (*) menunjukkan pemberian BAP berpengaruh nyata terhadap variable pengamatan

Analisis hasil ANAVA menunjukkan bahwa F hitung variabel hari muncul kalus, berat basah kalus dan persen terbentuknya kalus lebih besar dari F tabel, yang artinya konsentrasi BAP memberikan pengaruh nyata terhadap variabel yang diamati sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan (DMRT) 5%.

Tabel 4.4. Hasil uji DMRT 5% pengaruh BAP dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Konsentrasi BAP (Mg/L)	Pengamatan Hari ke-30		
	Rata-Rata HMK	Rata-Rata Persen terbentuknya kalus (%)	Rata-Rata Berat Basah Kalus (gr)
0	21.2 b	76.6667 a	0.0613 b
0.5	17.67 a	93.3333 b	0.0887 c
1	18.27 a	100.0000 b	0.0880 c
1,5	18.8 a	93.3333 b	0.0927 c
2	21.6 b	90.0000 b	0.0407 a

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

Berdasarkan hasil uji DMRT 5%, hari muncul kalus perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan BAP memberikan hasil yang berbeda nyata. Namun,

penambahan BAP yang semakin meningkat akan menghambat munculnya kalus pada hipokotil jintan hitam. Abidin (1983) menyatakan ZPT dalam kondisi tertentu mampu menghambat kerja hormon endogen dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel.

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang paling cepat menginduksi kalus hipokotil jintan hitam yakni 17,67 HST dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian kadar sitokinin yang rendah mampu menginduksi kalus paling cepat. Seperti pada penelitian Ramdan (2014), pada konsentrasi sitokinin yang rendah 0,5 mg/L mampu menginduksi kalus *Citrus rootstock* paling cepat yaitu 8 HST. Penelitian ini menunjukkan bahwa keberadaan BAP dalam media mendukung pembentukan kalus. Hasil ini diperkuat oleh pendapat Dixon dan Gonzales (1994) dalam Setiti *et, al* (1996) yang mengemukakan bahwa media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

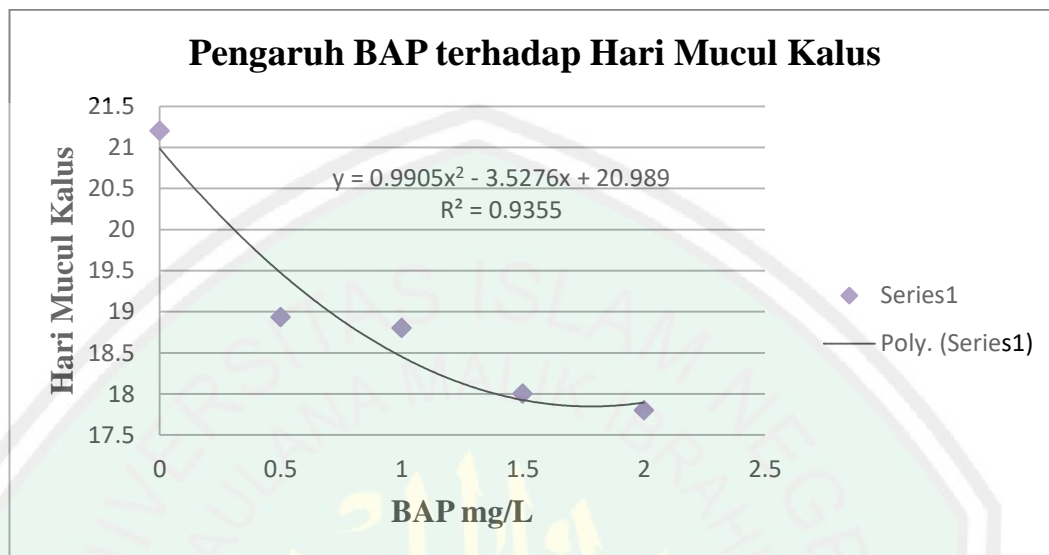
Respon terbaik variabel rata-rata persen terbentuknya kalus pada perlakuan kontrol dan penambaham BAP menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Sedangkan pada perlakuan 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L menghasilkan hasil yang tidak berbeda nyata. Data hasil penelitian menunjukkan pemberian BAP dalam konsentrasi rendah sudah mampu menghasilkan persen terbentuknya kalus 93,33 %. Hal tersebut tidak terlepas oleh pengaruh hormon endogen dalam eksplan. Menurut Abidin (1983), zat pengatur tumbuh dalam kondisi tertentu mampu menghambat kerja hormon endogen dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel.

Hormon bekerja optimal pada konsentrasi tertentu dan sel umumnya mengandung hormon yang cukup atau hampir cukup untuk menjaga secara normal. Menurut (Santoso dan Nursandi, 2002), penambahan sitokinin berupa BAP memberikan respons pada eksplan hipokotil jintan hitam. Dalam kegiatan kultur jaringan, sitokinin berperan dalam menstimulasi terjadinya pembelahan sel dan proliferasi kalus. BAP yang ditambahkan pada media kultur akan menaikkan laju sintesis protein sehingga mendorong pembesaran dan pembelahan sel dengan cara meningkatkan peralihan dari G2 ke mitosis.

Pemberian berbagai konsentrasi BAP juga berpengaruh nyata terhadap berat basah kalus. Dari hasil pengamatan diperoleh variabel berat basah kalus terbaik pada perlakuan BAP 0,5 mg/L menghasilkan rata-rata berat kalus tertinggi 0.0887 gr. Sedangkan pemberian sitokinin yang semakin tinggi akan menghambat pertumbuhan kalus. Hal ini selaras dengan Sari *et al.*, (2013) bahwa BAP aktif dalam pertumbuhan dan poliferasi kalus. Namun, pada konsentrasi tinggi BAP dapat menghambat pertumbuhan kalus.

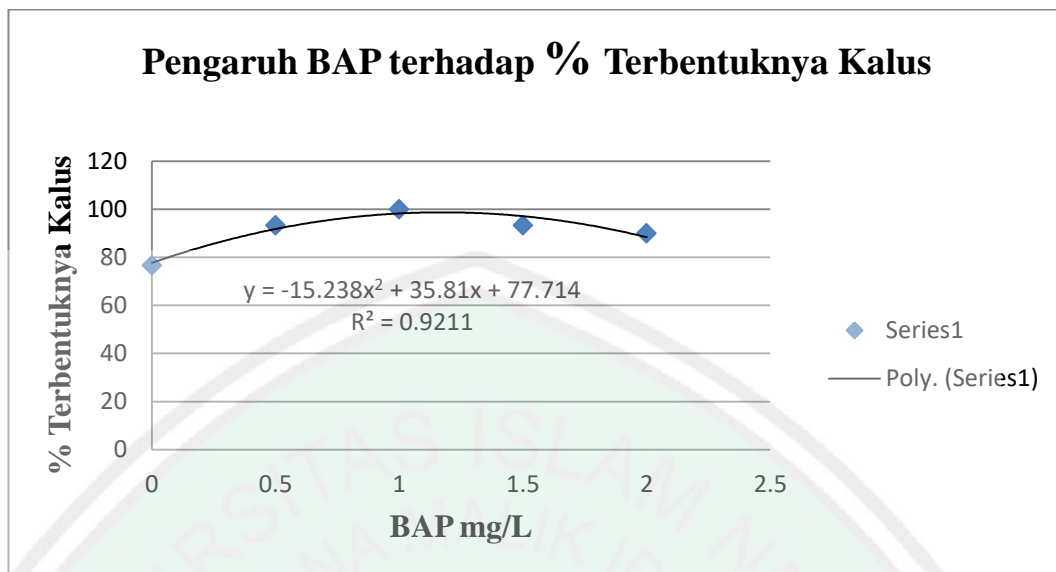
Perbedaan berat basah kalus diduga karena adanya kondisi internal pada kalus baik secara anatomi maupun secara morfologi sehingga memiliki kepekaan dan daya serap yang berbeda pada media yang diberikan. Rahayu *et al* (2003), menyatakan bobot segar kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya tinggi, selain itu berat basah yang dihasilkan juga tergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel-sel membelah, dan membesarnya kalus. Sifat paling penting dari sitokinin adalah perangsangannya terhadap pembelahan sel. Untuk

mengetahui konsentrasi BAP yang optimum dalam meningkatkan pertumbuhan kalus jintan hitam dapat dianalisis menggunakan analisis regresi.



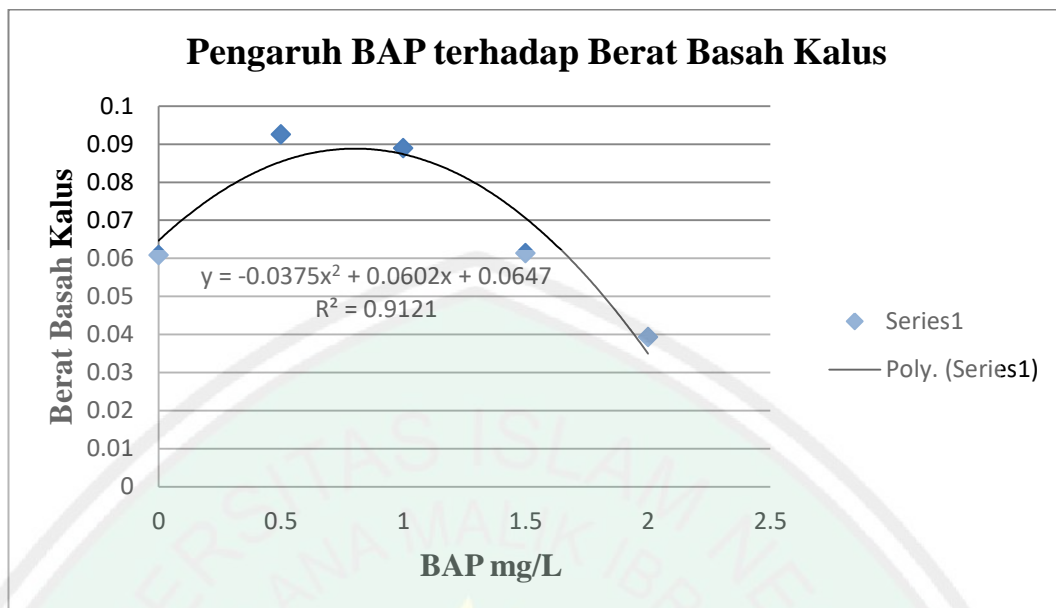
Gambar 4.4. Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap hari muncul kalus

Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap hari muncul kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = 0.9905x^2 - 3.5276x + 20.989$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.9355$, artinya terdapat hubungan yang erat antara pemberian konsentrasi berbagai hormon BAP dengan kecepatan hari muncul kalus sebesar 93,55 %. Hasil analisis diferensial dengan persamaan $y = 0.9905x^2 - 3.5276x + 20.989$ bahwa perlakuan pemberian konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,4 ; 16,65). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang optimal adalah 1,4 mg/l dengan rata-rata hari muncul kalus 16,65 hari setelah inisiasi.



