

**PENGARUH PEMBERIAN PEG (*polyethylen Glycol*) 6000
TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER TANAMAN ADAS
(*Foeniculum vulgare* Mill.)**

SKRIPSI

**OLEH:
MIKEWATI SETYORINI
NIM. 13620041**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN PEG (*polyethylen Glycol*) 6000
TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER TANAMAN ADAS
(*Foeniculum vulgare* Mill.)**

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 :
MIKEWATI SETYORINI
13620041**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH PEMBERIAN PEG (*POLYETHYLENE GLICOL*) 6000
TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN METABOLIT
SEKUNDER TANAMAN ADAS (*FOENICULUM VULGARE* MILL.)**

SKRIPSI

Oleh :

MIKEWATI SETYORINI**13620041**

Telah Diperiksa dan disetujui untuk Diuji oleh:

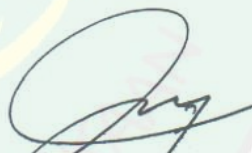
Tanggal 3 januari 2018

Pembimbing 1,

Pembimbing 2,

Ruri Siti Resmisari, M.Si

NIDT. 19790123 20160801 2 063

M. Mukhlis Fahrudin, M.Si

NIP. 20142011409

Mengetahui,

Ketua jurusan Biologi

Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

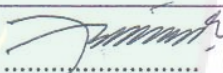
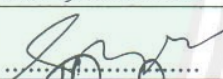
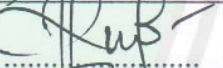
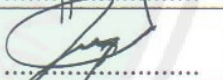
**PENGARUH PEMBERIAN PEG (*POLYETHYLENE GLICOL*) 6000
TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER TANAMAN ADAS (*FOENICULUM VULGARE*
MILL.)**

SKRIPSI

Oleh :

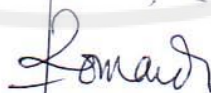
MIKEWATI SETYORINI

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Sains (S.Si)
Tanggal, 3 Januari 2018

Penguji Utama	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P	
Ketua penguji	Suyono, M.P	
Sekretaris penguji	Ruri Siti Resmisari, M. Si	
Anggota penguji	M. Mukhlis Fahrudin, M. S. I	

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillah...Tidak ada kata lain selain mengucapkan syukur yang sebesar-besarnya pada Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW atas nikmat , rahmat dan karunianya serta atas terselesaikannya karya sederhana ini yang saya persembahkan untuk yang tercinta :

- 🌸 Keluarga besar Bapak M.Dhofir (Alm) & Ibu. Enny Handayani terimakasih untuk doa dan motifasinya, maaf belum bias mewujudkan semua keinginan bapak dan ibu, tetapi dari karya sederhana inilah yang Insha Allah akan menjadi awal mula dari proses terwujudnya semua keinginan bapak dan ibu. Maaf selalu merepotkan, terimakasih untuk doa, support, motivasi, bantuan moril dan materi yang tiada henti.
- 🌸 Dosen-dosenku terinspirasi dan tercinta Ibu Ruri, ibu Ainun, Ibu Ifa, Ibu Shinta, Bapak Eko, Bapak mukhlis, Bapak Dwi, Bapak Suyono dan dosen-dosen yang lain terimakasih atas waktu, kesabaran, pengalaman yang telah diberikan, bimbingan dan motifasi selama kuliah dan proses pengerjaan skripsi.
- 🌸 Terimakasih Untuk teman-teman jurusan biologi semoga studi kita, langkah kita untuk mencari ilmu senantiasa di permudah oleh Allah SWT.
- 🌸 Terimakasih kepada laboran-laboran khususnya laboran lab kultr Jaringan, Mbak Lil terimakasih atas bimbingan, nasihat, dan motivasinya.
- 🌸 Untuk teman-teman pengabdian lab kultur: Mas Berry, Herlina, Muzdalifah, Maya, Mufida, Ismi, Pipit, Ari, Putro, Emil, Affan, Maslaha, Luha dan zulfikar, gak ada kalian gak rame... terimakasih untuk tawa, canda dan hal-hal gak jelas selama ini :D
- 🌸 Untuk para wanita-wanitaku febby, elsya, Ana, Subriyah, Ana fais, Shinta, Endah, terimakasih untuk semuanya... suportnya, waktunya, dan hal-hal gak jelas yang selalu bikin kita ketawa.
- 🌸 Untuk kakak- kakak tingkatku Mas Rahman, Kipli, Saiful, Berry, Mbak Hana dan Mbak Novi, Mbak kiki terimakasih banyak untuk bantuan dan bimbingannya, maaf selalu merepotkan.
- 🌸 Untuk grup ngopi dan teman mainku dari kecil Abram, Ricky, Fani terimakasih selalu menemani dan untuk motivasi yang kalian berikan

MOTTO

Belajarlah sesuai dengan pendapat sinar akalmu, karena sejatinya hidup ini adalah aqidah, perjuangan

Lakukan apapun dengan jujur, ikhlas, dan sebaik mungkin, pasrahkan semua hasil pada Allah.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mikewati Setyorini
 NIM : 13620041
 Jurusan : Biologi
 Fakultas : Sains dan Teknologi
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian PEG (*Polyrthylene Glicol*) 6000 Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

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

Malang, 3 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,



Mikewati Setyorini
 NIM. 13620041

PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN

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

1. Konsonan

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

2. Vokal Pendek

ا = a	كَتَبَ kataba	أ... = ā	قَالَ qāla
ي = i	سُئِلَ su'ila	إِى = ī	قِيلَ qīla
و = u	يُذْهِبُ yaẓhabu	أَوْ = ū	يَقُولُ yaqūlu

3. Vokal Panjang

4. Diftong

أَي = ai	كَيْفَ kaifa
أَوْ = au	هَؤُلَ ḥaula

KATA PENGANTAR



Assalamu 'alaikum Wr.Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan **judul “Pengaruh Pemberian PEG (*Polyrthylene Glicol*) 6000 Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)”**.

Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. 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. Bapak Romaidi, M.Si., D.Sc , selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Ruri Siti Resmisari M.Si, sebagai dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan memberikan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
5. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M. Si sebagai dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.

6. Bapak Suyono, M.P dan, Dr. Evika Sandi Savitri, M.P sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Bapak Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd sebagai dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan.
8. Segenap Bapak/Ibu dosen dan Laboran Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh study.
9. Keluarga tercinta, Bapak M. Dhofir (Alm) dan Ibu Enny Handayani yang selalu memberikan dukungan moril, materiil dan spiritual serta ketulusan do'anya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
10. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2013 yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 3 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB LATIN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACK	xvii
ARABIC	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	8
2.1.1 Adas dalam Perspektif Islam	8
2.2 Deskripsi Tanaman Adas	15
2.2.1 Klasifikasi	15
2.2.2 Penyebaran dan syarat tumbuh	16
2.2.3 Morfologi	17
2.2.4 Manfaat dan kandungan	18

2.2 Kultur In Vitro	20
2.2.1 Pengertian Kultur In Vitro	20
2.2.2 Prinsip Kultur In Vitro	20
2.2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kultur In Vitro	21
2.2.4 Kultur Kalus	21
2.3 Metabolit sekunder	29
2.4 PEG 6000	31
2.5 Peran PEG Dalam Memproduksi Metabolit Sekunder	34
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat	36
3.2 Alat dan Bahan	36
3.3 Rancangan Penelitian	36
3.4 Variabel Penelitian	37
3.5 Desain Penelitian	38
3.6 Prosedur Penelitian	39
3.6.1 Sterilisasi Ruang Tanaman	39
3.6.2 Sterilisasi Alat	39
3.6.3 Pembuatan Media	39
3.6.4 Inisiasi	42
3.7 Parameter Pengamatan	43
3.8 Pengamatan Kuantitatif Analisis Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Adas Dengan Menggunakan Gc-MS.	44
3.9 Analisis Data	45
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill)	46
4.2 Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kualitas Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	55

4.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	60
4.4 Hasil Penelitian tentang Induksi Kalus dan Kandungan Senyawa Tanaman dalam Pandangan Islam.....	62
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran.....	70
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Perlakuan PEG.....	37
Tabel 4.1 Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	46
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) Selama 28 HST	47
Tabel 4.3 Tekstur dan warna kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) 28 Hari Setelah Tanam	56
Tabel 4.4 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kalus Tanaman Adas (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Adas dan bunga tanaman adas	18
Gambar 2.2 Biji tanaman adas	18
Gambar 2.3 Beberapa tekstur kalus pada tanaman pegagan (<i>Centella asiatica</i>)A. Kalus Remah, B. Kalus Intermediet C. Kalus Kompak	26
Gambar 2.4 Berbagai warna kalus pada eksplan jarak pagar (A) kalus berwarna putih (B) kalus berwarna putihkehijauan (C) kalus berwarna hijau kekuningan (D) kalusberwarna hijau (E) kalus berwarna hijau kecoklatan	28
Gambar 2.5 Struktur kimia Polietilen Glikol 6000	31
Gambar 3.1 Desain Penelitian.....	38
Gambar 4.1 Grafik hari munculnya kalus tanamanadas (HST)	52
Gambar 4.2 Kurva Persentase Pertumbuhan Kalus (%)	53
Gambar 4.3 Kurva Berat Kalus tanaman adas (gram)	54

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Tabel Hari Munculnya Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 2 Tabel persentase Pertumbuhan Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 3 Tabel Berat Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 4 Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Hari Munculnya Kalus
Tanaman Adas
- Lampiran 5 Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Persentase Pertumbuhan
Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 6 Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Berat Kalus Tanaman
Adas
- Lampiran 7 Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Hari Munculnya
Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 8 Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Persentase
Pertumbuhan Kalus Tanaman Adas
- Lampiran 9 Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Berat Kalus
Tanaman Adas
- Lampiran 10 Langkah Penelitian
- Lampiran 11 Perhitungan larutan stock
- Lampiran 12 Foto alat Penelitian
- Lampiran 13 Foto Bahan Penelitian
- Lampiran 14 Foto Kegiatan Praktikum
- Lampiran 15 Gambar Hasil Penelitian
- Lampiran 16 Hasil analisis Gc-Ms Kalus Perlakuan Kontrol
- Lampiran 17 Hasil analisis Gc-Ms Kalus Perlakuan PEG
- Lampiran 18 Persentase Kandungan Senyawa
- Lampiran 19 Bukti konsultasi

ABSTRAK

Setyorini, Mikewati. 2018. **Pengaruh Pemberian PEG (*Polyethylene Glicol*) 6000 Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci : Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.), PEG 6000, Metabolit sekunder

Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) merupakan tanaman penghasil minyak atsiri. Kandungan Minyak atsiri tanaman adas merupakan senyawa aktif bahan dasar pembuatan obat dan bahan baku industri minyak telon. Minyak atsiri dapat diperoleh melalui kultur kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh dan PEG 6000 yang dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder serta menjadi acuan konsentrasi ZPT dan PEG yang paling optimal dalam upaya meningkatkan kandungan metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kuantitas, kualitas dan kandungan metabolit sekunder pada kalus tanaman adas secara *in vitro*

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu perbedaan pemberian konsentrasi PEG (*Polyethylen Glycol*) 6000 sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *One Way* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5%. Pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder dilakukan menggunakan analisis Gc-MS.

Hasil dari penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kualitas, kuantitas dan kandungan metabolit sekunder kalus tanaman adas. Perlakuan PEG 6000 konsentrasi 15% menginduksi kalus pada 6hst, persentase kalus sebesar 97,5% dan berat kalus sebesar 0,32 gram. Pada perlakuan PEG terdeteksi keberadaan senyawa menthol sebesar 1,543%, anethole 1,546% dan estragol 1,746%. Pemberian PEG 6000 konsentrasi 15% dapat meningkatkan kandungan senyawa menthol sebesar 14x, kandungan senyawa anethole sebesar 4,62x dan kandungan senyawa estragol sebesar 5,35x.

ABSTRAK

Setyorini, Mikewati. 2018. *The Effect Of Giving PEG 6000 For Callus Induction and Metabolite Compound Of Adas (Foeniculum vulgare Mill.)*. Departement Of Biology Faculty Of Science and Technology State Islamic University Of Maulana Malik Ibrahim Malang. Lecture Mentor: Ruri Siti resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Key word: Adas (*Foeniculumvulgare* Mill), PEG 6000, Secondary Metabolit

Adas (*Foeniculumvulgare* Mill) is a plant that can produce oessential oil. Substance of essential oil in Adas is an active matter and basic material to make medicine and material of Oil for medicine. essential oil can be obtained through callus Culture with giving of growth regulator matter and PEG 6000 that can increasing substance of secondary metabolit and can be reference of ZPT concentration and PEG that so optimal on increasing substance of secondary metabolit. Purpose of this research is to know effect of giving PEG 6000 to quantity, quality and substance of secondary metabolit in adas'skalus in vitro

This research using descriptive qualitative method with 6 treatment and 5 reiteration . The treatment is giving a different concentration of PEG 6000, 0%, 5%, 10%, 15%, 20% and 25%. Observation data is a qualitative data and quantitative. Analyzing data with testing the ANAVA One Way $\alpha = 5\%$. If there is a significant different so continued with Duncan Multiple Range Test (DMRT) with a 5% significant level. A testing of substance secondary metabolit using GC-MS analysis

The result of this research is showing that there is an effect of giving PEG 6000 to quality, quantity, and substance of secondary metabolit of fennel callus. PEG 6000 on 15% concentration inducted the callus on 6hst, callus percentage 97,5% and weight of callus is 0.32 gram. On PEG detected compound of menthol compound on 1,543%, anethole 1,546% and estragol 1.746%. giving the PEG 6000 on 15% concentration can increasing substance of mentol compound as 14-times, substance of anethole compound as 4,62-times and substance of estragol 5,35-times.

مستخلص البحث

ستيوريني, ميكوتي. ٢٠١٨. تأثير الإدارة PEG (*Polyethylene Glicol*) 6000 ضد تحريض كالي ومحتوى المركبات الشمر الثانوية الأيضية (*Foeniculumvulgare Mill.*) البحث الجامعي. قسم الحياة كليت العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشريف: روري ستي رشميسري المجستير و مخلص فخردين المجستير.

الكلمات الأساسية: شمر (*FoeniculumvulgareMill.*), PEG 6000, المستقلبات الثانوية

شمر (*FoeniculumvulgareMill.*) هو النبات حصل عليه زيتاً أساسياً. كان المحتوى زيت أساسى نبات شمر هو مركب شطمن المكونا الأساسية لتصنيع المحدرات والمواد الخام لصناعة النفطيلون. توجد زيت أساسى من خلا لثقافة الكالس مع إضافة نمو المواد المنظمة و PEG 6000 الذى ارتفع والتيمكن أن تزيد من محتواها أيضاً الثانوية وتصبح تركيز مرجعي تركيز ZPT و PEG والأكثر الأمثل في محاولة لزيادة محتوى الأيض الثانوية. أهداف هذا البحث لتعريف تأثير الإدارة PEG 6000 ضد الكمية، جودة ومحتوى الأيض الثانوية على الكالس نبات الشمر في *in vitro*.

إستعمل في هذا البحث طريقة نوعيوصفي مع ستة علاجات وخمس مكررات. العلاجل المستخدمة يعنى الاختلافات في التركيز PEG (*Polyethylen Glycol*) 6000 كبر مثل 0%, 5%, 10%, 15%, 20% و 25%. بيانات الرصد هي بيانات نوعية وكمية. تمتحليل البيانات عن طريق اختبار ANAVA One Way $\alpha = 5\%$. إذا كانت هناك اختلافات كبيرة ثم واصل الاختبار (DMRT) *Duncan Multiple Range Test* بمستوى كبير 5%. تم اختبار محتوى المركبات الأيضية الثانوية باستخدام التحليل Gc-Ms.

النتيجة من هذه البحث دالّ على وجود تأثير الإدارة PEG 6000 ضد الكمية، جودة ومحتوى الأيض الثانوية على الكالس نبات الشمر. علاج PEG 6000 تركيز 30% تحفيز الكالس على PEG 6hst الكشف عن وجود مركبات المنشول 1,543%, أنثول 1,546% وإستغول 1,746%. إدارة PEG 6000 تركيز 30% يمكن أن تزيد من محتوى مركب المنشول 14x، محتوى مركب أنثول 4,62x ومحتوى مركب إستغول كبير مثل 5,35x.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prospek pengembangan tanaman obat mengalami perkembangan pada masa mendatang ditinjau dari berbagai faktor pendukung, diantaranya adalah sumber kekayaan alam Indonesia dengan keanekaragaman hayati yang melimpah yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat. Sejarah pengobatan tradisional telah dikenal lama oleh nenek moyang secara turun temurun dan menjadi warisan budaya bangsa. Isu global *back to nature* juga meningkatkan pasar produk herbal Indonesia (Kintoko, 2006). Menurut Lestari (2003) sekitar 60% penduduk dunia hampir sepenuhnya menggantungkan diri pada tumbuhan untuk menjaga kesehatan. Menurut Ghasemzadeh (2015) penelitian dari WHO 80% populasi penduduk di negara-negara berkembang bergantung pada obat tradisional untuk perawatan kesehatan primer, dan 85% obat tradisional dihasilkan dari ekstrak tanaman.

Didalam Al-Quran, Allah SWT mengemukakan tentang tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

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

Artinya: *"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?"*

Berdasarkan ayat di atas yang artinya “*Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik*” Allah SWT memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, bahwa jika mereka melihat dengan hati dan mata niscaya mereka mengetahui bahwa Allah SWT adalah yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu (Al Qurthubi, 2009). Disisi lain terdapat kalimat “*tumbuh-tumbuhan yang baik*”. Menurut Al Qurthubi (2009) menyatakan bahwa tumbuhan yang baik adalah yang memiliki warna, bentuk, dan bermanfaat. Satu diantara tumbuhan yang bermanfaat yaitu tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill).

Adas merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah mediterania, tanaman ini dimanfaatkan sebagai bahan makanan, bumbu masakan dan bahan obat. Penggunaan tanaman adas di Negara seperti Cina, Meksiko, dan India sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit seperti penyakit katarak, diabetes, liver, ginjal, kejang perut, kanker usus, gangguan pencernaan, radang usus, dan gangguan pernafasan (Charles, 1993). Kandungan Minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman adas merupakan salah satu senyawa aktif bahan dasar pembuatan obat, disamping itu minyak atsiri tanaman adas juga dapat dijadikan sebagai bahan baku industri minyak telon. Aroma wangi yang dihasilkan digunakan sebagai bahan yang memperbaiki rasa, mengharumkan ramuan obat dan makanan (Kridati, 2012).

Adas dapat mengobati penyakit ginjal, limpa, lambung, melancarkan peredaran darah, penghilang nyeri (analgesik), meningkatkan nafsu makan (stomatik), peluruh dahak, peluruh kentut (karminatif), dan merangsang produksi

ASI (laktagoga). Daun berbau aromatik dan berkhasiat sebagai stimulan, peluruh kencing (diuretik), laktagoga, stomakik, dan menerangkan penglihatan. Herba berkhasiat sebagai anti-emetik. Akar sebagai pencahar dan diuretik, Sedangkan minyak dari biji (minyak adas, fennel oil) berkhasiat sebagai stimulan, karminatif, anti bakteri, dan antelmintik (Dalimartha, 1999).

Adas merupakan tanaman obat yang memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi (Anzidei, 1996). Sesuai dengan namanya tumbuhan obat merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa sebagai bahan obat. Komponen senyawa aktif yang berperan pada tumbuhan obat tersimpan pada berbagai organ berupa biji, daun, akar, batang, maupun kulit batang (Dalimarta, 1999). Bagian tumbuhan tersebut diolah dengan teknik tertentu untuk diisolasi senyawa bioaktif yang diinginkan. Pada penelitian ini untuk mengetahui kandungan metabolit pada tanaman adas dilakukan melalui uji fitokimia.

Biji tanaman adas mengandung minyak mentah (12%), protein, minyak atsiri, dan fenolik. Biji adas bersifat *anabolik*, *esterognik*, *analgesik*, *antipiretik*, dan agen antimikroba, biji tersebut mengurangi kembung pada bayi (Dalimarta, 1999). Kandungan minyak atsiri menyebabkan tanaman adas mengeluarkan aroma yang khas dan berkhasiat karminatif (mengurangi perut kembung). Akar mengandung bergapten. Akar dan biji mengandung stigmasterin (serposterin).

