

**INDUKSI KALUS DAUN NILAM ACEH (*Pogostemon cablin* Benth.)
DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH PICLORAM DAN
KINETIN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

MUZDALIFAH

NIM. 13620080



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

**INDUKSI KALUS DAUN NILAM ACEH (*Pogostemon cablin* Benth.)
DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH PICLORAM DAN
KINETIN 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:

MUZDALIFAH

NIM. 13620080

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)

MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2017

HALAMAN PERSETUJUAN

**INDUKSI KALUS DAUN NILAM ACEH (*Pogostemon cablin* Benth.)
DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH PICLORAM DAN
KINETIN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
MUZDALIFAH
NIM. 13620080

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 Oktober 2017

Pembimbing I,



Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIDT. 19790123 20160801 2 063

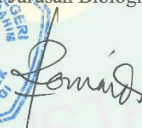
Pembimbing II,



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 DAUN NILAM ACEH (*Pogostemon cablin* Benth.)
DENGAN PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH PICLORAM DAN
KINETIN SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
MUZDALIFAH
NIM. 13620080

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

Tanggal: 26 Oktober 2017

Penguji Utama	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	Suyono, M.P NIP. 19710622 200312 1 002	
Sekretaris Penguji	Ruri Siti Resmisari, M.Si NIDT. 19790123 20160801 2 063	
Anggota Penguji	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 20142011409	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muzdalifah

NIM : 13620080

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)
dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Picloram dan Kinetin
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, Oktober 2017
Yang membuat pernyataan,



Muzdalifah
NIM. 13620080

MOTTO

وَأَنْ لَّيْسَ لِلْإِنْسَانِ إِلَّا مَا سَعَى ﴿٣٩﴾

Artinya: “dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya” (An-Najm: 39).

~Do'a, Usaha, Ikhtiar, Tawakkal~

~Dan yang terpenting adalah “Istiqomah”~



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 Lamat dan Ibu Rukhanah yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, nasihat dan do'a yang tiada henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta Adikku, M.Maulana Syafi'i Rozikin yang menjadi salah satu motivasiku dan yang selalu cinta kepadaku.

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada sahabatku, Wahyu Nuril Fitria dan Alvi Nur Laila Indahsari 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 khususnya Victy, Meike, Childa, Sayyidah, Yayang, Kamil, Qonita dan *team* KJT (Ismi, Pipit, Fida, Ari, Putro, Mas Beri, Mike, Herlina dan Maya) terima kasih sudah memberi motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung.

Tak lupa kepada pengasuh Asrama PPAP "Nurul Ummah", Bapak Drs. H. Sabilul Rosyad dan Ibu Hj. Aminatuz Zahroh terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di asrama. Tak lupa pula kepada teman-teman asrama khususnya Tri Puji A11 dan kamar B1 (Nadia, Nizar, Linda, Manyo, Izza, Mardiyah dan Mia) yang selalu membuat suasana ceria dan menghiasi kamar dengan canda tawa yang terkadang mengusik ketenanganku :-D

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 Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Picloram dan Kinetin 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 haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan *Jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si, dan M.Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, 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 Lamat dan Ibu Rukhanah serta adik Maulana 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 selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

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

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR.....	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
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	10
2.1.1 Nilam dalam Perspektif Islam	10
2.1.2 Klasifikasi.....	13
2.1.3 Deskripsi Tanaman.....	14
2.1.4 Kandungan dan Manfaat Nilam	16
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan.....	18
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan.....	18
2.2.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tumbuhan	20
2.3 Kultur Kalus	22
2.3.1 Tekstur Kalus	24
2.3.2 Warna kalus.....	25
2.3.3 Berat Kalus.....	27
2.4 Zat Pengatur Tumbuh.....	27
2.4.1 Picloram	28
2.4.2 Kinetin.....	30
2.4.3 Kerja Auksin dan Sitokinin	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	33
3.2 Rancangan Penelitian	33
3.3 Variabel Penelitian	34

3.4	Alat dan Bahan	34
3.4.1	Alat	34
3.4.2	Bahan.....	35
3.5	Langkah Kerja	35
3.5.1	Sterilisasi Alat	35
3.5.2	Pembuatan Media	36
3.5.2.1	Media Stok Hormon	36
3.5.2.2	Media Induksi Kalus	36
3.5.3	Sterilisasi Ruang Tanam	37
3.5.4	Sterilisasi Eksplan	37
3.5.5	Induksi Kalus.....	38
3.5.6	Parameter	38
3.6	Analisis Data	39
3.7	Desain Penelitian.....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	41
4.2	Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	48
4.3	Pengaruh Kombinasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	50
4.4	Tekstur Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	53
4.5	Warna Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	56
4.6	Hasil Penelitian tentang Kalus dalam Perspektif Islam	60
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan.....	67
5.2	Saran	67
DAFTAR PUSTAKA		68
LAMPIRAN		77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Nilam	16
Gambar 2.2 Tekstur Kalus Stevia (A) kalus kompak (B) kalus intermediet (B1 = kalus kompak, B2 = kalus remah) (C) kalus remah	25
Gambar 2.3 Warna Kalus Kopi Liberka Tungkal Jambi (<i>Coffea liberica</i> Var. Liberica Cv. Tungkal Jambi) yang berumur 12 Minggu Setelah Kultur	26
Gambar 2.4 Struktur Kimia Picloram	29
Gambar 2.5 Struktur Kimia Kinetin.....	30
Gambar 2.6 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin	31
Gambar 3.1 Desain Penelitian	40
Gambar 4.1 Kurva Hari Muncul Kalus (HST) Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) pada Konsentrasi Picloram (mg/L)	45
Gambar 4.2 Kurva Persentase Pertumbuhan Kalus Daun nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) pada Konsentrasi Picloram (mg/L)	46
Gambar 4.3 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>) pada Konsentrasi Picloram (mg/L)	47
Gambar 4.4 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>) pada Konsentrasi Kinetin (mg/L).....	49
Gambar 4.5 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>) pada Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin (mg/L)	52
Gambar 4.6 Tekstur Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	55

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Tabel Kombinasi Perlakuan Picloram dan Kinetin.....	34
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	41
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	42
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	48
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	48
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	50
Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	51
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Tekstur Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	54
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Warna Kalus Daun Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Data Hasil Pengamatan.....	77
Lampiran 2 Hasil Analisis Variansi dan uji Lanjut DMRT 5%	79
Lampiran 3 Gambar Hasil Penelitian	83
Lampiran 4 Perhitungan Larutan Stok	84
Lampiran 5 Perhitungan Pengambilan Larutan Stok	84
Lampiran 6 Alat-alat Penelitian	86
Lampiran 7 Bahan-bahan Penelitian	86
Lampiran 8 Foto Kegiatan.....	87



ABSTRAK

Muzdalifah. 2017. **Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Picloram dan Kinetin 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 Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.), Picloram, Kinetin.

Tanaman nilam aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan tanaman penghasil minyak atsiri berupa *patchouli oil* yang memiliki *patchouli alcohol* untuk memfiksasi parfum agar wanginya lebih tahan lama. Kebutuhan *patchouli oil* terus meningkat sejalan dengan kenaikan konsumsi terhadap produk parfum, kosmetika, sabun dan sebagainya. *Patchouli oil* dapat diperoleh melalui kultur kalus dengan penambahan konsentrasi picloram dan kinetin sehingga produksinya meningkat dan dapat dijadikan acuan konsentrasi ZPT yang paling optimal dalam peningkatan metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh picloram dan kinetin serta kombinasinya terhadap induksi kalus daun nilam Aceh secara *in vitro*.

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 16 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu: konsentrasi picloram meliputi 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, dan 6 mg/L dan konsentrasi kinetin meliputi 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L dan 3 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%.

Hasil dari penelitian menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi picloram dan konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus daun nilam aceh. Konsentrasi picloram 2 mg/L berpengaruh nyata terhadap induksi kalus yaitu 12 HST, persentase kalus 93,42% dan berat kalus 0,56 gr. Konsentrasi kinetin 1 mg/L hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus sebesar 0,38 gr. Kombinasi picloram 2 mg/L + kinetin 1 mg/L hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus sebesar 0,71 gr dengan tekstur kompak dan warna kalus kuning.

ABSTRACT

Muzdalifah. 2017. Induction of Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) Leaf Callus With Addition of Plant Growth Regulator Picloram and Kinetin In Vitro. Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: Callus of Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), Picloram, Kinetin.

Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) plants are the essential plants that producing oil namely patchouli oil that has patchouli alcohol for fixing perfume so the fragrance is more durable. Patchouli oil needs will increase during consumption of perfume products, cosmetics, soaps and so on. Patchouli oil can be obtained with callus culture with the addition of picloram and kinetin concentration, so can increase callus production and can be used as reference of the most optimal concentration of PGR in increasing of secondary metabolite later. The purpose of this study was to investigate the effect of picloram and kinetin and its combination on induction of Aceh patchouli leaf calli in vitro.

This study was experimental and using a completely randomized design (CRD) with 16 treatment combinations and 3 replications. The treatments in this study were two factors: First factor is picloram concentration including 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, and 6 mg/L. Second factor is kinetin concentration included 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L and 3 mg/L. The data were analyzed by ANOVA Two Way Test ($\alpha = 5\%$). If there are significant differences then continued test Duncan Multiple Range Test (DMRT) with 5% significant level.

The result of this research shows there is influence of picloram concentration and kinetin concentration on callus induction of patchouli aceh. Concentration of picloram 2 mg/L influence is 12 the day after plant, the percentage of callus growth is 93,42% and weight callus is 0,56 gr. Concentration of kinetin 1 mg/L only influence on weight callus is 0,38 gr. Combination of picloram 2 mg/L + kinetin 1 mg/L only influence on weight callus is 0,71 gr with compact texture and color callus is yellow.

مستخلص البحث

مزدلفة. ٢٠١٧. استقراء خلية ورقة الباتشولي من أنثية (*Pogostemon cablin* Benth.) بزيادة منظمات النمو بيكلورام والكينتين في المختبر. البحث الجامعي. قسم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة روري سيتي ريسميساري الماجستير ومحمد مخلص فخر الدين الماجستير.

الكلمات الأساسية: خلية ورقة الباتشولي من أنثية (*Pogostemon cablin* Benth.)، بيكلورام، كينتين.

تحصل نبات الباتشولي (*Pogostemon cablin* Benth.) النفط العطري وهو *patchouli oil* التي لها *patchouli alcohol* لإصلاح العطر من أجل استمراره. احتياج *patchouli oil* على حدّ الارتفاع وفقا باستهلاك العطر والتحميل والصلبون وما أشبه ذلك. يحصل *patchouli oil* من خلال زراعة الخلية بزيادة بيكلورام والكينتين لذلك يرتفع الناتج ويصبح مرجعا ZPT بالغ الأمثل في ارتفاع المستقلب الأساسي. تهدف هذه الدراسة لمعرفة أثر بيكلورام والكينتين وتركيبه على استقراء خلية ورقة الباتشولي من أنثية في المختبر.

تستخدم الباحثة البحث التجريبي على خطة العشوائية الكاملة بستة عشر معاملات وثلاث تكرارات. أما المعاملات في هذه الدراسة فهما تركيز بيكلورام يحتوي على ٠ mg/L، ٢ mg/L، ٤ mg/L و ٦ mg/L وتركيز الكينتين تحتوي على ٠ mg/L، ١ mg/L، ٢ mg/L و ٣ mg/L. أن تحليل البيانات المستخدمة $\alpha = 5\%$ ANOVA Two Way. إذا كان المختلف على شكل الملحوظ يلتحق بالاختبار *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) بمستوى شكل ملحوظ ٥%.

تدل نتائج البحث إلى أن أثر تركيز بيكلورام والكينتين باستقراء خلية ورقة الباتشولي من أنثية. تركيز بيكلورام ٢ mg/L يتأثر بالواقع على استقراء خلية وهو HST ١٢، على نسبة الخلية ٩٣،٤٢% وثقل الخلية ٠،٦ gr. تركيز الكينتين ١ mg/L يتأثر بالواقع على ثقل الخلية في المبلغ ٠،٣٨ gr فحسب. أن تركيب ٢ mg/L بيكلورام + كينتين ١ mg/L يتأثر بالواقع على ثقل الخلية في المبلغ ٠،٧١ gr بالتكوينية المكتنزة ولونه الصفراء اللطيفة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan memiliki beranekaragam jenis yang tersebar luas di seluruh bagian bumi ini. Keanekaragaman jenis tumbuhan juga diikuti dengan keanekaragaman manfaatnya bagi kehidupan manusia, seperti tumbuhan sebagai bahan pokok makanan, bahan bangunan, bahan minyak, bahan obat dan potensi yang masih perlu digali lagi (Permatasari, 2013). Tumbuhan yang beranekaragam yang diciptakan oleh Allah SWT salah satunya tumbuhan yang mempunyai aroma harum/wangi.

Allah SWT telah berfirman dalam QS. Ar-Rahman (55):12;

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ

Artinya: *“Dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya”*.

Menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Ali bin Abi Thalib meriwayatkan dari Ibnu Abbas mengenai *“والحب ذو العصف”* *“Dan biji-bijian yang berkulit,”* ia mengatakan: *“Yakni, kulit yang menutupinya.”* Al-‘Aufi menceritakan dari Ibnu Abbas: *“العصف”* berarti daun tumbuhan berwarna hijau yang telah dipotong bagian atasnya, dan ia disebut *al-‘ashfu* jika telah mengering. Demikian pula yang dikemukakan oleh Qatadah, adh-Dhahhak, dan Abu Malik. Ibnu Abbas, Mujahid dan lain-lain mengatakan: *“الريحان”* berarti daun. Dan al-Hasan berkata: *“Ia adalah wewangian kalian ini.”*

Berdasarkan ayat tersebut, salah satu jenis tumbuhan yang memiliki aroma harum/wangi adalah tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Tanaman nilam merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang dikenal dengan *patchouli oil* (Setiawan dan Rosman, 2013). *Patchouli oil* merupakan salah satu minyak yang terus menerus digunakan untuk industri farmasi, parfum dan industri makanan (Bakkali *et al.*, 2008). Nilam di Indonesia mempunyai tiga jenis yaitu nilam aceh, nilam jawa dan nilam sabun. Tetapi yang mempunyai kadar *patchouli oil* yang tinggi yaitu nilam aceh (Puteh, 2004).

Daun nilam memiliki kandungan minyak atsiri, flavonoida, saponin, tanin, glikosida, terpenoid dan steroid (Bunrathep dkk., 2006). Menurut Swamy dan Uma (2015) Kandungan kimia dari *patchouli oil* adalah; α -pinene, δ -patchoulene, β -pinene, aciphyllene, limonene, δ -guaiene, δ -elemene, 7-epi- α -selinene, α -copaene, norpatchoulenol, α -patchoulene, 1,10-epoxy-11-bulnesene, β -elemene, caryophyllene oxide, cycloseychellene, nortetrapatchoulol, β -caryophyllene, patchouli alcohol, α -guaiene, patchoulenone, seychellene, 9-oxopatchoulol, α -humulene, pogostol, α patchoulene, isopatchoulenone, γ -gurjunene, dan germacrene D. Dari komponen-komponen tersebut, *patchouli alcohol* merupakan komponen yang paling utama (Rubiyanto, 2011).

Patchouli oil termasuk salah satu jenis minyak atsiri yang mempunyai sifat-sifat yaitu sukar tercuci, sukar menguap dibandingkan dengan minyak atsiri lainnya, dapat larut dalam alkohol dan dapat dicampur dengan minyak atsiri lainnya. Karena sifat-sifat inilah *patchouli oil* dipakai sebagai fiksatif (unsur pengikat) untuk industri wewangian (Santoso, 1991). Lutony (1994) menyatakan

bahwa peranan *patchouli oil* sebagai fiksatif wangi-wangian tersebut ternyata belum dapat digantikan oleh minyak atsiri yang lain sehingga sangat penting dalam industri parfum. *Patchouli oil* adalah satu-satunya minyak atsiri yang memiliki *patchouli alcohol* berguna untuk memfiksasi parfum agar wanginya lebih tahan lama (Rubiyanto, 2011). *Patchouli alcohol* yaitu senyawa kelompok seskuiterpen dengan rumus molekul $C_{15}H_{26}O$ yang merupakan senyawa terpenting yang memberikan aroma dan sering digunakan sebagai indikator terhadap mutu minyak nilam (Bhatia *et al dalam* Setiawan dan Rosman, 2013).