Gambar 4.5. Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap % terbentuknya kalus

Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap persen terbentuknya kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -15.238x^2 + 35.81x + 77.714$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.9211$, artinya terdapat hubungan yang erat antara pemberian berbagai konsentrasi BAP dengan persen terbentuknya kalus sebesar 92,11%. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -15.238x^2 + 35.81x + 77.714$ menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi BAP terhadap persen eksplan berkalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,2 ; 98,75). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang optimal adalah 1,2 mg/L dengan rata-rata persen eksplan berkalus 98,75%.



Gambar 4.6. Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap berat basah kalus

Hasil analisis regresi pengaruh BAP terhadap berat basah kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -0.0375x^2 + 0.0602x + 0.0647$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.9121$, artinya terdapat hubungan yang erat antara pemberian berbagai konsentrasi BAP dengan berat basah kalus sebesar 91,21%. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -0.0375x^2 + 0.0602x + 0.0647$ menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi BAP terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,8 ; 0,09). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP yang optimal adalah 0,8 mg/L dengan rata-rata berat basah kalus 0,09 gram.

4.3 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Pemberian auksin pada kultur kalus efektif dalam menginduksi pembentukan kalus, walaupun demikian peran sitokinin sangat dibutuhkan untuk proliferasi kalus sehingga kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus (Abidin, 1983). Penelitian ini menggunakan konsentrasi auksin dan sitokinin yang sama. Diharapkan dengan konsentrasi yang seimbang akan memacu terbentuknya kalus. Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian hormon 2,4-D dan BAP terhadap induksi dan pertumbuhan kalus tanaman jintan hitam didapatkan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5: Hasil ANAVA Pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

Variabel	F. hitung	F. tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	2.761 *	1.850315
Persen Terbentuknya Kalus	4.161 *	1.850315
Berat Basah Kalus	2.761 *	1.850315

Keterangan : (*) menunjukkan interaksi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Hasil analisa ragam ANAVA menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap hari munculnya kalus, berat basah kalus, dan persen terbentuknya kalus jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang ditunjukkan dengan F hitung yang lebih besar dari F tabel. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan DMRT 5% yang disajikan pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji DMRT 5% pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP dalam menginduksi kalus hipokotil jintan hitam (*Nigella sativa* L.).

No	Perlakuan (mg/L)	Pengamatan Hari ke-30		
		Hari Muncul Kalus (HMK)	Persen terbentuknya kalus (%)	Berat Basah Kalus (g)
1.	0 2,4 D + 0 BAP	31.0000 j	0.0000 a	0,0000 a
2.	0,5 2,4 D + 0 BAP	20.0000 cdefg	82.3333 bc	0,0533 de
3.	1 2,4 D + 0 BAP	21.6667 efgh	100 c	0,0933 fgh
4.	1,5 2,4 D + 0 BAP	16.3333 abc	100 c	0,1033 gh
5.	2 2,4 D + 0 BAP	17.0000 abcd	100 c	0,0567 de
6.	0 2,4 D + 0,5 BAP	19.6667 bcdefg	82.3333 bc	0,0400 bcd
7.	0,5 2,4 D + 0,5 BAP	19.3333 bcdef	82.3333 bc	0,0967 fgh
8.	1 2,4 D + 0,5 BAP	17.6667 abcde	100 c	0,1067 gh
9.	1,5 2,4 D + 0,5 BAP	15.3333 ab	100 c	0,1167 h
10.	2 2,4 D + 0,5 BAP	16.3333 abc	100 c	0,1033 gh
11.	0 2,4 D + 1 BAP	23.6667 ghi	100 c	0,0400 bcd
12.	0,5 2,4 D + 1 BAP	19.6667 bcdefg	100 c	0,0967 fgh
13.	1 2,4 D + 1 BAP	16.6667 abc	100 c	0,1167 h
14.	1,5 2,4 D + 1 BAP	15.6667 abc	100 c	0,0967 fgh
15.	2 2,4 D + 1 BAP	15.6667 abc	100 c	0,0900 fg
16.	0 2,4 D + 1,5 BAP	25.3333 hi	82.3333 bc	0,0200 ab
17.	0,5 2,4 D + 1,5 BAP	19.6667 bcdefg	100 c	0,0400 bcd
18.	1 2,4 D + 1,5 BAP	15.0000 a	100 c	0,0733 ef
19.	1,5 2,4 D + 1,5 BAP	16.0000 abc	100 c	0,0833 fg
20.	2 2,4 D + 1,5 BAP	18.0000 abcde	82.3333 bc	0,0833 fg
21.	0 2,4 D + 2 BAP	27.0000 i	66.6667 b	0,0233 bc
22.	0,5 2,4 D + 2 BAP	21.0000 defg	82.3333 bc	0,0233 bc
23.	1 2,4 D + 2 BAP	19.3333 bcdef	100 c	0,0567 de
24.	1,5 2,4 D + 2 BAP	18.0000 abcde	100 c	0,0467 cd
25.	2 2,4 D + 2 BAP	23.0000 fgh	100 c	0,0533 de

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

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% hari muncul kalus kombinasi 2,4-D dan BAP pada perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Sedangkan untuk hasil perlakuan,

kombinasi 1 mg/L 2,4 D + 1,5 mg/L BAP merupakan konsentrasi yang paling cepat menginduksi kalus jintan hitam yakni 15 HST dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sugiarto (2014), bahwa munculnya kalus pada daun binahong media 2,4-D 1 ppm tanpa pemberian BA adalah 3 HST. Menurut oleh Sari *et al.*, (2013) bahwa BAP aktif dalam pertumbuhan dan poliferasi kalus. Namun, pada eksplan daun menunjukkan respon yang berbeda jika semakin tinggi BAP yang ditambahkan maka kalus akan tumbuh semakin lambat.

Adanya interaksi antara peran auksin dan peran sitokinin yang sama-sama ditambahkan pada media dengan kombinasi yang tepat akan menyebabkan eksplan hipokotil jintan hitam mengalami induksi kalus. Kecepatan induksi kalus yang terjadi pada eksplan hipokotil jintan hitam berbeda pada setiap perlakuan. Hal ini bergantung dari respon setiap eksplan, karena selain penambahan zat pengatur tumbuh berupa auksin dan sitokinin pada media, respon sel-sel eksplan juga dipengaruhi hormon endogen dan sifat kompeten dari setiap eksplan (Santoso dan Nursandi, 2002).

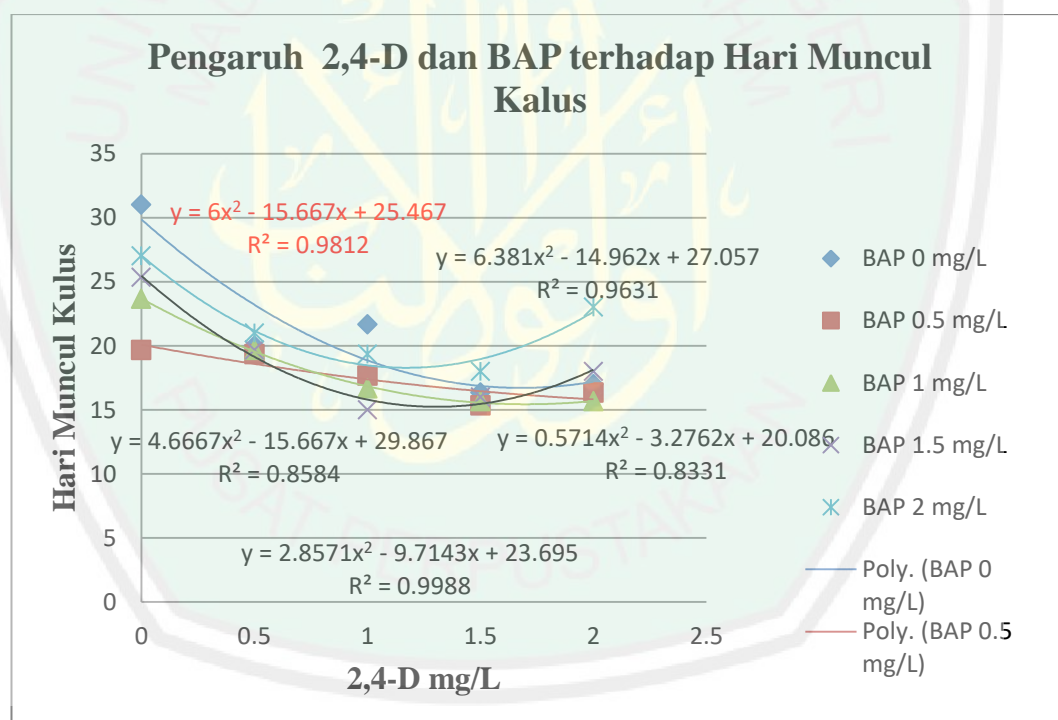
Kombinasi 2,4-D dan BAP juga berpengaruh pada variabel persen terbentuknya kalus. Pada perlakuan kontrol dan perlakuan kombinasi hormon menunjukkan hasil yang berbeda nyata sedangkan untuk 25 perlakuan kombinasi rata-rata tidak berbeda nyata setelah diinduksi selama 30 hari. Hanya perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP yang menghasilkan hasil berbeda nyata. Berdasarkan hasil penelitian pada persentase terbentuknya kalus tidak diketahui interaksi yang nyata antara tingkat konsentrasi 2,4-D dan BAP yang dikombinasikan. Dengan

kata lain pengaruh pemberian 2,4-D, BAP dan kombinasi keduanya adalah sama untuk setiap taraf konsentrasi yang digunakan menghasilkan hasil yang berbeda nyata. Menurut Skoog dan Miller dalam Bidwell (1979), pada kultur kalus yang menunjukkan tidak ada ketentuan khusus bagi konsentrasi zat-zat pembentuk organ, konsentrasi auksin dan sitokinin relatif berbeda-beda. Sedangkan Armini (1992), menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari ZPT tergantung dari jenis eksplan, genotip, kondisi kultur dan zat pengatur tumbuh.

Kombinasi 2,4-D dan BAP juga berpengaruh pada variabel berat basah kalus. Kombinasi 1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dan kombinasi 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP merupakan konsentrasi dengan rata-rata berat basah kalus paling tinggi yaitu 0,1167 gr. Hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP yang mana pada perlakuan tanpa pemberian BAP mampu menghasilkan berat 0,0933 gr. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rosyidah (2014), pada perlakuan 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP memiliki rerata biomassa kalus terbaik, yaitu sebesar 1,330 gram. Rahayu *et al.* (2003) menyatakan bahwa berat segar kalus yang besar ini disebabkan karena kandungan airnya yang tinggi. Berat basah yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Sedangkan berat basah paling rendah 0,02 gr pada perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP.