Permintaan tanaman adas pada industri obat tradisional di Kalimantan selatan tahun 1995-2006 melaporkan bahwa permintaan tanaman adas sebesar 23,9611 kg/tahun (Astitik, 2012). Serapan tanaman adas untuk bahan obat untuk

industri kecil obat tradisional (IKOT) di Jawa, Bali, dan Nusa Tenggara Barat pada tahun 2003 untuk simplisia tanaman adas sebesar 603 kg/tahun dan untuk ternanya sebesar 4,221 kg/tahun (Kemala, 2003). Berdasarkan survey BPS (2006) permintaan simplisia biji adas mencapai 35 ton/tahun sedangkan untuk ternanya sebesar 247 ton/ tahun. Ekspor tanaman adas Indonesia pada tahun 2006 mencapai 3469 ton/tahun dengan nilai FOB US\$ 4.560.000. Berdasarkan data tersebut maka sangat perlu dilakukan upaya perbanyak tanaman adas secara cepat, unggul dan dalam skala besar.

Satu diantara pengembangan yang mengarah pada budidaya dan perolehan kandungan metabolit sekunder suatu tumbuhan dapat dilakukan dengan kultur *in vitro*. Fitriani (2003) melaporkan bahwa teknik *in vitro* dapat dijadikan sebagai alternatif pemecahan masalah bagi perbanyak bibit dan perolehan metabolit sekunder dari suatu tanaman. Kultur *in vitro* merupakan suatu teknik mengisolasi bagian tanaman, baik berupa organ, jaringan, sel atau protoplasma dan selanjutnya mengkultur bagian tanaman tersebut pada media buatan dengan kondisi lingkungan yang steril dan terkendali (Daisy, 1994).

Penggunaan kultur kalus untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder terutama senyawa obat, dianggap lebih menguntungkan dibanding produksi tanaman utuh, karena dalam kultur kalus pasokan zat hara yang teratur dapat dijamin serta dimungkinkan pula untuk pengaturan proses metabolisme sehingga dapat diperoleh hasil yang maksimal (Kurz dan Constabel, 1991). Sitorus (2011) menyatakan metabolit yang dihasilkan dari kalus sering kali kadarnya lebih tinggi dari pada metabolit yang diambil langsung dari tanamannya. Hal ini dikarenakan

dalam teknik kultur *in vitro* dapat dilakukan modifikasi media yang sesuai dengan kalus yang akan dikulturkan.

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

PEG adalah senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen. Karena turunnya potensial osmotik larutan, air yang ada pada medium tidak dapat diserap oleh tanaman, sehingga tanaman mengalami stress osmosis yang dicirikan dengan dihasilkannya prolin (Tuasamu, 2009). Penelitian ini menggunakan PEG dengan berat molekul (BM) 6000 sebab PEG 6000 memiliki gugus etilen yang luas, sehingga kemampuan mengikat molekul air yang besar, yang nantinya bisa mengakibatkan penurunan tekanan osmosis pada sel sehingga mengalami stress osmosis. Pemberian PEG akan menyebabkan kekurangan air sehingga akan menginduksi protein, mengkode gen-gen pembentuk enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder. Dengan meningkatnya kandungan enzim dalam jaringan tanaman maka diharapkan kandungan metabolit sekunder dapat meningkat. Aktivitas enzim dipengaruhi

antara lain oleh adanya prekursor, senyawa yang bersangkutan dan akumulasi produk metabolisme sekunder tersebut (Ernawati, 1992).

Berdasarkan penelitian Zulhilmi (2012) pada Kalus Gatang (*Spilanthes acmella* Murr.) menunjukkan perlakuan PEG 2% dan 5% meningkatkan sintesis alkaloid sedangkan kandungan terpenoid meningkat pada perlakuan 3 % dan 4% PEG. Adapun senyawa fenolik hanya muncul pada perlakuan PEG 4%. Penelitian laila dan savitri (2014) Perlakuan kombinasi 2,4-D dan PEG 6000 berpengaruh terhadap sintesis metabolit sekunder, Perlakuan kombinasi 2,4-D dan PEG 6000 berpengaruh terhadap sintesis metabolit sekunder, perlakuan kombinasi 1 mg/L 2,4-D dan 25 mg/L dengan kandungan steviosida sebesar 4,792 mg/g sedangkan pada perlakuan kontrol sebesar 4,297 mg/g.

Berdasarkan uraian hasil penelitian di atas, maka penelitian yang berjudul pengaruh pemberian PEG (*Polyethylen glicol*) 6000 terhadap induksi kalus dan kandungan metabolit sekunder tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) ini penting untuk dilaksanakan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini ada :

1. Bagaimana pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kuantitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kualitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)?
3. Bagaimana pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kandungan metabolit sekunder kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kuantitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kualitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.).
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kandungan metabolit sekunder kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadikan dasar penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap kuantitas dan kualitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) melalui teknik *in vitro*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang berbagai kandungan metabolit sekunder pada kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) .

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Biji tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill) diperoleh dari UPT Materia Medica (BMM) Batu, Jawa Timur.
2. Eksplan yang digunakan adalah bagian hipokotil tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill)

3. Penelitian ini terbatas pada pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap pertumbuhan kalus tanaman adas dan pengujian kandungan metabolit pada kalus tanaman adas.
4. Media tanam yang digunakan yaitu media MS (Murashige and Skoog).
5. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk menginduksi kalus yaitu 2,4-D 0,5 mg/l + kinetin 0,5 mg/l (Afiffy, 2011).
6. Elisitor yang digunakan untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder menggunakan PEG 6000 dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%.
7. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi kalus tanaman adas adalah *Hexane-Pro analysis*, perbandingan pelarut dan sampel kalus adalah 1:2.
8. Pengukuran kadar senyawa metabolit sekunder dengan cara mengukur kadar senyawa secara kuantitatif dengan menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) bertempat di Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Jl. Gajayana 50 Malang Jawa Timur.
9. Uji kandungan metabolit sekunder kalus tanaman adas dilakukan pada perlakuan kontrol (0%) dan perlakuan optimal (30%).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

2.1.1 Adas dalam Perspektif Islam

Tanaman merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah yang memiliki banyak sekali manfaat. Tanaman memiliki kandungan senyawa yang beragam dan dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, contohnya vitamin, minyak dan masih banyak lainnya. Tanaman terdiri dari berbagai macam spesies dan jenis yang beragam. Sama dengan makhluk hidup lainnya di seluruh penjuru dunia ini terdapat banyak sekali jenis tanaman, mulai dari yang terkecil sampai yang terbesar. Keanekaragaman tanaman juga telah dijelaskan dalam Al-Quran. Allah SWT menjelaskan tentang keanekaragaman tanaman dalam surat Asy-Syuara 26 ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tanaman yang baik?”

Menurut Shihab (2002), kata (إلى) *ila/ ke* pada firman-Nya di awal kalimat ini *awalam yara ila al-ardh / apakah mereka tidak melihat ke bumi*, merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas wawasan manusia tentang tanah dan tanaman serta berbagai fenomena yang dijumpai pada tumbuh-tanaman. Sedangkan kata (زوج) *(زوج)* diartikan sebagai pasangan, dalam hal ini yang dimaksud adalah pasangan

tumbuh-tumbuhan. Pasangan yang dimaksud yaitu setiap tanaman memiliki alat kelamin jantan yaitu benang sari, dan alat kelamin betina yaitu putik. Jika benang sari jatuh ke kepala putih akan menyebabkan penyerbukan dan diikuti dengan pembuahan atau proses perkembangan bakal buah menjadi buah dan biji. Kata (كريم) *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya.

Berdasarkan ayat di atas yang artinya “*Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik*” Allah memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, bahwa jika mereka melihat dengan hati dan mata niscaya mereka mengetahui bahwa Allah adalah yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu (Al Qurthubi, 2009). Tanaman juga dapat tumbuh dan berkembang menggunakan teknik *kultur in vitro* karena semua atas kehendak Allah dan kita sebagai manusia hanya mengupayakan dengan penambahan vitamin, unsur hara makro, mikro dan zat pengatur tumbuh.

Di sisi lain terdapat kalimat “*tumbuh-tumbuhan yang baik*. Menurut Al Qurthubi (2009) menyatakan bahwa tanaman yang baik adalah yang memiliki warna dan bentuk. Satu di antara tanaman yang bermanfaat yaitu tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill). Tanaman adas termasuk dalam famili *umbelliferae* (*apiaceae*), diketahui banyak dimanfaatkan sejak jaman dahulu, karena aroma dan rasanya yang khas tanaman ini banyak dibudidayakan di negara-negara wilayah mediterania (A. E. B., 2007). Tanaman adas merupakan tanaman herba yang kaya akan manfaat dan aromatik. Adas disebutkan dalam Al Qur'an Surat Ar-Rahman :12 :

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ (١٢)

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

Menurut Hikmat (2011), dalam tafsir al-Muyassar menafsirkan ayat 10-12 bahwa Allah telah meletakkan bumi dan menghamparkannya untuk tempat tinggal makhluk, disana terdapat buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak-kelopak mayang yang darinya keluar buahnya. Di sana terdapat biji-bijian yang berkulit sebagai rizki untuk kalian dan ternak kalian, dan di sana juga terdapat segala tanaman yang berbau harum.

Menurut Shihab (2002), dalam tafsir al-Mishbah kata رايحان *raihan* terambil dari kata رائحة (*raihah*) yakni aroma. *Raihan* adalah kembang-kembang yang mempunyai aroma yang harum seperti ros, yasmin, kemuning dan lain-lain. Ada yang memahami kata tersebut dalam arti daun yang hijau yakni sebagai antonim dari *al-ashf* / *daun yang kering*.

Di beberapa negara, tanaman adas digunakan sebagai obat tradisional. Di China, adas digunakan sebagai antitusif, yakni penekan refleks batuk dan juga antibakteria. Minyak atsiri adas menunjukkan aktivitas antibakterial terhadap resiko *Staphylococcus albus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, dan *E.coli* (W. R. Diao, 2014).

Berdasarkan hal diatas bahwa terdapat berbagai penyakit yang dapat disembuhkan menggunakan tanaman adas. Hal ini sesuai dengan Firman Allah SWT dalam surat Asy-Syua'ara' ayat 80 :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ (٨٠)

Artinya: “*Dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku*”

Kata *maridh* (sakit) dikaitkan dengan manusia, sedangkan *syifa* (kesembuhan) diberikan pada manusia dengan disandarkan pada Allah SWT (Halim, 2015). Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2004) bila aku sakit, sesungguhnya tiada seorang pun selain-Nya yang dapat menyembuhkanku dengan berbagai macam sarana pengobatan apapun yang menjadi penyebab kesembuhan. Berdasarkan tafsir di atas Allah menyembuhkan dengan berbagai macam sarana, satu diantara sarana yang dapat digunakan sebagai obat yaitu dengan menggunakan tanaman adas yang berfungsi sebagai obat penyakit katarak, diabetes, liver, ginjal, kejang perut, kanker usus, gangguan pencernaan, radang usus, dan gangguan pernafasan.

Tanaman adas merupakan tanaman yang komersial. Allah SWT menyebut tanaman adas dalam Al- Quran surat Al-Qashshash: 57 yang berbunyi :

وَقَالُوا إِن نَّبْتَغِ الْهُدَىٰ مَعَكَ نَتَّخِطَ مِنْ أَرْضِنَا أَوْ لَمْ نُمْكِنْ لَهُمْ حَرَمًا ءَامِنًا يُجَبَىٰ إِلَيْهِ تَمَرْتُ كُلِّ شَيْءٍ رَّزَقًا مِّنْ لَّدُنَّا وَلَكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ (٥٧)

Artinya : *“Dan mereka berkata: “Jika Kami mengikuti petunjuk bersama kamu, niscaya Kami akan diusir dari negeri kami”. dan Apakah Kami tidak meneguhkan kedudukan mereka dalam daerah Haram (tanah suci) yang aman, yang didatangkan ke tempat itu buah-buahan dari segala macam (tumbuh- tanaman) untuk menjadi rezki (bagimu) dari sisi Kami?. tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.”*

Berdasarkan penjelasan dan ayat di atas, tanaman adas dikatakan komersial dikarenakan tanaman adas merupakan bahan baku dalam pembuatan obat tradisonal. Kandungan tanaman adas merupakan senyawa yang digunakan sebagai bahan campuran dalam industri pembuatan minyak telon, selain itu

tanaman adas juga banyak digunakan sebagai bahan penyedap serta sebagai sayuran untuk dikonsumsi.

Menurut beberapa ahli dalam beberapa kitab tafsir ayat Al Qur'an yang telah dijelaskan sebelumnya menunjukkan bahwa Allah menciptakan tanaman yang harum yang diantaranya adalah tanaman hijau yang harum yaitu adas sebagai nikmat pemberian Allah SWT untuk para makhluk-Nya di bumi ini, sebagai hamba-Nya kita patut bersyukur terhadap nikmat yang telah Allah berikan. Berdasarkan penjelasan di atas banyak manfaat yang dapat digunakan dari tanaman adas satu di antaranya sebagai obat tradisional

Allah SWT berfirman dalam surat Al Baqoroh ayat 30 yang berbunyi :

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰٓئِكَةِ اِنِّیْ جَاعِلٌ فِی الْاَرْضِ خَلِیْفَةًۭ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِیْهَا مَنْ یُّفْسِدُ فِیْهَا وَیَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ اِنِّیْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ ۝۳۰

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui (Q.S Al Baqoroh : 30).

Ayat di atas mengandung makna bahwa Allah SWT memiliki kekuasaan atas segala sesuatu yang ada di dunia. Sedangkan maksud kata "*khalifah di muka bumi*" pada ayat tersebut adalah merujuk kepada manusia. Allah SWT melarang makhluknya terutama manusia agar tidak berbuat kerusakan. Al Maraghi (1985) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa manusia

adalah makhluk yang diberi Allah SWT daya berfikir dan kebebasan berkehendak yang oleh karenanya, seperti diindikasikan oleh para malaikat, manusia cenderung berbuat kerusakan di muka bumi. Maka Allah SWT memberikan anugerah kepada manusia yaitu ilmu pengetahuan, dengan itu manusia dapat mengemban amanat Allah SWT sebagai *khalifah* Nya di muka bumi.

Manusia sebagai makhluk Allah SWT yang telah dikaruniai akal pikiran harus mampu mengemban amanat dengan sebaik-baiknya, melakukan hal-hal yang tidak bertentangan dengan peran manusia sebagai *khalifah* dan hubungan dengan Tuhannya. Hubungan manusia sebagai *khalifah* dengan Tuhannya adalah untuk mengerjakan tugas yang sudah ditetapkan, yaitu menjalankan sunah-sunah Nya. Manusia adalah *khalifah* di bumi dan seorang *khalifah* harus peduli dengan alam dan lingkungan. Manusia tidak bisa membuat apa yang dibuat oleh Allah SWT dan hanya bisa mengembangkan atau melestarikan saja seperti misalnya melakukan budidaya dan perbanyakan.

Seperti pada penelitian ini, permintaan pasar terhadap tanaman adas cukup besar untuk dijadikan sebagai bahan obat dan bahan pembuatan minyak telon. Hal ini sesuai dengan penggalan surat Ali-Imron ayat 191 yaitu “*Rabbanā ma khalaqta hādzā bāthilān (batilan)*” yang artinya Allah menciptakan segala di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia. Segala macam tanaman yang terdapat di muka bumi memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan oleh manusia yaitu sebagai obat tradisional. Dengan menggunakan akal dan pikir, manusia mampu menemukan dan menguji kandungan senyawa

metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman adas sehingga dapat bermanfaat dan mendatangkan kemaslahatan bagi umat manusia. Hal ini merupakan perwujudan dari hubungan antara manusia sebagai *khalifah* di bumi dengan Tuhannya yaitu Allah SWT.

Selain sebagai *khalifah* di bumi, manusia juga berperan sebagai ilmuwan islam yang mana dalam melakukan suatu tindakan itu harus berdasarkan pada etika di alam dan nilai-nilai keislaman. Perlakuan etis terhadap tanaman misalnya melakukan perbanyakan, menanam dan memperlakukan tanaman dengan baik. Kemudian cara-cara menggunakan tanaman untuk penelitian, zat pengatur tumbuh (hormon) dan air untuk menyiram juga harus sesuai dengan etika dan aturan islam, karena setiap makhluk di bumi ini mempunyai hak terhadap sumberdaya lingkungan. Nilai-nilai keislaman yang diperoleh berdasarkan penelitian ini, dalam perbanyakan tanaman harus memperlakukan dan memperhatikan tanaman dengan baik yaitu memberikan nutrisi yang cukup agar tanaman dapat tumbuh dengan baik. Karena tanaman adalah salah satu makhluk ciptaan Allah SWT, yang dari air Allah SWT menumbuhkannya, maka sudah sepatutnya manusia melestarikan dan menjaganya, sebab dari tanaman itu manusia mendapatkan sumber makanan.

2.2 Deskripsi Tanaman Adas

2.2.1 Klasifikasi

Secara taksonomi tanaman adas mempunyai klasifikasi botani sebagai berikut, Khan (2014):

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Division : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Subclass : Rosidae
 Order : Apiales
 Family : Apiaceae
 Genus : *Foeniculum* P. Mill.
 Species : *Foeniculum vulgare* P. Mill.

Tanaman adas memiliki beberapa nama daerah yaitu, hades (Sunda); adas, adas londa, adas landi (Jawa); adeh, manih (Minangkabau); paapang, paampas (Manado); dengu-dengu (Gorontalo); papaato (Buol); adasa, rempasu (Makasar); adase (Bugis) (Saparinto, 2016).

2.2.2 Penyebaran Dan Syarat Tumbuh

Tanaman adas termasuk dalam famili *umbelliferae (apiaceae)*, tanaman ini banyak dimanfaatkan sejak jaman dahulu. Karena aroma dan rasanya yang khas tanaman ini banyak dibudidayakan di negara-negara wilayah mediterania. Adas adalah salah satu tanaman yang sejak dahulu digunakan oleh masyarakat Mesir untuk tujuan pengobatan (A. E. B., 2007). Di Indonesia, Adas telah dibudidayakan sebagai tanaman bumbu atau tanaman obat. Tanaman ini tumbuh lebih baik pada dataran tinggi. Tanaman ini berasal dari wilayah Eropa Selatan dan Asia, karena manfaatnya tanaman ini banyak pula ditanam di Indonesia, India, Argentina, Eropa, dan Jepang (Dhalimartha, 1999).

Tanaman adas dapat tumbuh dari dataran rendah sampai dataran tinggi 10-1.800 m dpl. Di Jawa adas ditanam pada daerah dengan ketinggian 1.600-

2.400 mdpl. Adas memerlukan cuaca sejuk dan cerah (150-200°C) untuk menunjang pertanamannya, dengan curah hujan sekitar 2.500 mm/tahun. Adas akan tumbuh baik pada tanah berlempung, tanah yang cukup subur, berdrainase baik, berpasir, atau liat berpasir dan berkapur dengan pH 6,5-8,0 (Saparinto, 2016). Adas mengandung minyak atsiri dan mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dimanfaatkan oleh industri farmasi (Hunault, 1989)

2.2.3 Morfologi

Terna berumur panjang, tinggi 50 cm – 2 m, tumbuh merumpun. Satu rumpun biasanya terdiri dari 3-5 batang. Batang hijau kebiru-biruan, beralur, beruas, berlubang, bila memar baunya wangi. Letak daun berseling, majemuk menyirip ganda dua dengan sirip-sirip yang sempit, bentuk jarum, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, berseludang warna putih, seludang berselaput dengan bagian atasnya berbentuk topi. Perbungaan tersusun sebagai bunga payung majemuk dengan 6-40 gagang bunga, panjang ibu gagang bunga 5-10 cm, panjang gagang bunga 2-5 mm, mahkota berwarna kuning, keluar dari ujung batang. Biji lonjong, berusuk, panjang 6-10 mm, lebar 3-4 mm, masih muda hijau setelah tua cokelat agak hijau atau cokelat agak kuning sampai sepenuhnya cokelat (Dalimartha, 1999). Gambar tanaman adas dan bunga tanaman adas disajikan pada gambar 2.1:



Gambar 2.1 Adas dan bunga tanaman adas (Andrikurnia, 2012)

Adas merupakan tanaman herbal aromatik tahunan atau dua tahunan tergantung pada varietas tanaman yang telah dikenal sejak jaman dahulu di wilayah asia dan eropa. Daun, batang dan biji tanaman ini dapat dikonsumsi. Biji adas berbentuk lonjong, elips maupun silindris, lurus ataupun melengkung dan berwarna kehijauan ataupun coklat kekuningan (Rusmin, 2007). Gambar biji tanaman adas disajikan pada gambar 2.2:



Gambar 2.2 Biji tanaman adas (Andrikurnia, 2012)

2.2.4 Manfaat dan kandungan

Adas memproduksi banyak senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi (Anzidei, 1996). Tanaman adas mengandung minyak mentah (12%), protein, minyak atsiri, dan fenolik. Komponen utama minyak atsirinya adalah eter fenolik, yaitu *anethole* (60%) diikuti dengan *keton*, *fenchone* (10-30%). Buahnya bersifat anabolik,

esterognik, analgesik, antipiretik, dan agen antimikroba, buah tersebut mengurangi kembung pada bayi. Kandungan *anetole* yang menyebabkan tanaman adas mengeluarkan aroma yang khas dan berkhasiat karminatif. Akar mengandung bergapten. Akar dan biji mengandung stigmasterin (serposterin) (Dalimartha, 1999).