Kebutuhan *patchouli oil* akan terus meningkat sejalan dengan kenaikan konsumsi terhadap produk parfum, kosmetika, sabun dan sebagainya. Dengan adanya kebutuhan tersebut, menyebabkan prospek ekspor *patchouli oil* di masa datang masih cukup besar sejalan dengan semakin tingginya permintaan terhadap parfum dan kosmetika, *trend mode* dan belum berkembangnya materi substitusi *patchouli oil* di dalam industri parfum maupun kosmetika (Nugroho, 2008). Menurut Rubiyanto, dkk (2011) menyatakan bahwa volume dan nilai ekspor *patchouli oil* Indonesia dari tahun 2007-2011 selalu meningkat. Kebutuhan *patchouli oil* rata-rata mencapai 1.400 ton setiap tahun dengan harga 60,82 juta US\$. Indonesia sebagai produsen utama *patchouli oil* senantiasa memenuhi kebutuhan *patchouli oil* dunia sebesar 80-90%, sehingga volume ekspor tahun sebelumnya menjadi patokan bagi Indonesia untuk mengekspor *patchouli oil* periode selanjutnya.

Patchouli oil dapat diperoleh secara konvensional yaitu dengan ekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Namun cara tersebut membutuhkan budidaya

tanaman dalam skala besar sehingga mengalami kesulitan dalam penyediaan tanaman khususnya lahan yang digunakan untuk mengembangkan tanaman tersebut (Nurlelasari, 2007). Paul *et al.*, (2010) melaporkan perbedaan kadar *patchouli alcohol* dan kadar minyak dari nilam asal Indonesia. Kadar *patchouli alcohol* (56,30%) asal tanaman *in vitro* lebih tinggi daripada tanaman asal *in vivo* (44,35%). Standar *patchouli alcohol* minimal 31% dalam tanaman nilam, namun semakin tinggi maka akan semakin baik pula kualitas *patchouli oil* (Setiawan dan Rosman, 2013). Sehingga upaya untuk meningkatkan kandungan *patchouli alcohol* dalam *patchouli oil* terus diupayakan melalui beberapa penelitian.

Salah satu solusi yang dapat mengatasi masalah tersebut yaitu dengan teknik kultur jaringan tumbuhan. Teknik kultur jaringan tumbuhan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma sel, sekelompok sel jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik (Gunawan, 1998). Menurut Kyte dan Kleyn (1996) teknik kultur jaringan biasanya sering dimanfaatkan untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder selain untuk perbanyakan tanaman, karena hasil metabolit sekunder yang dihasilkan dari teknik kultur jaringan lebih tinggi dibanding metabolit sekunder dari tanaman lapang. Teknik kultur jaringan yang sering digunakan untuk memacu produksi metabolit sekunder adalah kultur kalus dan kultur suspensi sel (Scragg, 1997).

Kultur kalus merupakan langkah awal dalam menentukan produksi bahan metabolit sekunder (Mahadi, 2008). Pada pendekatan ini, budidaya kalus tidak sekedar diarahkan untuk proliferasi kalus tetapi diarahkan bagaimana kalus dapat terdorong memproduksi metabolit lebih tinggi. Kalus merupakan massa sel yang

belum berdiferensiasi atau belum terorganisir, biasanya terbentuk diantara luka atau akibat kerja hormon auksin dan sitokinin (Pierik, 1987). Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar dan stabil cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat tegenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1982). Sedangkan sitokinin aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Karjadi dan Buchory, 2008).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Trimulyono, *et al.* (2004) diketahui bahwa pemberian NAA dan kinetin tidak berpengaruh nyata terhadap sintesis *patchouli oil* dalam kalus daun nilam aceh, pemberian 2 mg/L NAA + 2 mg/L kinetin menghasilkan *patchouli oil* sebesar 0,4173%. Penelitian yang dilakukan oleh Palupi, *et al.* (2004) menghasilkan bahwa kandungan *patchouli oil* dalam kalus daun nilam aceh yaitu sebesar 29,54% pada pemberian konsentrasi 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan kinetin dan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA belum memberikan hasil yang maksimal dalam mensintesis *patchouli oil*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan zat pengatur tumbuh picloram dan kinetin dalam menginduksi kalus daun nilam aceh.

Picloram merupakan salah satu auksin sintetik yang banyak digunakan untuk induksi kalus (Aprisa, 2012). Picloram lebih efektif dalam meningkatkan induksi kalus jika dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh 2,4 D (Chernova, *et.al*, 1975). Tu *et.al* (2001) menambahkan bahwa picloram dalam konsentrasi rendah dapat menstimulasi sintesis RNA dan replikasi DNA dalam mengontrol pembelahan dan pertumbuhan sel. Sedangkan kinetin merupakan sitokinin sintetik

yang mempunyai aktivitas yang lebih tinggi daripada sitokinin alami (Santoso dan Nursandi, 2003). Kinetin yang berimbang dengan auksin dapat menyebabkan pertumbuhan kalus (Abidin, 1985). Penggunaan kombinasi antara auksin (picloram) dengan sitokinin (kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz dan Gray, 1995). Efektifitas zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran dan Smith, 1990).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lim, *et.al.* (2009) menyatakan bahwa kombinasi antara hormon picloram 3 mg/L dengan beberapa konsentrasi kinetin pada tanaman *Ocimum sanctum* memberikan hasil yaitu 100 % berkalus dengan tekstur kalus kompak dan berwarna putih kehijauan. Andre, *et.al.* (2015) juga menambahkan bahwa pada kultur kalus daun *Lippia multiflora* Moldenke (*verbenanceae*) dengan berbagai konsentrasi picloram dan kinetin dapat menginduksi kalus sebesar 96 % dengan berat basah kalus sebanyak 79,23-207,86 mg.

Berdasarkan pemaparan tersebut maka penting dilakukan penelitian penggunaan berbagai konsentrasi picloram dan kinetin untuk pembentukan kalus yang terbaik dan dapat memberikan informasi tentang penggunaan komposisi picloram dengan kinetin yang paling sesuai untuk pembentukan kalus eksplan daun *Pogostemon cablin* Benth.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi picloram terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi picloram dan kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi picloram terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh kombinasi picloram dan kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi tentang optimasi hormon picloram dan kinetin untuk induksi kalus nilam.

2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai langkah awal upaya memproduksi metabolit sekunder (*patchouli alcohol*) melalui kalus yang persentase kandungannya lebih tinggi sehingga bermanfaat untuk industri farmasi, parfum dan industri lainnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) yang digunakan berasal dari koleksi *greenhouse* jurusan Biologi UIN Malang.
2. Jenis nilam yang digunakan yaitu varietas Sidikalang.
3. Bagian nilam yang digunakan sebagai eksplan adalah daun muda nomer 2, umur 12 hari.
4. Eksplan dipotong dengan ukuran 1 cm x 1 cm.
5. Media yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog).
6. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah picloram dan kinetin.
7. Konsentrasi zat pengatur tumbuh picloram adalah 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L.
8. Konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin adalah 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L.
9. Hasil inisiasi diinkubasi pada ruangan dengan suhu 21⁰C.
10. Parameter yang diamati adalah kuantitas dan kualitas kalus. Kuantitas kalus meliputi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus, dan berat kalus. Kualitas kalus meliputi warna kalus dan tekstur kalus.

11. Kalus yang diinginkan adalah kalus *non-embriogenik* dengan ciri tekstur kompak dan warna kuning-kuning kecoklatan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)

2.1.1 Nilam dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk yang diciptakan oleh Allah SWT untuk diambil manfaatnya. Misalnya digunakan untuk dikonsumsi, digunakan sebagai obat, dimanfaatkan sebagai bahan bangunan, sebagai bahan minyak maupun digunakan untuk menunjang kehidupan sehari-hari lainnya. Allah SWT menumbuhkan tumbuhan yang bermacam-macam, seperti yang tertera dalam QS. Asy-Syu'ara' (26):7;

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

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*.

Dijelaskan dalam tafsir Al-Misbah (Shihab, 2001), bahwa ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantrop bumi, dengan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya. Tumbuhan memiliki banyak manfaat yang tidak terhitung jumlahnya. Hal ini juga dijelaskan dalam QS. Thaha (20):53;

الَّذِي جَعَلَ لَكُمْ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Pengertian dari firman Allah SWT *نبات شتى* adalah jenis yang bermacam-macam bentuk, ukuran, manfaat, warna, bau dan rasanya. Kata *نبات* berarti tumbuhan yang bermacam-macam, sedangkan kata *شتى* merupakan bentuk jamak dari kata *شتيت* yang artinya yang bermacam-macam (Syarif, 2007). Kata *شتى* adalah sifat dari kata *ازواج* yang mengandung arti bermacam-macam warnanya, rasanya dan sebagainya. Dan kata *شتى* adalah bentuk jamak dari kata *شتيت*, seperti kata *مريض* dan *مريض*. Berasal dari ungkapan *شت الامر* yang berarti bercerai-cerai (Muhammad, 2010).

Tafsir Maraghi (1993) menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Allah SWT mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawija dan buah-buahan, baik yang masam maupun yang manis. Allah SWT juga mengeluarkannya dengan berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk; sebagiannya cocok untuk manusia dan sebagian lainnya cocok untuk hewan. Disini terdapat penjelasan tentang nikmat-nikmat Allah SWT yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui hujan yang melahirkan berbagai manfaat. Tumbuhan bermacam-macam yang diciptakan Allah SWT salah satunya tumbuhan yang mempunyai aroma harum/wangi.

Firman Allah SWT dalam QS. Ar-Rahman (55):12;

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ

Artinya: “Dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya”.

Menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Ali bin Abi Thalib meriwayatkan dari Ibnu Abbas mengenai “والحب ذو العصف” “Dan biji-bijian yang berkulit,” ia mengatakan: “Yakni, kulit yang menutupinya.” Al-‘Aufi menceritakan dari Ibnu Abbas: “العصف” berarti daun tumbuhan berwarna hijau yang telah dipotong bagian atasnya, dan ia disebut *al-‘ashfu* jika telah mengering. Demikian pula yang dikemukakan oleh Qatadah, adh-Dhahhak, dan Abu Malik. Ibnu Abbas, Mujahid dan lain-lain mengatakan: “الريحان” berarti daun. Dan al-Hasan berkata: “Ia adalah wewangian kalian ini.”

Al-Jazairi (2009) menambahkan bahwa “Warraihaanu” merupakan sebuah tumbuhan yang dikenal orang Arab dan yang dimaksud disini adalah tumbuhan yang memiliki bau wangi dan harum. Sedangkan menurut Jalalludin (2010) yakni daunnya atau bisa dicium keharumannya. Salah satu tumbuhan yang memiliki daun yang berbau wangi ialah nilam.

Berdasarkan ayat tersebut terdapat makna yang tersirat bahwasannya Allah SWT telah menumbuhkan beberapa tanaman yang mempunyai aroma wangi baik dari daunnya, bunganya, dan bagian tumbuhan lainnya. Tanaman yang mempunyai aroma wangi biasanya tanaman tersebut mengandung minyak atsiri. Menurut Gunawan dan Mulyani (2004) menyatakan bahwa minyak atsiri terkandung dalam berbagai organ, seperti di dalam rambut kelenjar (pada famili *Labiatae/Lamiaceae*),

di dalam sel-sel parenkim (misalnya famili *Piperaceae*), di dalam saluran minyak seperti vittae (famili *Umbelliferae*), di dalam rongga-rongga skizogen dan lisigen (pada famili *Pinaceae* dan *Rutaceae*), terkadang dalam semua jaringan (pada famili *Conaferae*).

Dari 70 jenis minyak atsiri yang diperdagangkan di pasaran internasional, sekitar 9-12 macam atau jenis minyak atsiri di suplai dari Indonesia. Beberapa tanaman yang menghasilkan minyak atsiri yaitu tanaman nilam (*patchouli*), minyak sereh wangi (*citronella*), akar wangi (*vetyver*), kenanga (*cananga*), kayu putih (*cajeput*), serta melati (*yasmin*) (Mangun, 2008). Dari berbagai jenis minyak tersebut 70% pangsa pasar dunia dikuasai oleh minyak nilam. Tanaman nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan hasil *patchouli oil* merupakan penghasil devisa terbesar dari ekspor minyak atsiri (Kardinan, 2005).

2.1.2 Klasifikasi

Tanaman nilam termasuk suku Labiate yang memiliki sekitar 200 genus. Menurut Rukmana (2003) berdasarkan taksonominya, kedudukan tanaman nilam diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Subdivisi	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Ordo	: Labiales
Famili	: Labiatae
Genus	: Pogostemon

Spesies : *Pogostemon cablin* Benth.

Varietas : Sidikalang

Nilam Aceh memiliki beberapa varietas. Balitro Bogor tahun 2005 telah melepas tiga varietas unggul nilam Aceh yaitu; varietas Lhokseumawe, Sidikalang dan Tapak Tuan. Varietas Tapak Tuan, warna pangkal batangnya hijau dengan sedikit ungu, varietas Lhokseumawe lebih ungu dan varietas Sidikalang paling ungu (Nuryani, 2006). Namun bila tanaman ini dibudidayakan pada tempat yang berbeda fenotipe ketiga varietas tanaman nilam aceh relatif susah dibedakan.

2.1.3 Deskripsi Tanaman

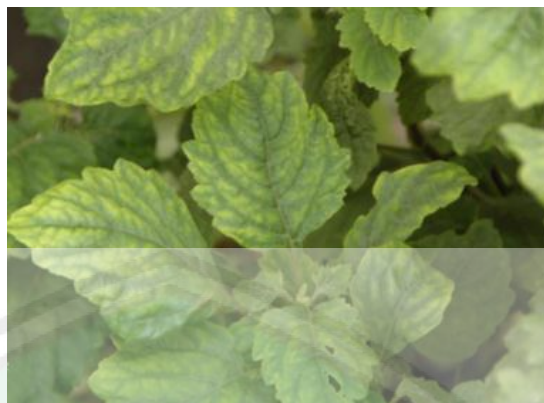
Nilam termasuk tanaman yang mudah tumbuh seperti herba lainnya. Tanaman ini memerlukan suhu yang panas dan lembab. Tanaman nilam tumbuh dan berproduksi dengan baik pada ketinggian sampai 700 m dpl (Nuryani, 2006). Sedangkan Mauludi dan Asman (2005) menyebutkan tanaman nilam dapat tumbuh pada ketinggian 10 – 1200 m dpl. Lebih lanjut disebutkan nilam dapat tumbuh pada segala jenis tanah, akan tetapi tumbuh lebih baik pada tanah yang gembur dan banyak mengandung humus, bertekstur lempung sampai liat berpasir, pH 5-5,7. Selain itu nilam juga memerlukan curah hujan yang merata dalam jumlah cukup. Saat berumur lebih dari 6 bulan, ketinggian tanaman nilam dapat mencapai 60-90 cm dengan radius cabang sekitar 60 cm.

Tanaman nilam berasal dari daerah tropis Asia Tenggara terutama Indonesia, Filipina, dan India (Grieve, 2002). Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yaitu *Pogostemon cablin* Benth. (nilam Aceh), *Pogostemon hortensis* Backer. (nilam Jawa), dan *Pogostemon heyneanus* Benth. (nilam Kembang). Nilam Aceh

berasal dari Philipina, mula-mula ditanam di Jawa pada tahun 1895 dan mulai ditanam di Aceh pada tahun 1909 (Guenther, 1952).

Berdasarkan sifat tumbuhnya, tanaman nilam adalah tanaman tahunan (perennial). Tanaman nilam berupa semak tropis perdu yang tumbuh tegak, memiliki banyak percabangan, dan bertingkat-tingkat. Secara alami tanaman nilam dapat mencapai ketinggian antara 0,5 - 1,0 m. Daun tanaman nilam berbentuk bulat telur sampai bulat panjang (lonjong). Daun nilam memiliki panjang antara 5 - 11 cm, berwarna hijau, tipis, tidak kaku, dan berbulu pada permukaan bagian atas. Kedudukan daun saling berhadapan, permukaan daun kasar dengan tepi bergerigi, ujung daun tumpul, daun urat daun menonjol keluar. Tanaman nilam jarang berbunga. Bunga tumbuh di ujung tangkai, bergerombol, dan memiliki karakteristik warna ungu kemerahan. Tangkai bunga memiliki panjang antara 2 - 8 cm dengan diameter antara 1 - 1,5 cm. Mahkota bunga berukuran 8 mm (Rukmana, 2003).