Hasil berbeda diperoleh pada penelitian Rosyidah (2014), yaitu pada perlakuan 2 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP menunjukkan respon pertumbuhan biomassa kalus paling lambat, yaitu memiliki rerata biomassa sebesar 0,848 gram.

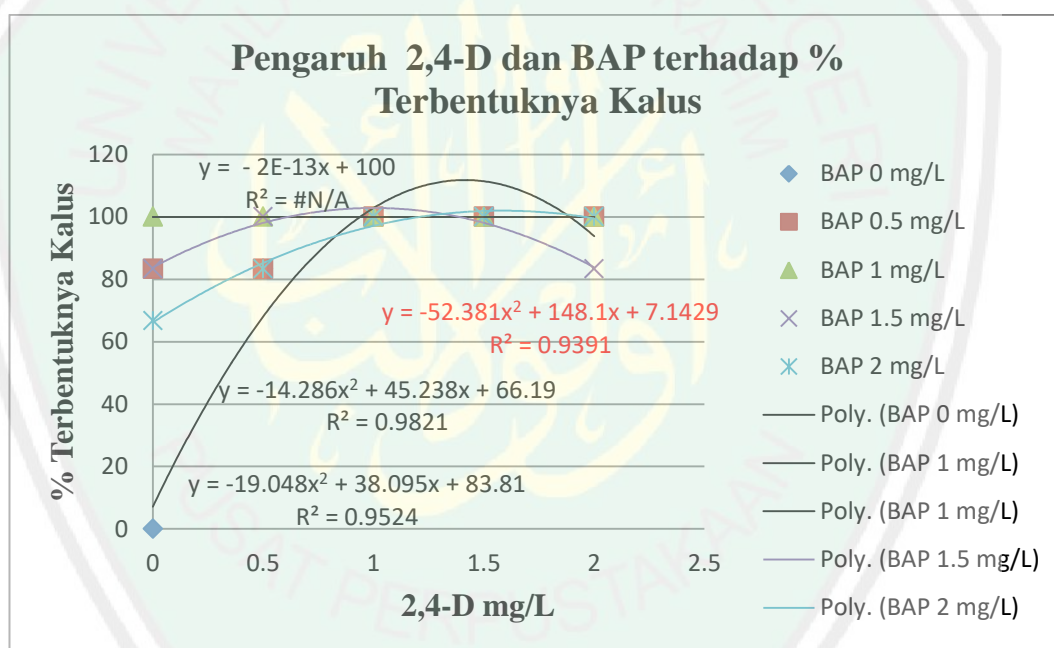
Menurut Kaniyah *et al.*, (2012), konsentrasi zat pengatur tumbuh terlalu rendah tidak mampu menginduksi kalus, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan dan jika konsentrasi yang diberikan tidak seimbang maka interaksi kedua zat pengatur tumbuh tidak cocok untuk merangsang pembentukan kalus. Pada penelitian ini konsentrasi kombinasi yang efektif diperoleh pada perlakuan 1,5 2,4 D + 0,5 BAP. Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari interaksi 2,4-D dan BAP yang dapat meningkatkan pertumbuhan kalus dilakukan analisis regresi korelasi.



Gambar 4.7: Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus.

Berdasarkan hasil analisis regresi pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP untuk variabel hari muncul kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan

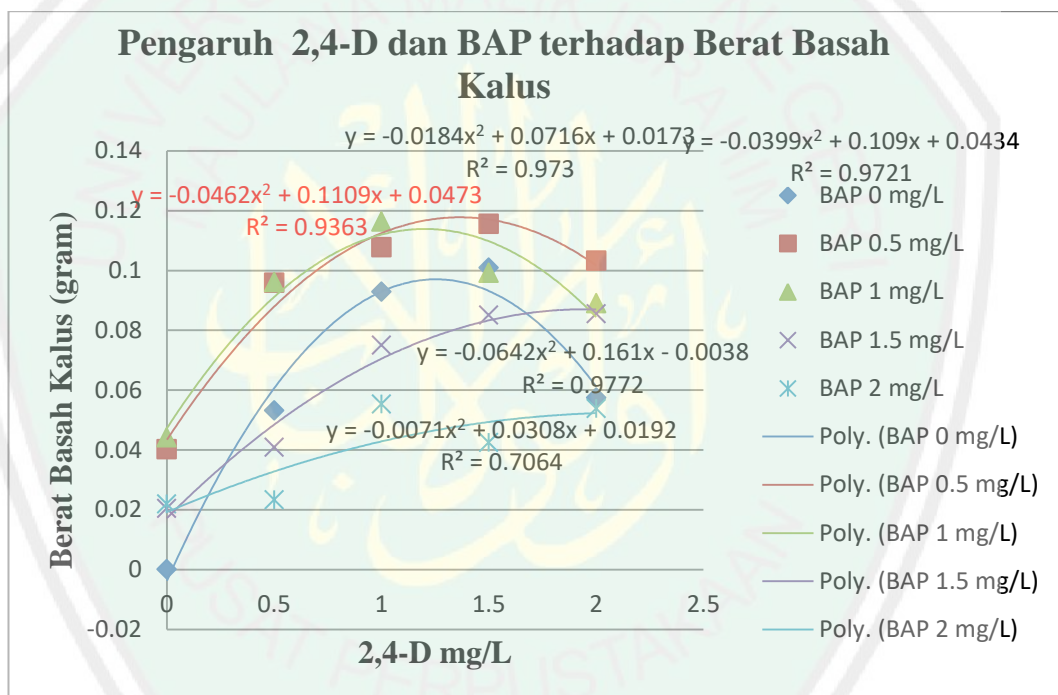
persamaan $y = 6x^2 - 15.667x + 25.467$ dengan determinasi $R^2 = 0.9812$, artinya hubungan antara perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan hari muncul kalus sebesar 98,12%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = 6x^2 - 15.667x + 25.467$ bahwa perlakuan interaksi 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,3 ; 15,24) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk mempercepat induksi kalus adalah konsentrasi 1,3 mg/L 2,4-D dan konsentrasi BAP 1,5 mg/L dengan rata-rata hari muncul kalus 15,24 HST.



Gambar 4.8 Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap persen terbentuknya kalus.

Berdasarkan hasil analisis regresi pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP untuk variabel persen terbentuknya kalus mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -52.381x^2 + 148.1x + 7.1429$ dengan determinasi $R^2 = 0.9391$, artinya hubungan antara perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan persen

terbentuknya kalus sebesar 93,91%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -52.381x^2 + 148.1x + 7.1429$ diketahui bahwa perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap persen terbentuknya kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,4 ; 100) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk meningkatkan persentase terbentuknya kalus adalah konsentrasi 1,4 mg/L 2,4-D dan konsentrasi BAP yang optimum adalah 0 mg/l dengan persen eksplan berkalus sebesar 93,91%.



Gambar 4.9: Kurva regresi pengaruh interaksi 2,4-D dan BAP terhadap berat basah kalus (gr).

Berdasarkan hasil analisis regresi pada pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP untuk variabel berat basah mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -0.0462x^2 + 0.1109x + 0.0473$ dengan determinasi $R^2 = 0,9363$, artinya hubungan antara perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP dengan berat basah kalus sebesar

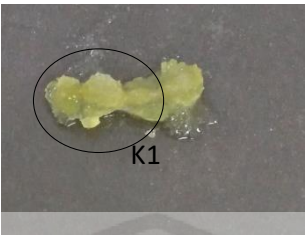
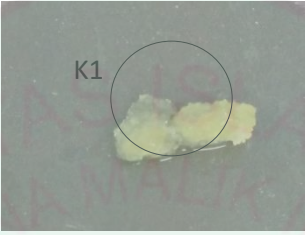
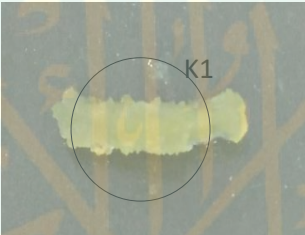
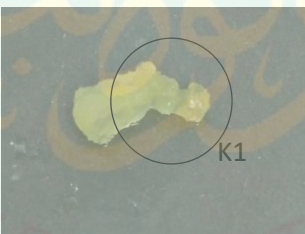
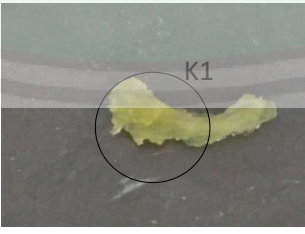
93,63%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -0.0462x^2 + 0.1109x + 0.0473$ Perlakuan interaksi 2,4-D dan BAP terhadap berat basah mencapai titik optimum pada koordinat (1,2 ; 0,11) sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi yang optimum untuk meningkatkan berat basah kalus adalah konsentrasi 1,2 mg/L 2,4-D dan konsentrasi BAP yang optimum adalah 0,5 mg/l dengan rata-rata berat bsah kalus sebesar 0,11 gr.

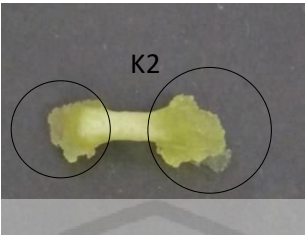
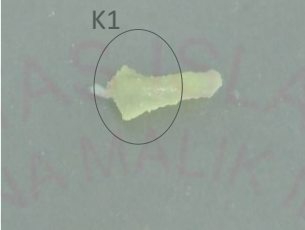
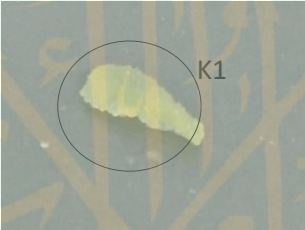
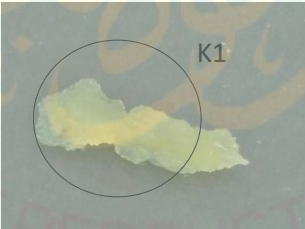
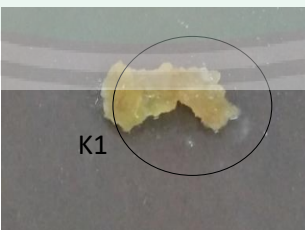
4.4 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Warna dan Tekstur Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

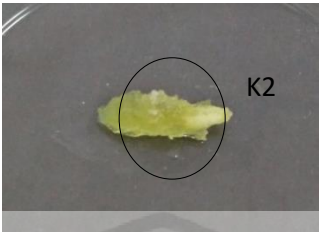
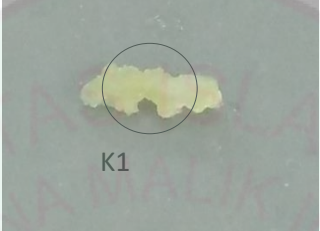
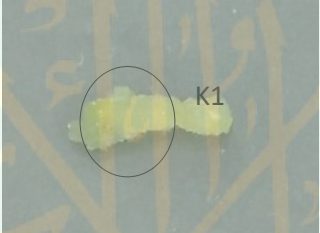
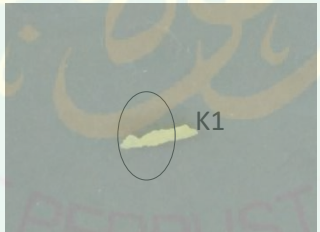
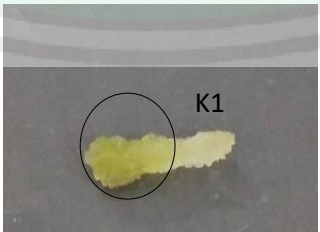
Warna dan tekstur kalus jintan hitam yang dihasilkan dari penelitian ini sangat bervariasi (Tabel 4.7). Menurut George Sherrington (1984), variasi warna sangat mungkin muncul dalam kultur kalus sebagai akibat metabolisme sel fungsi genetik pada bagian tertentu dari eksplan yang ditanam. Sedangkan untuk tekstur kalus yang baik adalah tekstur yang remah (*friable*), karena tekstur yang remah lebih mudah dipisah-pisahkan antara sel satu dengan yang lainnya. Muhammad (2001), menyatakan kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel tubular dimana struktur sel-selnya renggang, tidak teratur dan mudah rapuh.