Penggunaan tanaman adas di Negara seperti Cina, Meksiko, dan India sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit seperti penyakit katarak, diabetes, liver, ginjal, kejang perut, kanker usus, gangguan pencernaan, radang usus, dan gangguan pernafasan (Charles, 1993). Kandungan Minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman adas merupakan salah satu senyawa aktif bahan dasar pembuatan obat, disamping itu minyak atsiri tanaman adas juga dapat dijadikan sebagai bahan baku industri minyak telon. Aroma wangi yang dihasilkan digunakan sebagai bahan yang memperbaiki rasa, mengharumkan ramuan obat dan makanan (Kridati, 2012).

Telah banyak studi Fitokimia yang menyelidiki kandungan kimia dalam minyak atsiri tanaman adas. Komponen utama yang terkandung dalam minyak adas merupakan turunan fenilpropanoid yakni *trans-anethole* dan *methyl chavicol*. Komponen lainnya meliputi *α -phellandrene*, *fenchone*, dan *α -pinene*. Senyawa *anethole* banyak digunakan dalam industri makanan sebagai perasa pada *cakes* dan *ice creams*. Selain itu, *anethole* dalam *Foeniculum vulgare* Millmemiliki banyak aktivitas farmakologi, seperti anti-inflamasi, antioksidan, dan dimanfaatkan sebagai insektisida (Piccaglia, 2001).

2.3 Kultur *In Vitro*

2.3.1 Pengertian Kultur *In Vitro*

Kultur *in vitro* adalah upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan, dan organ), kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril di bawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Penggunaan istilah yang lebih spesifik, yaitu *mikropropagasi* terhadap pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam upaya memperbanyak tanaman, dimulai dari pengkulturan bagian tanaman yang sangat kecil (eksplan) secara aseptik di dalam tabung kultur atau wadah yang serupa (Zulkarnain, 2009).

Yuliarti (2010) menyatakan bahwa kultur *in vitro* adalah teknik memperbanyak tanaman dengan cara memperbanyak jaringan mikro tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* menjadi tanaman yang sempurna dalam jumlah yang tidak terbatas. Dasar kultur *in vitro* adalah teori *totipotensi* sel, yaitu bahwa setiap sel organ tanaman mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila ditempatkan di lingkungan yang sesuai. Kultur *in vitro* dimanfaatkan untuk memproduksi bibit dalam jumlah besar yang mempunyai sifat unggul, bebas virus, metabolit sekunder, pelestarian plasma nutfah yang hampir punah, percepatan pemuliaan tanaman, dan juga rekayasa genetika tanaman.

2.3.2 Prinsip Kultur *In Vitro*

Prinsip-prinsip kultur *in vitro* terdiri dari teknik memperbanyak tanaman, kondisi aseptik, dan totipotensi. Penjelasan mengenai prinsip-prinsip tersebut

dapat diperhatikan sebagai berikut (Nikmah, 2017): 1) Teknik perbanyakan tanaman: Teknik kultur *in vitro* memanfaatkan prinsip perbanyakan tanaman secara vegetatif. 2) Kondisi aseptik: Berbeda dari teknik perbanyakan tanaman secara konvensional, teknik kultur *in vitro* dilakukan dalam kondisi aseptik didalam botol kultur dengan medium dan kondisi tertentu. 3) Totipotensi: Totipotensi bermakna bahwa setiap bagian tanaman dapat berkembang biak, sebab seluruh bagian tanaman terdiri atas jaringan-jaringan hidup. Dengan demikian, semua organisme baru yang berhasil ditumbuhkan akan memiliki sifat yang sama persis dengan induknya.

2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kultur In Vitro

1. Eksplan

Eksplan merupakan faktor penting penentu keberhasilan dalam kultur *in vitro*. Umur fisiologis, umur ontogenetik, ukuran eksplan, serta bagian tanaman yang diambil merupakan hal-hal yang harus dipertimbangkan dalam memilih eksplan yang akan digunakan sebagai bahan awal kultur. Umumnya, bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif. Jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sel-sel masih aktif membelah diri, dan relatif lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan) (Yusnita, 2003).

2. Media

Keberhasilan penggunaan metode kultur *in vitro* sangat bergantung pada media yang digunakan. Media ini tidak hanya menyediakan unsur hara (mikro dan makro) tetapi juga karbohidrat (gula) untuk menggantikan karbon

yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis (Gunawan, 1988). Media sebagai sumber makanan harus mengandung senyawa organik dan anorganik, seperti nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, gula, air, asam amino, vitamin, dan ZPT (Santoso, 2004).

Jenis media kultur *in vitro* dibedakan berdasarkan bentuk fisiknya, yaitu media padat dan media cair yang mempunyai kelebihan dan kekurangan. Pemilihan jenis media disesuaikan dengan jenis eksplan dan tujuan yang diinginkan. Keuntungan penggunaan media padat antara lain dapat menghasilkan pertanaman tunas yang cepat, morfogenesis dari kalus lebih baik, tunas serta akar tumbuh teratur tidak perlu pengocokan. Sedangkan kerugiannya adalah, kontak eksplan dengan media sedikit karena potensial air rendah (George, 1984).

Menurut Gunawan (1988) media kultur dikatakan baik bila mengandung semua unsur-unsur yang diperlukan tanaman untuk pertanamannya. Unsur-unsur tersebut meliputi: hara makro, hara mikro, vitamin, gula, asam amino, dan N organik, senyawa kompleks, buffer, arang aktif, zat pengatur tumbuh, dan zat pemat.

Secara umum kebutuhan nutrisi kebanyakan tanaman sama, tetapi secara khusus hal tersebut berbeda. Kesamaannya adalah tanaman memerlukan hara makro dan mikro, vitamin-vitamin, karbohidrat (gula), asam amino dan N-organik, zat pengatur tumbuh, zat pemat dan kadang ada penambahan bahan-bahan seperti air kelapa, ekstrak ragi, jus tomat, ekstrak kentang, buffer

organik, ataupun arang aktif. Kebutuhan tiap tanaman berbeda pada hal komposisi dan jumlah yang diperlukan (Santoso, 2002).

Media yang umum digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah media *Murashige-Skoog* (MS). Media MS mengandung persenyawaan garam amonium dan nitrat dalam jumlah yang tinggi, keduanya dibutuhkan dalam proses regenerasi. Selain itu, media MS juga banyak mengandung unsur kalium (Santoso, 2002).

3. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh dalam kultur *in vitro* berpengaruh sangat nyata. Sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur *in vitro* pada upaya perbanyakan tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuhnya (Zulkarnian, 2009). Zat pengatur tumbuh (ZPT) pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan termasuk unsur hara (nutrisi), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (*promote*), menghambat (*inhibit*), dan dapat merubah proses fisiologi tanaman. Terdapat beberapa kelas atau kelompok fitohormon yang dikenal yaitu auxin, sitokinin, giberelin, ethylen, dan asam absisat. Namun dalam kultur *in vitro* kelompok auksin dan sitokinin merupakan ZPT yang paling banyak digunakan. Respon tanaman secara *in vitro* terhadap ZPT berbeda-beda tergantung dari jenis tanaman yang dikultur dan interaksi antara ZPT endogen dan yang ditambahkan kedalam media (Mandang, 2013).

4. Faktor Lingkungan

Beberapa faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap perkembangan kultur *in vitro* antara lain pH, kelembaban, cahaya dan temperatur (suhu).

Faktor lingkungan tersebut berpengaruh terhadap proses pertanaman dan diferensiasi sel. Sel-sel tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur *in vitro* 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. Senyawa fosfat dalam media kultur mempunyai peran yang penting dalam menstabilkan pH. Pengukuran pH dapat dilakukan dengan menggunakan pH meter atau dengan kertas pH (Gunawan, 1995).

Pada kegiatan kultur *in vitro* tanaman tidak sedikit masalah yang terjadi sebagai penyebab kegagalan. Masalah yang timbul dalam kultur *in vitro* terdapat beberapa faktor antara lain kontaminasi, browning dan vitrifikasi. Kontaminasi adalah gangguan yang sering terjadi pada kultur yang dapat dilihat dari jenis kontaminasi seperti bakteri, jamur, dan virus. *Browning* atau pencoklatan adalah karakter yang dapat menghambat pertanaman dan perkembangan eksplan (hitam atau coklat). Terjadi perubahan aditif eksplan disebabkan pengaruh fisik maupun biokimia (memar, luka, atau serangan penyakit) (Mariska, 2003). Vitrifikasi merupakan tingkat konsentrasi sitokinin yang tinggi, rendahnya potensial matriks, dan meningkatnya konsentrasi etilen di dalam wadah kultur. Rendahnya kandungan lilin pada jaringan diakibatkan oleh tingginya kelembaban di dalam wadah kultur yang tertutup rapat. Nekrosis adalah matinya jaringan pada tepi daun dan pucuk. Hipotesis timbulnya nekrosis yaitu defisiensi unsur hara terutama boron dan kalsium (Zulkarnain, 2009).

2.2.4 Kultur Kalus

Kultur kalus merupakan salah satu metode dalam kultur *in vitro* untuk menumbuhkan dan mengelola massa sel yang tidak beraturan. Tumbuhnya massa sel tersebut akibat pertanaman jaringan tanaman yang dilukai menjadi sel yang terus membelah dan membesar. Kalus dapat diinduksi dengan pelukaan terhadap jaringan tanaman yang kemudian diinokulasikan pada media pertanaman yang sesuai. Sel kemudian menjadi aktif membelah dengan adanya rangsangan dari fitohormon maupun zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media pertanaman. Diferensiasi dan spesialisasi sel yang biasa terjadi dalam tanaman dapat terjadi kembali dan eksplan dapat tumbuh menjadi suatu jaringan baru yang tersusun atas sel-sel yang bersifat meristematik (selalu membelah) dan tidak terspesialisasi (George, 2008).

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Jaringan yang sedang aktif membelah pada awal masa pertanaman biasanya merupakan eksplan yang baik. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan batang muda merupakan bagian yang mudah untuk diferensiasi dan menghasilkan kalus (Hartmann, 1990).

Penelitian Afiffy (2011) menjelaskan bahwa kombinasi zpt 2,4-D 0,5mg/l + kinetin 0,5 mg/l yang diaplikasikan pada daun tanaman adas menghasilkan kalus yang bertekstur kompak, berwarna kuning cerah dan presentase komposisi senyawa *anethole* paling tinggi sebesar 97,54 dibandingkan dengan kombinasi dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang lain.

a. Tekstur Kalus

Turham (2004) menyatakan bahwa secara visual kalus dapat dibedakan menjadi tiga tipe kalus, yaitu kompak, intermediet, dan remah. Kalus memiliki tekstur remah karena mudah memisahkan diri menjadi sel-sel tunggal. Menurut Arianto (2013) menyatakan bahwa kalus yang bertipe remah mudah dipisahkan dan jika diambil dengan pinset, kalus akan mudah pecah dan sebagian selnya akan menempel pada pinset. Sebaliknya kalus yang bertipe kompak mempunyai tekstur yang sulit dipisahkan dan terlihat padat. Menurut lestari (2013), kalus tipe intermediet merupakan massa kalus yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan sebagian lainnya remah. Gambar beberapa contoh tekstur kalus disajikan pada gambar 2.4.



Gambar 2.3 Beberapa tekstur kalus pada tanaman pegagan (*Centella asiatica*) A. Kalus Remah, B. Kalus Intermediet C. Kalus Kompak (Nazza, 2013).

Kalus dengan tekstur kompak atau intermediet merupakan kalus yang dapat menghasilkan metabolit sekunder lebih tinggi dibandingkan kalus dengan tekstur remah. Hal ini terjadi karena produksi senyawa metabolit sekunder terjadi pada saat pertanaman kalus mencapai batas optimal (Fase Stasioner). Sedangkan Kalus dengan tekstur remah memiliki massa proliferasi

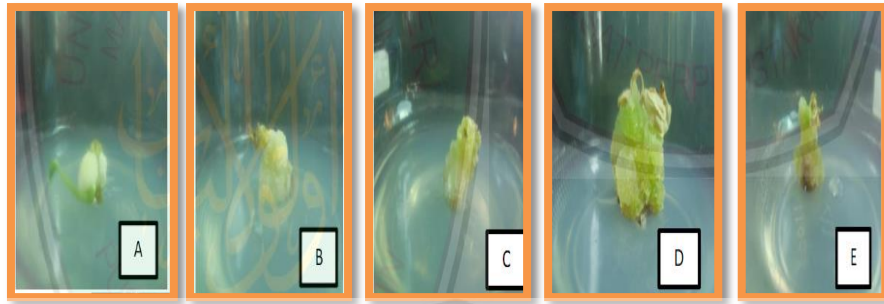
(perbanyak dan pertanaman) kalus lebih panjang sehingga produksi metabolit sekunder lebih sedikit dibanding kalus yang bertekstur kompak (Lestari, 2003).

b. Warna kalus

Kalus dapat berwarna kekuningan, putih, hijau, atau terpigmentasi oleh antosianin. Indikator pertanaman eksplan pada kultur *in vitro* berupa warna dan tekstur kalus menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui kalus yang masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau telah mati. Jaringan Kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda-beda (Indah, 2013). Warna hijau pada kalus adalah akibat efek konsentrasi sitokinin yang tinggi sehingga mempengaruhi pembentukan Klorofil (Riyadi, 2004).

Hendaryono (1994) menerangkan bahwa kondisi perubahan warna kalus dapat disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang cenderung berwarna kecoklatan disebabkan oleh kondisi eksplan yang secara internal mempunyai kandungan fenol tinggi. Fenol akan teroksidasi menjadi kuinon fenolik oleh pengaruh cahaya. Warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya.

Gambar berbagai warna kalus disajikan pada gambar 2.4 :



Gambar 2.4 Berbagai warna kalus pada eksplan jarak pagar (A) kalus berwarna putih (B) kalus berwarna putihkehijauan (C) kalus berwarna hijau kekuningan (D) kalus berwarna hijau (E) kalus berwarna hijau kecoklatan (Andaryani, 2010)

Warna kecoklatan pada kalus (browning) biasanya merupakan akibat adanya metabolisme senyawa fenol bersifat berlebihan, yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan (Andaryani, 2010). Peristiwa pencoklatan tersebut sesungguhnya merupakan suatu peristiwa alamiah dan proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat adanya pengaruh fisik seperti pengupasan, dan pemotongan. Gejala pencoklatan merupakan tanda-tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan (Rohmah, 2007).

c. Berat kalus

Pertanaman kalus pada media kultur biasanya ditentukan dengan mengukur berat kalus (Yokota, 1999). Pertanaman kalus sangat penting untuk mengetahui hubungan antara pertanaman dan sintesis produk sekunder serta akumulasinya didalam kalus. 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 dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus.

Berat kering merupakan parameter pertanaman yang dapat digunakan sebagai ukuran global pertanaman 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, 2005).

2.4 Metabolit sekunder

Metabolit sekunder merupakan hasil dari metabolisme tanaman yang bukan hasil metabolisme utama. Pada tanaman tingkat tinggi menghasilkan tingkat metabolit sekunder yang beragam. Kandungan metabolit sekunder dipengaruhi oleh keadaan lingkungan tempat tumbuhan tersebut hidup. Herbet (1995), metabolit sekunder merupakan hasil metabolisme yang memiliki karakteristik khusus untuk setiap makhluk hidup dan dibentuk melalui jalur primer seperti karbohidrat, lemak, asam amino. Metabolit sekunder dibentuk untuk meningkatkan pertahanan diri.

Metabolisme pada makhluk hidup dapat dibagi menjadi metabolisme primer dan metabolisme sekunder yang menghasilkan metabolit sekunder. Metabolisme primer pada tanaman, seperti respirasi dan fotosintesis, merupakan proses yang esensial bagi kehidupan tanaman. Tanpa adanya metabolisme primer, metabolisme sekunder merupakan proses yang tidak esensial bagi kehidupan organisme. Tidak ada atau hilangnya metabolit sekunder tidak menyebabkan kematian secara langsung bagi tanaman, tapi dapat menyebabkan berkurangnya ketahanan hidup tanaman secara tidak langsung (misalnya dari serangan herbivor dan hama), ketahanan terhadap penyakit, estetika, atau bahkan tidak memberikan efek sama sekali bagi tanaman tersebut (Anggarwulan, 2001). Pada fase pertanaman, tanaman utamanya memproduksi metabolit primer, sedangkan

metabolit sekunder belum atau hanya sedikit diproduksi. Sedangkan metabolisme sekunder terjadi pada saat sel yang lebih terspesialisasi (fase stasioner) (Najib, 2006).

Metabolit sekunder dibedakan menjadi 3 golongan berdasarkan kimianya, satu diantaranya yaitu fenol. Tanaman memproduksi banyak variasi dari metabolit sekunder yang termasuk golongan fenol suatu kelompok hidroksil yang berfungsi pada cincin aromatik. Senyawa fenol membantu tanaman dalam melawan serangan herbivora dan patogen. Selain itu senyawa fenol mampu menarik serangga penyerbuk dan menyerap radiasi sinar ultraviolet yang sangat berbahaya. Biosintesis senyawa fenol pada tanaman melewati jalur yang berbeda dengan metabolisme, dengan dibantu oleh adanya asam sikimat. Asam sikimat akan membentuk asam fenilalanin. Asam ini akan membantu biosintesis senyawa fenol menjadi beberapa turunan yakni: antosianin dan flavon, dari senyawa flavon akan terbentuk isoflavon (Taiz dan zeigler, 2002).

Sintesis metabolit sekunder merupakan salah satu fungsi protektif tanaman ketika ada beberapa patogen dengan meningkatkan fitoaleksin. mekanisme pertahanan tanaman meliputi; 1) deteksi sinyal patogen, 2) aktivasi H^+ -ATP, 3) peningkatan aliran kalsium ke dalam sel, 4) aktivasi CDPK (Calcium dependent protein kinase), 5) aktivasi NADPH oksidase. Yang akan mengaktifkan MAP kinase sehingga terjadi peningkatan tingkat ekspresi gen biosintesis metabolit sekunder (Bulgakov, 2003).

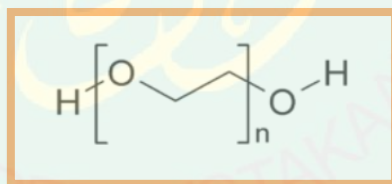
Metabolit sekunder yang terdapat pada bahan alam merupakan hasil metabolit primer yang mengalami reaksi yang spesifik sehingga menghasilkan

senyawa-senyawa tertentu. Senyawa metabolit primer merupakan precursor untuk metabolit sekunder.