Tanaman nilam mempunyai batang berkayu dengan diameter 10 – 20 mm relatif hampir berbentuk segi empat. Sebagian besar daun yang melekat pada ranting hampir selalu berpasangan satu sama lain. Jumlah cabang yang banyak dan bertingkat mengelilingi batang sekitar 3 – 5 cabang per tingkat. Tanaman ini memiliki umur tumbuh yang cukup panjang, yaitu sekitar tiga tahun, panen perdana dapat dilakukan pada bulan ke 6 – 7 dan seterusnya setiap 2-3 bulan tergantung pemeliharaan dan pola tanam, kemudian dapat diremajakan kembali dari hasil tanaman melalui pesemaian atau pembibitan berupa setek (Mangun, 2002). Gambar tanaman nilam disajikan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman Nilam (Sharma, 2015)

2.1.4 Kandungan dan Manfaat Nilam

Daun nilam memiliki kandungan minyak atsiri, flavonoida, saponin, tanin, glikosida, terpenoid dan steroid (Bunrathep dkk., 2006). Daun kering tanaman ini disuling untuk mendapatkan minyak nilam (*Patchouli oil*) yang banyak digunakan di berbagai kegiatan industri. Fungsi utama minyak nilam sebagai bahan baku pengikat (fiksatif) dari komponen kandungan utamanya, yaitu *patchouli alcohol* ($C_{15}H_{26}O$) dan sebagai bahan eteris untuk parfum agar aroma keharumannya bertahan lebih lama. Selain itu minyak nilam digunakan sebagai bahan campuran produk kosmetika (diantaranya untuk pembuatan sabun, pasta gigi, sampo, *lotion* dan *deodorant*), kebutuhan industri makanan diantaranya pembuatan obat anti radang, anti fungi, anti serangga, afrodisiak, anti – inflamasi, anti depresi, anti flogistik serta dekongestan), kebutuhan aromaterapi serta berbagai kebutuhan industri lainnya. Aroma minyak nilam sangat kaya, terkesan rasa manis, hangat dan menyengat. Aroma tetap terasa manis sampai seluruh minyak menguap (Dhalimi, 1998).

Minyak nilam merupakan komoditi ekspor, karenanya memiliki prospek yang cukup cerah dan selalu dibutuhkan secara berkesinambungan dalam industri-

industri parfum, wewangian, kosmetik, sabun, farmasi, flavouring agent dan lain-lain. Minyak nilam dalam industri digunakan sebagai fiksasi yang belum dapat digantikan oleh minyak lain sampai dengan saat ini. Minyak nilam terdiri dari komponen-komponen yang bertitik didih tinggi sehingga sangat baik dipakai sebagai zat pengikat dalam industri parfum dan dapat membentuk aroma yang harmonis. Zat pengikat adalah suatu persenyawaan yang mempunyai daya menguap lebih rendah atau titik uapnya lebih tinggi daripada zat pewangi sehingga kecepatan penguapan zat pewangi dapat dikurangi atau dihambat. Penambahan zat pengikat di dalam parfum dimaksudkan untuk mengikat aroma wangi dan mencegah penguapan zat pewangi yang terlalu cepat sehingga aroma wangi tidak cepat hilang atau lebih tahan lama (Ketaren, 1985).

Menurut Swamy dan Uma (2015) *Patchouli oil* dianalisis dengan *comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry* mengandung komponen monoterpenes and sesquiterpenes. Kandungan kimia dari *patchouli oil* tersebut adalah sebagai berikut; *α-pinene*, *δ-patchoulene*, *β-pinene*, *aciphyllene*, *limonene*, *δ-guaiene*, *δ-elemene*, *7-epi-α-selinene*, *α-copaene*, *norpatchoulol*, *α-patchoulene*, *1,10-epoxy-11-bulnesene*, *β-elemene*, *caryophyllene oxide*, *cycloseychellene*, *nortetrapatchoulol*, *β-caryophyllene*, *patchouli alcohol*, *α-guaiene*, *patchoulene*, *seychellene*, *9-oxopatchoulol*, *α-humulene*, *pogostol*, *α-patchoulene*, *isopatchoulene*, *γ-gurjunene*, dan *germacrene D* (Swamy dan Uma, 2015). Komponen yang paling menentukan mutu minyak nilam adalah *patchouli alcohol* karena merupakan penciri utama (Santoso, 1990).

Lima komponen yang mempunyai persentase terbesar adalah *patchouli alcohol* (32,60 %), *δ-guaiena* (23,07 %), *α-guaiena* (15,91 %), *seychellena* (6,95 %) dan *α-patchoulena* (5,47 %) (Aisyah, dkk., 2010). Donelian *et al.*, (2009) menambahkan bahwa *sesquiterpene patchoulol* (*patchouli alcohol*) merupakan komponen terbesar dan utama yang bisa menentukan tipe aroma *patchouli*. *Patchoulol* dan *α-patchoulena* merupakan komponen yang penting dari *patchouli oil* karena menentukan kualitas dari minyaknya. Walaupun *α-patchoulena* biasanya ditemukan hampir sedikit, tapi merupakan komponen utama *patchouli oil* karena ketika bersama dengan *patchoulol* dapat menentukan aroma minyak juga.

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah istilah yang ditunjukkan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas, dan embrio. Bagian-bagian tersebut seperti eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada media buatan yang steril sehingga dapat bergenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009).

Teknik kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma sel, sekelompok sel jaringan dan organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptis, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1998).

Berbeda dengan teknik perbanyakan vegetatif secara konvensional, teknik kultur jaringan melibatkan pemisahan sejumlah komponen biologis dan tingkat

pengendalian yang tinggi untuk memacu proses regenerasi dan perkembangan eksplan. Setiap tahapan dari proses-proses tersebut dapat dimanipulasi melalui seleksi bahan eksplan, medium kultur, dan faktor-faktor lingkungan termasuk melalui eliminasi mikroorganisme, seperti cendawan dan bakteri. Semua faktor-faktor tersebut dimanipulasi untuk memaksimalkan hasil yang dicapai dalam bentuk jumlah dan mutu propagaul yang didapatkan (Zulkarnain, 2009).

Teknik kultur jaringan mempunyai keuntungan antara lain produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh cuaca, serta dapat dikembangkan untuk produksi biomassa metabolit secara besar-besaran. Sehingga kultur merupakan cara yang dapat digunakan dalam meningkatkan sintesa metabolit sekunder (Nobert, 2007; Habibah, 2009).

Kultur jaringan termasuk teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif buatan berdasar sifat totipotensi tumbuhan. Totipotensi adalah kemampuan sel tanaman untuk tumbuh menjadi organ baru meskipun sudah tua. Teknik kultur jaringan dapat berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi, meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang cocok, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik terutama untuk kultur cair. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem, misalnya daun muda, ujung batang, keping biji, dan sebagainya (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Dalam bidang farmasi, kultur jaringan tanaman mempunyai manfaat yang besar yaitu selain menghasilkan tanaman sumber simplisia yang seragam juga

mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai bahan obat. Tanaman tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka ragam sehingga memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2.2.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tumbuhan

Menurut Santoso dan Nursandi (2004), ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan yaitu genotif, eksplan, media, oksigen, cahaya, temperatur, pH dan lingkungan yang aseptik:

a. Genotif

Pada beberapa jenis tumbuhan embrio mudah tumbuh akan tetapi pada beberapa jenis tumbuhan lain sukar untuk tumbuh. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kultivar dari jaringan yang sama (Santoso dan Nursandi, 2004).

b. Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan dapat berasal dari meristem, tunas, batang, anter, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizome, dan juga akar. Ukuran eksplan yang digunakan bervariasi dari ukuran $\pm 0,1$ mm sampai 5 cm. Jenis eksplan akan mempengaruhi morfogenesis suatu kultur in vitro (Wattimena *et.al.*, 1992).

Eksplan diusahakan agar dalam keadaan aseptik melalui prosedur sterilisasi dengan berbagai bahan kimia. Melalui eksplan yang aseptik kemudian diperoleh kultur yang *axenic* yaitu kultur dengan hanya satu macam organisme yang diinginkan (Gunawan, 1987).

c. Komposisi Media

Umumnya media kultur jaringan tersusun atas komposisi hara makro, hara mikro, vitamin, gula, asam amino, dan N-organik, persenyawaan kompleks alamiah (air kelapa, ekstrak ragi, jus tomat, dan sebagainya), buffer, arang aktif, zat pengatur tumbuh (terutama auksin dan sitokinin), dan bahan pematat (Alitalia, 2008). Faktor penting lainnya yang tidak boleh diabaikan adalah ion ammonium dan potassium (Santoso dan Nursandi, 2004).

d. Oksigen

Suplai oksigen yang cukup sangat menentukan laju multiplikasi tunas dalam usaha perbanyakan secara in vitro (Santoso dan Nursandi, 2004).

e. Cahaya

Cahaya dalam kultur jaringan berguna untuk mengatur proses-proses morfogenik tertentu seperti pembentukan pucuk dan akar, dan tidak untuk fotosintesis karena sumber energy bagi eksplan telah disediakan oleh sukrosa. Cahaya juga penting dalam pengendalian perkembangan eksplan dan unsur-unsur cahaya yang perlu diperhatikan adalah kualitas cahaya, panjang penyinaran dan intensitas cahaya (Alitalia, 2008).

f. Temperatur

Temperatur ruang kultur juga menentukan respon fisiologi kultur dan kecepatan pertumbuhannya (Alitalia, 2008). Temperatur optimum yang dibutuhkan umumnya tergantung dari jenis tumbuhan yang digunakan. Secara normal temperatur yang digunakan adalah antara 22⁰C-28⁰C (Santoso dan Nursandi, 2004).

g. pH

Faktor lain yang tidak kalah penting dalam kultur jaringan adalah pengaturan pH media. Tingkat keasaman media harus diatur supaya tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH sitoplasma (Alitalia, 2008). Sel-sel tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan mempunyai toleransi pH yang relatif sempit, yaitu 5,0 - 6,0. Bila eksplan mulai tumbuh, pH dalam kultur umumnya akan naik apabila nutrisi habis terpakai (Santoso dan Nursandi, 2004).

h. Lingkungan yang aseptik

Kondisi lingkungan sangat menentukan terhadap keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan (Santoso dan Nursandi, 2004).

2.3 Kultur Kalus

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

terluka disebabkan oleh otolisis sel, dan dari sel yang rusak tersebut akan dihasilkan senyawa-senyawa yang akan merangsang pembelahan sel pada lapisan berikutnya (Gunawan, 1992). Kalus tersusun atas sel-sel parenkim (George dan Sherington, 1984; Pierik, 1987 *dalam* Darwati, 2007).

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

Pertumbuhan kalus dapat digambarkan dengan kurva sigmoid biasanya terdiri dari lima fase yaitu (1) fase lag (2) periode pertumbuhan eksponensial (3) Periode pertumbuhan linear (4) periode penurunan kecepatan tumbuh (5) stasioner (Smith, 2000). Metabolit sekunder pada umumnya meningkat pada fase stasioner. Hal ini dimungkinkan karena adanya peningkatan vakuola makanan sel atau akumulasi. Pada fase stasioner pertumbuhan terhenti dan terjadi kematian sel, hal ini karena sejumlah nutrisi telah berkurang atau menjadi akumulasi senyawa toksik yang dikeluarkan kalus dalam medium. Pada fase ini harus dilakukan subkultur agar kalus tetap hidup (Darwati, 2007).

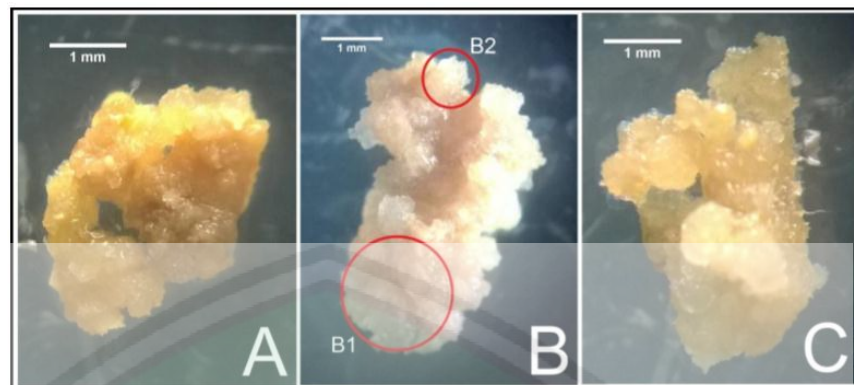
Kualitas pertumbuhan kalus dapat dilihat dari tekstur kalus, warna kalus dan berat kalus. Kebanyakan penelitian tentang kultur kalus menggunakan parameter

pengamatan yang meliputi tekstur kalus, warna kalus dan berat kalus untuk menilai pertumbuhan suatu kalus pada tumbuhan (Arianti, 2015). Berikut penjelasan tekstur kalus, warna kalus dan berat kalus:

2.3.1 Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan penanda yang digunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu kompak (*non friable*), intermediet dan remah (*friable*) (Andrayani, 2010). Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Dini, 2013). Menurut Dodd (1993) dalam Ariati (2012), kalus yang memiliki tekstur yang kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar, dan memiliki banyak pati gandum (karbohidrat). Andri (2012) menyatakan bahwa kalus kompak memiliki struktur seperti nodul. Nodul merupakan massa proembrionik dan dapat digunakan sebagai inokulum untuk induksi sebagai embrio somatik.

Kalus remah merupakan kalus yang baik untuk memperbanyak jaringan. Kalus remah ialah kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi bagian-bagian yang kecil, mudah lepas, dan mengandung banyak air (Sitorus, 2011). Kalus yang remah dapat diperoleh dengan cara melakukan sub kultur berulang-ulang dengan medium padat. Pembentukan kalus dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam medium seperti zat pengatur tumbuh. Konsentrasi 2,4 D dan ekstrak khamir yang tinggi akan menghasilkan kalus bertekstur remah (*friable*) (Rahayu dkk., 2003).



Gambar 2.2 Tekstur Kalus Stevia (A) kalus kompak, (B) kalus intermediet (B1= kalus kompak, B2= kalus remah) (C) kalus remah (Putri, 2015)

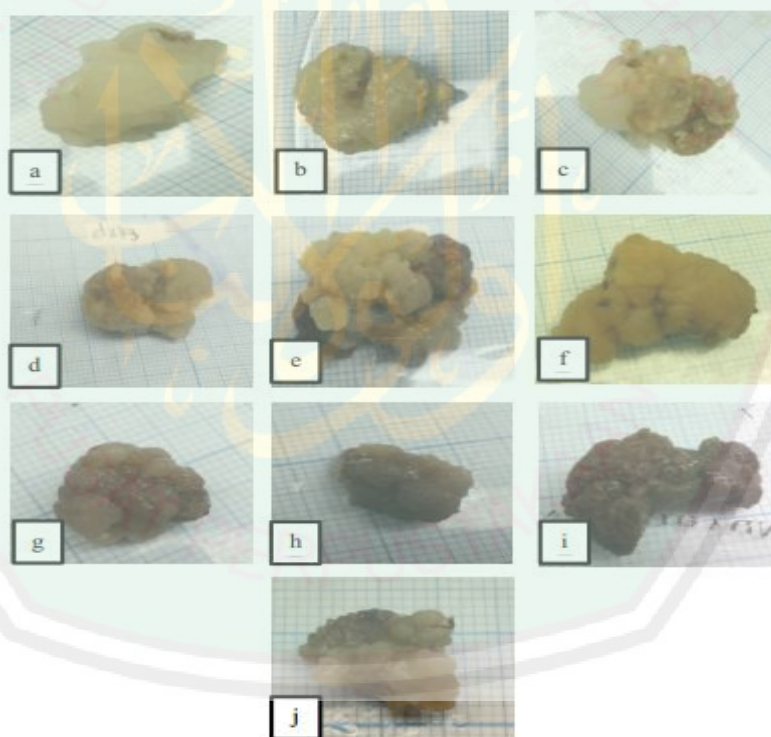
Gambar 2.2 menunjukkan bahwa tekstur kalus stevia (*Stevia rebaudiana*) menghasilkan tiga macam kalus yaitu kompak (*non friable*), intermediet dan remah (*friable*). Kalus kompak yaitu dicirikan dengan teksturnya padat, tidak bisa dipisahkan. Sedangkan kalus remah dicirikan dengan nampak bergranul sehingga mudah untuk dipisahkan. Sementara kalus intermediet merupakan kalus campuran antara kalus kompak dan remah. Pada gambar 2.2 bagian B1 menunjukkan teksturnya padat dan pada bagian B2 tampak terdapat granul (mudah terpisah).

2.3.2 Warna Kalus

Warna kalus juga merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus yang baik adalah berwarna putih yang menandakan kalus dalam keadaan membelah. Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya dalam kalus (Dwi, 2012). Warna kalus yang hijau disebabkan oleh peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Sitokinin yang ditambahkan dalam media mampu menghambat

perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, 2004).

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



Gambar 2.3 Warna Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. Tungkal Jambi) yang berumur 12 Minggu Setelah Kultur. a) kalus warna putih (2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), b) kalus warna putih kekuningan (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), c) kalus warna putih kecoklatan (3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), d) kalus warna kuning kecoklatan (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), e) kalus warna kuning kehitaman (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), f) kalus warna kuning (4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), g) kalus warna coklat (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), h) kalus warna coklat kehitaman (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), i) kalus warna hitam (2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), j) kalus warna putih kehitaman (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin) (Azizah, 2017).