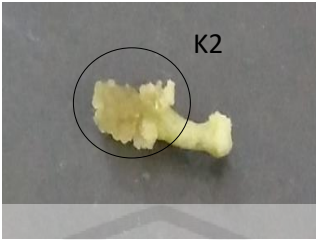
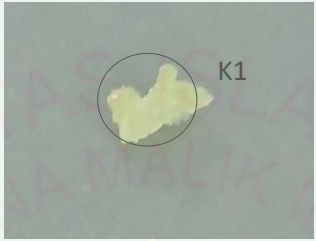
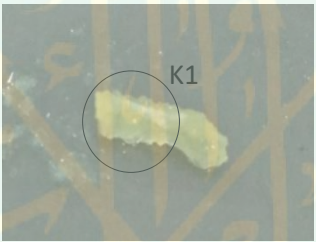
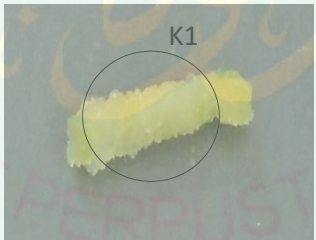
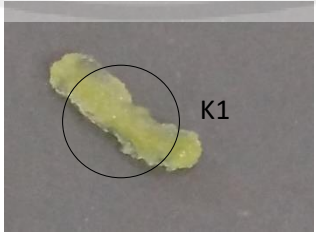
Tabel 4.7 Morfologi kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

No	Perlakuan (mg/L)	Gambar	Pengamatan Hari ke-30	
			Warna	Tekstur
1.	0 2,4 D + 0 BAP		-	-
2.	0,5 2,4 D + 0 BAP		Putih Kekuningan	Remah
3.	1 2,4 D + 0 BAP		Putih Kekuningan	Remah
4.	1,5 2,4 D + 0 BAP		Putih Kekuningan	Remah
5.	2 2,4 D + 0 BAP		Putih Kekuningan	Remah

6.	0 2,4 D + 0,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
7.	0,5 2,4 D + 0,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
8.	1 2,4 D + 0,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
9.	1,5 2,4 D + 0,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
10.	2 2,4 D + 0,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah

11.	0 2,4 D + 1 BAP		Hijau Kekuningan	Intermediet
12.	0,5 2,4 D + 1 BAP		Putih Kekuningan	Remah
13.	1 2,4 D + 1 BAP		Putih Kekuningan	Remah
14.	1,5 2,4 D + 1 BAP		Putih Kekuningan	Remah
15.	2 2,4 D + 1 BAP		Putih Kekuningan	Remah

16.	0 2,4 D + 1,5 BAP		Hijau Kekuningan	Intermediet
17.	0,5 2,4 D + 1,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
18.	1 2,4 D + 1,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
19.	1,5 2,4 D + 1,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah
20.	2 2,4 D + 1,5 BAP		Putih Kekuningan	Remah

21.	0 2,4 D + 2 BAP		Putih	Intermediet
22.	0,5 2,4 D + 2 BAP		Putih	Remah
23.	1 2,4 D + 2 BAP		Putih Kekuningan	Remah
24.	1,5 2,4 D + 2 BAP		Putih Kekuningan	Remah
25.	2 2,4 D + 2 BAP		Putih Kekuningan	Remah

Keterangan : K1: kalus remah K2: kalus campuran

Perbedaan warna kalus terlihat saat pertama kali muncul kalus sampai minggu ke-4 (akhir pengamatan). Hal ini mengindikasikan bahwa kalus mengalami adaptasi dengan media pertumbuhan seiring dengan pertumbuhan kalus. Menurut Hajoko (1999) dalam Rahayu (2003), menyatakan bahwa berlanjutnya pertumbuhan kalus akan di ikuti dengan perubahan warna kalus. Perbedaan warna kalus dapat disebabkan beberapa hal diantaranya pigmentasi, intensitas cahaya dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Hasil penelitian variabel warna kalus didapatkan tiga warna berbeda dari beberapa perlakuan, yaitu hijau kekuningan, putih kekuningan dan putih. Rata-rata dari semua perlakuan menghasilkan tekstur remah, warna putih kekuningan dan mengkilat. Hal ini kemungkinan dikarenakan kalus sedang mengalami masa pertumbuhan yang baik sehingga warna yang dihasilkan berbeda-beda. Seperti yang dikatakan oleh Mahadi *et al.* (2014) warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik.

Dalam kaitannya dengan pembentukan kalus embriogenik Peterson & Smith (1991) menyatakan bahwa kalus embriogenik dicirikan dengan warna kalus yang putih kekuningan dan mengkilat. Selain itu pendapat serupa juga dikemukakan oleh (Mahadi 2012), bahwa sel kalus yang embriogenik mempunyai ciri-ciri tekstur kalus remah dan mudah terurai, warna kalus putih kekuningan, tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik, dan sel-selnya mudah berkembang biak.

Hanifah (2007) mengemukakan pada penambahan sitokinin dengan konsentrasi yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama. Hal ini seperti pada perlakuan 2,4-D 0 mg/L yang dikombinasikan dengan (1 mg/L dan 1,5 mg/L) BAP yang menghasilkan warna hijau kekuningan, dan bertekstur intermediet. Menurut (Salisbury dan Ross, 1995). Pemberian sitokinin memberikan dua efek utama, yaitu memacu perkembangan etioplas menjadi kloroplas (khususnya dengan mendorong pembentukan grana) dan meningkatkan laju perkembangan klorofil.

Hasil berbeda dari warna kalus didapatkan pada perlakuan 2,4-D (0 mg/l, 0,5 mg/l) yang dikombinasikan dengan BAP 2 mg/l dengan warna kalus putih dengan tekstur remah dan intermediet. Warna putih disebabkan karena jaringan penyusun kalus belum mengandung kloroplas. Menurut Turo (1998), kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi mengandung butir pati yang tinggi. Selain itu Fatmawati (2008), juga menjelaskan bahwa yang berwarna putih atau terang mengindikasikan bahwa pertumbuhan kalus dalam keadaan cukup baik. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena adanya pigmentasi warna yang mengalami degradasi.

Kalus yang bertekstur remah mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal. Terbentuknya kalus remah dapat dipengaruhi oleh jenis eksplant dan hormon yang digunakan. Pada umumnya kalus remah dapat dihasilkan secara langsung dari berbagai jenis tanaman dan tipe eksplan, upaya untuk mendapatkan kalus remah dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi 2,4-D (Mahadi, 2016). Kalus dengan

tekstur remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Tekstur kalus yang remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak.

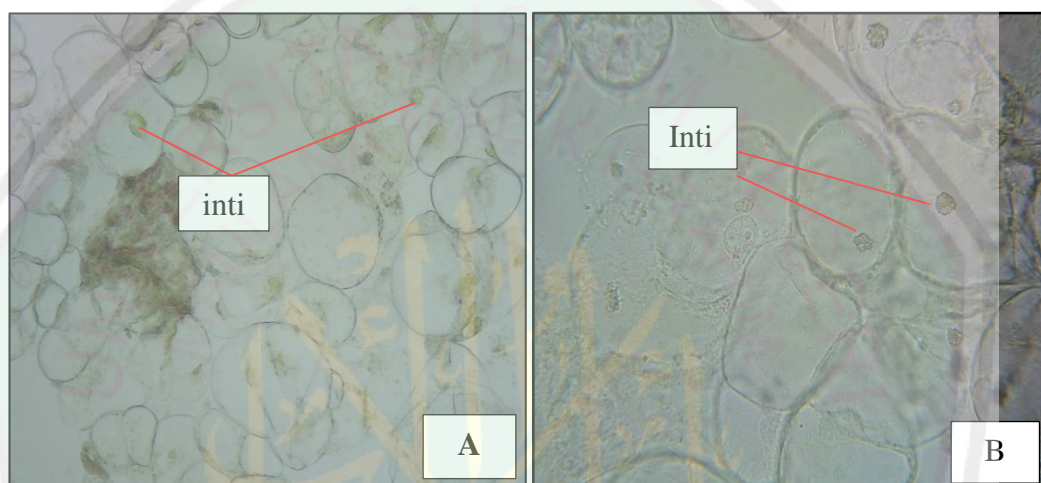
Morfologi kalus yang didapatkan pada penelitian ini dapat diduga merupakan kalus embriogenik. Struktur kalus embriogenik yang diperoleh dari pengamatan morfologi didukung dengan hasil pengamatan anatomi dengan menggunakan mikroskop. Menurut Gunawan (1987), kalus embriogenik secara visual dicirikan dengan struktur kalus yang remah dan berwarna putih bening atau kekuningan, serta memiliki sitoplasma yang padat, vakuola kecil-kecil, mengandung butir pati, dan memiliki inti besar.

4.5 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Anatomi Kalus Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Kalus embriogenik merupakan kalus yang tujuannya sebagai bahan awal suspensi. Jika diamati secara morfologi kalus embriogenik mempunyai ciri ciri tekstur kalus remah dan mudah terurai, warna kalus putih hingga kuning, tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik, dan sel-selnya mudah berkembang biak (Mahadi 2012). Sedangkan kalus yang non embriogenik berwarna kuning kecokelatan, agak pucat, dan lembek berair sehingga sulit dipisahkan (Peterson & Smith 1991).

Berdasarkan hasil pengamatan anatomi menggunakan mikroskop kalus embriogenik dapat dicirikan dengan bentuk sel pendek-pendek, berinti besar dan

mengandung banyak sitoplasma. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Gunawan (1987) kalus embriogenik secara visual dicirikan dengan struktur kalus yang remah dan berwarna putih bening atau kekuningan, serta memiliki sitoplasma yang padat, vakuola kecil-kecil, mengandung butir pati, dan memiliki memiliki inti besar.