2.5 PEG 6000

Polietilen Glikol atau dengan nama IUPEC Alpha-Hydro-Omega-Hydroxypoly (oxy-1,2-ethanadiol) merupakan senyawa dengan rumus kimia $(C_2H_4O)_n + 1H_2O$ dan rumus struktur $HOCH_2-(CH_2OCH_2)_nCH_2OH$. Polietilen Glikol merupakan senyawa polimer berantai panjang, tidak berubah (inert) dengan berat molekul antara 200-9500 Da (Jecfa, 1987).

Polietilen Glikol memiliki sifat mudah larut dalam air, tidak toksik terhadap tanaman, dan tidak mudah diserap sehingga menjadikan Polietilen Glikol sebagai senyawa yang efektif untuk menirukan kondisi kekeringan (Mullahey, 1996). Struktur kimia PEG 6000 disajikan pada gambar 2.5:



Gambar 2.5 Struktur kimia Polietilen Glikol 6000.

Polietilen glikol (PEG) disebut juga makrogol, merupakan polimer sintetik dari oksietilen dengan rumus struktur $HO-CH_2-(CH_2-O-CH_2)_n-CH_2-OH$ (Perdana, 2010). PEG umumnya memiliki bobot molekul antara 200–300000. Penamaan PEG umumnya ditentukan dengan bilangan yang menunjukkan bobot molekul rata-rata (Leuner, 2000).

Kepadatannya sangat dipengaruhi oleh bobot molekul. PEG dengan bobot molekul 200-600 (PEG 200-600) berbentuk cair, PEG 1500 berbentuk semi padat, dan PEG 3000-20000 berbentuk padatan semi kristalin, dan PEG dengan bobot molekul lebih besar dari 100000 berbentuk seperti resin pada suhu kamar. Umumnya PEG dengan bobot molekul 1500-20000 yang digunakan untuk dispersi padat. PEG 6000 merupakan serpihan wax berbentuk padat, berwarna putih, dan serbuk yang mudah mengalir. Suhu lebur 55-63 molekul pada PEG 6000 adalah 7000-9000. Kelarutan semua tingkat dari PEG larut dalam air, bercampur dengan PEG lainnya, larut dalam aseton, diklorometan, etanol dan metanol, agak sukar larut dalam hidrokarbon alifatik dan eter, tidak larut dalam lemak, campuran minyak dan minyak mineral. Polimer ini mudah larut dalam berbagai pelarut, titik leleh dan toksisitasnya rendah, berada dalam bentuk semi kristalin. Kebanyakan PEG yang digunakan memiliki bobot molekul antara 4000-20000, khususnya PEG 4000 dan PEG 6000 (Leuner, 2000).

Senyawa polietilena glikol (PEG) merupakan senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen. Penyiraman larutan PEG ke dalam media tanam diharapkan dapat menciptakan kondisi cekaman karena ketersediaan air bagi tanaman menjadi berkurang. Ukuran molekul dan konsentrasi PEG dalam larutan menentukan besarnya potensial osmotik larutan yang terjadi (Widoretno, 2003). Menurut Michel (1973), larutan PEG 6000 dengan konsentrasi 5% mempunyai potensial osmotik $-0,13$ MPa (1,26 bar) sedangkan konsentrasi 20% mempunyai potensial osmotik $-0,71$ MPa (7,06 bar).

Widoretno (2003) melaporkan bahwa kalus yang diseleksi dengan PEG (0-20%) menunjukkan semakin tinggi konsentrasi PEG yang diberikan maka semakin sedikit pula jumlah struktur embrio somatik yang diperoleh. Hal ini terjadi karena pada media seleksi kekurangan atau bahkan tidak memperoleh air karena air terikat oleh PEG (>30%) dan tidak dapat dimanfaatkan oleh eksplan. Sulitnya air masuk ke dalam sel makin besar dengan meningkatnya konsentrasi PEG. Menurut Ehsanpour (2005), media padat yang ditambahkan PEG telah digunakan untuk menciptakan kondisi cekaman kekeringan dengan menurunkan potensial air pada medium berbagai percobaan kultur jaringan. Potensial air yang rendah di medium dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder.

Menurut Rahayu (2005) PEG adalah senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hydrogen. Karena turunya potensial osmotik larutan air yang ada pada medium tidak dapat diserap oleh tanaman, sehingga tanaman mengalami stress osmosis yang dicirikan dengan dihasilkannya prolin, yaitu senyawa osmolit untuk mempertahankan keseimbangan tekanan turgor sel.

Pemberian PEG akan mempengaruhi penyerapan air sehingga kalus mengalami stress. Kekurangan air menurunkan tekanan turgor pada dinding sel. Kehilangan tekanan turgor pada sel yang dikulturkan di medium perlakuan diindikasikan pula sebagai signal bagi membran plasma untuk meningkatkan protein tertentu yang mendorong sintesis ABA (Asam absisat). Keberadaan ABA pada akhirnya akan merangsang terbentuknya protein yang berperan sebagai

mekanisme toleransi terhadap cekaman kekeringan (Hartanti, 2013). Protein osmoprotektan dapat berinteraksi dengan reseptor sistem membrane plasma (Konstantinova, 2002) menyebabkan peningkatan Ca^{2+} interseluler yang bertindak sebagai second messenger untuk menginduksi transkripsi dan translasi enzim-enzim yang terlibat dalam jalur metabolit sekunder (Dmitrev, 1996 dan silalahi, 1999).

2.6 Peran PEG Dalam Memproduksi Metabolit Sekunder

Cekaman oksidatif telah diketahui mengubah jalur metabolisme normal di jaringan sehat dengan cara memicu rentetan proses degeneratif. Kerusakan yang diakibatkan oleh O_2 dan radikalnya disebut cekaman oksidatif. Beragam cekaman baik biotik (Hammond-Kosack, 1996) ataupun abiotik meningkat-kan aktivitas enzim pencarian O_2 . Stimulasi PEG (*Polyethylene glycol*) salah satu contoh cekaman abiotik. Beberapa ROS seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), dan oksigen tunggal (O_2^+) berperan sebagai molekul pembawa pesan pada berbagai macam keadaan biotik dan suatu cekaman-cekaman biotik (Levine, 1994).

Adanya stress yang disebabkan oleh lingkungan eksternal tanaman menyebabkan terjadinya mekanisme pertahanan tanaman salah satunya dengan pembentukan metabolit sekunder (Muryanti, 2005). Tanaman secara alami akan memberikan respon terhadap patogen, serangga dan herbivora ataupun cekaman biotik dan abiotik (stres) dengan mekanisme perlindungan termasuk pembentukan metabolit sekunder seperti fitoaleksin, respon hipersensitif dan pertahanan struktural (Vasconsuelo, 2007). PEG akan menyebabkan kekurangan air sehingga akan

menginduksi gen-gen tertentu untuk membentuk protein pembentuk enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolisme sekunder. Dengan meningkatnya kandungan enzim dalam jaringan tanaman maka diharapkan kandungan metabolit sekunder dapat meningkat (Ernawati, 1992).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa penambahan PEG dapat meningkatkan metabolit sekunder suatu tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Yulinda (2010) dalam Laila dan Savitri (2014) melaporkan bahwa kandungan metabolit sekunder triterpenoid pada tanaman *Centella asiatica* meningkat dengan penambahan PEG konsentrasi 1% dan 2%. Sedangkan penelitian Fakhri (2010) pada tanaman *Theobroma cacao* menunjukkan kandungan metabolit sekunder katekin terbanyak dihasilkan pada penambahan PEG konsentrasi 1%.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

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

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri *Laminar Air Flow Cabinet*, botol kultur, alat tanam (pinset, gunting, scalpel, mata pisau), plastik tahan panas, karet tahan panas, tisu, bunsen, pH meter, labu takar, neraca analitik, *hand sprayer*, autoklaf, mortal, alu, *sentrifugasi*, tabung *eppendorf*, *GC-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry)*, mistar dan rak kultur.

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet tanaman adas (*foeniculum vulgare* Mill.). Bahan untuk sterilisasi adalah detergen, bakterisida, fungisida, *chlorox*, alkohol 70%, alkohol 96% dan aquades. Bahan untuk pembuatan media adalah media *MS (Murashige & skog)*, agar, gula pasir, *PEG (Polyethylene Glycol)* 6000, zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin. Bahan untuk ekstraksi adalah 2 gram kalus tanaman adas, dan 10 ml Hexane-pro analysis.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu perbedaan pemberian

konsentrasi PEG (*Polyethylen Glycol*) 6000 sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Perlakuan konsentrasi PEG 6000 yang digunakan terdiri dari 5 taraf :

Tabel 3.1 Perlakuan PEG

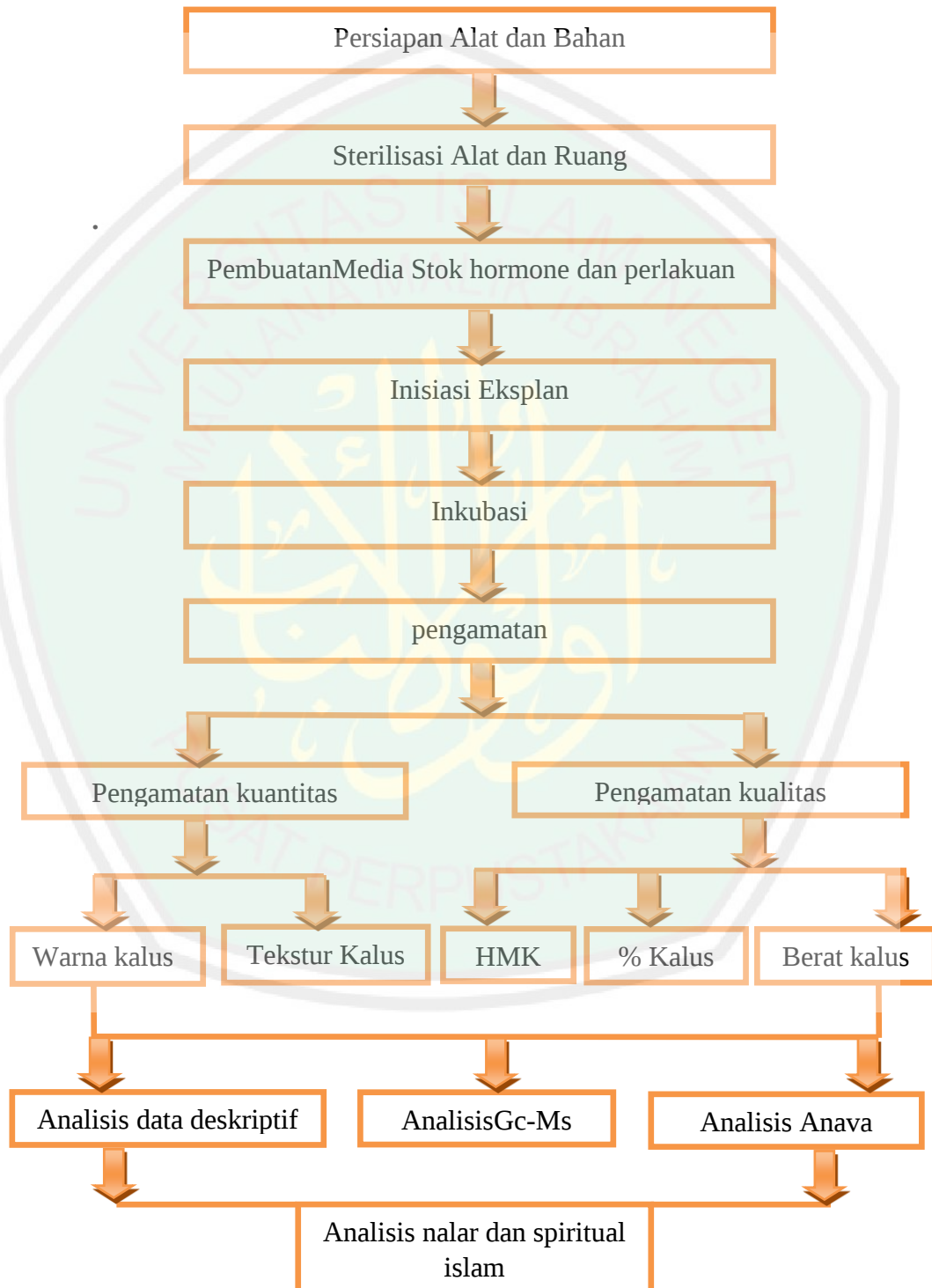
Notasi	Konsentrasi
P ₀	0%
P ₁	5%
P ₂	10%
P ₃	15%
P ₄	20%
P ₅	25%

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- 1) Variabel Bebas: variabel bebas pada penelitian ini adalah penambahan konsentrasi PEG 6000 yang berbeda.
- 2) Variabel Terikat: variabel terikat pada penelitian ini adalah warna kalus, tekstur kalus, dan berat kalus dan kandungan metabolit yang terkandung pada tanaman adas.
- 3) Variabel Terkendali: variabel terkendali pada penelitian ini adalah konsentrasi hormon 2,4-D dan Kinetin, suhu, cahaya, media MS, pH, dan kelembaban.

3.5 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Desain Penelitian

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Sterilisasi Ruang Tanaman

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 x 24 jam. Setelah 1 x 24 jam, sinar UV dimatikan dan menyalakan blower selama 15 menit. Sebelum melakukan inisiasi, meja LAF dibersihkan lagi dengan alkohol 70%.

3.6.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci alat-alat diseksi (scalpel, gunting, pinset) dan alat-alat gelas (botol kultur, cawan petri, dll) menggunakan detergen, dan typol lalu dibilas hingga bersih. Alat-alat yang telah dicuci kemudian dikeringkan dengan oven selama 3 jam dengan suhu 121°C. Alat-alat diseksi dibungkus dengan aluminium foil, cawan petri dibungkus dengan kertas sebelum diautoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 90 menit.

3.6.3 Pembuatan Media

a. Media Perkecambahan

Media yang digunakan untuk perkecambahan adalah media $\frac{1}{2}$ MS tanpa perlakuan zat pengatur tumbuh. Pembuatan media perkecambahan sebanyak 1 liter dimulai dengan menimbang media MS sebanyak 2,215 gr, gula sebanyak 30 gr dan dimasukkan kedalam *beaker glass* yang telah berisi aquades. Dihomogenkan dan diukur pH larutan media dengan pH meter, yaitu 5,6-5,8. Penurunan dan peningkatan pH dilakukan dengan menambahkan beberapa

tetes HCl 0,10 N dan NaOH 0,10 N. Ditimbang agar-agar sebanyak 7 gr dan ditambahkan dalam *beaker glass* yang berisi aquades, media MS, gula, Kemudian media dipanaskan diatas kompor dan diaduk hingga mendidih. Setelah mendidih, media dituang kedalam botol kultur, kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet serta diberi kertas label.

b. Media perlakuan

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 :

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

Pembuatan media perlakuan diawali dengan pembuatan larutan stok 2,4-D 100 ppm dan kinetin 100 ppm. Pembuatan larutan stok dilakukan dengan cara melakukan penimbangan 10 mg serbuk 2,4-D, 10 mg serbuk kinetin, kemudian dilarutkan kedalam masing-masing aquades 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi zpt 2,4-D dan Kinetin 100 ppm, selanjutnya larutan stok dimasukan kedalam botol lalu disimpan dalam lemari pendingin.

Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan untuk induksi kalus yaitu 2,4- D 0,5 mg/l dan Kinetin 0,5 mg/l, taraf konsentrasi tersebut sesuai dengan penelitian Afify (2013) pemberian ZPT dengan taraf konsentrasi tersebut menunjukkan respon yang baik terhadap induksi kalus tanaman adas. Selain itu ditambahkan PEG 6000 dengan tujuan untuk mempercepat pertumbuhan kalus dan meningkatkan kandungan metabolit sekunder.

Pembuatan media perlakuan sebanyak satu liter untuk 6 perlakuan dilakukan dengan cara menakar aquadest masing-masing sebesar 200 ml, menimbang media MS masing-masing sebesar 0,886 gr, gula masing-masing sebesar 6 gr dan dimasukkan kedalam masing-masing *beaker glass* yang telah berisi aquades. Ditambahkan ZPT (0,5 mg/l 2,4-D dan 0,5 mg/l Kinetin) dan beberapa konsentrasi PEG kedalam masing-masing *beaker glass*.

Untuk konsentrasi PEG 0 merupakan perlakuan kontrol, sehingga tidak ditambahkan PEG 6000. Konsentrasi PEG 5% dibuat dengan cara menimbang 10mg bubuk PEG dan ditambahkan aquades sampai volumenya mencapai 200ml lalu dihomogenkan. Konsentrasi PEG 10% dibuat dengan cara menimbang 20mg bubuk PEG dan ditambahkan aquades sampai volumenya mencapai 200ml lalu dihomogenkan. Konsentrasi PEG 15% dibuat dengan cara menimbang 30mg bubuk PEG dan ditambahkan aquades sampai volumenya mencapai 200ml lalu dihomogenkan. Konsentrasi PEG 20% dibuat dengan cara menimbang 40mg bubuk PEG dan ditambahkan aquades sampai volumenya mencapai 200ml lalu dihomogenkan. Konsentrasi PEG 25% dibuat dengan cara menimbang 50mg bubuk PEG dan ditambahkan aquades sampai volumenya mencapai 200ml lalu dihomogenkan. Langkah selanjutnya adalah mengukur pH masing-masing larutan media dengan pH meter, yaitu 5,6-5,8.

Penurunan dan peningkatan pH dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes HCl 0,10 N dan NaOH 0,10 N. Ditimbang agar-agar masing-masing sebanyak 1,4 gr dan ditambahkan dalam masing-masing *beaker glass* yang berisi aquades, media MS, gula. Kemudian media dipanaskan diatas

kompot dan diaduk hingga mendidih. Setelah mendidih, media dituang ke dalam botol kultur, kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet serta diberi kertas label.

3.6.4 Inisiasi

a. Inisiasi Perkecambahan

Langkah awal yang harus dilakukan pada proses inisiasi biji adalah proses sterilisasi biji yang dilakukan di dua tempat yaitu di ruang persiapan dan di dalam LAF dengan tahapan sebagai berikut: Sterilisasi yang dilakukan di ruang persiapan pertama dilakukan dengan cara mengambil biji secukupnya lalu dialiri dengan air mengalir selama 1 jam. Kedua biji dicuci dengan detergen selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Ketiga biji direndam dengan bakterisida selama 15 menit lalu dicuci dengan air mengalir, dan keempat biji direndam dengan fungisida selama 15 menit lalu dicuci dengan air. Sterilisasi tahap selanjutnya dilanjutkan di ruang inisiasi di dalam LAF, langkah pertama biji direndam dalam alkohol 70% selama 2 menit kemudian dibilas 3 kali dengan aquades. Kedua biji direndam lagi dengan clorox 30% selama 15 menit dan dibilas 3 kali dengan aquades. Ketiga biji direndam dengan clorox 10% selama 15 menit lalu dibilas 3 kali dengan aquades.

Proses selanjutnya eksplan biji yang telah steril diletakkan dalam petridish steril lalu dilakukan pengupasan kulit biji dan diambil bagian inti biji. Kemudian eksplan ditanam pada media $\frac{1}{2}$ MS tanpa perlakuan tiap media diisi 2 eksplan. Eksplan yang telah ditanam dalam botol kultur diletakkan pada rak kultur. Pada ruangan penyimpanan eksplan diberi penyinaran dengan

lampu flouresence 40 watt dengan intensitas 1.000 lux. Lalu eksplan di inkubasi dalam ruang kultur pada suhu 28°C dan kelembaban ruang 70%.

b. Induksi Kalus

Biji yang telah tumbuh dan berada pada fase pertumbuhan hipokotil yang ditandai dengan tumbuhnya akar, diambil bagian kotiledonnya sebesar +/- 1,5 cm untuk dikaluskan pada media perlakuan yaitu media kinetin 0,5 mg/l dan 2,4- D 0,5 mg/l yang telah ditambahi berbagai konsentrasi PEG 6000 masing-masing dengan taraf konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25% dan di inkubasi selama 30 Hari.

3.7 Parameter Pengamatan

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. Perhitungan persentase pertumbuhan kalus dilakukan dengan cara mengamati apakah eksplan sepenuhnya sudah membentuk kalus atau belum. Apabila eksplan telah membentuk kalus secara keseluruhan maka persentase kalusnya dinyatakan 100% membentuk kalus.