Warna kalus dalam penelitian yang dilakukan oleh Azizah (2017) pada kalus daun kopi liberika tunggal jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. Tungkal Jambi) memberikan warna yang berbeda-beda. Warna yang terbentuk yaitu putih, putih kekuningan, putih kecoklatan, kuning kecoklatan, kuning kehitaman, kuning, coklat, coklat kehitaman, hitam dan putih kehitaman. Kalus yang berwarna kecoklatan atau kehitaman merupakan kalus non-embriogenik dimana kalus ini tidak memiliki kemampuan untuk beregenerasi.

2.3.3 Berat Kalus

Pertumbuhan kalus pada media kultur biasanya ditentukan dengan mengukur berat kalus (Yokota *et al.*, 1999). Ruswaningsih (2007), berat segar secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Berat segar kalus yang besar 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. Berat kering merupakan parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai ukuran global pertumbuhan tanaman dengan segala peristiwa yang dialaminya. Untuk mendapatkan berat kering dilakukan pengeringan untuk menghilangkan kadar air dan menghentikan aktivitas metabolisme dalam bahan hingga diperoleh berat yang konstan (Muryanti *et al.*, 2005).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) didefinisikan sebagai senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil (10^{-6} - 10^{-5} mM) yang disintesis pada bagian

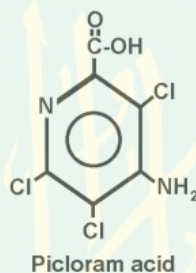
tertentu tanaman dan pada umumnya diangkut ke bagian lain tanaman di mana zat tersebut menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis dan morfologis (Wattimena, 1988). Dua golongan zat pengatur tumbuh yang penting dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur (Guanawan, 1998).

ZPT bertindak secara sinergis dalam tindakannya sebagai penyebab respon, seperti yang dinyatakan Gardner *et. al* (1991). Dalam kultur jaringan, ada dua golongan ZPT yang sangat penting, yaitu auksin dan sitokinin. ZPT tersebut mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, kultur jaringan dan kultur organ (Karjadi, 1996). Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* kalus. Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sering dipakai dalam kultur jaringan untuk inisiasi kalus, organogenesis atau untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder (Palupi dkk, 2004). Suryowinoto (1996) dalam Arianti (2015) juga menambahkan bahwa untuk mendapatkan kalus, perlu adanya keseimbangan antara sitokinin dan auksin.

2.4.1 Picloram

Auksin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh tanaman yang aktivasinya dapat merangsang atau mendorong pengembangan sel (Indah, 2013). Auksin merupakan istilah umum untuk substansi pertumbuhan yang khususnya

merangsang perpanjangan sel, tetapi auksin juga menyebabkan suatu kisaran respon pertumbuhan yang agak berbeda-beda (Gardner, 1995). Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan, 1987). Contoh auksin alami adalah *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), *Indole-3-Butyric Acid* (IBA), auksin sintetik meliputi *I-Naphthalene acetic Acid* (NAA), *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D), *2,4,5-Trichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4,5-T), Dicamba, Tordon 4-CPA, dan picloram. Berikut struktur kimia dari picloram disajikan dalam gambar 2.3.

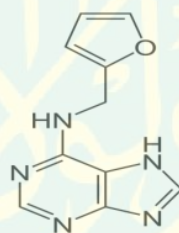


Gambar 2.4 Struktur Kimia Picloram (Tu *et.al*, 2001)

Picloram merupakan salah satu auksin sintetik seperti 2,4-D yang banyak digunakan untuk induksi kalus. Picloram aktif pada konsentrasi rendah pada banyak genotipe (Aprisa, 2012). Picloram dalam konsentrasi rendah dapat menstimulasi sintesis RNA, DNA dan protein dalam mengontrol pembelahan dan pertumbuhan sel. Sedangkan picloram dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pembelahan dan pertumbuhan sel (Tu *et.al*, 2001). Picloram memiliki sifat yang hampir sama dengan 2,4-D, tetapi picloram lebih efektif dalam meningkatkan induksi kalus jika dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh 2,4 D (Chernova, *et.al*, 1975).

2.4.2 Kinetin

Golongan sitokinin adalah turunan dari adenine. Golongan ini sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis (Gunawan, 1992). Sitokinin digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Karjadi dan Buchory, 2008). Zulkarnain (2009) menambahkan mekanisme sitokinin dalam mengatur pembelahan sel yaitu dengan meningkatkan ekspresi D-type cyclin gene CycD3 yaitu gen yang mengatur proses transisi G1 menuju fase M dalam siklus sel. Salah satu sitokinin sintetis yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel adalah kinetin. Adapun rumus bangun kinetin adalah sebagai berikut:



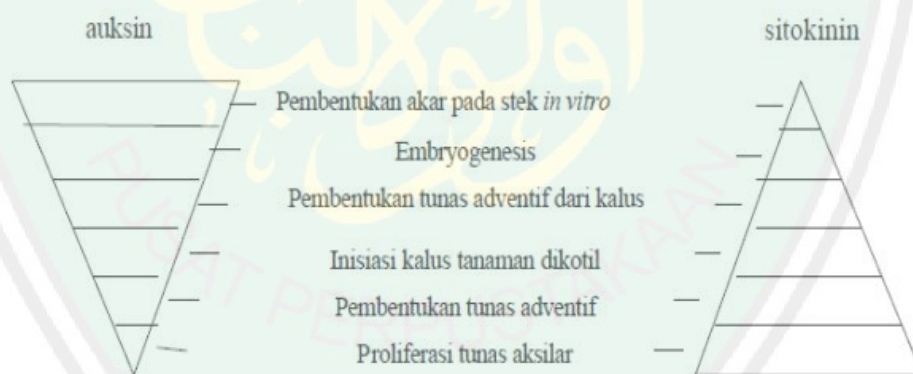
Gambar 2.5 Struktur Kimia Kinetin (Azizah, 2017)

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

diferensiasi pembuluh vaskuler dan diferensiasi kloroplas dari protoplas (Wan dan Liang, 1988).

2.4.3 Kerja Auksin dan Sitokinin

Auksin adalah sekelompok senyawa yang fungsinya merangsang pemanjangan sel-sel pucuk yang spektrum aktivitasnya menyerupai IAA (*indole-3-acetic acid*). Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman sama halnya dengan kinetin. Peranan auksin dan sitokinin sangat nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ (Zulkarnain, 2009). Perlu adanya rasio tertentu antara auksin dan juga sitokinin. Konsentrasi penggunaan auksin dan sitokinin tergantung dari tujuan pengkulturan (Azizah, 2017).



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

Berdasarkan gambar 2.6 dapat diketahui bahwa keseimbangan auksin dan sitokinin sangat penting dalam mengarahkan tujuan pengkulturan. Apabila konsentrasi auksin yang ditambahkan dalam media lebih tinggi dibanding konsentrasi sitokinin maka akan menginduksi terbentuknya akar. Apabila

konsentrasi sitokinin yang diberikan dalam media lebih tinggi dibanding konsentrasi auksin maka akan menginduksi terbentuknya tunas. Sedangkan apabila konsentrasi auksin yang ditambahkan dalam media sama dengan konsentrasi sitokinin maka akan menginduksi terbentuknya kalus.

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

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

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

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah Picloram terdiri dari:

- 0 mg/L (P0)
- 2 mg/L (P1)
- 4 mg/L (P2)
- 6 mg/L (P3)

Faktor kedua adalah Kinetin dengan terdiri dari:

- 0 mg/L (K0)
- 1 mg/L (K1)
- 2 mg/L (K2)
- 3 mg/L (K3)

Kombinasi perlakuan akan disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan Picloram dan Kinetin

Perlakuan		Kinetin (mg/L)			
		0	1	2	3
Picloram (mg/L)	0	P0K0	P0K1	P0K2	P0K3
	2	P1K0	P1K1	P1K2	P1K3
	4	P2K0	P2K1	P2K2	P2K3
	6	P3K0	P3K1	P3K2	P3K3

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat, dan 3) variabel terkendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh picloram dan Kinetin. Variabel terikat adalah kualitas kalus (tekstur dan warna kalus) dan kuantitas kalus (hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus). Variabel terkendali adalah cahaya dan suhu.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, Erlenmeyer, cawan petri, beaker glass, batang pengaduk, botol kultur, alat-alat diseksi (*scalpel*, pinset, gunting, spatula), LAF (*Laminar Air Flow*), timbangan analitik, pipet, pipet volum, autoklaf, lampu bunsen, penyemprot alkohol, pH meter, lemari pendingin, rak kultur, AC (*Air conditioner*), lampu fluorescence, oven, kertas label, plastik, karet, *hot plate and magnetic stirrer*, tisu, kompor gas, panci, korek api, aluminium foil dan kamera.

3.4.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah bagian daun muda nomer 2 dari tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) sebagai eksplan yang ditanam pada media. Bahan untuk sterilisasi adalah detergen, aquades, fungisida, bakterisida, Clorox 10 %, alkohol 70 % dan aquades steril. Bahan media yang digunakan adalah media MS (Murashige & Skoog) instan dengan kode CAT#30630067-2 Lot#L14072301, agar-agar swallow warna putih, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dan gula. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan yaitu picloram dan kinetin. Bahan lainnya meliputi spiritus, alkohol 70% dan alkohol 96%.

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci alat-alat diseksi (*scalpel*, gunting, pinset) dan alat-alat gelas (botol kultur, cawan petri, gelas ukur, dan lain-lain) menggunakan detergen cair dan dibilas hingga bersih. Alat-alat yang selesai dicuci, disterilisasi kering dengan menggunakan oven selama 3 jam dengan suhu 121°C. Alat-alat diseksi dibungkus dengan *aluminium foil*, cawan petri dibungkus dengan kertas bekas kemudian dimasukkan dalam plastik tahan panas, sedangkan botol kultur di tutup dengan plastik. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Media Stok Hormon

Membuat larutan stok hormon yang bertujuan untuk mempermudah dalam pembuatan media. Langkah kerja dalam pembuatan larutan stok hormon dengan konsentrasi 100 mg dalam 1000 ml aquades sebagai berikut.

$$100 \text{ mg} = \frac{100 \text{ mg} = 10 \text{ mg}}{1000 \text{ ml} = 100 \text{ ml}}$$

Ditimbang serbuk picloram atau kinetin sebanyak 10 mg dan ditambahkan aquades sebanyak 100 ml. kemudian dihomogenkan sampai larut dan tercampur merata. Untuk mengambil larutan stok (sesuai konsentrasi yang diinginkan) digunakan rumus $M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$. Misalkan dalam pembuatan 50 ml media dengan konsentrasi picloram 1 mg/L, picloram yang diambil dari larutan stok adalah sebanyak:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1 \cdot 50 = 100 \cdot V_2$$

$$50 = 100 \cdot V_2$$

$$0,5 \text{ ml} = V_2$$

3.5.2.2 Media Induksi Kalus

Langkah pembuatan media untuk induksi kalus adalah pertama menimbang media MS instan sebanyak 4,43 gr, gula sebanyak 30 gr dan agar-agar 8 gr. Media MS instan dan gula dimasukkan kedalam beaker glass 1000 mL. Ditambahkan aquades sampai volume 1000 mL, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah tercampur semua, dibagi kedalam botol sebanyak perlakuan yaitu

20 botol, masing-masing botol 50 mL. Selanjutnya ditambahkan hormon kinetin dan picloram pada masing-masing botol sesuai konsentrasinya. Selanjutnya, diukur pH larutan media dalam beaker glass (pH 5,6-5,8). pH diatur dengan HCl 1 N atau NaOH 1 N. Kemudian dipindahkan media ke panci. Ditambahkan agar-agar 8 gr. Setelah itu, dipanaskan dan diaduk hingga mendidih kemudian di angkat. Media diisikan kedalam botol kultur masing-masing sebanyak ± 10 mL. Kemudian botol kultur yang berisi media ditutup dengan plastik dan diikat karet. Selanjutnya proses pelabelan botol. Langkah terakhir adalah sterilisasi media. Media dalam botol kultur disterilkan dengan cara dimasukkan kedalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.3 Sterilisasi Ruang Tanam

Sterilisasi ruang tanam dilakukan dengan cara mengepel lantai ruang inisiasi hingga bersih. Selanjutnya meja LAF (*Laminar Air Flow*) dibersihkan dengan alkohol 70% dan dinyalakan sinar UV selama 1 jam. Sebelum di UV, alat untuk menanam eksplan seperti cawan petri, scalpel, pinset dan bunsen serta alat lainnya dimasukkan dalam LAF. Setelah di UV selama 1 jam, dibuka pintu LAF dan selanjutnya dinyalakan blower.

3.5.4 Sterilisasi Eksplan

Daun muda nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) diambil dan dicuci dengan detergen dan dikocok kemudian dibilas dengan air mengalir sampai bersih, dibilas lagi dengan aquades. Daun muda yang telah bersih direndam dalam fungisida 300 mg/L selama 10 menit. Selanjutnya direndam dalam bakterisida 300 mg/L selama 10 menit. Sterilisasi selanjutnya dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*) dengan cara:

eksplan direndam dengan clorox 15% selama 15 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit. Kemudian dicelupkan pada alkohol 70% selama 30 detik, selanjutnya dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.

3.5.5 Induksi Kalus

Eksplan yang telah disterilisasi dipotong $\pm 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ kemudian ditanam pada media MS yang ditambahkan ZPT picloram dan kinetin dengan posisi daun terlungkup. Selanjutnya disimpan di ruang inokulasi dengan suhu 21°C selama 4 minggu. Penanaman dilakukan secara aseptik dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

3.5.6 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

Pengamatan warna kalus dilakukan di akhir pengamatan dengan cara mengamati perubahan warna pada setiap kalusnya.

3. Berat kalus

Dilakukan dengan cara menimbang berat kalus akhir.

4. Tekstur kalus

Pengamatan tekstur kalus yang dilakukan di akhir pengamatan, diamati secara visual terhadap penampakan kalus yaitu dengan melihat kalus yang remah atau *friable*, kalus kompak dan kalus intermediet.

5. Persentase pembentukan kalus

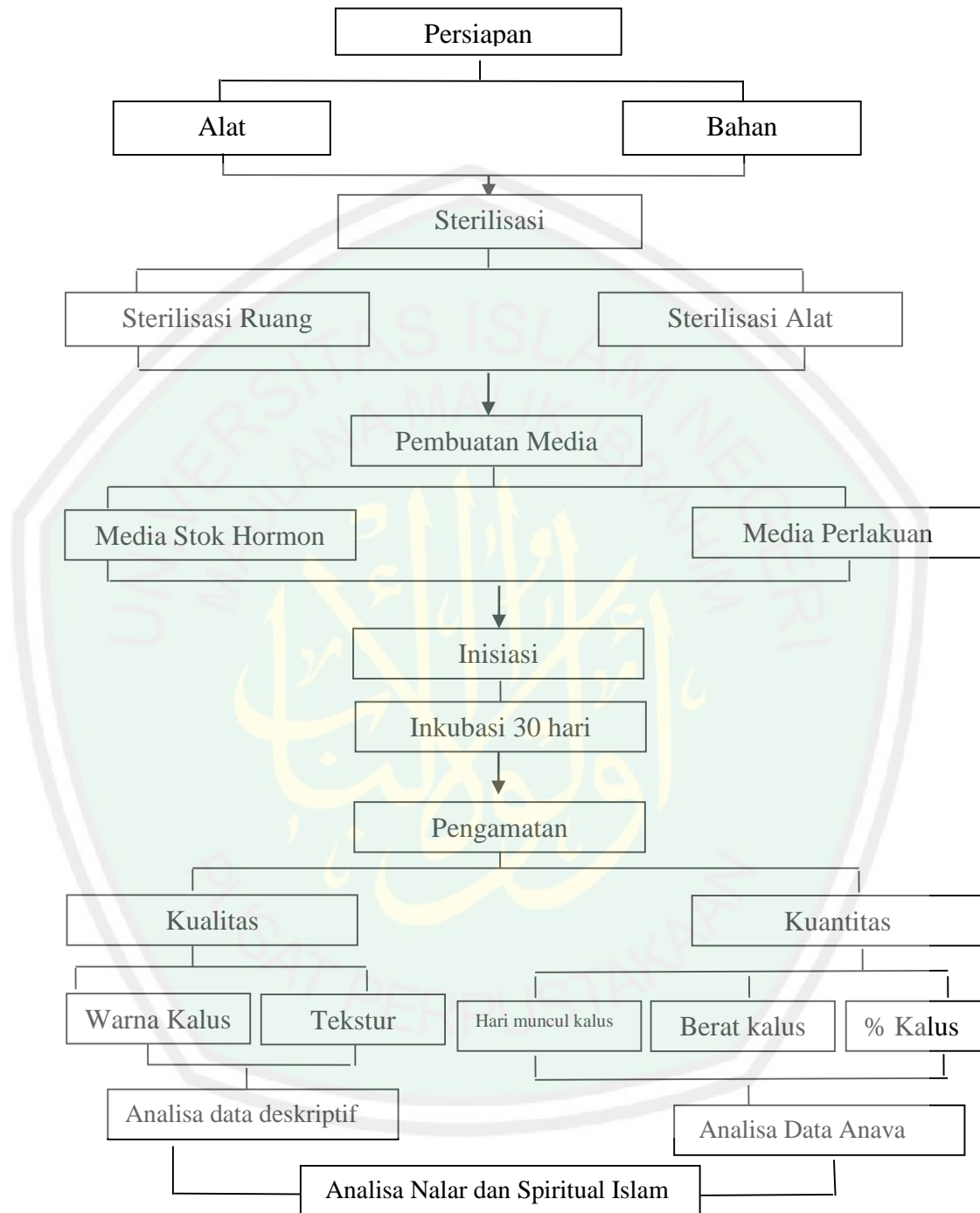
Dilakukan pada minggu ke empat atau akhir pengamatan, untuk mengetahui persentase pertumbuhan pada setiap percobaan.