Gambar 4.10 : Pengamatan anatomi kalus remah pada berbagai perlakuan (a) perbesaran 100x perlakuan 2,4-D 1,5 mg/L + BAP 1 mg/L (b) perbesaran 400x 2,4-D 1,5 mg/L + BAP 1 mg/L

Hasil penelitian diduga pada semua perlakuan zat pengatur tumbuh rata-rata mencirikan kalus embriogenik, baik pada perlakuan tunggal maupun perlakuan kombinasi. Hal ini dikarenakan eksplan hipokotil yang digunakan memiliki sifat totipotensi besar dibandingkan eksplan lain sehingga baik untuk dijadikan bahan eksplan. Seperti yang dikemukakan oleh Hendaryono dan Wijayani (1994), hipokotil lebih banyak memiliki jaringan pengangkut dan sifat totipotensinya lebih besar dari pada kotiledon. Bagian tanaman yang banyak mengandung

jaringan pengangkut adalah yang paling baik untuk dijadikan sebagai bahan eksplan.

Pernyataan Sitinjak (2005) dalam penelitian Khumaida dan Handayani (2010) bahwa induksi kalus embriogenik pada kultur meristem jahe dibutuhkan kombinasi konsentrasi optimum 2,4-D dan BA, yang mampu meningkatkan sensitivitas sel dari jaringan eksplan untuk mengaktifkan kembali siklus sel dan inisiasi pembentukan embrio atau kombinasi konsentrasi hormon yang mampu mengaktifkan gen-gen spesifik untuk induksi kalus embriogenik.

4.6 Hasil Penelitian Kalus Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dalam Pandangan Islam

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) tergolong famili Ranunculaceae merupakan salah satu jenis tanaman herba yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya timur tengah sebagai obat dan rempah. Saat ini kebutuhan jintan hitam di Indonesia masih mengimpor dari negara timur tengah. Oleh sebab itu perbanyak tanaman dengan menggunakan metode kultur jaringan (*in vitro*) dapat diterapkan baik secara langsung dari organ tanaman ataupun melalui fase kalus (Zulkarnain, 2009). Pada metode kultur jaringan media tanam yang digunakan harus terkandung unsur hara makro dan mikro agar pertumbuhan dapat berlangsung.

Media bagi suatu tanaman merupakan kebutuhan utama untuk tumbuh yang didalamnya mengandung unsur hara makro maupun mikro. Sedangkan dalam penelitian ini media tanam yang digunakan berupa agar yang diberi formulasi

nutrisi sesuai dan identik dengan media tanaman (tanah) pada umumnya. Tanah merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari kehidupan tumbuhan karena tanah dapat merupakan media bagi tumbuhan yang hidup di atasnya, sumber nutrisi dan tempat melekatkan diri dengan akarnya (Sasmitamihardja dan Siregar, 1985). Kemampuan tanah sebagai habitat tanaman dan menghasilkan bahan yang dapat dipanen sangat ditentukan oleh tingkat kesuburan. Allah SWT berfirman dalam surat Al- A'raf ayat 58 sebagai berikut:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ تَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا تَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا
كَذَلِكَ نُنصِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يُشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

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

Ayat tersebut menjelaskan bahwa segala macam tumbuhan dapat tumbuh dengan baik apabila tanahnya subur. Sedangkan tanah yang buruk adalah tanah yang tidak subur. Menurut tafsir Ibnu Katsir “tanah yang subur yakni tanah yang baik yang mengeluarkan tumbuhan dengan cepat dan subur. Sehubungan dengan makna ayat di atas bahwa tanah yang subur merupakan tanah mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup. Ayat di atas menjelaskan tanah merupakan Dengan seizin Allah SWT tanaman tersebut dapat hidup dengan media tanaman atau eksplan dapat tumbuh dengan baik apabila berada pada suatu keadaan atau lingkungan yang mendukung.

Dibalik pentingnya media MS untuk pertumbuhan eksplan tanaman, ternyata pada kultur jaringan masih ada faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan yakni zat pengatur tumbuh. Kebutuhan tanaman akan zat pengatur tumbuh berbeda-beda. Hal ini telah dituliskan dalam Al-Qur'an surah Al-Qamar ayat 49 sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

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

Dalam ayat di atas dijelaskan bahwa “Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya”. Seperti halnya pada penelitian ini, dalam penelitian ini menggunakan 5 macam konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dikombinasikan agar mendapat suatu komposisi media MS yang paling efektif untuk pertumbuhan kalus. Dengan media pertumbuhan yang sesuai kalus hipokotil jintan hitam akan tumbuh dengan optimal.

Sebagai seorang khalifah manusia memiliki tugas mengelola alam seoptimal mungkin. Selain itu manusia diciptakan untuk menjadi penguasa yang mengatur apa apa yang ada di bumi, seperti tumbuhan, hewan, hutan, air, sungai, gunung, laut dan lain sebagainya yang seyogyanya manusia harus mampu memanfaatkan segala apa yang ada di bumi ini untuk kemaslahatannya.

Hasil penelitian ini menunjukkan kebesaran dan kekuasaan Allah SWT bahwa calon batang yang ditanam pada media yang sesuai akan membentuk kalus dan berdeferensiasi membentuk tanaman yang utuh. Dari hasil tersebut

Allah SWT telah menunjukkan tahapan kehidupan sebuah tanaman. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai khalifah untuk semakin mendekatkan diri kepada Allah SWT.

Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan sempurna. Sehingga apabila di pelajari lebih lanjut dapat diketahui bahwa teknik kultur jaringan khususnya teknik kultur kalus terdapat kelebihan dan kekurangan. Karena teknik kultur kalus jantan hitam ini merupakan hasil pemikiran manusia sehingga terdapat kekurangan. Namun demikian, hasil pemikiran ini juga mempunyai manfaat tersendiri yaitu sebagai salah satu alternatif untuk meningkatkan budidaya jantan hitam pada kalus embriogenik. Ini merupakan bentuk anugerah akal yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia agar selalu bersyukur atas nikmat dan karunia.

Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada para petani bahwa dengan kultur jaringan akan menghasilkan bibit lebih cepat, hasil yang banyak dan tidak tergantung musim. Sedangkan untuk para petani khususnya yang berada di perkotaan, dengan metode kultur budidaya tanaman tidak tergantung lagi dengan luasnya lahan yang ada.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap kalus embriogenik jintan hitam, maka dapat diambil kesimpulan.

1. Konsentrasi efektif 2,4-D yaitu 1,5 mg/L mampu menginduksi kalus jintan hitam dengan rata-rata hari muncul kalus 16,27 HST persentase terbentuknya kalus 100 % dan berat basah kalus 0,0893 gr.
2. Konsentrasi efektif BAP yaitu 0,5 mg/L mampu menginduksi hari muncul kalus 17,67 HST, persentase terbentuknya kalus 93,333% dan berat basah kalus 0,0887 gram.
3. Konsentrasi efektif 2,4-D dan BAP yaitu pada kombinasi 1,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP menghasilkan hari muncul kalus 15,33 hari, persentase terbentuknya kalus 100% dan berat basah kalus 0,096 gram dengan warna kalus putih kekuningan, bertekstur remah dan terlihat adanya inti sel.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan subkultur untuk mendapatkan kalus embriogenik tebih habituate
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjutan mengenai embriogenik somatic.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Acquaah, G. 2004. *Understanding Biotechnology, an Integrated and Cyber-Based Approach*. New Jersey: Pearson Prentice Hall.
- Armini, A.N. M., Wattimena dan L.W. Gunawan, 1992. *Perbanyakan Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi: Institut Pertanian Bogor.
- Badary OA, Gamal El-Din AM . 2001. Inhibitory Effects of Thymoquinone Against 20-Methyl Cholanthrene-Induced Fibrosarcoma Tumorigenesis. *Cancer Detec Prev*. 25:362–368.
- Chaudhry, Hera; Nida Fatima² and Iffat Zareen Ahmad. 2014. Establishment of Callus and Cell Suspension Cultures of *Nigella sativa* L. for Thymol Production. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (1).
- D' Antuono LF, Moretti A, Lavato AFS. 2002. Seed Yield, yield Components, Oil Content and Essential Oil Content and Composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Industrial Crops and Products*. 15: 59–69.
- Davies, J.P. 1995. Plant hormone: their nature, occurrence and function. In: P.J. Davies (ed.): *Plant Hormones: Phisiology, Biochemistry, and Moleculer Biology*. Boston: Kluwer Academic Publisher.
- Dewita, R. 2015. *Respons Eksplan Daun Artemisia Vulgaris* L. terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi Benzyl Amino Purine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Skripsi Sarjana Biologi. Universitas Andalas. Padang.
- Dixon, R. A and R. A. Gonzales. 1994. *Plant cell Culture. Apractical Approach Second Edition*. Oxford University Press: Oxford.
- Dodds, J. H., dan L.W. Robert. 1983. *Experiment in Plants Tissue Culture*. London: Cambridge University Press.
- Estiti, Hidayat. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung. ITB. Hal:68.

- Evans, DE., J.O.D. Coleman dan A. Keams. 2003. *Plant Cell Culture*. New York: BIOS Scientific Publisher.
- Fadhilah, Nazhiral; Zozy Aneloi dan Suwirmen. 2015. Induksi Kalus *Artemisia vulgaris* L. dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. (ISSN : 2303-2162).
- Fatmawati, A. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Tanaman *Artemisia annua* L. secara *In Vitro*. *Skripsi*. UNS. Surakarta.
- Fikriati, Umi Imtihanah. 2009. Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Ba dan Naa. *Tugas Akhir*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Fitriani, H. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua* L. secara *In Vitro*. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian UN.
- George, E.F and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Comercial Laboratoryes*. England: Easter Press.
- Ghazali, Bahri. 1996. *Lingkungan Hidup dalam Pemahaman Islam*. Jakarta: Pedoman Ilmu Jaya. Cet. I, h. 14.
- Govinden-SoulangeJ, Boodia N, Dussooa C, Gunowa R, Deensah S, Facknath S, Rajkomar B. 2009. Vegetative Propagation and Tissue Culture of *Hibiscus sabdariffa* L. (Roselle). *World Journal of Agricultural Sciences*.5(5): 651–661.
- Gunawan, L. W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: Pusat antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. 245p.
- Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur In Vitro dalam Holtikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya. hal: 6, 41-43, 50-51.
- Guruchandran V, Sasikumar C. 2013. Organogenic Plant Regeneration Via Callus Induction in *Stevia rebaudiana* Bert. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2(2):56-61.
- Hanifah, N. 2007. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.