3.8 Pengamatan Kuantitatif Analisis Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Adas Dengan Menggunakan GC-MS.

Analisis GC-MS dilaksanakan di Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dengan menggunakan Gas Chromatography tipe CP 3800 dan Mass Spectroscopy tipe saturn 2000. Sampel kalus sebanyak 2 gram di ekstraksi dengan menggunakan 10 ml hexane-pro analysis. Setelah di ekstraksi sampel kalus di lisis dengan menggunakan sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit diambil supernatannya sebanyak 1 ml disimpan pada suhu 20°C dan selanjutnya digunakan untuk analisis GC-MS.

Cara kerja GC-MS secara singkat adalah sebagai berikut. Sampel diinjeksikan melalui suatu sampel injection port yang temperaturnya dapat diatur, senyawa-senyawa dalam sampel akan menguap dan akan dibawa oleh gas pengemban menuju kolom. Zat terlarut akan teradsorpsi pada bagian atas kolom oleh fase diam, kemudian akan merambat dengan laju rambatan masing-masing komponen. Komponen-komponen tersebut terelusi menuju ruang spektroskopi

massa yang berfungsi sebagai detektor (Khopkar, 2003). Kemudian senyawa-senyawa yang terdeteksi ditampilkan pada komputer.

3.9 Analisis Data

Data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji statistik One Way ANOVA. Jika sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5% untuk mengetahui beda antar perlakuan. Pengolahan data dibantu dengan menggunakan software SPSS 16.0.

Data hasil pengamatan selain di analisis dengan menggunakan analisis variansi, juga dianalisis menggunakan analisis nalar dan spiritual islam. Analisis ini dikaitkan dengan beberapa sumber ayat Al-Quran dan Hadits yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran dalam pandangan islam. Analisis ini berguna sebagai penunjuk arah fungsi sebenarnya penelitian bagi ilmuan islam.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman

Adas (Foeniculum vulgare Mill).

Penambahan berbagai konsentrasi PEG 6000 pada media kultur jaringan memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap kuantitas, kualitas dan kandungan metabolit sekunder suatu kalus. Hasil pengamatan kuantitas selama 28 hari yang meliputi pengamatan hari munculnya kalus, persentase pertumbuhan kalus, dan berat kalus dilakukan menggunakan analisis variansi (ANOVA) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5% untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nyata pada perlakuan PEG 6000. Berikut ini adalah ringkasan hasil analisis variansi yang disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

No.	Variabel Pengamatan	F Hitung	F table 5%
1.	Hari Munculnya Kalus	12,551*	2,77
2.	Persentase Pertumbuhan Kalus	3,468*	2,77
3.	Berat Kalus	7,528*	2,77

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan pemberian PEG 6000 berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Nilai F hitung > F tabel 5% maka terdapat pengaruh yang signifikan, jika Fhitung < F tabel 5% maka tidak terdapat pengaruh yang signifikan

Berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan yaitu hari munculnya kalus, persentase pertumbuhan kalus, dan berat kalus. Hal ini sesuai dengan nilai F hitung semua variable pengamatan yang lebih besar dari nilai F tabel 5%, sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Berikut ini adalah hasil uji lanjut DMRT 5% yang disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kuantitas Kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Selama 28 HST.

No.	Konsentrasi PEG 6000 (%)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase Pertumbuhan Kalus (%)	Berat Kalus (gram)
1	0%	10,50 ^c	72,50 ^a	0,08 ^a
2	5%	7,75 ^{ab}	82,50 ^a	0,22 ^b
3	10%	7,75 ^{ab}	85,00 ^{ab}	0,24 ^b
4	15%	6,75 ^a	97,50 ^b	0,32 ^b
5	20%	7,75 ^{ab}	95,00 ^b	0,31 ^b
6	25%	9,25 ^{bc}	92,50 ^{ab}	0,29 ^b

Keterangan: Nilai rerata yang diikuti oleh notasi yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf signifikansi 5% menurut uji DMRT

Salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro* adalah munculnya kalus pada eksplan. Kalus adalah proliferasi massa sel yang belum terdiferensiasi dan tersusun atas sel yang tidak teratur. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan untuk proses induksi kalus adalah bagian batang tanaman adas. Zulkarnain (2009) menjelaskan bahwa kalus merupakan masa parenkimatis yang belum terdiferensiasi. Proses terjadinya kalus tergantung bagian yang dipakai

sebagai eksplan dan zat tanaman yang ditambahkan pada media dasar (Andaryani, 2010).

Hasil uji DMRT pada pengamatan hari munculnya kalus menunjukkan hasil notasi yang berbeda-beda. Berdasarkan tabel 4.2 dapat kita ketahui perlakuan yang paling efisien adalah perlakuan PEG konsentrasi 10%. Berdasarkan hal tersebut dapat kita ketahui bahwa penambahan PEG 6000 berpengaruh terhadap variabel hari munculnya kalus. Pengamatan hari munculnya kalus dapat dilihat pada tabel 4.2. pada tabel tersebut dapat diketahui bahwa hari munculnya kalus pada perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan PEG.

Munculnya kalus pada eksplan hipokotil tanaman adas ditandai dengan mengembungnya eksplan dan diikuti dengan memecahnya eksplan pada bagian yang telah terlukai atau bekas potongan dalam proses inisiasi, lalu berkembang ke seluruh permukaan. Menurut Gunawan (1987) kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikroorganisme. Zulkarnain (2009) menjelaskan bahwa Pembentukan Kalus pada teknik kultur jaringan sendiri dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) ataupun senyawa-senyawa organik yang ditambahkan pada media kultur jaringan.

Media yang diberi perlakuan PEG 6000 pembentukan kalus lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini diketahui dari lama munculnya kalus pada perlakuan kontrol kalus mulai terbentuk 10 hari setelah penanaman. Pada perlakuan PEG konsentrasi 15% kalus mulai terbentuk pada hari ke 6 setelah penanaman. Penelitian Maulina 2015 menyatakan bahwa pada kultur kalus tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*) perlakuan PEG 15mg/l atau setara

dengan 1,5% menunjukkan pertumbuhan kalus yang paling cepat tumbuh yaitu 7,2 hari setelah penanaman dan yang paling lama tumbuh kalus adalah perlakuan kontrol yaitu 16,2 hari setelah penanaman.

Media yang ditambahkan PEG telah digunakan untuk menciptakan kondisi cekaman kekeringan dengan menurunkan potensial air pada medium, sehingga menyebabkan kalus mengalami osmosis yang dicirikan dengan dihasilkannya prolin. Salah satu senyawa terlarut yang berperan dalam proses pengaturan tekanan osmotik adalah poliamin. Poliamin berperan dalam proses fisiologis tumbuhan. Proses tersebut meliputi pembelahan sel, embriogenesis, organogenesis, respon stres, fotosintesis, dan berinteraksi dengan hormon (Baron dan Stasolla, 2008). Berdasarkan literatur tersebut maka penambahan PEG 6000 dapat membantu pembentukan kalus tanaman adas.

Variable pengamatan persentase pertumbuhan kalus tanaman adas perlakuan kontrol dan perlakuan PEG 6000 memberikan respon yang berbeda terhadap persentase pertumbuhan kalus. Persentase pertumbuhan kalus perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan PEG 6000, pada perlakuan kontrol nilai persentase pertumbuhan kalusnya sebesar 72,50% lebih kecil bila dibandingkan dengan perlakuan PEG sebesar 97,50%.

Pada perlakuan PEG 15% menghasilkan persentase pertumbuhan kalus sebesar 97,5% akan tetapi pada konsentrasi PEG 20% dan 25% mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan penelitian Maulina (2015) pemberian PEG pada konsentrasi 15 mg/l atau setara dengan 1,5% pada kultur tanaman alfafa dapat meningkatkan persentase pertumbuhan kalus akan tetapi pada konsentrasi 20 dan

25 mg/l atau setara dengan 2 dan 2,5% persentase pertumbuhan kalus mengalami penurunan.

Pemberian konsentrasi PEG 6000 yang terlalu tinggi pada kalus menyebabkan kalus sulit menyerap air sehingga mengakibatkan stres osmosis yang berlebihan dan kalus mengalami penurunan kemampuan regenerasi sel, bahkan bisa mati. Kemampuan kalus dapat bertahan hidup pada media selektif PEG 6000 tergantung dari konsentrasi PEG, jenis tanaman dan lamanya kalus mengalami tekanan seleksi dalam media yang diberi cekaman osmosis (Laila dan Savitri, 2014).

Berdasarkan literatur tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pada perlakuan Konsentrasi 20 dan 25% kalus mengalami stres osmosis yang berlebihan sehingga mengalami penurunan persentase tumbuh kalus. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi 15% merupakan konsentrasi yang paling optimum untuk pertumbuhan kalus yang dibuktikan dengan kalus yang masih mampu bertahan hidup dengan baik pada konsentrasi tersebut.

Variable pengamatan berat kalus tanaman atas perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan PEG. Berat kalus pada perlakuan kontrol lebih rendah bila dibandingkan dengan perlakuan PEG, pada perlakuan kontrol diperoleh berat kalus rata-rata sebesar 0,08 gram, sedangkan pada perlakuan PEG 15% rata-rata berat kalusnya sebesar 0,32 gram.

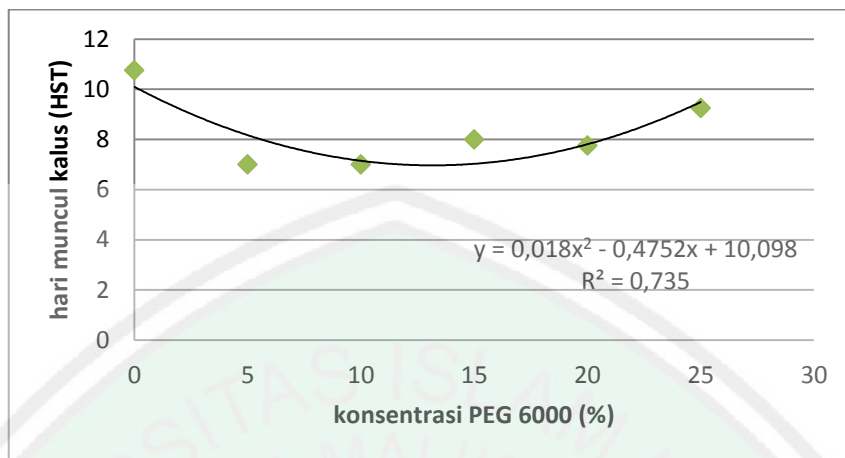
Berdasarkan hasil pengamatan diatas dapat diketahui pada kalus perlakuan kontrol menghasilkan rata-rata berat kalus sebesar 0,08 gram, kalus perlakuan PEG konsentrasi 15% menghasilkan berat kalus rata-rata sebesar 0,32 gram akan

tetapi pada perlakuan yang lebih tinggi konsentrasi 30% berat kalus mengalami penurunan sebesar 0,29 gram. Widoretno (2003) melaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG maka semakin sedikit embrio somatic yang terbentuk.

Menurut hasil penelitian Maulina (2015) pada tanaman daun afrika menunjukkan bahwa perlakuan peg 15 mg/l atau setara dengan 1,5% menghasilkan berat kalus terbesar sebesar 0,206 gr, sedangkan pada perlakuan kontrol berat kalusnya merupakan berat terendah yaitu sebesar 0,004 gr. seharusnya semakin tinggi konsentrasi PEG dapat membuat berat kalus semakin rendah.

Pemberian berbagai konsentrasi PEG mempengaruhi kuantitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.). berdasarkan hasil penelitian, perlakuan konsentrasi 15% merupakan konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan kalus. Hal tersebut ditunjukkan dengan pertumbuhan kalusnya yang paling cepat, tingginya persentase kalus dan berat kalus jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan beberapa konsentrasi lainnya.

Hari munculnya kalus pada eksplan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu eksplan yang ditanam, media yang digunakan dan kondisi lingkungan seperti cahaya dan temperatur. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui hari munculnya kalus setiap perlakuan, pertumbuhan kalus yang paling cepat dan paling lambat. Hal ini dapat dilihat pada gambar grafik dibawah ini:

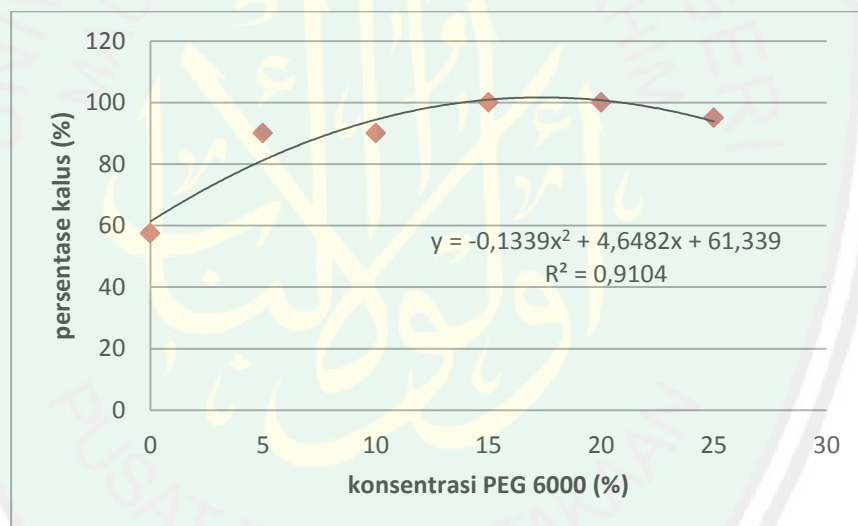


Gambar 4.1 Grafik hari munculnya kalus tanaman adas (HST)

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5% (Tabel 4.2) menunjukkan bahwa variable hari munculnya kalus perlakuan Kontrol berbeda nyata dengan perlakuan PEG. Gambar 4.1 menunjukkan bahwa kurva hari muncul kalus dengan pemberian berbagai konsentrasi PEG 6000 menghasilkan persamaan $y = 0,0045x^2 - 20,2376x + 10,098$ dengan nilai determinasi $R = 0,735$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan pemberian PEG 6000 terhadap hari munculnya kalus dengan nilai kepercayaan sebesar 73,5%.

Eksplan batang tanaman adas perlakuan kontrol memiliki respon pertumbuhan yang lambat, hal ini dapat diketahui dari hasil pengamatan hari munculnya kalus yang diamati selama 28 hari. Pada perlakuan kontrol batang tanaman adas membentuk kalus pada hari ke 10 setelah proses penanaman. Sedangkan pada perlakuan PEG 15% cenderung menunjukkan respon pertumbuhan yang sangat cepat. Hal ini diketahui dari hari munculnya kalus pada perlakuan PEG kalus mulai terbentuk pada hari ke 6 setelah penanaman. Berdasarkan kurva diatas dapat diketahui bahwa perlakuan PEG 6000 yang paling optimum terhadap hari munculnya kalus berada diantara konsentrasi 10-15%.

Salah satu parameter pengamatan kuantitatif yang diamati pada penelitian ini adalah pengamatan persentase pertumbuhan kalus. Tujuan pengamatan persentase pertumbuhan kalus adalah untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan PEG 6000 terhadap persentase tumbuh kalus setiap perlakuan. Dari hasil pengamatan, maka diperoleh hasil persentase tumbuh paling besar dan persentase tumbuh paling kecil. Untuk mengetahui korelasi persentase tumbuh kalus pada setiap perlakuan dengan beberapa konsentrasi PEG 6000, maka dapat dilihat pada grafik dibawah ini:



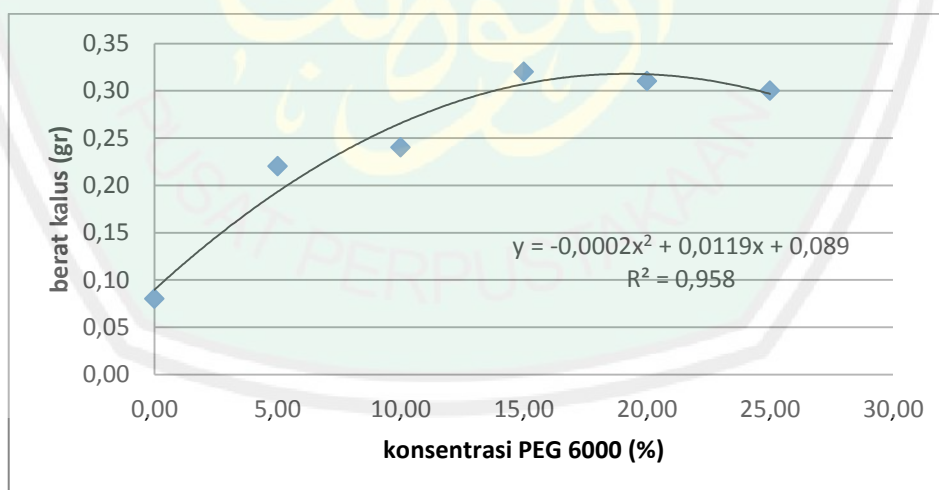
Gambar 4.2 Kurva Persentase Pertumbuhan Kalus (%)

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa kurva persentase pertumbuhan kalus dengan pemberian berbagai konsentrasi PEG 6000 menghasilkan persamaan $y = -0,0335X + 2,3241x^2 + 61,339$ dengan nilai determinasi $R = 0,910$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan pemberian berbagai konsentrasi PEG 6000 terhadap persentase pertumbuhan kalus eksplan batang tanaman adas dengan nilai kepercayaan 91%. Berdasarkan kurva diatas

dapat kita ketahui perlakuan PEG 6000 yang paling optimum terhadap pengamatan persentase pertumbuhan kalus berada diantara konsentrasi 15 - 20%.

Pada penelitian ini perlakuan PEG konsentrasi 15% persentase pertumbuhan kalusnya semakin meningkat sedangkan pada perlakuan 50% persentase pertumbuhan kalusnya menurun. Semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 dalam media menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kalus. Kemampuan kalus beregenerasi dipengaruhi oleh kondisi eksplan (kalus) dan komposisi media regenerasi.

Pemberian beberapa konsentrasi PEG 6000 memiliki pengaruh yang nyata terhadap berat basah kalus. Berdasarkan data hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh pemberian PEG 6000 terhadap berat kalus .berikut ini adalah gambar grafik rata-rata berat kalus tanaman adas:



Gambar 4.3 Kurva Berat Kalus tanaman adas (gram)

Kurva berat kalus tanaman adas dengan pemberian berbagai konsentrasi PEG 6000 menghasilkan persamaan $y = -1,553x^2 + 1,191x + 0,089$ dengan nilai determinasi R sebesar 0,958, artinya terdapat pengaruh pemberian PEG 6000

terhadap berat kalus Tanaman adas dengan nilai kepercayaan 95,8%. Berdasarkan kurva diatas dapat kita ketahui perlakuan PEG 6000 yang paling optimum terhadap pengamatan berat kalus terdapat pada konsentrasi 15%.

Berdasarkan hasil pengamatan diatas dapat diketahui kalus dengan perlakuan kontrol menghasilkan rata-rata berat kalus sebesar 0,089 gram, kalus perlakuan PEG optimal menghasilkan berat kalus rata-rata sebesar 0,32 gram akan tetapi pada perlakuan yang lebih tinggi konsentrasi 25% berat kalus mengalami penurunan sebesar 0,29 gram.

4.2 Pengaruh Pemberian PEG 6000 Terhadap Kualitas Kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh penambahan PEG 6000 terhadap kualitas kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) melalui teknik *in vitro* ini menunjukkan respon hasil yang berbeda-beda pada setiap perlakuan. Pengamatan kualitas pada penelitian ini meliputi pengamatan tekstur kalus dan berat kalus. Berikut ini adalah tabel tekstur kalus dan warna kalus yang disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Tekstur dan warna kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) 28 Hari Setelah Tanam

No	Perlakuan	Gambar	Warna	Tekstur
1.	0%		Kuning kecoklatan	Intermediet
2.	5%		Kuning kecoklatan	Intermediet
3.	10%		Kuning Kecoklatan	Intermediet
4.	15%		Kuning Kecoklatan	Intermediet
5.	20%		Kuning Kecoklatan	Intermediet
6.	25%		Kuning Kecoklatan	Intermediet

Pengamatan tekstur dan warna kalus tanaman adas dilakukan setiap 7 hari sekali selama 28 hari. Respon tanaman adas terhadap penambahan berbagai konsentrasi PEG pada media menunjukkan hasil yang berbeda-beda terhadap tekstur dan warna kalus tiap minggunya. Didapati warna kalus berubah menjadi hijau keputihan, hijau kekuningan, kuning muda dan coklat. Sedangkan tekstur kalus mengalami perubahan dari tekstur remah menjadi intermediet.

Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian hipokotil tanaman adas yang berwarna hijau yang kemudian mengalami degradasi warna tiap minggunya. Pada perlakuan kontrol warna kalus berwarna kuning kecoklatan, sedangkan pada perlakuan PEG optimum konsentrasi 15% kalus berwarna kuning. Kalus merupakan satu dari indikator pertumbuhan eksplan pada budidaya *in vitro*

yang menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui apakah suatu kalus masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau telah mati. Jaringan kalus pada suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda (Indah, 2013).

Perubahan warna kalus yang terjadi pada perlakuan kontrol maupun perlakuan PEG 6000 merupakan akibat dari degradasi klorofil. Hal ini sesuai dengan Nursandi (2004) Apabila warna kalus terbentuk dari eksplan yang berwarna hijau adalah putih atau coklat berarti telah terjadi degradasi klorofil. Hendaryono (1994) juga menerangkan bahwa kondisi perubahan kalus dapat disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan.

Penelitian Mariska (2007) menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi PEG dalam medium perlakuan pada kultur kalus tanaman nilam dapat merubah warna kalus dari putih menjadi kuning kecoklatan hingga pada kondisi cekaman yang ekstim (20%) kalus berwarna coklat dan hitam. Selain itu Hassanein (1999) menyatakan bahwa pencoklatan eksplan merupakan efek dari hilangnya air akibat sel mengalami cekaman osmotik.

Perubahan warna kalus pada perlakuan tanpa penambahan PEG 6000 (Kontrol) dari warna kuning menjadi kecoklatan bisa disebabkan karena terjadinya proses sintesis senyawa fenolik. Menurut Yusnita (2003), peristiwa pencoklatan terjadi akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan yang menghambat pertumbuhan atau bahkan kematian jaringan, selain menandakan terdapatnya

senyawa fenol, warna coklat disebabkan oleh semakin bertambahnya umur sel atau jaringan kalus.

Pemberian PEG 6000 pada media diduga dapat mengakibatkan adanya cekaman pada kalus sehingga kalus mengalami perubahan warna. Menurut Ariningsih (2003), perubahan warna pada kalus juga tergantung pada media perkembangannya. Cekaman yang diberikan oleh media pada kalus mengindikasikan kalus akan berubah warna lebih tua dari kalus segar. Dengan demikian semakin tua perubahan warna kalus pada suatu media menunjukkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder lebih tinggi dan lebih besar.

Tekstur kalus merupakan salah satu parameter pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini. Tujuan dilakukannya pengamatan tekstur kalus pada penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan tekstur kalus pada media yang ditambahkan berbagai konsentrasi PEG 6000. Pengamatan tekstur kalus pada perlakuan kontrol kalus bertekstur intermediate dan pada perlakuan PEG kalus juga bertekstur intermediet.

Pada penelitian ini di dapati tekstur kalus pada setiap perlakuan tidak berbeda, semua bertekstur intermediet. Pada penelitian sholikhah (2014) menjelaskan tekstur kalus tanaman *Centela asiatica* pada media Kontrol maupun media perlakuan adalah intermediet. Pada permukaan bawah eksplan yang tumbuh menjadi kalus terlihat kondisi jaringan yang berair. Hal ini diduga karena pengaruh hormon 2,4 D yang disubstitusikan kedalam media bekerja secara sinergis dengan hormone endogen yang ada pada eksplan sehingga hormone tersebut dapat merangsang perubahan kalus menjadi semi remah atau intermediet.

Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pemberian PEG 6000 tidak berpengaruh terhadap tekstur kalus.

Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu kalus yang memiliki tekstur kompak. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder (Indah, 2013). Kalus akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada saat sel-sel mengalami penurunan aktifitas pembelahan dan penurunan. Kalus kompak merupakan tekstur kalus yang mengalami pembelahan pada fase stasioner sehingga kalus kompak cenderung mengalami pembelahan yang lambat jika dibandingkan dengan kalus remah yang mengalami daya proliferasi lebih cepat. Sehingga pada kalus kompak dapat dihasilkan produksi metabolit sekunder yang lebih tinggi.

4.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Analisis kandungan senyawa metabolit sekunder kalus tanaman adas dilakukan menggunakan analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) adalah metode kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa yang bertujuan untuk menganalisis berbagai senyawa dalam suatu sampel. Kromatografi gas dan spektrometri massa memiliki prinsip kerjanya masing-masing, namun keduanya dapat digabungkan untuk mengidentifikasi suatu senyawa baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Hasil analisi kandungan senyawa metabolit sekunder pada kalus tanaman adas disajikan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kalus Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

No.	Senyawa	Persentase Kandungan Senyawa (%)	
		Kontrol	PEG
1.	Menthol	0.104	1.543
2.	Anethol	0.334	1.546
3.	Eshtragol	0.326	1.746

Berdasarkan hasil analisa GC-MS kalus tanaman adas dapat di ketahui bahwa pada perlakuan kontrol dan perlakuan PEG konsentrasi 15% terdeteksi keberadaan 3 senyawa yaitu menthol, anethol, dan estragol. Persentase kandungan senyawa menthol tertinggi terdapat pada perlakuan PEG konsentrasi 15% sebesar 1.543%, persentase kandungan senyawa anethol tertinggi terdapat pada perlakuan PEG konsentrasi 15% sebesar 1.546% dan persentase kandungan senyawa Estragol tertinggi terdapat pada perlakuan PEG konsentrasi 15% sebesar 1.746%.

Perlakuan PEG meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Persentase kandungan senyawa menthol pada perlakuan kontrol sebesar 0,104% pada perlakuan PEG 15% Mengalami peningkatan kandungan senyawa sebesar 14,8 kali menjadi 1,543%. Pada perlakuan peg 15% senyawa anethol mengalami peningkatan kandungan senyawa sebesar 4,62 kali dengan total persentase senyawanya sebesar 1,546% , pada perlakuan kontrol persentase kandungan senyawa tersebut sebesar 0,334% .Senyawa estragol mengalami peningkatan kandungan senyawa sebesar 5,35 kali, pada perlakuan kontrol persentase kandungan senyawa estragol sebesar 0,326% dan mengalami peningkatan pada perlakuan PEG 15% menjadi 1,746%.

Senyawa menthol terdeteksi keberadaannya pada perlakuan kontrol dan perlakuan PEG konsentrasi 15%. Persentase kandungan senyawa menthol tertinggi terdapat pada perlakuan PEG 15% dengan waktu retensi 28,241 menit dengan jumlah senyawa 1,543%. Pada perlakuan kontrol Keberadaan senyawa menthol terdeteksi pada waktu retensi 28,862 menit dengan jumlah senyawa 0,104%.

Senyawa anetol terdeteksi keberadaannya pada kalus perlakuan PEG 15% pada waktu retensi 28,185 menit dengan jumlah senyawa sebesar 1,546%. Keberadaan senyawa anetol pada kalus tanaman adas perlakuan kontrol terdeteksi pada waktu retensi 28,165 menit Sebesar 0,334%. Anetol merupakan komponen utama dari minyak adas (*fennel oil*), minyak adas mengandung 50 - 60% anetol (Tyler, 1976). Kualitas minyak adas perdagangan ditentukan oleh besar kecilnya kandungan anetol. Semakin besar kandungan anetol, kualitas minyak adas semakin baik (Ashraf dan Bhatti, 1975).

Senyawa anetol banyak ditemukan dalam famili *Apiaceae* (*Umbelliferae*) khususnya pada spesies *Foeniculum vulgare* Mill. Tanaman adas yang menghasilkan minyak atsiri (*fennel oil*) termasuk subspecies *Capillaceum* (Diaz-Maroto, 2005). Salah satu khasiat anetol adalah sebagai karminatif. Ashraf (1975) mengemukakan bahwa anetol banyak digunakan sebagai penambah rasa dari berbagai makanan terutama permen, minuman alkoholik maupun non alkoholik, juga digunakan dalam komposisi parfum, pasta gigi, obat kumur dan dapat membuat pekat pemutih warna pada pewarna fotografi. Studi laboratorium yang telah dilakukan Dongare (2012) menyatakan bahwa anetol diidentifikasi sebagai

konstituen bioaktif yang memiliki reduktase aldosa kuat serta antioksidan yang dapat mencegah pembentukan katarak. Jika digunakan secara rutin, berperan besar terhadap kontrol sekunder terjadinya komplikasi pada penderita diabetes mellitus.

Senyawa estragol terdeteksi keberadaanya pada kalus perlakuan PEG 15% pada waktu retensi 24,858 menit, dengan persentase kandungan senyawa sebesar 1,746%. Keberadaan senyawa estragol juga terdeteksi pada perlakuan kontrol pada waktu retensi 24,867, dengan persentase kandungan senyawa sebesar 0,326% . Estragol merupakan salah satu senyawa turunan alifenol yang terbentuk melalui jalur shikimat (Fenilpropanoid), kandungan senyawa estragol yang terdapat pada tanaman adas bermanfaat sebagai anti jamur dan antibakteri (Utami, 2013).

4.4 Hasil Penelitian tentang Induksi Kalus dan Kandungan Senyawa Tanaman dalam Pandangan Islam

Allah SWT mampu menciptakan berbagai macam tanaman di muka bumi ini dengan kekuasaan-Nya, baik yang berasal dari sesuatu yang hidup ataupun sesuatu yang mati, dan apapun yang diciptakan oleh Allah SWT tidak ada yang sia-sia. Salah satu contohnya adalah penciptaan tanaman. Dari setiap ciptaan yang Allah SWT ciptakan dibutuhkan sebuah proses dalam pembentukannya, seperti halnya tanaman membutuhkan unsur hara dan media tanam untuk kelangsungan hidupnya.

Tanaman merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah yang memiliki banyak sekali manfaat. Tanaman memiliki kandungan senyawa yang beragam dan dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, contohnya vitamin,

minyak dan masih banyak lainnya. Tanaman terdiri dari berbagai macam spesies dan jenis yang beragam. Sama dengan makhluk hidup lainnya di seluruh penjuru dunia ini terdapat banyak sekali jenis tanaman, mulai dari yang terkecil sampai yang terbesar. Allah SWT menjelaskan tentang keanekaragaman tanaman dalam surat Asy-Syuara 26 ayat 7:

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

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

Berdasarkan ayat di atas yang artinya “Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuh-tanaman yang baik” Allah SWT memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, bahwa jika mereka melihat dengan hati dan mata niscahnya mereka mengetahui bahwa Allah adalah yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu (Al Qurthubi, 2009). Di sisilain terdapat kalimat “tumbuh-tanaman yang baik. Menurut Al Qurthubi (2009) menyatakan bahwa tanaman yang baik adalah yang memiliki warna, bentuk dan manfaat. Satu di antara tumbuhan yang bermanfaat yaitu tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill).

Adas merupakan tanaman yang digunakan sebagai bahan makanan, bumbu masakan dan bahan obat. Penggunaan tanaman adas sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit seperti penyakit katarak, diabetes, liver, ginjal, limpa, lambung, melancarkan peredaran darah, penghilang nyeri (analgesik), meningkatkan nafsu makan (stomakik), peluruh dahak, peluruh kentut (karminatif), dan merangsang produksi ASI (laktagoga). Kandungan Minyak atsiri yang terkandung dalam

tanaman adas merupakan salah satu senyawa aktif bahan dasar pembuatan obat, disamping itu minyak atsiri tanaman adas juga dapat dijadikan sebagai bahan baku industri minyak telon. (Kridati, 2012).

Ditinjau dari potensi tanaman adas dalam bidang kesehatan, maka sangat perlu dilakukan upaya untuk perbanyak tanaman secara cepat dan memiliki kandungan senyawa metabolit yang tinggi melalui teknik kultur jaringan. Dalam kultur jaringan hal terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan baik itu akar, tunas, maupun kalus adalah media tanam. Kemampuan Media kultur sebagai habitat tanaman dan menghasilkan bahan yang dapat dipanen sangat berperan penting dalam perkembangan eksplan. Hal ini sesuai dengan firman Allah Surat Al-A'raaf ayat 58 :

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبُثَ 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 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 merupakan suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ ataupun embrio, kemudian diinisiasikan pada media buatan steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Winata, 1987). Media kultur sangat berpengaruh penting terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Dalam kultur jaringan, media agar diibaratkan sebagai tanah dan 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 auksin yaitu 2,4D dan sitokinin yaitu kinetin untuk menginduksi kalus tanaman adas dan ditambahkan elisitor PEG 6000 yang bertujuan untuk menghasilkan kalus metabolit dan meningkatkan kandungan metabolit sekunder. Berdasarkan penelitian ini dapat diketahui bahwa perlakuan PEG 6000 konsentrasi 30% (perlakuan optimum) mempengaruhi kualitas, kuantitas dan kandungan kalus.

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 6 konsentrasi PEG 6000 yang dikombinasikan dengan 2,4D dan Kinetin. Pada penelitian ini di dapati perlakuan PEG 15% lebih optimal dari pada perlakuan yang lain. Perlakuan PEG 15% menghasilkan kalus yang lebih cepat tumbuh yaitu 6 hari setelah penanaman, persentase pembentukan kalus sebesar 100%, dan berat kalus sebesar 0,329 gram. Sedangkan dari segi kualitas didapati kalus bertekstur remah dengan warna kuning. Kandungan senyawa yang terdeteksi pada kalus perlakuan tersebut antara lain senyawa menthol 0,3190%, anetol 0,3197% dan estragol 0,3611%.

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah SWT menunjukan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Seperti yang ditunjukkan oleh eksplan batang tanaman adas yang dapat tumbuh membentuk kalus dan meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder. 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 bagian hipokotil tanaman adas 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 (*Fennel oil*) pada kalus tanaman adas.

Allah SWT berfirman dalam surat Al Baqoroh ayat 30 yang berbunyi :

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ٣٠

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui (Q.S Al Baqoroh : 30).

Ayat di atas mengandung makna bahwa Allah SWT memiliki kekuasaan atas segala sesuatu yang ada di dunia. Sedangkan maksud kata “*khalifah di muka bumi*” pada ayat tersebut adalah merujuk kepada manusia. Allah SWT melarang makhluknya terutama manusia agar tidak berbuat kerusakan. Al Maraghi (1985) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa manusia adalah makhluk yang diberi Allah SWT daya berfikir dan kebebasan berkehendak yang oleh karenanya, seperti diindikasikan oleh para malaikat, manusia cenderung berbuat kerusakan di muka bumi. Maka Allah SWT memberikan anugerah kepada manusia yaitu ilmu pengetahuan, dengan itu manusia dapat mengemban amanat Allah SWT sebagai *khalifah* Nya di muka bumi.

Manusia sebagai makhluk Allah SWT yang telah dikaruniai akal fikiran harus mampu mengemban amanat dengan sebaik-baiknya. Melakukan hal-hal yang tidak bertentangan dengan peran manusia sebagai *khalifah* dan hubungan dengan Tuhannya. Hubungan manusia sebagai *khalifah* dengan Tuhannya adalah untuk mengerjakan tugas yang sudah ditetapkan, yaitu menjalankan sunah-sunah Nya. Manusia adalah *khalifah* di bumi dan seorang *khalifah* harus peduli dengan alam dan lingkungan. Manusia tidak bisa membuat apa yang dibuat oleh Allah SWT dan hanya bisa mengembangkan atau melestarikan saja seperti misalnya melakukan budidaya dan perbanyakan.

Seperti pada penelitian ini, permintaan pasar terhadap tanaman adas cukup besar untuk dijadikan sebagai bahan obat dan bahan pembuatan minyak telon. Hal ini sesuai dengan penggalan surat Ali-Imron ayat 191 yaitu “*Rabbanā ma khalaqta hādza bāthilān (batilan)*” yang artinya Allah menciptakan segala di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia. Segala macam tanaman yang terdapat di muka bumi memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan oleh manusia yaitu sebagai obat tradisional. Dengan menggunakan akal dan fikir, manusia mampu menemukan dan menguji kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman adas sehingga dapat bermanfaat dan mendatangkan kemaslahatan bagi umat manusia. Hal ini merupakan perwujudan dari hubungan antara manusia sebagai *khalifah* di bumi dengan Tuhannya yaitu Allah SWT.

Selain sebagai *khalifah* di bumi, manusia juga berperan sebagai ilmuwan islam yang mana dalam melakukan suatu tindakan itu harus berdasarkan pada etika di alam dan nilai-nilai keislaman. Perlakuan etis terhadap tanaman misalnya

melakukan perbanyakan, menanam dan memperlakukan tanaman dengan baik. Kemudian cara-cara menggunakan tanaman untuk penelitian, zat pengatur tumbuh (hormon) dan air untuk menyiram juga harus sesuai dengan etika dan aturan islam, karena setiap makhluk di bumi ini mempunyai hak terhadap sumberdaya lingkungan. Nilai-nilai keislaman yang diperoleh berdasarkan penelitian ini, dalam perbanyakan tanaman harus memperlakukan dan memperhatikan tanaman dengan baik yaitu memberikan nutrisi yang cukup agar tanaman dapat tumbuh dengan baik. Karena tanaman adalah salah satu makhluk ciptaan Allah SWT, yang dari air Allah SWT menumbuhkannya, maka sudah sepatutnya manusia melestarikan dan menjaganya, sebab dari tanaman itu manusia mendapatkan sumber makanan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan PEG 6000 Mempengaruhi kuantitas kalus tanaman adas. PEG konsentrasi 15% menginduksi kalus selama 6 hari setelah tanam, persentase pembentukan kalus sebesar 97,50%, berat kalus sebesar 0,32 gram.
2. Penambahan PEG 6000 Mempengaruhi kualitas kalus tanaman adas meliputi tekstur kalus yang bertekstur intermediet dan warna kalus yang berwarna kuning kecoklatan.
3. Pemberian PEG 6000 meningkatkan kandungan metabolit sekunder pada kalus tanaman adas. Berdasarkan hasil analisis GC-MS Pada perlakuan PEG 6000 yang paling optimum terdeteksi keberadaan 3 senyawa yaitu menthol 1,543%, anethol, 1,546%, dan estragol 1,745% .

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai induksi kalus pada tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) dengan menggunakan bagian eksplan yang lain dan penggunaan zat pengatur tumbuh yang lain
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai induksi metabolit sekunder kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) dengan menggunakan prekursor dan elisitor yang lain.

3. Perlu dilakukan analisis lanjutan mengenai induksi metabolit sekunder kalus tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) pada bagian biji , kalus, dan bagian tanaman yang lain



DAFTAR PUSTAKA

- Afiffy, A., E., H., S. Beltagi, A. A. Hammama, M. M. Sidky and O. F. Mostafa, 2011. Distribution Of Trans-Anethole and Estragol in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Of Callus Induced From Different Seeding Parts and Fruits. *Notulae Sciencie Biol* 3 (1): 79-86. Faculty Of Agriculture Departement. Cairo University.
- Al-jauziyah, Ibnu Qoyyim. 2007. *Metode Pengobatan Nabi*. Terj. Abu Umar Basyier Al-Maidani. Jakarta : Griya Ilmu.
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.
- 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.
- Anggarwulan, E. Sholichatin, 2001. *Fisiologi Tumbuhan*. Surakarta : UNS Press.
- Anwar, C. 1994. Pengantar Praktikum Kimia Organik. Yogyakarta : UGM Press.
- Anzidei, M., L. Viliona, S. Schiff and A. Bennia, 1996. In Vitro Culture Of *Foeniculum vulgare* Mill. Callus Characteristic In Relation to Morphogenesis. *Plant Cell Tiss Org Cut*. 45 : 263-269.
- Arianto, B. dan M.U. Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D Secara In vitro. *E. J. Agrotekbis* 1 (3).
- Ariningsih, Ika, Sholichatun, & Anggarwulan E. 2003. Pertumbuhan Kalus dan Produksi Antrakuonin Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Media Murashige – Skoog (MS) dengan Penambahan Ion Ca²⁺ dan Cu²⁺. *Jurnal Biofarmasi* 1(2): 39-43.
- Ashraf, M. and M.K. Bhatti, 1975. Studies on The Essential Oils of Pakistan Species of The Family Umbelliferae, Part II *Foeniculum vulgare* Miller (Fennel) seed Oil, *J. Sci. Ind. Res.*, 18,(5)
- Baron, K. and C. Stasolla. 2008. The Role Of Polyamines during in vivo and in vitro Development. *In vitro cell. Dev. Biol. Plant* 44: 384-394
- Charles, D. J., M.R. Morales, and J. E. Simon. 1993. Essential oil content and chemical composition of finocchio fennel. *In Janick and J.E Simon (Eds). New Crops*. Wiley, New York. P. 570-573.