3.6 Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus, sedangkan data kuantitatif berupa berat kalus. Data kualitatif dianalisis menggunakan analisis secara deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji statistik ANAVA (Analisis Varian) dua jalur. Bila terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

Data hasil pengamatan juga dianalisis menggunakan analisis nalar dan spiritual islam. Analisis ini menggunakan sumber dari beberapa ayat al-qur'an dan tafsir yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran-pemikiran islam. Hal ini dilakukan untuk menunjukkan sebagai khalifah di bumi dan sebagai tanggung jawab sebagai ilmuwan islam.

3.7 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Desain Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon Cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh picloram memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus daun nilam aceh (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%
Hari muncul Kalus	100,011*	2,90112
Persentase Pertumbuhan Kalus	846,400*	2,90112
Berat Kalus	86,274*	2,90112

Keterangan: *Kadar picloram berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi picloram berpengaruh nyata terhadap semua variabel yaitu hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus. Hal ini dapat diketahui dari nilai F hitung hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus lebih besar dari F tabel 5%. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%. Berikut hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Picloram terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Konsentrasi picloram (mg/L)	Hari muncul kalus (HST)	Persentase Pertumbuhan Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
0	0a	0a	0a
2	12,33b	93,42c	0,56d
4	13,25b	84,33b	0,42c
6	12,42b	83,75b	0,32b

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian picloram 0 mg/L sangat berbeda nyata terhadap semua perlakuan pemberian picloram. Namun ketiga perlakuan pemberian picloram yaitu 2 mg/L, 4 mg/L dan 6 mg/L tidak mempunyai perbedaan nyata. Munculnya kalus pada daun nilam aceh ini pada perlakuan dengan pemberian picloram rata-rata 12-13 HST. Hal ini dapat diketahui bahwasannya dengan penambahan auksin saja (dalam hal ini picloram) dapat menginduksi kalus daun nilam Aceh. Menurut Chernova *et.al* (1975) Picloram memiliki sifat yang hampir sama dengan 2,4-D, tetapi picloram lebih efektif dalam meningkatkan induksi kalus jika dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh 2,4 D. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi picloram yang optimum pada hari muncul muncul kalus adalah 2 mg/L.

Munculnya kalus pada eksplan daun nilam aceh ini ditandai dengan mengembunginya eksplan ditempat perlukaan atau tulang daun. Menurut Sitorus *et.al.* (2011) pembentukan kalus terjadi karena adanya pelukaan yang diberikan pada eksplan, sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak tersebut. Sedangkan kalus muncul pada tulang daun karena tulang daun

mengandung jaringan pengangkut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nurwahyuni *dalam* Intias (2012) yaitu pertumbuhan kalus pada eksplan semakin meningkat apabila tulang-tulang daun yang mengandung berkas/jaringan pengangkut, hal ini disebabkan karena pada jaringan pengangkut tersebut terdapat nutrien yang lebih banyak bila dibanding dengan jaringan daun yang tidak mempunyai jaringan pengangkut. Disamping itu, munculnya kalus juga dipengaruhi oleh kerja auksin maupun sitokinin.

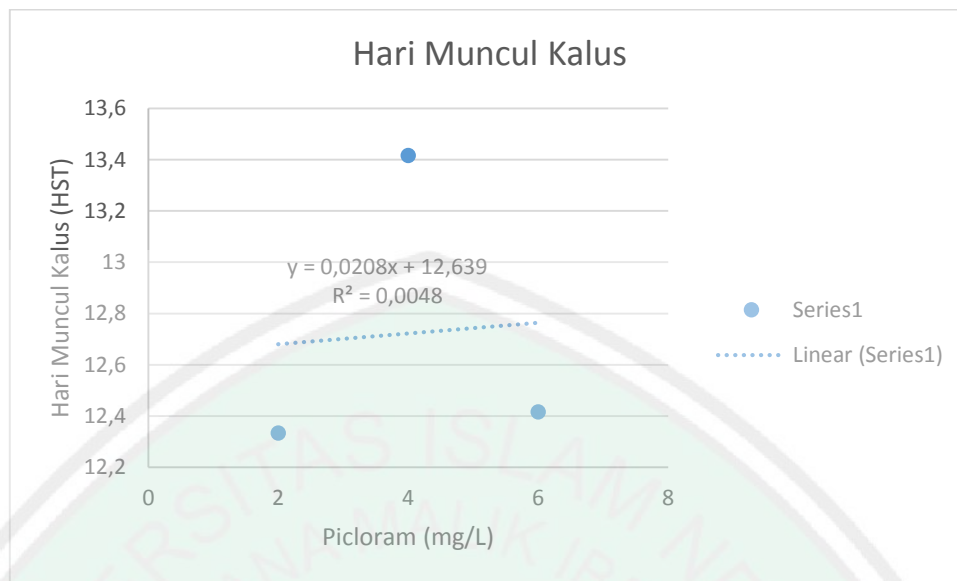
Pemberian berbagai konsentrasi picloram juga berpengaruh nyata terhadap persentase pertumbuhan kalus. Dari hasil pengamatan diperoleh persentase pertumbuhan kalus tertinggi yaitu pada perlakuan pemberian picloram 2 mg/L sebesar 93,42%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yascob *et.al* (2012) pada kultur kalus *Agapanthus praecox* sep.minimus dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram sebanyak 2 mg/L menghasilkan persentase kalus sebesar 100%. Menurut Aprisa (2012) picloram merupakan salah satu auksin yang digunakan induksi kalus yang aktif pada konsentrasi rendah pada banyak genotipe. Sedangkan pada konsentrasi tinggi, picloram memiliki sifat seperti zat pengatur tumbuh 2,4 D yaitu bersifat herbisida. Tu *et.al* (2001) menambahkan bahwa picloram dalam konsentrasi rendah dapat menstimulasi sintesis RNA dan replikasi DNA dalam mengontrol pembelahan dan pertumbuhan sel. Sedangkan picloram dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pembelahan dan pertumbuhan sel.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa faktor lain yang mendukung keberhasilan persentase pertumbuhan kalus pada penelitian ini adalah karena penggunaan media MS yang mengandung komposisi lengkap untuk pertumbuhan

kalus. Pemberian hormon dengan beberapa konsentrasi pada media MS memberikan persentase tumbuh eksplan yang baik, karena pada media mengandung vitamin, unsur hara makro dan mikro, serta besi dan sukrosa sehingga cukup untuk memacu pertumbuhan eksplan dalam pembentukan kalus (Ardiana, 2009).

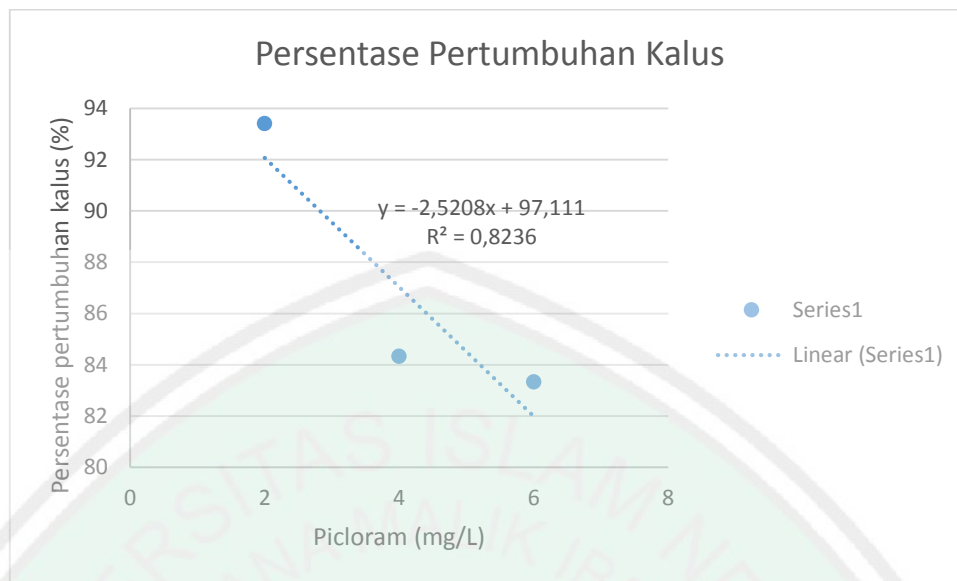
Pemberian zat pengatur tumbuh picloram juga memberikan pengaruh terhadap berat kalus daun nilam aceh. Perlakuan yang mempunyai berat paling tertinggi yaitu pada perlakuan pemberian picloram 2 mg/L dengan berat 0,56 gr. Hal ini dapat diketahui bahwa pada konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi picloram yang tepat untuk meningkatkan nilai berat kalus. Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et.al* (2016) pada konsentrasi 2 mg/L picloram dalam kultur kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) juga menghasilkan berat kalus yang tertinggi dibanding dengan perlakuan yang lainnya yaitu sebesar 0,29 gr.

Menurut Sitorus (2011) menyatakan bahwa pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal dan akan meningkatkan berat basah kalus. Rahayu *et al* (2003), menyatakan bahwa berat segar kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya tinggi, selain itu berat basah yang dihasilkan juga tergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Berikut disajikan kurva hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus.



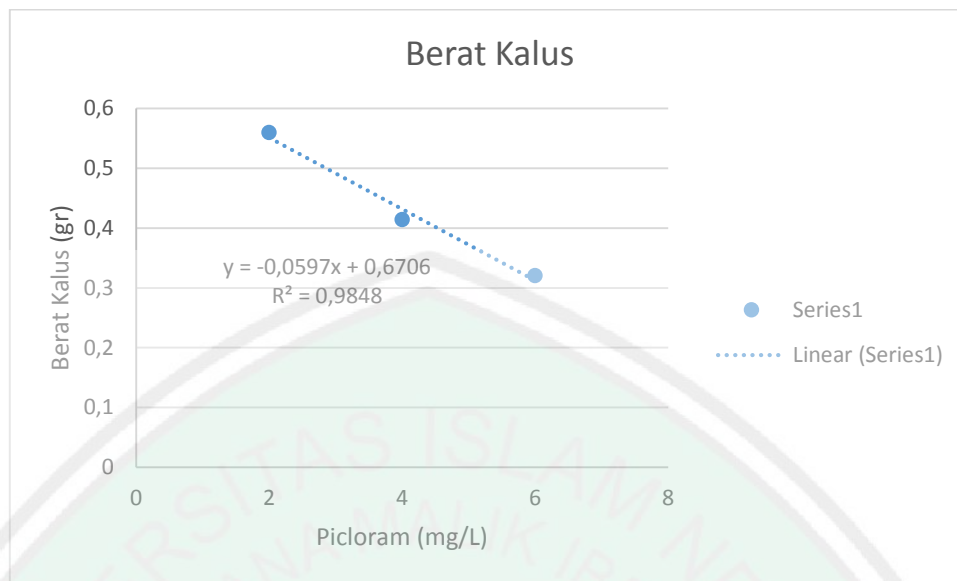
Gambar 4.1 Kurva Hari Muncul Kalus (HST) Daun Nilam Aceh (*pogostemon cablin* Benth.) pada Konsentrasi Picloram (mg/L).

Berdasarkan gambar 4.1 dapat diketahui bahwa kurva hari muncul kalus dengan pemberian berbagai konsentrasi picloram (mg/L) menghasilkan persamaan $y = 0,0208x + 12,639$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,0048$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi picloram terhadap hari muncul kalus dengan nilai kepercayaan sebesar 0,48%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi picloram yang diberikan maka semakin lama pula dalam menginduksi munculnya kalus daun nilam aceh. Hal ini sesuai dengan pendapat Tu, *et.al.* (2001) yaitu picloram dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pembelahan dan pertumbuhan sel. Dari kurva tersebut belum bisa diketahui nilai optimasi picloram untuk menginduksi munculnya kalus, dimungkinkan nilai optimasi berada diantara konsentrasi 0-2 mg/L picloram. Tetapi tidak pada konsentrasi 0 mg/L, karena pada konsentrasi tersebut tidak terjadi pembentukan kalus.



Gambar 4.2 Kurva Persentase Pertumbuhan Kalus daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) pada konsentrasi picloram (mg/L).

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa kurva persentase pertumbuhan kalus dengan pemberian berbagai konsentrasi picloram (mg/L) menghasilkan persamaan $y = -2,5208x + 97,111$ dengan nilai determinasi $R = 0,8236$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi picloram terhadap persentase pertumbuhan kalus yaitu sebesar 82,36%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi picloram yang diberikan maka semakin menurun persentase pertumbuhan kalus. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hendaryono dan Wijayani (1994) yaitu pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan. Dari kurva tersebut belum bisa diketahui nilai optimasi picloram, dimungkinkan nilai optimasi berada diantara konsentrasi 0-2 mg/L picloram.



Gambar 4.3 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) pada Konsentrasi Picloram (mg/L).

Kurva untuk variabel pengamatan berat kalus pada pemberian berbagai konsentrasi picloram (mg/L) membentuk garis linier dengan persamaan $y = -0,0597x + 0,6706$ dengan determinasi $R^2 = 0,9848$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi picloram terhadap berat kalus yaitu sebesar 98,48%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi picloram yang diberikan maka semakin menurun berat kalus. Dari kurva tersebut belum bisa diketahui nilai optimasi picloram dalam meningkatkan berat kalus daun nilam aceh, dimungkinkan nilai optimasi berada diantara konsentrasi 0-2 mg/L picloram. Tetapi tidak pada konsentrasi 0 mg/L picloram, karena pada konsentrasi tersebut tidak terjadi pembentukan kalus.

4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon Cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus daun nilam aceh (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%
Hari muncul Kalus	0,632	2,90112
Persentase Pertumbuhan Kalus	2,504	2,90112
Berat Kalus	3,245*	2,90112

Keterangan: *Kadar kinetin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian kinetin hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus. Hal ini terbukti dari nilai F hitung berat kalus lebih besar dari F tabel 5%, sedangkan untuk F hitung hari muncul kalus dan persentase pertumbuhan kalus serta berat kalus lebih kecil dari F tabel 5%. sehingga berat kalus perlu diuji lanjut dengan menggunakan uji DMRT 5%. Berikut hasil uji DMRT 5% disajikan tabel 4.4.

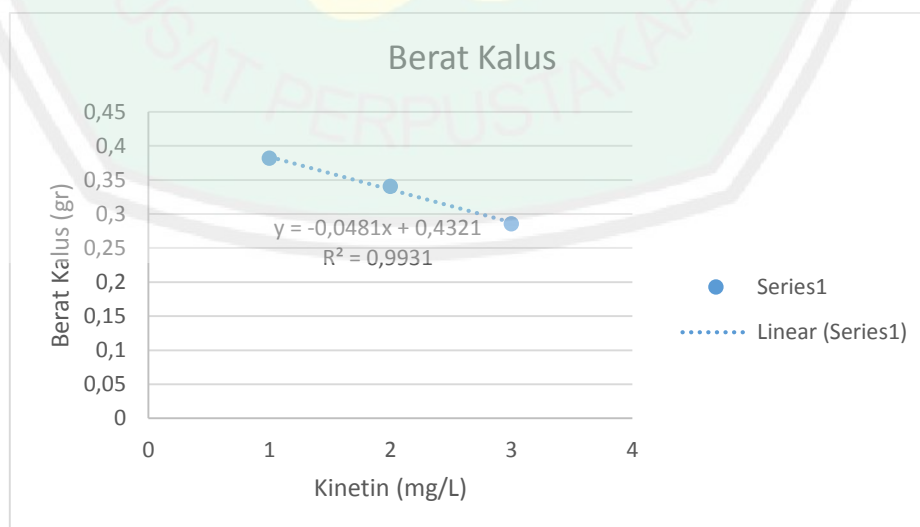
Tabel 4.4 Hasil uji DMRT 5% pengaruh kinetin terhadap induksi kalus daun nilam aceh (*Pogostemon cablin Benth.*)

Konsentrasi Kinetin (mg/L)	Berat kalus (gr)
0	0,29a
1	0,38b
2	0,34ab
3	0,29a

Keterangan angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05

Hasil uji lanjut DMRT 5% diatas menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin 0 mg/L sangat berbeda nyata dengan konsentrasi kinetin 1 mg/L. Hal ini dapat diketahui bahwa konsentrasi kinetin yang efektif untuk meningkatkan berat kalus daun nilam aceh yaitu pada konsentrasi 1 mg/L yang menghasilkan berat kalus tertinggi sebesar 0,38 gr. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa sitokinin juga berperan dalam menginduksi kalus. Penelitian yang dilakukan oleh Trimulyono *et.al* (2004) perlakuan dengan pemberian berbagai konsentrasi kinetin yaitu 0; 0,5 ; 1 dan 2 mg/L pada kultur kalus daun nilam aceh menghasilkan berat kalus antara 75-130 mg. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa sitokinin diperlukan dalam pembentukan kalus tetapi dengan kadar yang rendah.