- Harahap, F. 2005. Induksi Variasi Genetik Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Radiasi Sinar Gamma. *Disertasi*. Bogor. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. p:131.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenal dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif Media)*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, and F.T. Davies. 1990. *Plant Propagation: Principles and Practices* .5thed. Singapore: Prentice Hall Inc.
- Hayati, KS, Nurchayati Y, Setiari N, 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* I.) secara *in vitro* dengan Penambahan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan *α -Naphthalene Acetic Acid* (NAA). *Jurnal BIOMA*. 12 (1) : 6-12, ISSN: 1410-8801.
- Hussain, Deena A.S dan M. Musharraf Hussain. 2016. *Nigella sativa* (black seed) is an Effective Herbal Remedy for every Disease Except Death a Prophetic Statement which Modern Scientists Confirm Unanimously: A review. *Advancement in Medicinal Plant Research*. 4(2), pp. 27-57.
- Indah, P.N. Dan Dini, E. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1). Hal : E1-E6.
- Jamil, Ahmad Shobrun. 2010. Pemanfaatan Biji *Nigella sativa* dalam Terapi Penyembuhan Kanker dan Gangguan Metabolisme. *Jurnal Farmasi dan Ilmu kesehatan*. 1 (1). Hal. 1-101.
- Khaniyah, S. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura Prochumbens*) dengan Penambahan 2,4-D dan Kinetin secara *In Vitro*. *Biosantifika*. 2(4).
- Khoulenjani, M.B., M.S. Salamati. 2011. Morphological Reaction and Yield of *Nigella sativa* L. to Fe and Zn. *African. J. Agric. Res*. 7:2359-2362.
- Krikorian, A. D. 1995. Hormones in Tissue Culture & Micropropagation. *Plant hormones*. 774–796.
- Lestari. 2012. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4 *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan 6-Benzylaminopurine (BAP) terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji Angrek *Dendrobium laxyflorum* secara *In Vitro*, *Tugas Akhir Jurusan Biologi*. Institut Teknologi Sepuluh November: Surabaya.
- Litz, R.E and D.J. Gray. 1995. Somatic Embryogenesis for Agriculture Improvement. *World. Jour. Microbiol. And Biotech*. 11 : 416–425.

- Lizawati, Neliyati, R. Desfira. 2012. Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr cv Selat Jambi) pada beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP. 2012. ISSN : 2302-6472 1 (1).
- Mahadi I, Wulandari S, Omar A. 2014. Pengaruh *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi bagi Siswa SMA. *Jurnal Biogenesis*. 11(1): 1-7.
- Maheldaswara, D. 2008. *Tanaman Jati Emas*. Yogyakarta: Kanisius
- Mandang, J. P. 1993. Peranan Air Kelapa dalam Kultur Jaringan Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium*). *Disertasi*. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Manurung, L.Y.S. 2007. Pengaruh Auksin (2,4-D) dan Sitokinin (BAP) dalam Kultur *In vitro* Buah Makasar (*Brucea javanica* L. Merr.). *Skripsi*. Fakultas Kehutanan Insitut Pertanian Bogor. 56 hal.
- Marlin., Yulian., Hermansyah. 2005. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang (Curup) dengan Pemberian Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *J. Agrivigor*. 11 (2): 275-283.
- Mattjik, N.A. 2005. *Peran Kultur Jaringan dalam Perbaikan Tanaman*. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.
- 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 Black seed (*Nigella sativa* L.) Extracts. *Brazilian. Journal of Medical and Biological Research*. 40: 839-847.
- Meneses, A., D. Flores, M. Munoz, G. Arrieta, A.M. Espinosa. 2005. Effect of 2,4-D, Hydric Stress and Light on Indica Rice (*Oryza sativa*) Somatic Embryogenesis. *Rev Biol Trop (Int J)*. 53(3-4): 361-368.
- Muhtasib HG, El-Najjar N, Stock RS. 2006. The Medicinal Potential of Black seed (*Nigella sativa*) and its Components. *Lead Molecules from Natural Products*.
- Murashige, T dan Skoog. 1962. *A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures*. *Physiologia Plantarum dalam Zulkarnain, 2009. Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara: Jakarta.
- Nazza, Yusria. 2013. Induksi Pegagan (*Centella asiatica*) pada Media MS dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasikan dengan Air Kelapa. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Pangaribuan, D.H. 2010. Daftar Peubah Penelitian Tomat. <http://staff.unila.ac.id/bungdarwin>. Diakses 11.44 tanggal 12 Desember 2017
- Peterson, G., R. Smith. 1991. Effect of Abscicic Acid and Callus Size on Regeneration of American and International Rice Varieties. *Plant Cell Rep* 10: 35-38.
- Pratiwi, Endang dan Tintrim Rahayu. 2013. Uji Hormon NAA dan BAP dalam Medium MS untuk Pertumbuhan Eksplan Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dari Berbagai Sumber Eksplan. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. 1(1).
- Primasari, Wahyu. 2008. Kultur *In-Vitro* Tomat Varietas Idola dengan Eksplan Hipokotil, Kotiledon dan Tunas Pucuk. *Skripsi*. Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Putri, Y. S. 2015. Pertumbuhan Kalus *Stevia rebaudiana* Bertoni dari Eksplan Daun dan Ruas Batang dengan Periode Subkultur berbeda. *Skripsi*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Bogor. 14 hal.
- Raghavan, V. 1986. *Embryogenesis of Angiosperms: A Developmental and Experimental Study*. Cambridge University Press: New York.
- Rahayu, Bakti Solichatun, dan Endang Anggar wulan. 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).
- Rahmi I, Suliansyah I, Bustamam T. 2010. Pengaruh Pemberian beberapa Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tunas Pucuk Jeruk Kanci (*Citrus* sp.) Secara *In Vitro*. *Jerami*.
- Rajsekhar, S., B. Kuldeep. 2011. Pharmacognosy and Pharmacology of *Nigella sativa*. *Review. Inter. Res. J. Phar.* 2:36-39.
- Rusdianto dan Indrianto, Ari. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucas carota* L.) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature*. 13 (2) : 136-140.
- Salem ML. 2005. Immunomodulatory and Therapeutic Properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int. Immunopharmacology*. 5:1749-1770.
- Salisbury, F.B. and Ross, C. W. 1992. *Plant Physiology*. Wadworth Publishing Co. Diterjemahkan oleh Dian, R. L. dan Sumaryono. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Santoso, Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.

- Sari, Novita, Evie Ratnasari, Isnawati. 2013. "Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6- Bencil Aminopurin (BAP) pada Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.)" JUL". *LenteraBio* 2(1):70.
- Shihab, Muhammad Quraish. 2001. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. 2014. Wawasan Al-Qur'an, Tafsir Tematik atas berbagai Persoalan Umat. Jakarta: Mizan Pustaka, Cet. 1, h. 358.
- Sudarmadji. 2003. Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas secara *In Vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*. 8 -10.
- Sugiyarto, Lili dan Paramita Cahyaningrum Kuswandi. 2014. "Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzyl Aminopurin (BAP) terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta Analisis Kandungan Flavonoid Total". *Jurnal Penelitian Sainstek* 19(1).
- Suhartati dan Nursyamsi. 2007. Pengaruh Komposisi Media WPM dan BAP pada Pertumbuhan Bibit Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Perbanyakkan secara *In Vitro*. *Info Hutan*. IV(4): 379-384.
- Sukmadjaja, D. 2005. Embryogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Cendana. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 10(1):1—6
- Suryadi, Rudi., Munif Ghulamahdi2., dan Ani Kurniawati. 2015. Respon Pertumbuhan dan Produksi Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Pemupukan Nitrogen dan Fosfor. *J. Agron. Indonesia* 43 (3) : 227 – 234.
- Suryadi, Rudi. 2016. Perubahan Karakter Fisiologi dan Senyawa Sekunder Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) di Indonesia. *Warta Berita Balitro*. 33(65).
- Suryowinoto. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Surbarnas, A. 2011. *Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung: CV. Lubuk Agung.
- Talafih, K.A., N.I. Haddad, B.I. Hattar, K. Kharallah. 2007. Effect of some Agricultural Practices on the Productivity of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Grown Under Rainfed Semi-arid Conditions. *Jordan J. Agric. Sci.* 3:385-397.
- Taryono. 2012. *Pengantar Bioteknologi Tanaman*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Triana, Febriyanti. 2015. Induksi Kalus pada Eksplan Daun Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia*) secara *In Vitro* dengan Konsentrasi 2,4-D dan Bap

- yang berbeda. *Artikel Program Studi Pendidikan Biologi*. Solo: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Tsuro, M. 1998. Comparison Effect Of Different Types Of Cytokinin For shoot formation and plant regeneration In Leaf Derivat Callus Of Lavender (*Lavandura vera* DC). Kyoto Prefecural Japan. 606-8522.
- Turhan, H. 2004. Callus Induction and Growth in Transgenic Potato Genotypes. *African. Journal of Biotechnology*, 3(8), 375-378.
- Wahyuni, S. 2009. Peluang Budidaya dan Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15:23-25.
- Waluyo EB. 2009. Etnobotani: Memfasilitasi Penghayatan, Pemutakhiran Pengetahuan dan Kearifan Lokal dengan Menggunakan Prinsip-prinsip Dasar Ilmu Pengetahuan. Prosiding Seminar Etnobotani IV. Cibinong Science Center-LIPI, Cibinong.
- Wardani, Dian P., Sholicatum., Ahmad D.S. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaerth. Pada Variasi Penambahan 2,4-D dan Kinetin: *Biofarmasi*. 2(1):35-43.
- Wetherell, D. F.1976. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Terjemahan: Gunawan. IKIP Semarang Pres.
- Widjaja EA, Rahayuningsih Y, Rahajoe JS, Ubaidillah R, Maryanto I, Walujo EB, Semiadi G. 2014. Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia. LIPI Press. Kementerian Lingkungan Hidup dan Bappenas.
- Wijayani, A. 2002. Pengaruh Bahan Eksplan Terhadap Pertumbuhan Melati (*Jasminum sambac* Ait) secara *In vitro*. *Agrivet* 6 (1) : 13-22
- Yuwono, T. 2008. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press:
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: Bumi Aksara

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Hari Muncul Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4 D	BAP	1	2	3		
1	0	0	31	31	31	93	31
2	0.5		21	20	19	60	20
3	1		22	22	21	65	21.6667
4	1.5		18	18	13	49	16.3333
5	2		13	23	15	51	17
6	0	0.5	20	19	20	59	19.6667
7	0.5		19	20	19	58	19.3333
8	1		16	17	20	53	17.6667
9	1.5		14	16	16	46	15.3333
10	2		17	15	17	49	16.3333
11	0	1	25	22	24	71	23.6667
12	0.5		20	19	20	59	19.6667
13	1		18	16	16	50	16.6667
14	1.5		16	17	14	47	15.6667
15	2		17	14	16	47	15.6667
16	0	1.5	26	26	24	76	25.3333
17	0.5		22	23	14	59	19.6667
18	1		15	18	12	45	15
19	1.5		16	17	15	48	16
20	2		18	20	16	54	18
21	0	2	27	25	29	81	27
22	0.5		16	24	23	63	21
23	1		19	18	21	58	19.3333
24	1.5		17	18	19	54	18
25	2		23	22	24	69	23
Total			384	393	1	1139	379.6667