- Dalimartha, setiawan dr. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta :Trubus Agriwidya.
- Dias. Marato, M. C., M. S. Pearez-Coeillo, J. Esteban and J. Sanz. 2006. Comparison of the Volatile Composition of Wild Fennel Samples (*Foenicullum vulgare* Mill.) From Central Spain. *J Agric Food Chem*. 54: 6814-6818.
- Dongare, Vandana. (2012). *Inhibition of aldose reductase and anti-cataract action of trans-anethole isolated from Foeniculum vulgare Mill fruits*. Journal of Food Chemistry 132 (2012), 385-390.
- Ehsanpour, A. A., and R. Razavizadeh. 2005. Effect of UV-C on Drought Tolerance of Alfalfa (*Medicago sativa*) Callus. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology I* (2): 107-110.
- Ernawati, A. 1992. *Produksi Senyawa-Senyawa Metabolit Sekunder Dengan Kultur in vitro Tanaman* hal 169-208 Dalam Watimena, G.A . 1992. *Bioteknologi Tanaman I*. IPB. Bogor.
- Ernawati, A. 1992. *Produksi Senyawa-Senyawa Metabolit Sekunder Dengan Kultur in vitro Tanaman* hal 169-208 Dalam Watimena, G.A . 1992. *Bioteknologi Tanaman I*. IPB. Bogor.
- Fakhri, A. 2010. *Kultur In Vitro Tanaman Theobromo Cacao dengan Variasi Polyethylen glycol (PEG) 6000 dan Potensinya Untuk Metabolit Sekunder Katekin*. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Andalas Padang.
- Fitriani, A. 2003. Kandungan Ajmalisin Pada Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L) G. Don Setelah Dielistasi Homogent Jamur *Phytium aphanidermalium*. Edzonfitzp. Diakses pada 10 Maret 2017. http://tumautaunet/6_sem2_023/any_fitriany.html.
- George, E. F and Jones. 2008. *Plant Propagation By Tissue Culture*. Dordrecht: Springer.
- George, E. F and sherington, P. D. 2002. *Plant Propagation By Tissue Culture*. Exegetis Limited: England.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., dan Rahmat, A. 2015. Phytochemical constituents and biological activities of different extracts of *Stobilanthes crispus* (L.) Bremek leaves grown in different locations of Malaysia. *Bio Med Central* (15).
- Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur in vitro Tumbuhan*. Bogor: Pusat Antar.

- Hadipoentiyani E, Nursalam A, Hartati SY, dan Suhesti S. 2008. Perakitan Varietas untuk Ketahanan Nilam terhadap Penyakit Layu Bakteri. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Hammond- Kosac, K. E, Jones, D.A. 1996. *Einsnang Microber*. The Component of Plants Disease Resistance. New Phytologist Hartman.
- Hartman, H. T., D.G. Kester, and F.T. Davier. 1990. Plant Propagation: Principles and Practices. 5th ed. Singapore: Prentice Hall Inc.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif - Modern. Yogyakarta: Kanisius.
- Herbert, R.B., (1995), Biosynthesis of Secondary Metabolites, 2nd edition, Chapman and Hall, New York.
- Indah, Nur P, dan Ernavitalini, Dini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Konsentrasi 6 Benzylaminopirune (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic. *Jurnal sains dan semi pomits*, Vol 2, No 1. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November (ITS) Surabaya.
- Jecfa. 1987. Metals and arsenic specifications revised at the 61st. published in FNP 38 (1988) dan FNP 52 (1992).
- Kemala, S; Sudiarto, E. R.Pribadi, JT. Yuhono, M. Yusron, L. Mauludi, M. Raharjo, B. Waskito, dan H. Nurhayati 2003. Studi Serapan, Pasokan dan Pemanfaatan Tanaman Obat di Indonesia. Laporan teknis penelitian Bagian Proyek Penelitian Tanaman Rempah dan Obat APBN 2003. 61
- Kintoko, 2006. Prospek Pengembangan Tanaman Obat. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Kridati, Prihastanti dan Haryanti. 2012. Rendemen Minyak Atsiri dan Diameter Organ Serta Ukuran Sel Minyak Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) yang Dibudidayakan di Kabupaten Semarang dan Kota Salatiga. *Bulletin Anatomi dan Fisiologi*. Volume XX, Nomor 1, Marer 2012.
- Kurz, W.G.W., dan F. Constabel. 1991. Produksi dan isolasi metabolit sekunder. Dalam Wetter, L.R. dan F. Constabel (eds.). Metode Kultur Jaringan Tanaman. Penerjemah: Widiyanto, M.B. Bandung: ITB Press.
- Laila F. N & Savitri, E.S. 2014. Produksi Metabolit Sekunder Steviosida pada Kultur Kalus Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert. M) dengan Penambahan ZPT 2,4-D dan PEG (*Polyethylenglicol*) 6000 pada Media MS. *El-Hayah* 4(2): 57-65.

- Lestari, S. 2013. Pengaruh Jenis Eksplan Dan Konsentrasi IBA Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Metabolit Sekunder (*Stigmasterson dan Sitosterol*) Kalus Purwoceng (*Pimpinella alpine Molk.*) Pada Media MS. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Leuner, C and Dresman., J. 2000. Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersion., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50 : 47-60.
- Levine, N.D., 1994. *Veterinary Protozoology dalam Soekardono*. 1995 (Terjemahan). Protozoology Veteriner. Diterjemahkan oleh Soeprapto Soekardono. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Pp: 182-265.
- Madbardo. 2010. Kromatografi Gas. Tanggal akses 25 Januari 2017. <http://madbardo.blogspot.com>.
- Mahmud, Mahir Hasan. 2007. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta: Qultum Media.
- Mandang D., Pangemanan., Trisnaamijaya, (2013) Hubungan Perilaku Merokok dan Kejadian Angina Pektoris Tidak Stabil. <http://ejournal.unsrat.ac.id>.
- Mariska, I., dan Sukmadjaja, D., 2003. *Perbanyak Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Maulina, Agustin arianti. 2015. Pengaruh Berbagai Konsentrasi PEG (Polyethylena Glicol) 6000 Terhadap Kualitas Dan Kuantitas Serta Uji Kualitatif Metabolit Sekunder Vernodalina Pada Kalus Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Michel BE, and Kaufman MR 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol*. 57: 914-916.
- Mullahey J.J. Kalmbacher R.S., Brown W.F., Colvin D.L., Dunavin L.S., Kretschmer A.E., Jr., Martin F.G., and Rechcigl J.E. (1997) 'Suerte' atrapasalum: Its management and utilization. Gainesville: *Florida Agric. Exp. Stn. Circular S-397*. Univ. of Florida.
- Muryati, S. dan anggarwulan, E., 2005. Pertumbuhan dan Produksi Reserpin Kalus Pule Pandak (*Raufolvia serpentin* (L.) Bentham ex. kurz) pada Pemberian Metil Jasmonat Secara *In vitro*. *J. Bioteknologi* 22(2).
- Muyasar. 2007. Tafsir Muyassar (Jilid 4). Jakarta: Qisthi Press
- Najib, Ahmad. 2006. Ringkasan Materi Kuliah Fitokimia II .Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.

- Nazza, 2013. 2013. Induksi Kalus Pegagan (*Centelaasiatica*) pada media MS dengan penambahan zat pengaturtumbuh 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nur, siti. 2010. Uji Toleransi Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Terhadap Kekeringan Secara *in vitro* Dengan Penambahan PEG (Polietilena Glikol) 6000 Sebagai Simulasi Kekeringan. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Nursandi, F. 2002. *Kultur in vitr Tanaman*. Malang : UMM Press.
- Perdana, Febie Angelia. 2010. Sintesis dan Karakteristik Partikel Nano Fe₃O₄ dengan Template PEG - 1000. Artikel Publikasi. Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITS Surabaya.
- Picoaglia, R and Marothi, 2001. Characterization of Some Italian Types of Wild Fennel (*Foeniculumvulgare* Mill.). *J. Agric and Food Chem.*, 49: 239-244. *Secondary Metabolism*. USA. Science Publisher, Inc.
- Razavizadeh R, Ehsanpour AA. 2005. Optimization of *in vitro* propagation of Rosa hybrida L. Cultivar black red. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 3 (1) : 96-99.
- Retnowati, rurini. Friska. Suratmo. 2013. Esterifikasi 2-Isopropil-5- Metil Sikloheksanol (1-MENTHOL) Menggunakan Asam Propionat. *Kimia. Student Journal*, Vol. 1, No. 2, pp. 269-275, Universitas Brawijaya Malang
- Riyadi, I., danTriboma. 2004. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah*. Vol 10 No 02.
- Rohman. S. N. 2007 Penggunaan BAP dan 2,4-D dalam Kultur *In Vitro* Iles iles (*Amorpophalusmuelleri blume*). *TugasAkhir*. IPB. Bogor.
- Rusmaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. pada Kultur *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Rusmin, D., Melati. 2007. Adas Tanaman yang berpotensi Dikembangkan Sebagai Bahan Obat Alami. *Warta Publishbang*. Vol 13 no 2.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2002. *Kultur in vitroTanaman*. Malang : UMM Press.

- Saparinto, Cahyo. 2016. *Panduan Praktik Menanam 51 Tanaman Obat Populer di Pekarangan*. Yogyakarta : Lily Publisher.
- Sholikha, A. 2011. Produk Metabolisme Tumbuhan. Makalah Fakultas Ilmu Keguruan dan Pendidikan. Universitas Ahmad Dahlan.
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basellarubra L.*) secara In Vitro pada Media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*, 13 (1).
- Taiz, L. and Zeigr, E. 1998. *Plant Physiology*. Sinaver Asosiates, Inc Publisher.
- Tuasamu, Y. 2009. Toleransi hotong (*Setaria italic l. Beauv*) pada berbagai cekaman kekeringan: pendekatan anatomi dan fisiologi. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Turham, H. 2004. Callus Induction and Growth Intransgenic Potato Genotypes. *African Journal Of Biotechnology* 3 (38).
- Tyler, V.E., L.R. Brady, and J.E. Robbers, 1976. *Pharmacognosy*, Ninth Edition, Lea and Febriger, Philadelphia.
- Utami, P. dan Puspaningtyas. D.E. 2013. *The miracle of herbs*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Vasconsuelo A and Boland R. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Science Direct. Plant Science* 172 (2007).
- Wen-RuiDiao, (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare Mill*). *Journal of Food Control* 35 (2014), 109-116.
- Widoretno, Wahyu., Megia, R., dan Sudarsono. 2003. Reaksi Embrio Somatik Kedelai Terhadap Polietilena Glikol dan Penggunaannya Untuk Seleksi In Vitro terhadap Cekaman Kekeringan. *Hayati* 10(4): 134-139.
- Yokota, T., Tutumi, N., and Takahasi, K. 1999. Growth Rate Estimation of in vitro primarily Induced Carrot Callus by a fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*. 3: 231-234.
- Yuliarti, Nurheni. 2010. *Kultur in vitro Tanaman*. Yogyakarta .Andi Offset.
- Yulinda 2010, E. 2010. Kultur In Vitro Tanaman Centella asiatica dengan beberapa konsentrasi polietilena glikol (PEG) 6000 dan potensinya untuk produksi metabolit sekunder triterpenoid. Universitas Andalas Padang.

Yusnita. 2003. *Kultur in vitro* (Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien). Jakarta :Agromedia Pustaka.

Zulhilmi, S dan Netty W.S. 2012. Pertumbuhan dan Uji Kualitatif Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Gatang (*Spilanthessacmella* Murr.) dengan Penambahan PEG untuk Menginduksi Cekaman Kekeringan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 1 (1): 1-8.

Zulkarnain. 2009. *Kultur jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*, Jakarta: Bumi Aksara.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Hari Munculnya Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0%	10	9	12	11	42	10,5
5%	7	10	7	7	31	7,75
10%	7	7	9	8	31	7,75
15%	7	7	9	9	32	8
20%	7	8	8	8	31	7,75
25%	10	7	10	10	37	9,25

Lampiran 2. Tabel persentase Pertumbuhan Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0%	50	80	50	80	260	65
5%	100	100	70	70	340	85
10%	100	100	60	80	340	85
15%	100	100	100	100	400	100
20%	100	100	90	70	360	90
25%	100	90	80	100	370	92,5

Lampiran 3. Tabel Berat Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0%	0,10	0,08	0,03	0,11	0,33	0,083
5%	0,26	0,20	0,22	0,21	0,90	0,225
10%	0,28	0,30	0,21	0,19	0,98	0,247
15%	0,30	0,25	0,34	0,43	1,31	0,329
20%	0,32	0,37	0,30	0,26	1,27	0,319
25%	0,34	0,18	0,22	0,40	1,20	0,301

**Lampiran 4. Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Hari Munculnya
Kalus Tanaman Adas**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.708	5	8.542	12.551	.000
Within Groups	12.250	18	.681		
Total	54.958	23			



**Lampiran 5. Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Persentase
Pertumbuhan Kalus Tanaman Adas**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4383.333	5	876.667	3.468	.023
Within Groups	4550.000	18	252.778		
Total	8933.333	23			



Lampiran 6. Perhitungan Hasil Pengolahan Uji ANAVA Berat Kalus Tanaman Adas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.166	5	.033	7.528	.001
Within Groups	.079	18	.004		
Total	.245	23			



Lampiran 7. Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Hari Munculnya Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15%	4	6,75		
5%	4	7,75	7,75	
10%	4	7,75	7,75	
20%	4	7,75	7,75	
25%	4		9,25	9,25
0%	4			10,50
Sig.		,263	,099	,133

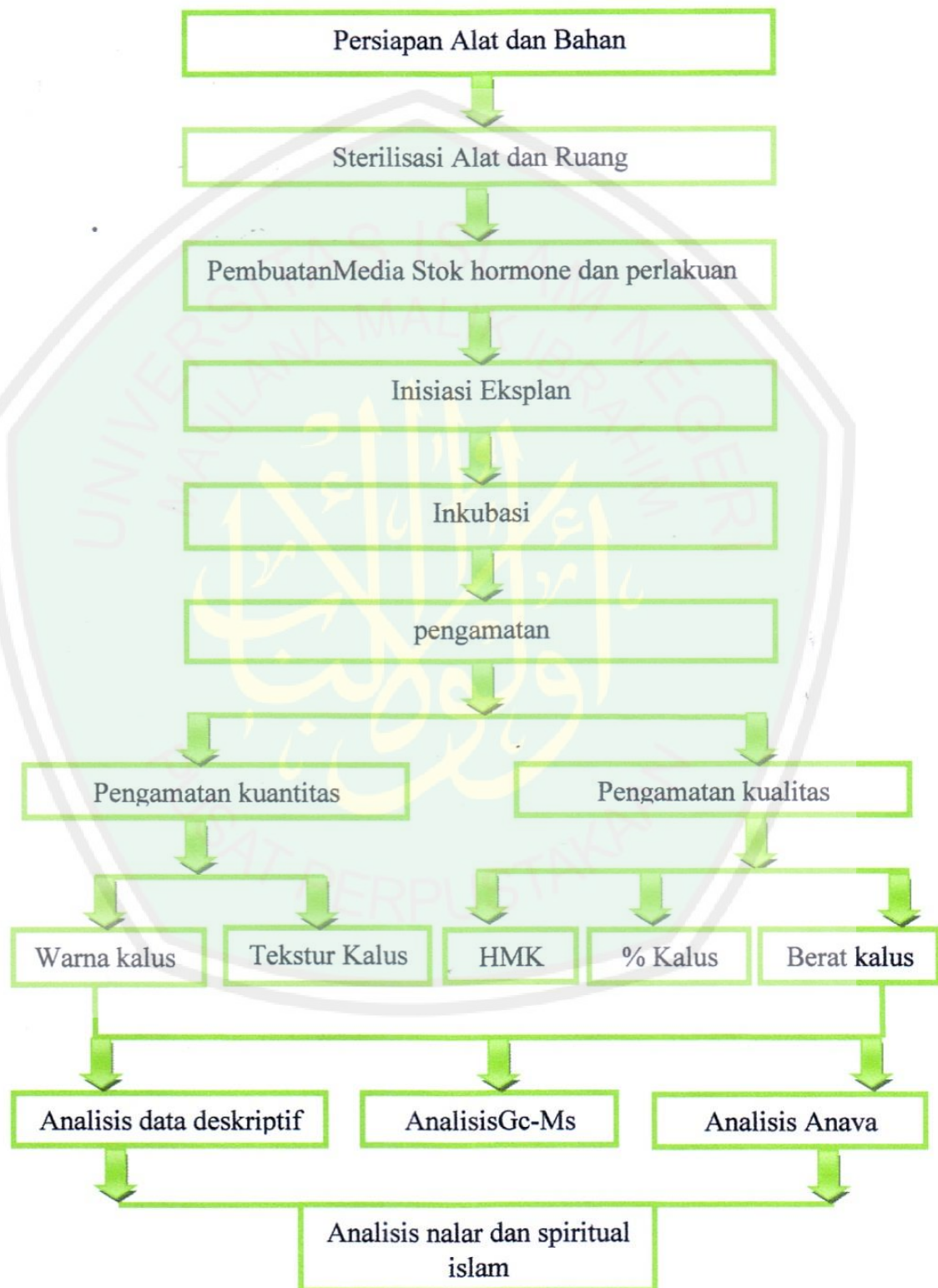
Lampiran 8. Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Persentase Pertumbuhan Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0%	4	72,5000	
5%	4	82,5000	82,5000
10%	4	85,0000	85,0000
15%	4	92,5000	92,5000
20%	4		95,0000
25%	4		97,5000
Sig.		,054	,149

Lampiran 9. Perhitungan Hasil Interaksi Uji DMRT 5% Terhadap Berat Kalus Tanaman Adas

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0%	4	,0803	
5%	4		,2225
10%	4		,2450
15%	4		,2975
20%	4		,3125
25%	4		,3250
Sig.		1,000	,063

Lampiran 10. Langkah Penelitian



Lampiran 11. Perhitungan larutan stock

Perhitungan Larutan Stok

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

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

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

Dari perhitungan tersebut maka untuk membuat larutan stok 2,4-D 100 ppm dalam 100 ml aquades dibutuhkan 2,4-D 10 mg.

- b. LarutanStok Kinetin

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

Dari perhitungan tersebut maka untuk membuat larutan stok Kinetin 100 ppm dalam 100 ml aquades, dibutuhkan Kinetin 10 mg.

- c. Larutan Stok PEG 6000

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

Dari perhitungan tersebut maka untuk membuat larutan stok PEG 100 ppm dalam 100 ml aquades, dibutuhkan peg 10 mg.

Perhitungan Konsentrasi PEG

1 1 liter media : 1000 ml : 5 = 200 ml

1. PEG 0% : $\frac{0}{100} \times 200 = 0 \text{ ppm}$
2. PEG 5% : $\frac{10}{100} \times 200 = 20 \text{ ppm}$
3. PEG 10% : $\frac{20}{100} \times 200 = 30 \text{ ppm}$
4. PEG 15% : $\frac{30}{100} \times 200 = 40 \text{ ppm}$
5. PEG 20% : $\frac{40}{100} \times 200 = 80 \text{ ppm}$
6. PEG 25% : $\frac{50}{100} \times 200 = 100 \text{ ppm}$

Lampiran 12. Foto alat Penelitian



Gambar 1.
Neraca Analitik



Gambar 2.
Ph Meter



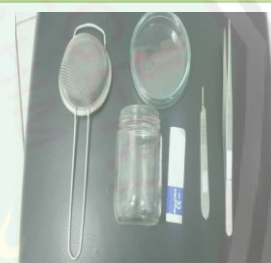
Gambar 3.
Alat Gelas



Gambar 4.
Hot Plate



Gambar 5.
oven



Gambar 6.
Alat penyaring , botol,
pisau, pinset dan
scalpel



Gambar 7.
sduit



Gamba8.
Korek Ani



Gambar 9.
LAF



Gambar 10.
bunsen



Gambar 11.
sprayer



Gambar 12.