Menurut Wilkins *dalam* Trimulyono (2014) menyatakan bahwa pemberian kinetin mampu memacu pembelahan sel yang ditunjukkan dengan meningkatnya laju pertumbuhan kalus dan berat kalus. Sifat paling penting dari sitokinin adalah perangsangannya terhadap pembelahan sel. Berikut disajikan kurva berat kalus daun nilam aceh dengan pemberian berbagai konsentrasi kinetin.



Gambar 4.4 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (*pogostemon cablin* Benth.) pada Konsentrasi Kinetin (mg/L).

Berdasarkan gambar 4.4 dapat diketahui bahwa kurva berat kalus daun nilam aceh dengan pemberian berbagai konsentrasi kinetin (mg/L) menghasilkan persamaan $y = -0,0481x + 0,4321$ dengan nilai determinasi $R = 0,9931$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi kinetin terhadap persentase pertumbuhan kalus yaitu sebesar 99,31%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi kinetin yang diberikan maka semakin menurun pula berat kalus yang dihasilkan. Dari kurva tersebut belum bisa diketahui nilai optimasi picloram, dimungkinkan nilai optimasi berada diantara konsentrasi 0-1 mg/L kinetin. Namun nilai optimasi tidak pada konsentrasi 0 mg/L kinetin, karena pada konsentrasi tersebut tidak terjadi pembentukan kalus.

4.3 Pengaruh Kombinasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon Cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Hasil analisis variansi (ANAVA) menunjukkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh picloram dan kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus daun nilam aceh (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin Benth.*) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5 %
Hari muncul Kalus	0,184	2,18877
Persentase Pertumbuhan Kalus	2,029	2,18877
Berat Kalus	3,594*	2,18877

Keterangan: *Kadar kombinasi picloram dan berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

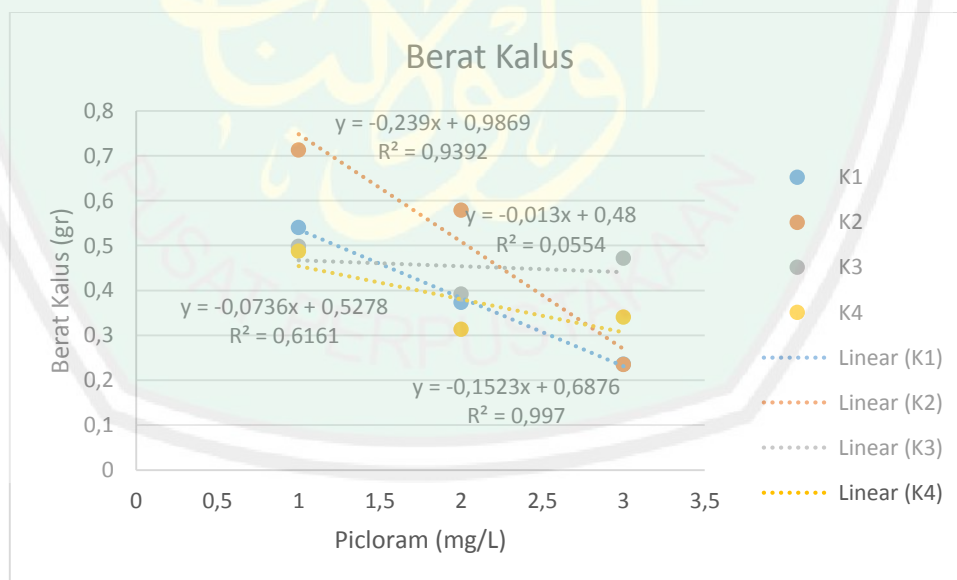
Berdasarkan hasil analisis variansi diketahui bahwa nilai F hitung hari muncul kalus yaitu 0,184. Sedangkan nilai F hitung persentase pertumbuhan kalus yaitu 2,029 dan nilai F hitung berat kalus yaitu 3,594. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa apabila nilai F hitung lebih besar dari nilai F tabel 5% maka terdapat pengaruh nyata, sehingga dapat diketahui bahwa kombinasi konsentrasi picloram dan kinetin hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus daun nilam aceh, oleh karena itu perlu di uji lanjut dengan uji DMRT 5%.

Tabel 4.6 Hasil uji DMRT 5% Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Konsentrasi Picloram dan Kinetin	Berat kalus
0 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P0K0)	0a
0 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P0K1)	0a
0 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P0K2)	0a
0 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P0K3)	0a
2 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P1K0)	0,54ef
2 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P1K1)	0,7133g
2 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P1K2)	0,50def
2 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P1K3)	0,4867def
4 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P2K0)	0,3767bcde
4 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P2K1)	0,58fg
4 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P2K2)	0,3933bcd
4 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P2K3)	0,3167bc
6 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P3K0)	0,2367b
6 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P3K1)	0,2333b
6 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P3K2)	0,4733cdef
6 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P3K3)	0,34bcd

Keterangan angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05

Berdasarkan tabel 4.6 dapat diketahui bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh picloram dan kombinasi memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap berat kalus daun nilam aceh. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P1K1) menghasilkan berat kalus yang tertinggi dibanding konsentrasi yang lain yaitu sebesar 0,7133 gr. Hal ini dapat diketahui bahwa penambahan sitokinin dan auksin sampai taraf tertentu dapat menghasilkan kalus dengan pertumbuhan lebih besar. Hasil tersebut sesuai dengan Skoog dan Miller (1979) yang menyatakan bahwa pertumbuhan kalus lebih banyak dihasilkan pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang seimbang karena didalam tumbuhan itu sendiri terdapat zat pengatur tumbuh endogen. Berikut disajikan kurva kombinasi konsentrasi picloram dan kinetin untuk variabel berat kalus.



Gambar 4.5 Kurva Berat Kalus Daun Nilam Aceh (*pogostemon cablin* Benth.) pada Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin.

Kurva kombinasi konsentrasi picloram dan kinetin pada variabel pengamatan berat kalus membentuk garis linier dengan persamaan $y = -0,239x + 0,9869$ dengan determinasi $R^2 = 0,9392$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan kombinasi picloram dan kinetin terhadap berat kalus yaitu sebesar 93,92%. Berdasarkan kurva tersebut belum diketahui nilai optimasi kombinasi konsentrasi picloram dan kinetin yang tepat. Tetapi berdasarkan garis linier yang terbentuk dari kombinasi kedua zat pengatur tumbuh (picloram dan kinetin) tersebut, konsentrasi kinetin 1 mg/L merupakan konsentrasi yang menghasilkan garis linier yang paling tinggi dibanding dengan yang lain.

4.4 Tekstur Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Tekstur kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan. Turhan (2004) menyatakan bahwa secara visual kalus dapat dibedakan menjadi tiga tipe kalus, yaitu kompak, intermediet dan remah. Kalus remah memiliki ciri yaitu kalus yang mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal. Kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel sel tubular dimana struktur sel selnya renggang, tidak teratur dan mudah rapuh (Manuhara, 2001). Menurut Alitalia (2008) menyatakan bahwa kalus remah sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspensi. Sementara itu, kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air (Manuhara, 2001). Sedangkan intermediet campuran antara remah dan kompak. Hasil pengamatan tentang tekstur kalus pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Tekstur Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

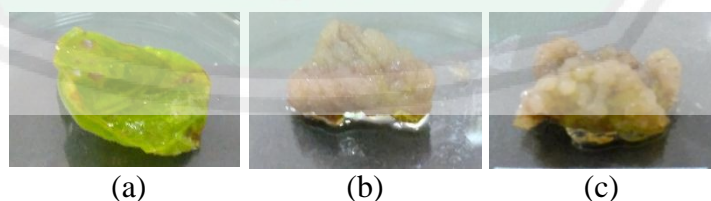
Konsentrasi Picloram dan Kinetin	Tekstur kalus
0 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P0K0)	-
0 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P0K1)	-
0 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P0K2)	-
0 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P0K3)	-
2 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P1K0)	Kompak
2 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P1K1)	Kompak
2 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P1K2)	Kompak
2 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P1K3)	Remah
4 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P2K0)	Remah
4 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P2K1)	Remah
4 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P2K2)	Remah
4 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P2K3)	Kompak
6 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P3K0)	Remah
6 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P3K1)	Remah
6 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P3K2)	Remah
6 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P3K3)	Kompak

Keterangan: - : tidak terbentuk kalus

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa tekstur kalus daun nilam aceh ini mempunyai tekstur yang kompak dan tekstur remah. Hal ini disebabkan oleh jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan dan konsentrasinya. Karena menurut Pierik (1987) menyatakan bahwa tekstur pada kalus yaitu kompak hingga meremah, tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur. Kalus yang diperoleh pada penelitian ini dapat diidentifikasi teksturnya seperti yang terlihat pada gambar

4.6. Namun dari hasil pengamatan hampir setiap perlakuan menghasilkan kalus dengan tekstur remah. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Lim *et.al* (2009) yaitu perlakuan kombinasi antara zat pengatur tumbuh 3 mg/L picloram dan berbagai konsentrasi kinetin pada kultur kalus daun *Ocimum sanctum* menghasilkan kalus dengan tekstur kompak. Hal ini dapat terjadi diduga karena pemberian konsentrasi picloram yang tinggi dapat menghasilkan kalus remah. Karena menurut Chernova *et.al* (1975) Picloram memiliki sifat yang hampir sama dengan 2,4-D. Rahayu (2003) menyatakan bahwa konsentrasi 2,4-D yang tinggi akan menghasilkan kalus bertekstur remah (*friable*).

Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder (dalam hal ini *patchouli oil*) yaitu memiliki tekstur kompak. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Dini, 2013). Ramawat (1999), menyatakan bahwa kalus akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada saat sel-sel mengalami penurunan aktifitas pembelahan. Dodd (1993), menyatakan kalus yang mempunyai tekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan banyak mengandung pati.




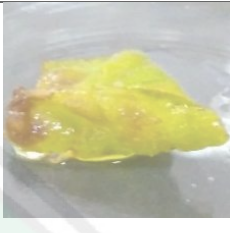



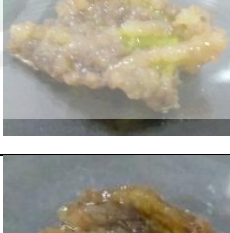

Gambar 4.6 Tekstur kalus daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) (a) eksplan tidak berkalus pada perlakuan 0 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P0K0) (b) kalus kompak pada perlakuan 2 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P1K0) (c) kalus remah, pada perlakuan 4 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P2K2).








4.5 Warna Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Warna kalus merupakan gambaran visual yang dijadikan sebagai indikator perkembangan eksplan pada budidaya *in vitro* sehingga dapat diketahui bahwa kultur kalus yang terbentuk sel-selnya masih aktif membelah atau mati (Putri, 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan warna kalus pada media induksi kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram dan kinetin. Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Jaringan yang di hasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda (Lutviana, 2012). Perbedaan warna kalus dapat disebabkan beberapa hal diantaranya yaitu pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Hasil pengamatan parameter warna kalus dapat dilihat pada tabel 4.8:

Tabel 4.8 Hasil Pengamatan Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Picloram dan Kinetin terhadap Warna Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Perlakuan picloram dan kinetin	Warna kalus	Gambar Pengamatan
0 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P0K0)	-	
0 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P0K1)	-	

0 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P0K2)	-	
0 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P0K3)	-	
2 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P1K0)	Kuning kecoklatan	
2 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P1K1)	Kuning	
2 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P1K2)	Kuning	
2 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P1K3)	Kuning kecoklatan	
4 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P2K0)	Kuning kecoklatan	

4 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P2K1)	Kuning kecoklatan	
4 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P2K2)	Kuning	
4 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P2K3)	Kuning kecoklatan	
6 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (P3K0)	Kuning kecoklatan	
6 mg/L PIC + 1 mg/L Kn (P3K1)	Kuning kecoklatan	
6 mg/L PIC + 2 mg/L Kn (P3K2)	Kuning kecoklatan	
6 mg/L PIC + 3 mg/L Kn (P3K3)	Kuning kecoklatan	

Keterangan: -: tidak terbentuk kalus.

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa kalus yang diperoleh pada tahap induksi kalus secara keseluruhan berwarna kuning kecoklatan dan kuning. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dzuraibak (2014) bahwa dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram pada kultur kalus anthera kedelai (*Glycine max* L. Merrill) menghasilkan warna kekuningan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rahayu *et.al* (2016) pada kultur kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) bahwa pada perlakuan dengan menggunakan berbagai konsentrasi picloram yaitu 2 mg/L, 4 mg/L, dan 6 mg/L menghasilkan warna putih kekuningan. Sehingga dapat diketahui bahwa perlakuan yang ditambahkan dengan picloram menghasilkan warna kekuningan. Perubahan warna menjadi kecoklatan diakibatkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder.

Menurut Azizah (2017), kalus yang berwarna kecoklatan atau kehitaman merupakan kalus non-embriogenik dimana kalus ini tidak memiliki kemampuan untuk beregenerasi (tidak mengalami proses perkembangan fase embryogenesis). Vickrey (2003), menyatakan bahwa sintesis senyawa fenolik di picu oleh gangguan pada sel tanaman misalnya cekaman, intensitas cahaya dan juga eksplan yang berbeda. Gejala pencoklatan merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan, selain itu juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol. Hendaryono dan Wijayani (1994) menyebutkan bahwa senyawa fenol akan teroksidasi membentuk quinon yang memiliki sifat racun terhadap sel-sel tanaman dan dapat menyebabkan kematian sel. Oksidasi fenol menyebabkan pencoklatan medium dan kematian eksplan, pencoklatan juga dapat disebabkan karena terdapat luka akibat pemotongan pada jaringan dimana luka tersebut menyebabkan stress.

4.6 Hasil Penelitian tentang Kalus dalam Pandangan Islam

Allah SWT mampu menumbuhkan berbagai macam tumbuhan dimuka bumi ini dengan kekuasaan-Nya baik berasal dari suatu yang hidup ataupun yang mati, akan tetapi dari setiap ciptaan yang Allah SWT ciptakan dibutuhkan sebuah proses dalam pembentukannya, seperti halnya tumbuhan membutuhkan media berupa tanah dan unsur hara untuk mendukung pertumbuhan sehingga tumbuhan bisa tumbuh dengan normal dan maksimal.

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

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

Menurut Al Harits (2008) pada tanah yang baik, hujan dapat membuat tanah itu bermanfaat sehingga menumbuhkan tanaman. Sedang tanah yang tidak baik, hujan tidak dapat membuatnya bermanfaat sehingga hanya menumbuhkan sesuatu yang tidak bermanfaat.

Menurut Al Jazairi (2007) ”Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah...” yaitu setelah Allah menurunkan air padannya.

Sedangkan "*Dan tanah yang tidak subur...*" yaitu tanah yang buruk dan berkerikil. Ketika hujan turun tanaman-tanamannya hanya tumbuh tidak terawat, merana, tidak subur, susah, dan tidak bagus. Berdasarkan kedua tafsir tersebut dapat diketahui bahwa tanah yang subur maka tanamannya akan tumbuh dengan baik. Tanah yang subur biasanya mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup. Tanaman biasanya juga bisa tumbuh pada media selain tanah, misalnya dengan teknik kultur jaringan.