2. Data Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4 D	BAP	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0.5		100	50	100	250	83.3333
3	1		100	100	100	300	100
4	1.5		100	100	100	300	100
5	2		100	100	100	300	100
6	0	0.5	50	100	100	250	83.3333
7	0.5		100	50	100	250	83.3333
8	1		100	100	100	300	100
9	1.5		100	100	100	300	100
10	2		100	100	100	300	100
11	0	1	100	100	100	300	100
12	0.5		100	100	100	300	100
13	1		100	100	100	300	100
14	1.5		100	100	100	300	100
15	2		100	100	100	300	100
16	0	1.5	100	50	100	250	83.3333
17	0.5		100	100	100	300	100
18	1		100	100	100	300	100
19	1.5		100	100	100	300	100
20	2		50	100	100	250	83.3333
21	0	2	50	100	50	200	66.6667
22	0.5		50	100	100	250	83.3333
23	1		100	100	100	300	100
24	1.5		100	100	100	300	100
25	2		100	100	100	300	100
Total			1800	1750	1900	5450	1816.67

3. Data Pengamatan Berat Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	2,4 D	BAP	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0.5		0.0295	0.0494	0.0804	0.1593	0.0531
3	1		0.1072	0.08	0.0912	0.2784	0.0928
4	1.5		0.0974	0.126	0.0793	0.3027	0.1009
5	2		0.0667	0.0607	0.0447	0.1721	0.05737
6	0	0.5	0.0421	0.0422	0.0364	0.1207	0.04023
7	0.5		0.0983	0.0823	0.107	0.2876	0.09587
8	1		0.1023	0.0974	0.1234	0.3231	0.1077
9	1.5		0.1088	0.1256	0.1121	0.3465	0.1155
10	2		0.0922	0.1264	0.0912	0.3098	0.10327
11	0	1	0.0432	0.0546	0.0345	0.1323	0.0441
12	0.5		0.0943	0.0982	0.0957	0.2882	0.09607
13	1		0.1299	0.1023	0.1167	0.3489	0.1163
14	1.5		0.1033	0.0999	0.0943	0.2975	0.09917
15	2		0.0916	0.0903	0.0852	0.2671	0.08903
16	0	1.5	0.0192	0.0207	0.0211	0.061	0.02033
17	0.5		0.0445	0.0321	0.046	0.1226	0.04087
18	1		0.0734	0.0692	0.0823	0.2249	0.07497
19	1.5		0.0845	0.0976	0.0729	0.255	0.085
20	2		0.0987	0.0732	0.0844	0.2563	0.08543
21	0	2	0.0213	0.0185	0.026	0.0658	0.02193
22	0.5		0.0157	0.0243	0.0298	0.0698	0.02327
23	1		0.0459	0.0612	0.0587	0.1658	0.05527
24	1.5		0.0353	0.0456	0.0463	0.1272	0.0424
25	2		0.0456	0.0749	0.0407	0.1612	0.05373
Total			1.5271	1.5281	1.4988	4.554	1.518

Lampiran 2. Hasil Analisis Variansi (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%

1. a. Hasil analisis variansi pada hari muncul kalus hipokotil jintan hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HMK

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1142.720 ^a	24	47.613	9.837	.000
Intercept	28577.280	1	28577.280	5.904E3	.000
BAP	194.320	4	48.580	10.037	.000
D	734.587	4	183.647	37.944	.000
BAP * D	213.813	16	13.363	2.761	.003
Error	242.000	50	4.840		
Total	29962.000	75			
Corrected Total	1384.720	74			

a. R Squared = .825 (Adjusted R Squared = .741)

b. Uji Lanjut DMRT 5% hari muncul kalus

➤ 2,4-D

HMK

Duncan

D	N	Subset			
		1	2	3	4
1.5	15	16.2667			
2	15		18.0000		
1	15		18.0667		
0.5	15			19.9333	
0	15				25.3333
Sig.		1.000	.934	1.000	1.000

BAP

Duncan

Duncan BAP	N	Subset	
		1	2
0.5	15	17.6667	
1	15	18.2667	
1.5	15	18.8000	
0	15		21.2000
2	15		21.6667

HMK

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
D2B3	3	15.0000												
D3B1	3	15.3333	15.3333											
D3B2	3	15.6667	15.6667	15.6667										
D4B2	3	15.6667	15.6667	15.6667										
D3B3	3	16.0000	16.0000	16.0000										
D3B0	3	16.3333	16.3333	16.3333										
D4B1	3	16.3333	16.3333	16.3333										
D2B2	3	16.6667	16.6667	16.6667										
D4B0	3	17.0000	17.0000	17.0000	17.0000									
D2B1	3	17.6667	17.6667	17.6667	17.6667	17.6667								
D4B3	3	18.0000	18.0000	18.0000	18.0000	18.0000								
D3B4	3	18.0000	18.0000	18.0000	18.0000	18.0000								
D1B1	3		19.3333	19.3333	19.3333	19.3333	19.3333							
D2B4	3		19.3333	19.3333	19.3333	19.3333	19.3333							
D0B1	3		19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667						
D1B2	3		19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667					
D1B3	3		19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667	19.6667				

D1B0	3		20.0000	20.0000	20.0000	20.0000	20.0000				
D1B4	3			21.0000	21.0000	21.0000	21.0000				
D2B0	3				21.6667	21.6667	21.6667	21.6667			
D4B4	3					23.0000	23.0000	23.0000			
D0B2	3						23.6667	23.6667	23.6667		
D0B3	3							25.3333	25.3333		
D0B4	3								27.0000		
D0B0	3									31.0000	
Sig.		.171	.052	.052	.067	.067	.088	.061	.067	.085	1.000

2. a. Analisis ANAVA dan DMRT 5% persentase pertumbuhan kalus

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PersenTumbuhKalus

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	31800.000 ^a	24	1325.000	5.679	.000
Intercept	616533.333	1	616533.333	2.642E3	.000
BAP	4466.667	4	1116.667	4.786	.002
D	11800.000	4	2950.000	12.643	.000
BAP * D	15533.333	16	970.833	4.161	.000
Error	11666.667	50	233.333		
Total	660000.000	75			

b. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% terhadap persentase pertumbuhan kalus

➤ 2,4-D

Duncan

D	N	Subset	
		1	2
0	15	66.6667	
0.5	15		90.0000
2	15		96.6667
1	15		1.0000E2
1.5	15		1.0000E2
Sig.		1.000	.107

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 233.333.

➤ BAP

PersenTumbuhKalus

Duncan

BAP	N	Subset	
		1	2
0	15	76.6667	
2	15		90.0000
0.5	15		93.3333
1.5	15		93.3333
1	15		1.0000E2
Sig.		1.000	.107

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
D0B0	3	.0000		
D0B4	3		66.6667	
D1B0	3		83.3333	83.3333
D0B1	3		83.3333	83.3333
D1B1	3		83.3333	83.3333
D0B3	3		83.3333	83.3333
D4B3	3		83.3333	83.3333
D1B4	3		83.3333	83.3333
D2B0	3			1.0000E2
D3B0	3			1.0000E2
D4B0	3			1.0000E2
D2B1	3			1.0000E2
D3B1	3			1.0000E2
D4B1	3			1.0000E2
D0B2	3			1.0000E2
D1B2	3			1.0000E2
D2B2	3			1.0000E2
D3B2	3			1.0000E2
D4B2	3			1.0000E2
D1B3	3			1.0000E2
D2B3	3			1.0000E2
D3B3	3			1.0000E2
D2B4	3			1.0000E2
D3B4	3			1.0000E2
D4B4	3			1.0000E2
Sig.		1.000	.257	.278

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

1. a. Analisis ANAVA dan DMRT 5% berat kalus

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BBK

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1142.720 ^a	24	47.613	9.837	.000
Intercept	28577.280	1	28577.280	5.904E3	.000
BAP	194.320	4	48.580	10.037	.000
D	734.587	4	183.647	37.944	.000
BAP * D	213.813	16	13.363	2.761	.003
Error	242.000	50	4.840		
Total	29962.000	75			
Corrected Total	1384.720	74			

a. R Squared = .825 (Adjusted R Squared = .741)

b. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% berat kalus

➤ 2,4-D

BBK

Duncan

D	N	Subset			
		1	2	3	4
1.5	15	16.2667			
2	15		18.0000		
1	15		18.0667		
0.5	15			19.9333	
0	15				25.3333
Sig.		1.000	.934	1.000	1.000

➤ BAP

BBK

Duncan

BAP	N	Subset	
		1	2
0.5	15	17.6667	
1	15	18.2667	
1.5	15	18.8000	
0	15		21.2000
2	15		21.6667
Sig.		.190	.564

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 4.840.