Kultur jaringan tumbuhan adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ ataupun embrio, lalu dikulturkan pada media buatan steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Winata, 1987 *dalam* Zulkarnain, 2009). Media kultur sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Dalam kultur jaringan, media agar diibaratkan sebagai tanah sehingga dalam media tersebut harus mengandung unsur hara makro maupun mikro. Zat tambahan yang biasanya digunakan adalah zat pengatur tumbuh. Penambahan zat pengatur tumbuh ini tergantung dari tujuan kita, misalnya menginduksi pertumbuhan kalus diperlukan auksin dan sitokinin (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Penelitian ini menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh antara auksin dan sitokinin untuk menginduksi kalus daun nilam aceh. Auksin yang digunakan adalah picloram sedangkan sitokininnya adalah kinetin. Suryowinoto (1996) *dalam* Arianti (2015) menyatakan bahwa untuk mendapatkan kalus, perlu adanya

keseimbangan antara sitokinin dan auksin. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Qamar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

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

Allah SWT menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannya sesuai ketetapan, ilmu pengetahuan dan suratan takdir-Nya. Jadi, semua yang terjadi di alam semesta pasti berdasarkan takdir Allah SWT (Muyasar, 2007). Seperti halnya dalam penelitian ini. Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi picloram dan 4 konsentrasi kinetin serta dikombinasikan antara keduanya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa hari muncul kalus optimum pada pemberian picloram dengan konsentrasi 2 mg/L, persentase pertumbuhan kalus juga optimum pada 2 mg/L PIC, dan berat kalus optimum pada perlakuan kombinasi 2 mg/L PIC + 1 mg/L Kn. Sehingga dapat diketahui bahwa setiap variabel pengamatan, konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan tanaman nilam dalam menginduksi kalus berbeda-beda konsentrasi auksin dan sitokininnya.

Pertumbuhan merupakan peristiwa pembelahan dan pembesaran sel. Pertumbuhan menunjukkan proses perubahan secara kuantitatif berupa penambahan jumlah sel, ukuran sel, lebar serta berat dari organisme yang sedang mengalami pertumbuhan. Parameter pertumbuhan sangat bervariasi dan bersifat kuantitatif. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Insyiqaaq ayat 19 yang berbunyi:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”

Menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Imam al-Bikhari meriwayatkan dari Mujahid, dia berkata bahwa Ibnu Abbas mengatakan “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”, yaitu satu keadaan ke keadaan yang lain. Dalam konteks tumbuhan kalimat tersebut dapat dikatakan merupakan pertumbuhan. Kalus terbentuk karena eksplan yang bersifat meristematis yang mengalami luka, karena adanya zat pengatur tumbuh dalam media yang menyebabkan sel mengalami pemanjangan sel sehingga membentuk kalus.

Berdasarkan perubahan ukuran sel, metabolisme dan penampakan kalus, proses perubahan dari eksplan menjadi kalus dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pada tahap induksi sel tiap untuk membelah, metabolisme menjadi aktif dan ukuran sel tetap konstan. Tahap pembelahan, sel aktif membelah atau bersifat meristematis dan terjadi penurunan ukuran sel. Akhir pertumbuhan kalus ditandai dengan peningkatan diferensiasi dicirikan dengan pembesaran sel, sel menjadi bervakuola dan penurunan laju pembelahan (Alitalia, 2008). Pertumbuhan kalus dapat digambarkan dengan kurva sigmoid biasanya terdiri dari lima fase yaitu (1) fase lag (2) periode pertumbuhan eksponensial (3) Periode pertumbuhan linear (4) periode penurunan kecepatan tumbuh (5) stasioner (Smith, 2000).

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah SWT menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Seperti yang ditunjukkan oleh eksplan daun nilam aceh yang dapat tumbuh hingga membentuk kalus. Maha Suci Allah atas segala

kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai khalifah untuk semakin mendekatkan diri kepada Allah SWT.

Manusia diciptakan oleh Allah SWT sebagai khalifah di muka bumi. Khalifah ialah bahwa manusia itu 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.

Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan sempurna. Sehingga apabila dipelajari lebih lanjut dapat diketahui bahwa teknik kultur jaringan khususnya teknik kultur kalus terdapat kelebihan dan kekurangan. Karena teknik kultur kalus daun nilam aceh ini merupakan hasil pemikiran manusia sehingga pasti terdapat kekurangan. Namun demikian, hasil pemikiran ini juga mempunyai manfaat tersendiri yaitu sebagai salah satu alternatif untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder (*patchouli oil*) pada kalus daun nilam aceh. Ini merupakan bentuk anugerah akal yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia untuk memikirkan ciptaan-Nya seperti yang dijelaskan dalam QS. Ali-Imron ayat 191.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

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

Menurut Tafsir Ibnu Katsir “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring” maksudnya mereka tidak putus-

putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun dengan lisan mereka. *“dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi”* maksudnya mereka memahami apa yang terdapat pada keduanya (langit dan bumi) dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah, kekuasaan-Nya, keluasan ilmu-Nya, hikmah-Nya, pilihan-Nya, juga rahmat-Nya. Sungguh Allah mencela orang yang tidak mengambil pelajaran tentang makhluk-makhluk-Nya yang menunjukkan kepada dzat-Nya, sifat-Nya, syari’at-Nya, kekuasaan-Nya dan tanda-tanda (kekuasaan)-Nya. *“Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia”* artinya, Engkau tidak menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa-apa yang telah mereka kerjakan dan juga memberikan balasan orang-orang yang beramal baik dengan balasan syurga. Kemudian mereka menyucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil seraya berkata *“Maha Suci Engkau”* yakni dari menciptakan sesuatu yang sia-sia. *“maka peliharalah kami dari siksa neraka”* maksudnya wahai Rabb yang menciptakan makhluk ini dengan sungguh-sungguh dan adil. Wahai Dzat yang jauh dari kekurangan, aib dan kesia-sia, peliharalah kami dari adzab Neraka dengan daya dan kekuatan-Mu. dan berikanlah taufik kepada kami dalam menjalankan amal shalih yang dapat mengantarkan kami ke Surga serta menyelamatkan kami dari adzab-Mu yang sangat pedih (Al-Jazairi, 2007).

Ayat di atas menjelaskan bahwa orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi artinya mereka selalu mengingat Allah SWT dalam

keadaan apapun dan dimanapun. Mereka selalu menggunakan akal dan pikirannya dalam mempelajari segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di bumi maupun di langit. Dengan mempelajari semua ciptaan Allah SWT ini mereka dapat membaca masalah yang terjadi di lingkungan sekitar sehingga dapat menemukan solusi yang sesuai.

Seperti halnya dalam penelitian ini, permasalahan yang terjadi yaitu permintaan konsumen terhadap *patchouli oil* sangat tinggi sedangkan lahan yang digunakan untuk menanam tanaman nilam yang menghasilkan *patchouli oil* sangat sempit. Oleh karena itu manusia sebagai khalifah harus memiliki suatu tindakan untuk mengatasinya sebagai wujud syukur kepada Allah SWT dan sebagai wadah untuk mengembangkan ilmu pengetahuannya. Berdasarkan hal tersebut maka diharapkan melalui penelitian ini dapat dijadikan upaya untuk meningkatkan metabolit sekunder (*patchouli oil*) dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan khususnya induksi kalus daun nilam aceh sebagai awal dari produksi *patchouli oil*. Dengan hasil penelitian ini semoga dapat menambah keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh picloram dan kinetin terhadap induksi kalus daun nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi picloram 2 mg/L berpengaruh nyata terhadap induksi kalus yaitu 12 HST dan persentase pertumbuhan kalus 93,42% dengan berat kalus 0,56 gr.
2. Konsentrasi kinetin 1 mg/L hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus yaitu sebesar 0,38 gr.
3. Konsentrasi picloram 2 mg/L + kinetin 1 mg/L hanya berpengaruh nyata terhadap berat kalus sebesar 0,71 gr dengan tekstur kompak dan warna kalus kuning.

5.2 SARAN

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain:

1. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh picloram tidak terlalu tinggi maksimal 4 mg/L.
2. Konsentrasi kinetin sebaiknya menggunakan konsentrasi yang rendah maksimal 1,5 mg/L.
3. Perlu uji kadar metabolit sekunder *patchouli oil* dalam kalus nilam aceh.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Aisyah, Y. 2010. Karakterisasi Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dan Peningkatan Kadar *Patchouli alcohol* dalam Minyak Nilam Menggunakan Membran Selulosa Asetat dan Distilasi Fraksinasi. *Disertasi*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh pemberian BAP dan NAA terhadap pertumbuhan dan perkembangan Tunas mikro kantong semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *in vitro*. *Skripsi*. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Al-Jazairi, S. 2007. *Aisar At Tafaasir Li Al-Kalaami Al- Aliyyi Al-Kabir*. Terjemahan Nafi Zainuddin dan Suratman. Jakarta: Darus Sunah.
- Al-Jazairi, A. B. J. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Al-Sheikh, A. diterjemah oleh Ghoffar, M.1994.*Tafsir Ibnu Katsir Jilid 7*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Faperta Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Andre, S.B., Kone M., Kouassi K., Koffi K., Kone T., Kouakou T., dan Kouadio Yatty Justin. 2015. Effects of Plant growth regulators and carbohydrates on callus induction and proliferation from leaf explant of *Lippia multiflora* Moldenke (*Verbenacea*). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*.8 (2): 118-127.
- Andri, R.F. 2012. Pengaruh 2,4-D Terhadap Pembentukan Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dan Uji Responnya Terhadap PEG dalam Upaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Anggarwulan, E dan Sholichatun. 2001. *Fisiologi Tumbuhan*. Surakarta: UNS.
- Aprisa, R. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Dua Genotipe Mutan Jagung (*Zea mays* L.) Pada Media Dasar MS dan N6. *Skripsi*. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Arianti, A. M., 2015. Pengaruh Berbagai Konsentrasi PEG (*Polyethylen Glycol*) 6000 Terhadap Kualitas dan Kuantitas Kalus Serta Uji Kualitatif Metabolit Sekunder Vernodalina pada Kalus Daun Afrika (*Vernonia amydalina*).

Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Ariati, S.N. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science*. 1(1): 78-84

Ardiana, D.W. 2009. Teknik Pemberian Benzyl Amino Purin untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo* L.). *Buletin Teknik Pertanian*. 14(2): 50–53

Armini, N. M., G. A. Wattimena dan L. W. Gunawan. 1991. *Perbanyak tanaman*. Hal 17-149. Dalam: Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman (Eds.). *Bioteknologi Tanaman 1*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Insitut Pertanian Bogor. Bogor.

Ath-Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2008. *Jamil Al Bayan An Ta'wil Ayi Al Qur'an*. Terjemahan Abdul Somad dan Yusuf Hamdani. Jakarta: Pustaka Azzam.

Azizah, R. 2017. Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. Tungkal Jambi) dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.

Bakkali, F., Averbeck, S., and Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Science Direct*. 46: 446-475.

Bhaskaran, S. and R.H. Smith . 1990. *Regeneration in cereal tissue culture*. A. *Review. Crop Sci*. 30: 1328-1336.

Bidwell. 1979. *Plant Physiology*. London: Collier MacMillan Co. Inc.

Bunrathep, S., G. B. Lockwood, T. Songsak and N. Ruangrunsi. 2006. Chemical Constituents from Leaves and Cell Cultures of *Pogostemon cablin* and Use of Precursor feeding to Improve *Patchouli Alcohol* Level. *Science Asia*. 32: 293-296.

Chernova, L., K., Prokhorov M.N. and Filin Koldakov. 1975. Comparison of the dedifferentiating effects of 2,4-D and 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid on tissue of legumes and cereals. *Fiz. Rast*. 22: 170-175.

Darwati, I. 2007. Kultur Kalus dan Kultur Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) Untuk Menghasilkan Metabolit Sekunder. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana ITB Bogor.

- Dhalimi, A. 1998. *Sejarah dan Perkembangan Budidaya Nilam di Indonesia. Monograf V*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Dodd, B. 1993. *Plant Tissue Culture for Horticulture*. School of Life Science. Queensland University of Technology.
- Dwi, N.M. 2012. Pengaruh Pemberian Air Kelapa Dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur (*Vitis vinera L.*). *Jurnal Natural science*. 1 (1) :53-62
- Dzuraibak, R. 2014. Inisiasi dan Proliferasi Kalus serta Induksi Kalus Embriogenik pada Kultur Antera Kedelai (*Glycine max L. Merrill*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Ernawati, A. 1992. *Produksi Senyawa - senyawa Metabolit Sekunder n Kultur Jaringan Tanaman*. ha1 169 – 208 dalam Wattimena, G. A. 1992. *Bioteknologi Tanaman I*. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Gardner, G.J., R.B. Pearce and R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya (Terjemahan Herawati Susilo)*. UI. Press. Jakarta.
- George, E. F. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht: Springer.
- Grieve, M. 2002. *A Modern Herbal Patchoulli*. www.Botanical.com
- Guenther, E., 1952. *The Essential Oils*. D. van Nostrand Co. Inc. New York. 2nd Ed. III 552 - 574.
- Gunawan, L. W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: PAU IPB.
- Gunawan, D, & Mulyani, S., 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Habibah. 2009. Efektivitas Penambahan Elistator Asam Jasmonik dalam Peningkatan Sintesis Senyawa Bioaktif Andrografolid pada Kultur Suspensi Sel Sambiloto. *Biosaintifika*. 1(1): 11-18.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hoesen, D. S. H. dan Priyono, S. 2000. *Peranan Zat Pengatur Tumbuh IBA, NAA dan IAA pada Perbanyak Amaranis Merah (Amaryllidaceae)*. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional Lab. Treub Balitbang Botani Puslitbang Biologi-LIPI Bogor.

- Huang, L. dan Dauh-Lian Chi. 1988. Pivotal Roles of Picloram and Gelrite In Banana Callus Culture. *Environmental and Experimental Botany*. 28 (5).
- Indah, N., dan Ermavitalini, D. 2013 . Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn). Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4- *Dichlorophenoxyatic Acid* (2,4 – D). Surabaya. *Jurnal sains dan seni pomits*. 2 (1) : 2337 – 3520.
- Intias, S. 2012. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Kardinan. 2005. *Tanaman Penghasil Minyak Atsiri Komoditas Wangi Penuh Potensi*. Jakarta: Penerbit Agromedia Pustaka.
- Karjadi dan Buchory. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, Dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*. 18(1): 1-9
- Kasahara. 1995. *Medical Herb Index in Indonesia*. Edisi kedua. Jakarta: PT Elsal Indonesia
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai pustaka.
- Kyte, L and Kleyn, J. 1996. *Plants From Test Tubes, An Introduction To Plant Mikropropagation*. USA: Timber Press Inc.
- Lestari E.G dan I Mariska, 2003. Pengaruh berbagai formulasi media terhadap regenerasi kalus padi indica. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, 257-263. Bogor, 23-24 September 2003.
- Lim, Z., Anna P., dan Sobri Hussein. 2009. Callus induction of *Ocimum sanctum* and estimation of its total flavonoid content. *Asian Journal of Agricultural Sciences*. 1 (2):55-61.
- Litz, R.E and D.J. Gray. 1995. Somatic embryogenesis for agriculture improvment. *World Jour. Microbiol. And Biotech*. 11 : 416-425.
- Lutony, T.L. 1994. *Produksi dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Bandung : Penebar Swadaya.
- Lutviana A., Y.S.W. Manuhara dan E.S Wida. 2012. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annus L.*)*. Surabaya . Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

- Mahadi, I. 2008. Produksi penggandaan pucuk (*Multiple shoots*) Kenerak (*Goniothalamus umbrosus* J. Sinclair) dengan menggunakan hormon kinetin dan BAP secara *In vitro*. *Dinamika Pertanian*. 23: 34-36.
- Mahadi, I., Wan Syafi'i dan Yeni Sari. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 21 (2): 84-89.
- Mangun, H. M. S. 2002. *Nilam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Manuhara, Y.S.W. 2001. Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L. var Marakot). Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA*. 6(2): 127-130.
- Maraghi, A.M. 1993. *Tafsir Maraghi*. Penerjemah: Abubakar, B., Aly H.N., Sitanggal, A.U. Semarang: Toha putra.
- Mauludi, L. dan A. Asman. 2005. *Profil Investasi Perusahaan Nilam*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Muhammad, A.J. 2010. *Tafsir Jalalain*. Penerjemah: Junaidi, Najib. Surabaya: Pustaka elBA Fitrah Mandiri Sejahtera.
- Muryanti, S dan Anggarwulan, E., 2005. Pertumbuhan dan Produksi Reserpin Kalus Pule Pandak (*Rauwolfia serpentine* (L.) Benth. ex.Kurz.) pada pemberian Metil Jasmonat secara *in vitro*. *Bioteknologi*. 22 (2).
- Muyassar. 2007. *Tafsir Muyassar (Jilid 4)*. Jakarta: Qisthi Press.
- Nobert O, Zolta S, Be'la Da'nos. 2007. Influence of Different elicitors on the sunthesis of anthraquinone derivatives in *Rubia tinctorum* L. cell suspension cultures. *Science Direct. Dyes and Pigments*. 77: 249-257.
- Nugroho, Adi. 2008. *Bussnies Plan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Nurlelasari, Desi Harneti P.H., Rani Maharani. 2007. Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol Pada Minyak Nilam Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Skripsi . Jurusan Kimia FMIPA UNPAD*
- Nuryani Y., Hobir, dan Syukur C., 2006. Status Pemuliaan Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *Perkembangan teknologi TRO*. 15 (2).
- Palupi, Annisa D., Solichatun dan Marlina, S.D., 2004. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) terhadap Kandungan Minyak Atsiri Kalus Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *BioSMART*. 6 (2).