BBK

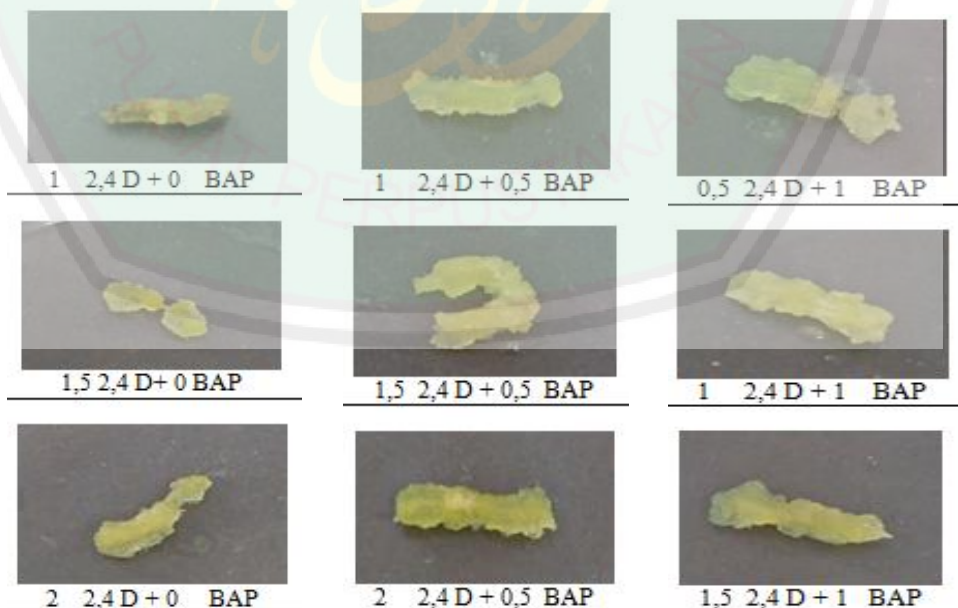
Duncan

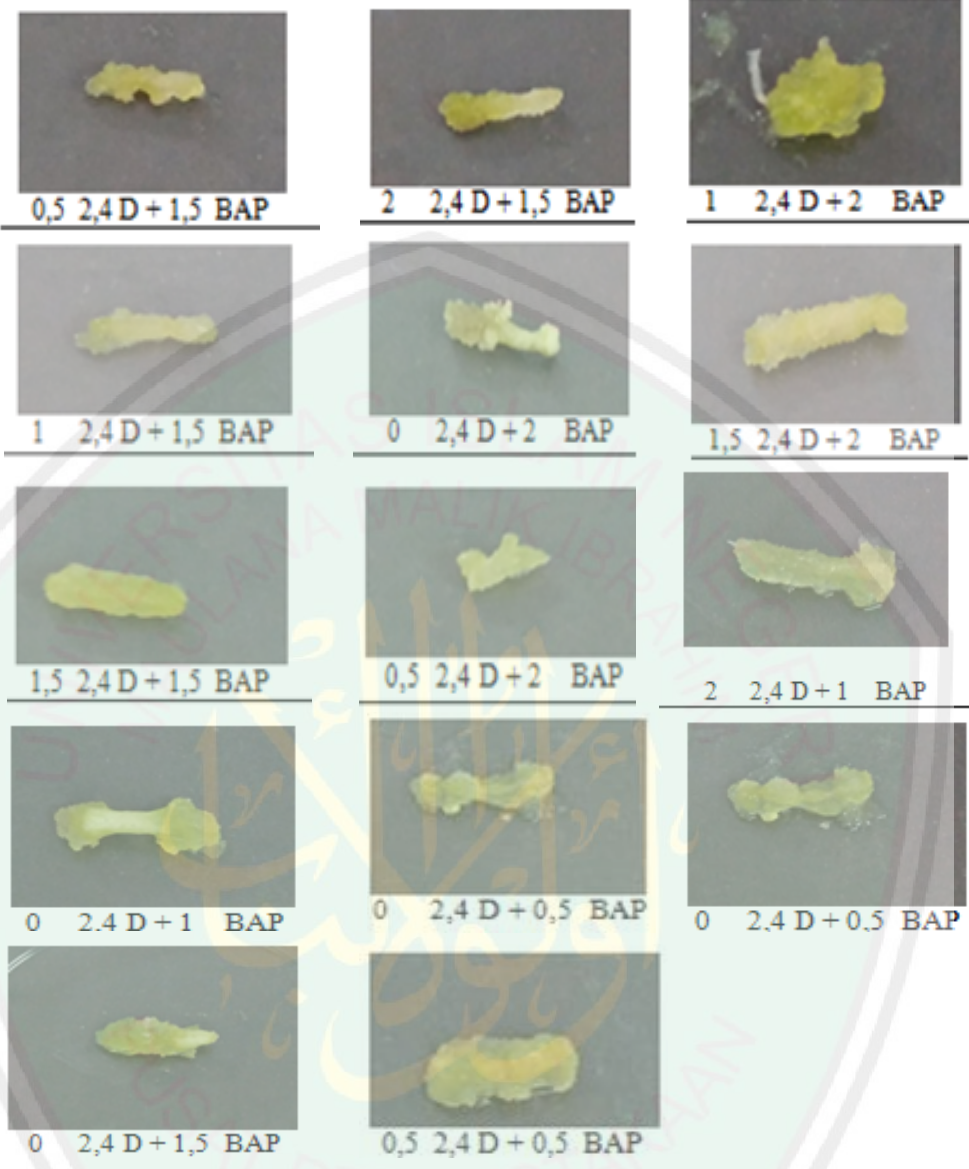
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
D0B0	3	,0000							
D0B3	3	,0200	,0200						
D0B4	3		,0233	,0233					
D1B4	3		,0233	,0233					
D0B1	3		,0400	,0400	,0400				
D0B2	3		,0400	,0400	,0400				
D1B3	3		,0400	,0400	,0400				
D3B4	3			,0467	,0467				
D1B0	3				,0533	,0533			
D4B4	3				,0533	,0533			
D2B4	3				,0567	,0567			

D4B0	3				,0567	,0567			
D2B3	3					,0733	,0733		
D3B3	3						,0833	,0833	
D4B3	3						,0833	,0833	
D4B2	3						,0900	,0900	
D2B0	3						,0933	,0933	,0933
D1B1	3						,0967	,0967	,0967
D1B2	3						,0967	,0967	,0967
D3B2	3						,0967	,0967	,0967
D3B0	3							,1033	,1033
D4B1	3							,1033	,1033
D2B1	3							,1067	,1067
D3B1	3								,1167
D2B2	3								,1167
Sig.		.063	.101	.055	.182	.095	.061	.065	.063

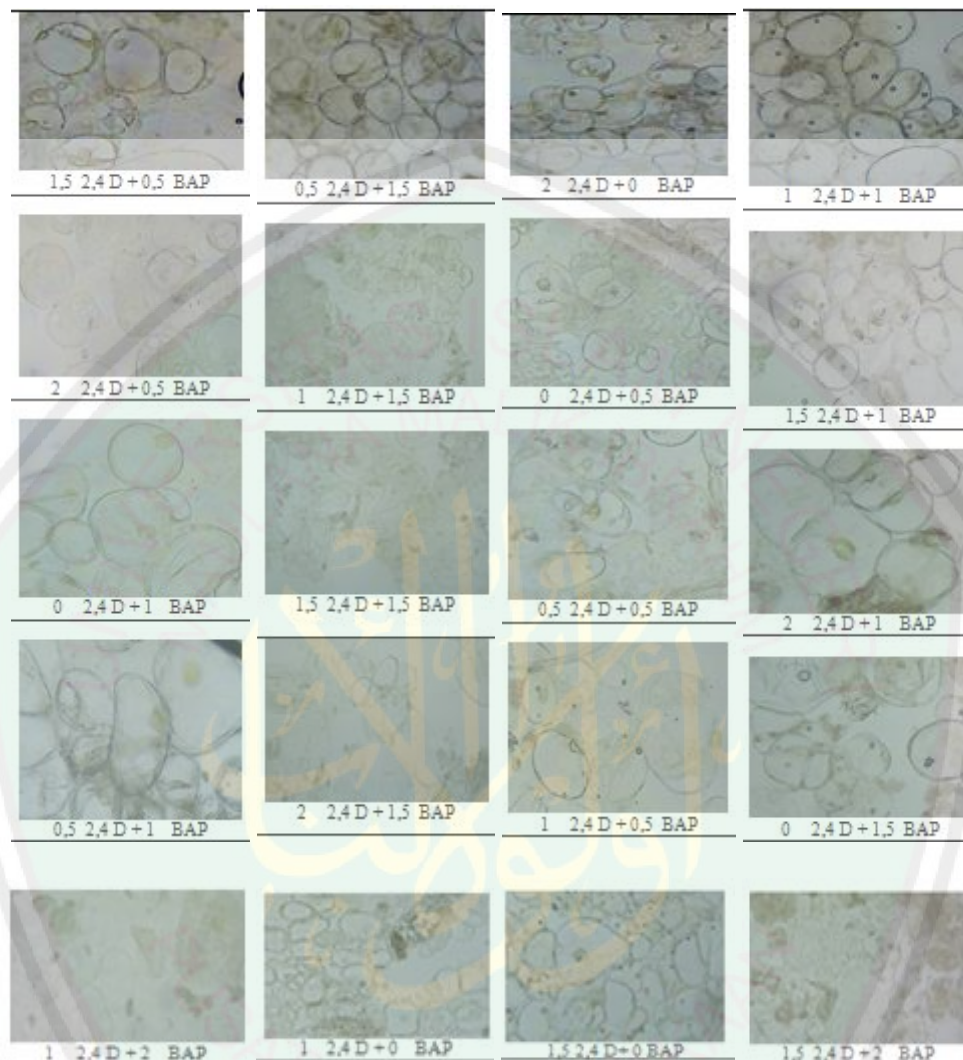
Lampiran 3. Gambar hasil penelitian

a. Morfologi kalus





b. Anatomi Kalus

**Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok**

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 BAP 100 ppm dalam 100 ml

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

Lampiran 5. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

1. Perlakuan Pemberian 2,4-D dan BAP

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 6. Alat-alat Penelitian



Autoklaf



Oven



Laminar air flow



Timbangan analitik



Hot plate



Kompore



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



Mikropipet dan tip



pH meter

Lampiran 7. Bahan-Bahan Penelitian

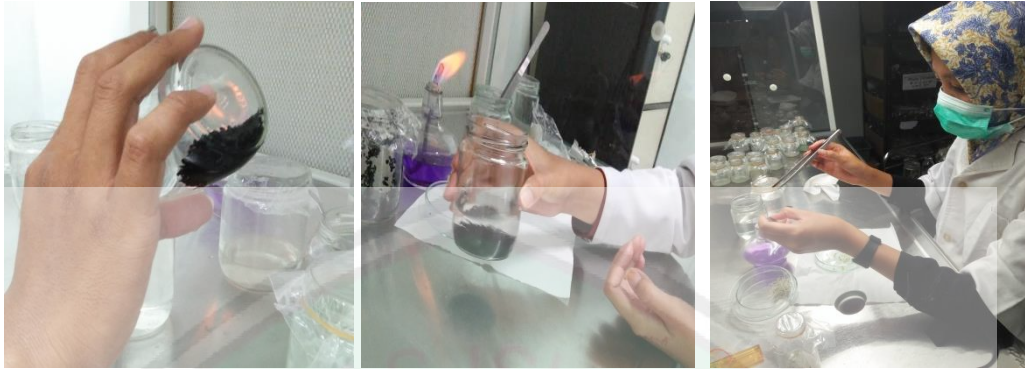


Lampiran 8. Foto Kegiatan

Proses Sterilisasi Eksplan



Proses Inisiasi Eksplan dan Pengamatan



Lampiran 9. Bukti Konsultasi



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 : Siti Mufidatunniswah S
NIM : 13620123
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 Embriogenik Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dengan Menggunakan Kombinasi 2,4-D dan BAP secara *In Vitro*

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



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu, Kematangan Profesional

Lampiran 10. Determinasi Tanaman Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 34 / 102.7 / 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Jintan Hitam**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SITI MUFIDATUNNISWAH S.
NIM : 13620123
Instansi : 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.

- 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 jinten hitam merupakan akar tunggang dan berwarna coklat.
- Nama Simplisia : *Nigellae sativae* semen, *Melanthii* semen/ Biji jinten hitam
- Kandungan : Minyak atsiri, melantin (saponin), nigelin (zat pahit), nigelon, timokinon, minyak lemak, dan zat samak. Biji dan daun *Nigella sativa* mengandung saponin dan polifenol.
- Penggunaan : Penelitian / Tugas Akhir
- 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 I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 26 Januari 2017
Kepala UPT Materia Medica Batu


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