- Paul, A., G. Thapa, Basu, A., Mazundar, P., Chandra Kalita, M., dan Sahoo, L. 2010. Rapid plant regeneration, analysis of genetic fidelity and essential aromatic oil content of micropropagated plants of Patchouli, *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *An industrially imprint aromatic plant. Industrial Crops and Products*.32: 366-374.
- Permatasari, I. 2013. Etnobotani Tumbuhan Bahan Dasar Minyak Sumbawa di Kabupaten Sumbawa Besar Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Netherland: Martinus Nijhoff Publisier.
- Puteh, A. 2004. Potensi dan Kebijakan Pengembangan Nilam di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. *Perkembangan teknologi TRO*. 16 (2).
- 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 Institut Pertanian Bogor.
- Ramawat, K.G. 1999. *Secondary plant product in Nature in Biotechnology secondary Metabolism*. U.S.A: Science Publisher, inc. pp 11-37.
- Rahayu,B. Sholichatun. Anggarwulan E. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypa indica* L. *Jurnal Biofarmasi*. 1 (1) :1-5.
- Rahayu, S., Ika R., dan Nurliani Bermawie. 2016. The effect of types and concentration of auxin on callus induction of *Centella asiatica*. *Nusantara biosciences*. 8 (2): 283-287.
- Roos, W., Dordschbal, B., Steighardt, J., Hieke, M., Weiss, D., Saalbach G., 1999. A redox dependent, gprotein-coupled phospholipase a of the plasma membrane is involved in the elicitation of alkaloid biosynthesis in *Eschscholtzia californica*. *Biochim Biophys Acta*. 1448(3):390-402.
- Rubiyanto, C. W., Suwanto dan E. W., Riptanti. 2011. *Analisis Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Volume Ekspor Minyak Nilam (Patchouli oil) di Indonesia*. Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Rukmana, R. 2003. *Nilam Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya*. Penerbit Kanisius Yogyakarta.

- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. Pada kultur *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Santoso, U. dan Nursandi. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Santoso, H. B. 1991. *Bertanam Nilam*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sasmitamihardja, D. dan Siregar. 1983. *Dasar- Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Scragg, A.H. 1997. *The Production Of Aromatis by Plant Cell Culture*. England: Faculty of Applied Biology, University of the West of England.
- Setiawan dan R. Rosihan. 2013. Status Penelitian dan Upaya Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol pada Minyak Nilam. *Prespektif*. 12 (2).
- Sharma, P. and S. Jintu. 2015. *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (*Lamiaceae*): It's Ethnobotany & in vitro regeneration. *Phcog J*. 7 (3).
- Shihab, M. Q. 2001. *Tafsir Al Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihah, A. 2011. *Produk Metabolisme Tumbuhan*. Makalah Fakultas Ilmu Keguruan dan Pendidikan . Universitas Ahmad Dahlan.
- Skoog, F. And C. O. Miller. 1979. Chemical Regulation Of Growth and Organ Formation In Plant Tissue Cultured *In vitro*. *Symposium Soc. Exp. Bology*. 11: 118-131.
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.)secra *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*. 13 (1).
- Smith, R.H. 205. *Plant Tissue Culture. Techniques and Experiment 2nd end*. New Delhi. Elsilver Publisher.
- Swamy, M. K. and U. R. Sinniah. 2015. A Comprehensive Review on the Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Pogostemon cablin* Benth.: An Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. *Molecules*. 20: 8521-8547.
- Syanqithi, S. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Penerjemah: Fakhurrazi. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Tabata, M & Hiraoka, N. 1976. Variation of Alkaloid Production in *Nicotiana restica* Callus Culture. *Physiol.Plant*. 38 : 19-23.

- Trimulyono, G., Solichatun dan M. S. Dewi. 2004. Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Perlakuan Asam α -Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2 (1): 9-14.
- Tu, *et.al.* 2001. *Picloram*. Weed Control Methods Handbook, The Nature Conservancy.
- Turhan, H. 2004. Callus Induction In Growth Transgenic Potato Genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 3(8): 375-378.
- Untung, O. 2009. *Minyak Atsiri*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Vasconsuelo A and Boland R. 2007. Molecular Aspects of The Early Stages of Elicitation of Secondary Metabolit in Plants. *Science Direct. Plants Science*. 172: 861-875.
- Vickrey, M. L. and B. Vickrey. 1981. *Secondary plant metabolism*. The macmillan press LDT. 2: 440-462.
- Wan, Y. S. E. L. dan Liang, G. H. 1988. The Effect Of Kinetin On Callus Characters In Alfalfa (*Medicago sativa* L.) *Euphytica*. 39:249.
- Wardani., D.P., Sholichatun., Ahmad.D.S .2004 . Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin : *Biofarmasi*. 2 (1): 35-43
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor : Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.
- Wetherell, D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro*. New Jersey: Avery Publishing Group Inc.
- Yascob, J.S., Anis I., Rosna M., dan Sadegh Mohajer. 2012. Somatic embriogenesis and plant regeneration from buib, leaf and root explants of African blue lily (*Agapanthus praecox sep.minimus*). *Australian Journal of Crop Sciences*. 6 (10): 1462-1470.
- Yelinititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Dari Daun Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6 (3) : 181-194.
- Yokota, T., Tutumi, N., and Takashi, K. 1999. Growth Rate Estimation of in Vitro Primarily Induced Carrot Callus by a Fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*. 3:231-234.

Yoshikawa M, Sugimoto K. 1993. A Specific Binding Site on Soybean Membranes for a Phytoalexin Elicitor Released from Fungal Cell Wall by β -1,3 Endoglucanase. *Plant Cell Physiology*. 34 (8): 1229-1237.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Hari Muncul Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	PIC	Kn	1	2	3		
1	0	0	31	31	31	31	31
2	2		13	13	13	39	13
3	4		18	11	11	40	13,3333
4	6		11	14	14	39	13
5	0	1	31	31	31	93	31
6	2		12	8	19	39	13
7	4		14	14	11	39	13
8	6		14	12	12	38	12,6667
9	0	2	31	31	31	31	31
10	2		12	13	12	37	12,3333
11	4		11	15	19	45	15
12	6		14	11	12	37	12,3333
13	0	3	31	31	31	93	31
14	2		13	8	12	33	11
15	4		12	12	13	37	12,3333
16	6		12	12	11	35	11,6667
Total Ulangan			280	267	283	706	276,667

3. Data Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	PIC	Kn	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	2		95	95	95	285	95
3	4		95	75	75	245	81,6667
4	6		90	95	80	265	88,3333
5	0	1	0	0	0	0	0
6	2		90	92	95	277	92,3333
7	4		70	92	95	257	85,6667
8	6		75	75	75	225	75
9	0	2	0	0	0	0	0
10	2		92	95	95	282	94
11	4		80	80	80	240	80

12	6	3	80	80	80	240	80
13	0		0	0	0	0	0
14	2		95	90	92	277	92,3333
15	4		95	80	95	270	90
16	6		90	90	90	270	90
Total Ulangan			1047	1039	1047	3133	1044,33

4. Data Pengamatan Berat Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	rata-rata
	PIC	Kn	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	2		0,5766	0,5008	0,5432	1,6206	0,5402
3	4		0,3376	0,455	0,3275	1,1201	0,37337
4	6		0,3	0,3305	0,0766	0,7071	0,2357
5	0	1	0	0	0	0	0
6	2		0,7449	0,8658	0,5277	2,1384	0,7128
7	4		0,6765	0,4306	0,6302	1,7373	0,5791
8	6		0,213	0,1906	0,301	0,7046	0,23487
9	0	2	0	0	0	0	0
10	2		0,4067	0,5872	0,5	1,4939	0,49797
11	4		0,3387	0,368	0,4693	1,176	0,392
12	6		0,4186	0,5722	0,4251	1,4159	0,47197
13	0	3	0	0	0	0	0
14	2		0,4189	0,3723	0,672	1,4632	0,48773
15	4		0,2771	0,277	0,3863	0,9404	0,31347
16	6		0,3281	0,34	0,3534	1,0215	0,3405
Total Ulangan			5,0367	5,29	5,2123	15,539	5,17968

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

1. a. Hasil analisis variansi pada hari muncul kalus daun nilam aceh

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1467.333 ^a	15	97.822	20.239	.000
Intercept	4332.000	1	4332.000	896.276	.000
picloram	1450.167	3	483.389	100.011	.000
kinetin	9.167	3	3.056	.632	.600
picloram * kinetin	8.000	9	.889	.184	.994
Error	154.667	32	4.833		
Total	5954.000	48			
Corrected Total	1622.000	47			

a. R Squared = ,905 (Adjusted R Squared = ,860)

b. Uji Lanjut DMRT 5% hari muncul kalus

HMK

Duncan

Picloram	N	Subset	
		1	2
0	12	.0000	
1	12		12.3333
3	12		12.4167
2	12		13.2500
Sig.		1.000	.344

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 4,833.

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:persentase

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	69788.583 ^a	15	4652.572	170.998	.000
Intercept	205146.750	1	205146.750	7.540E3	.000
picloram	69087.417	3	23029.139	846.400	.000
kinetin	204.417	3	68.139	2.504	.077
picloram * kinetin	496.750	9	55.194	2.029	.068
Error	870.667	32	27.208		
Total	275806.000	48			
Corrected Total	70659.250	47			

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

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

persentase

Duncan

Picloram	N	Subset		
		1	2	3
0	12	.0000		
3	12		83.7500	
2	12		84.3333	
1	12			93.4167
Sig.		1.000	.786	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 27,208.

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:berat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.361 ^a	15	.157	20.060	.000
Intercept	5.051	1	5.051	643.549	.000
picloram	2.031	3	.677	86.274	.000
kinetin	.076	3	.025	3.245	.035
picloram * kinetin	.254	9	.028	3.594	.003
Error	.251	32	.008		
Total	7.663	48			
Corrected Total	2.613	47			

a. R Squared = ,904 (Adjusted R Squared = ,859)

b. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% berat kalus

berat

Duncan

Picloram	N	Subset			
		1	2	3	4
0	12	,0000			
3	12		,3208		
2	12			,4167	
1	12				,5600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,008.

berat

Duncan

Kineti c	N	Subset	
		1	2
3	12	,2858	
0	12	,2883	
2	12	,3417	,3417
1	12		,3817
Sig.		.154	.277

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,008.

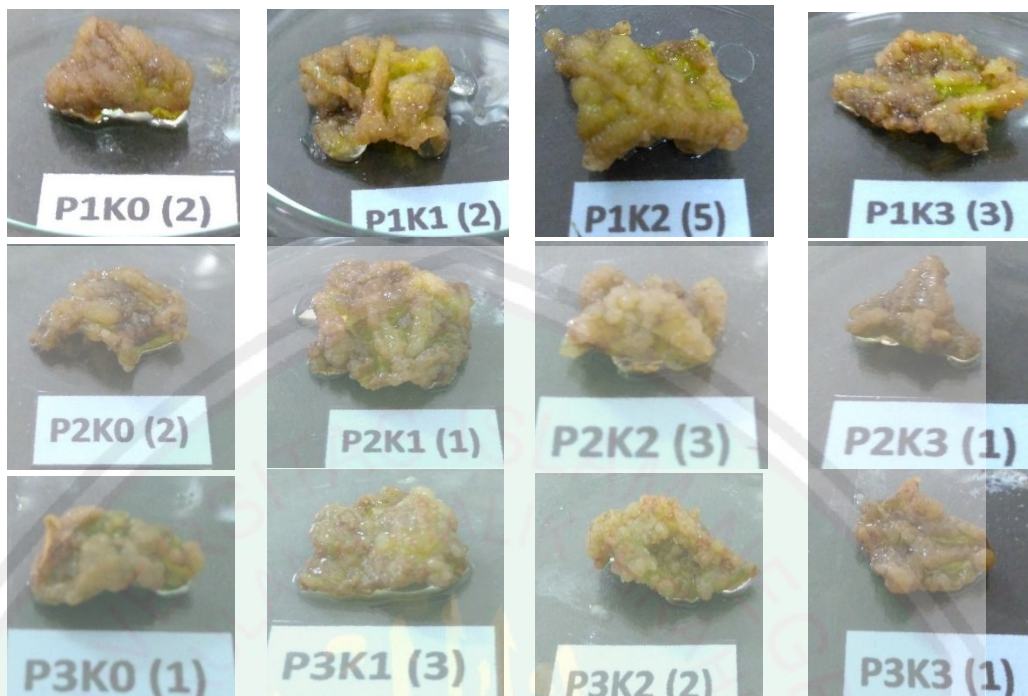
berat

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
P0K0	3	,0000						
P0K1	3	,0000						
P0K2	3	,0000						
P0K3	3	,0000						
P3K1	3		,2333					
P3K0	3		,2367					
P2K3	3		,3167	,3167				
P3K3	3		,3400	,3400	,3400			
P2K0	3		,3767	,3767	,3767	,3767		
P2K2	3		,3933	,3933	,3933	,3933		
P3K2	3			,4733	,4733	,4733	,4733	
P1K3	3				,4867	,4867	,4867	
P1K2	3				,5000	,5000	,5000	
P1K0	3					,5400	,5400	
P2K1	3						,5800	,5800
P1K1	3							,7133
Sig.		1.000	.059	.060	.059	.054	.198	.075

Lampiran 3. Gambar hasil penelitian





Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stok

Lampiran stok dibuat 100 mg dalam 1000 ml Aquades dengan perhitungan:

- a. Larutan stok picloram 100 mg dalam 1000 ml

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

- b. Larutan stok Kinetin 100 mg dalam 1000 ml

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

Lampiran 5. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

1. Perlakuan Pemberian Picloram

- a. Konsentrasi 2 mg/L

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

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

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

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

b. Konsentrasi 4 mg/L

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

$$100 \text{ mg} \times V1 = 4 \text{ mg} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{4 \text{ mg} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 2 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 6 mg/L

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

$$100 \text{ mg} \times V1 = 6 \text{ mg} \times 50 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{6 \text{ mg} \times 50 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pemberian Kinetin

a. Konsentrasi 1 mg/L

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

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

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

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

b. Konsentrasi 2 mg/L

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

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

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

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

c. Konsentrasi 3 mg/L

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

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

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

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

Lampiran 6. Alat-alat Penelitian



Autoklaf



Oven



Laminar air flow



Timbangan analitik



Hot plate



Kompur

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

Mikropipet dan tip



pH meter

Lampiran 7. Bahan-Bahan Penelitian



Tanaman Nilam



Bayclin



Alkohol



Bakterisida



Fungisida



Media MS



ZPT Kinetin



ZPT picloram



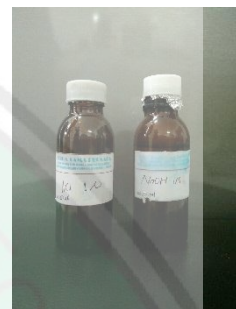
Agar-agar dan aluminium foil



Kertas label, plastik, Karet gelang



Gula pasir



HCl dan NaOH

Lampiran 8. Foto Kegiatan

Proses Sterilisasi Eksplan



Proses Inisiasi Eksplan dan Pengamatan





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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muzdalifah
 NIM : 13620080
 Program Studi : Biologi
 Semester : Ganjil TA 2017/2018
 Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
 Judul Skripsi : Induksi Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Picloram dan Kinetin Secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	02 Februari 2017	Konsultasi judul	Ruf, Puf
2	09 Februari 2017	Konsultasi BAB I	Ruf, Puf
3	13 Februari 2017	Revisi BAB I	Ruf, Puf
4	21 Februari 2017	Konsultasi BAB I dan BAB II	Ruf, Puf
5	13 Maret 2017	Revisi BAB II	Ruf, Puf
6	27 Maret 2017	Konsultasi BAB II dan BAB III	Ruf, Puf
7	11 April 2017	Revisi BAB I,II, dan III	Ruf, Puf
8	18 April 2017	Konsultasi BAB I dan BAB II integrasi	Ruf, Puf
9	19 April 2017	Revisi BAB I dan II integrasi	Ruf, Puf
10	20 April 2017	ACC BAB I,II dan III dan ACC integrasi	Ruf, Puf
11	5 September 2017	Konsultasi Data	Ruf, Puf
12	8 September 2017	Konsultasi BAB IV dan V	Ruf, Puf
13	28 September 2017	Revisi BAB IV dan V	Ruf, Puf
14	16 Oktober 2017	ACC Keseluruhan	Ruf, Puf
15	18 Oktober 2017	Konsultasi BAB III dan IV integrasi	Ruf, Puf
16	20 Oktober 2017	ACC keseluruhan Integrasi	Ruf, Puf

Pembimbing Skripsi

Ruf -

Ruri Siti Resmisari, M.Si
 NIDT. 19790123 20160801 2 063

Malang, 20 Oktober 2017
 Ketua Jurusan,



Romaidi

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