Gambar 13. Kompor



Gambar 14. Micro pipet & Tip

Lampiran 13. Foto Bahan Penelitian



Gambar 1.
Biji Tanaman
Adas



Gambar 2.
Media MS



Gambar 3. Gula



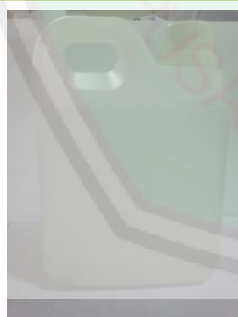
Gambar 4.
Agar



Gambar 5.
PEG 6000



Gambar 6.
ZPT



Gambar 7.
Aquades



Gambar 8.
Alkohol 70%,
Alkohol 96%,
Snirtus.dan clorox



Gambar 9.
Bakterisida dan
fungisida

Lampiran 14. Foto Kegiatan Praktikum



Gambar 1.
Menimbang bahan
–bahan
pembuatan media



Gambar 2.
Menghomogenkan
Bahan-bahan
pembuatan media



Gambar 3.
Memasak Media



Gambar 4.
Tanaman Adas
Yang siap di
subkultur

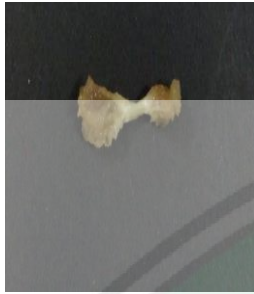


Gambar 5. Proses
inisiasi



Gambar 6. Eksplan
yang diinkubasi
selama 4 minggu

Lampiran 15. Gambar Hasil Penelitian



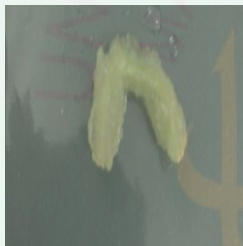
Gambar 1. Kalus
Perlakuan Kontrol



Gambar 2. Kalus
perlakuan PEG 10%



Gambar 3. Kalus
perlakuan PEG 20%



Gambar 4. Kalus
Perlakuan PEG 30%



Gambar 5. Kalus
Perlakuan PEG 40%



Gambar 6. Kalus
Perlakuan PEG 50%

Lampiran 16. Hasil analisis Gc-Ms Kalus Perlakuan Kontrol

Chromatogram Plot

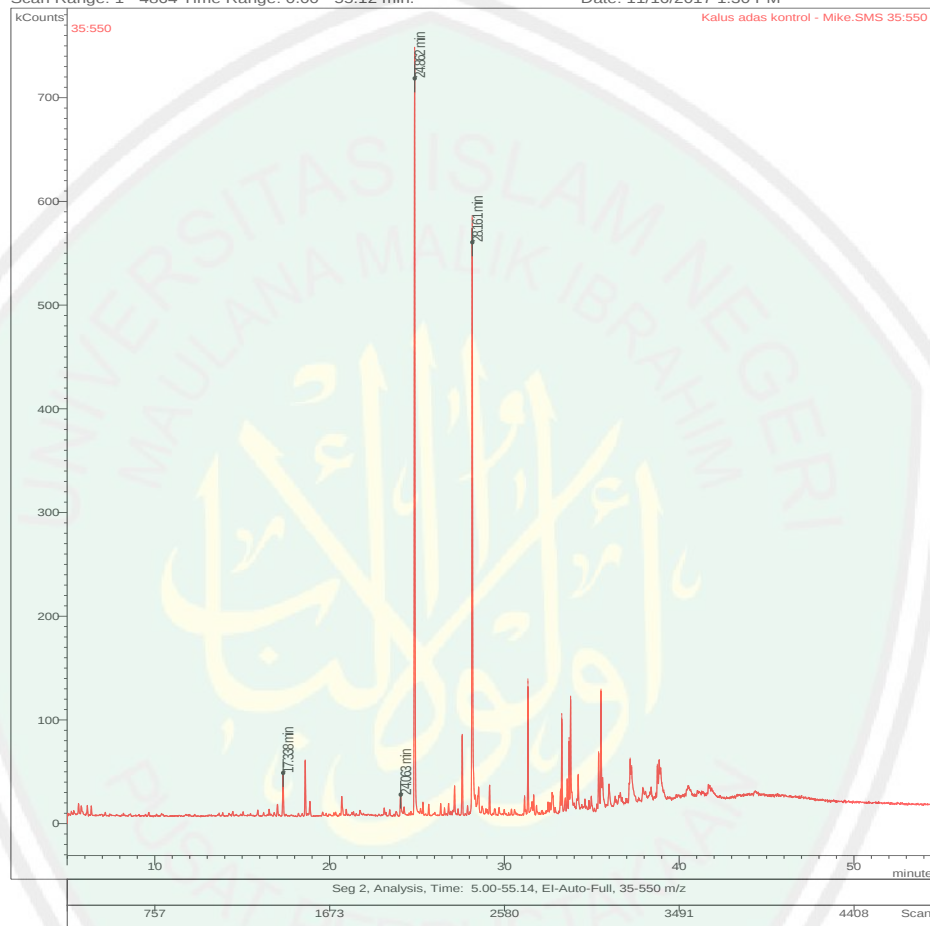
File: c:\varianws\data_xyz\analisa\kalus adas kontrol - mike.sms

Sample:

Operator: mei

Scan Range: 1 - 4864 Time Range: 0.00 - 55.12 min.

Date: 11/16/2017 1:30 PM

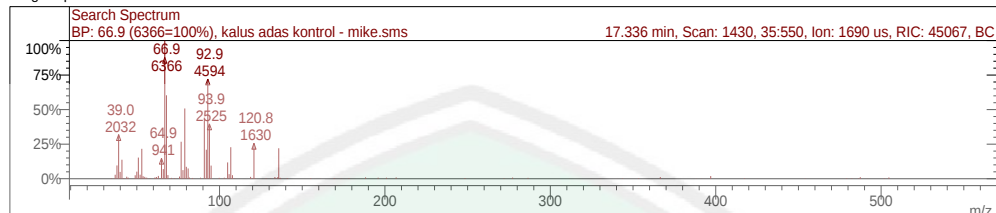


Target Compounds

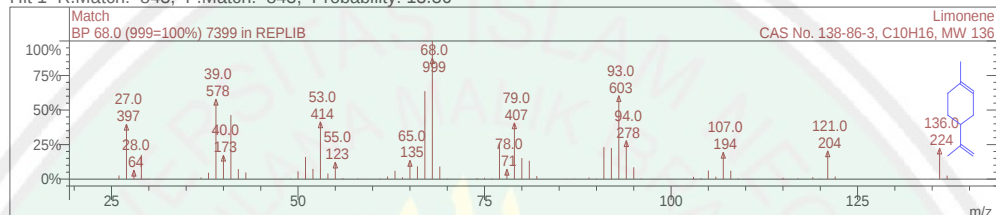
Cmpd. Number	RT (min)	Peak Name	Area	Amount/RF
1	17.338	1	21707	21707
2	24.063	2	9734	9734
3	24.862	3	310785	310785
4	28.161	4	302736	302736

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



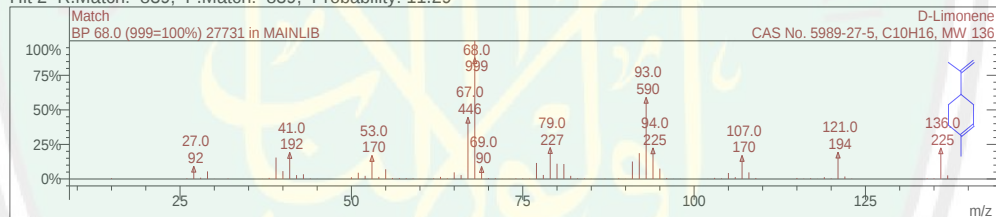
Hit 1 R.Match: 843, F.Match: 843, Probability: 13.36



Spectrum 7399 from REPLIB Library

Name: Limonene
Pair Count: 95 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆
CAS No: 138-86-3 Acquired Range: 25.0 - 138.0 m/z

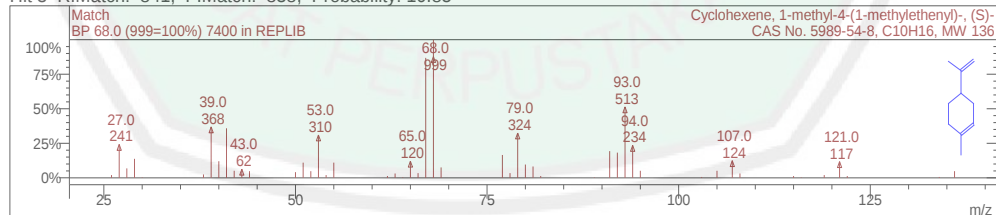
Hit 2 R.Match: 839, F.Match: 839, Probability: 11.29



Spectrum 27731 from MAINLIB Library

Name: D-Limonene
Pair Count: 85 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆
CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 15.0 - 138.0 m/z

Hit 3 R.Match: 841, F.Match: 838, Probability: 10.85

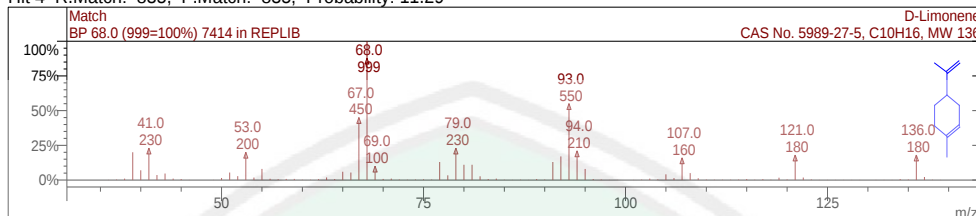


Spectrum 7400 from REPLIB Library

Name: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)-
Pair Count: 49 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆
CAS No: 5989-54-8 Acquired Range: 26.0 - 136.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 835, F.Match: 835, Probability: 11.29



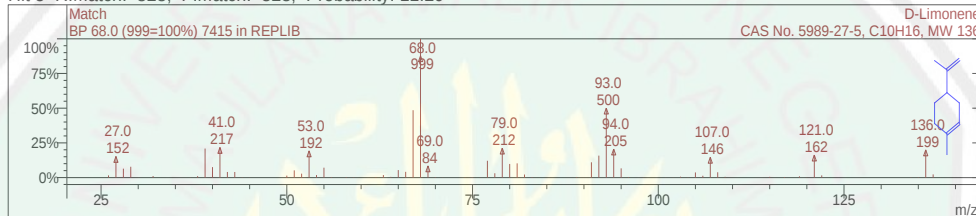
Spectrum 7414 from REPLIB Library

Name: D-Limonene

Pair Count: 100 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 36.0 - 139.0 m/z

Hit 5 R.Match: 828, F.Match: 828, Probability: 11.29



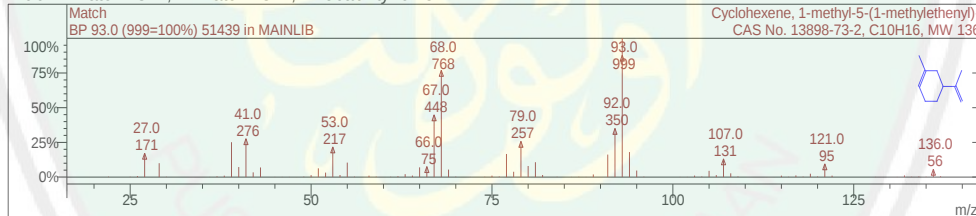
Spectrum 7415 from REPLIB Library

Name: D-Limonene

Pair Count: 86 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 26.0 - 138.0 m/z

Hit 6 R.Match: 822, F.Match: 822, Probability: 6.25



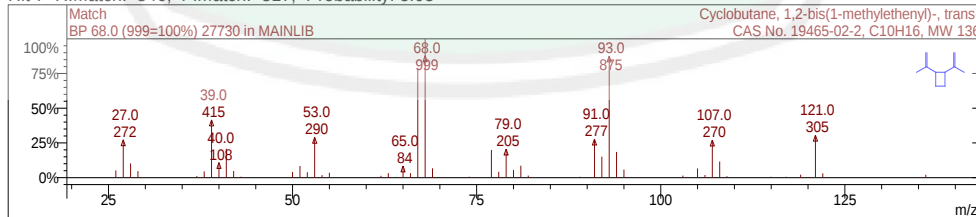
Spectrum 51439 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-

Pair Count: 88 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 13898-73-2 Acquired Range: 22.0 - 137.0 m/z

Hit 7 R.Match: 846, F.Match: 817, Probability: 5.03



Spectrum 27730 from MAINLIB Library

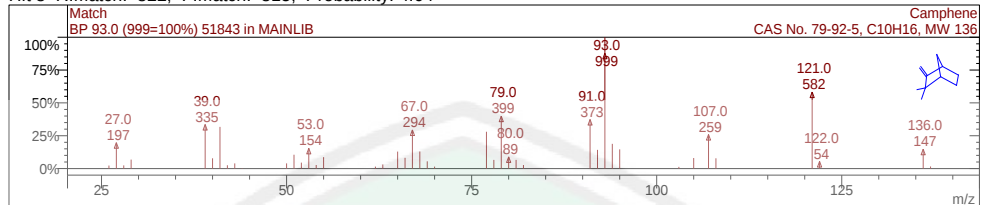
Name: Cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)-, trans-

Pair Count: 77 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 19465-02-2 Acquired Range: 25.0 - 138.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

Hit 8 R.Match: 822, F.Match: 815, Probability: 4.64



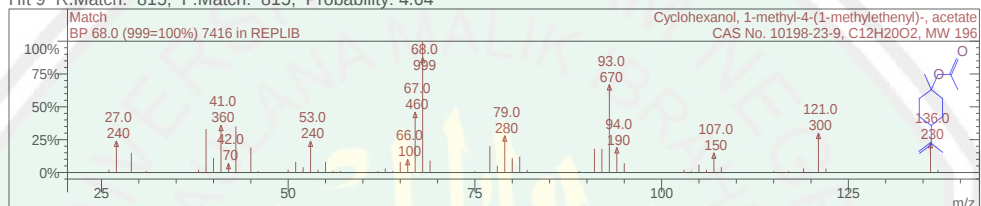
Spectrum 51843 from MAINLIB Library

Name: Camphene

Pair Count: 44 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 79-92-5 Acquired Range: 26.0 - 138.0 m/z

Hit 9 R.Match: 815, F.Match: 815, Probability: 4.64



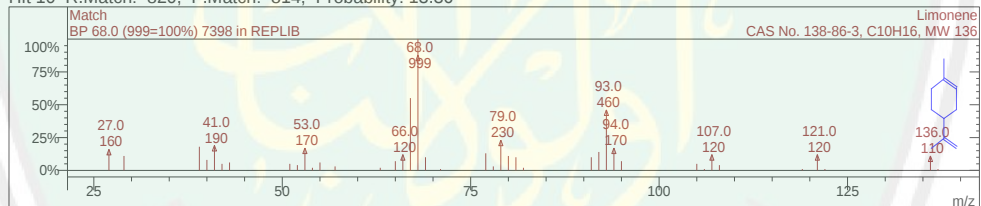
Spectrum 7416 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, acetate

Pair Count: 54 MW: 196 Formula: C₁₂H₂₀O₂

CAS No: 10198-23-9 Acquired Range: 26.0 - 137.0 m/z

Hit 10 R.Match: 820, F.Match: 814, Probability: 13.36



Spectrum 7398 from REPLIB Library

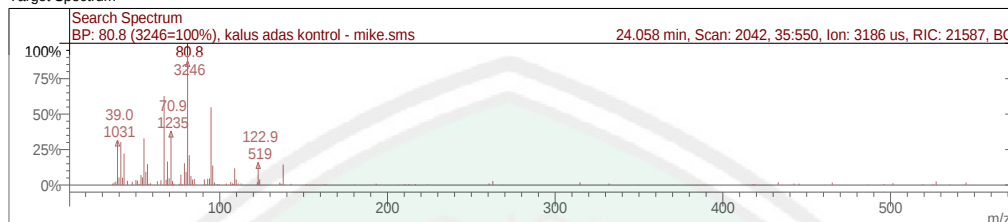
Name: Limonene

Pair Count: 40 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

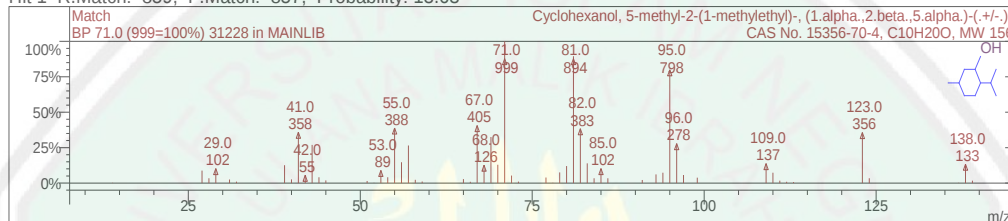
CAS No: 138-86-3 Acquired Range: 27.0 - 137.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 859, F.Match: 857, Probability: 13.63

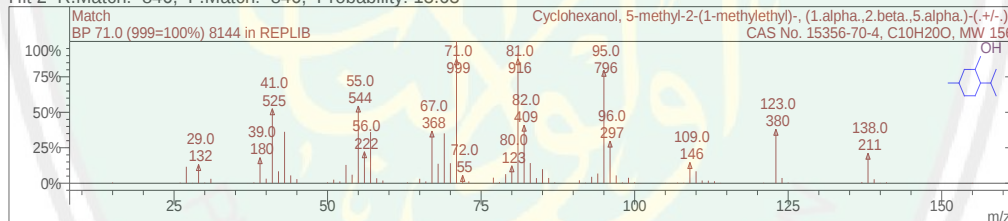


Spectrum 31228 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-(+/-)-
Pair Count: 58 MW: 156 Formula: C10H20O

CAS No: 15356-70-4 Acquired Range: 14.0 - 139.0 m/z

Hit 2 R.Match: 846, F.Match: 846, Probability: 13.63

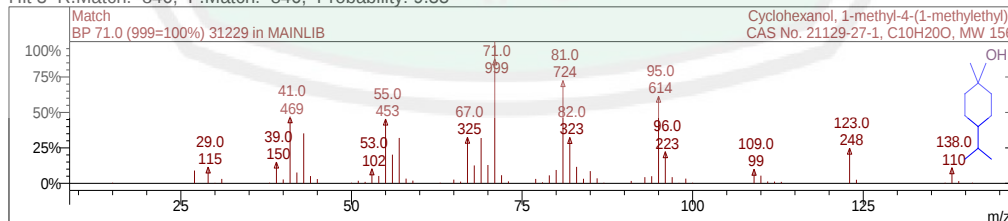


Spectrum 8144 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-(+/-)-
Pair Count: 85 MW: 156 Formula: C10H20O

CAS No: 15356-70-4 Acquired Range: 15.0 - 155.0 m/z

Hit 3 R.Match: 846, F.Match: 846, Probability: 9.35



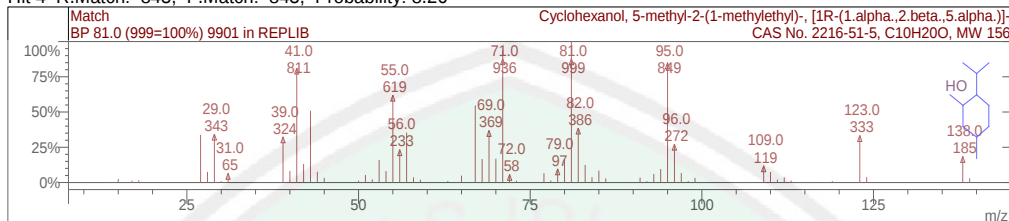
Spectrum 31229 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-
Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C10H20O

CAS No: 21129-27-1 Acquired Range: 15.0 - 141.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 843, F.Match: 843, Probability: 8.26



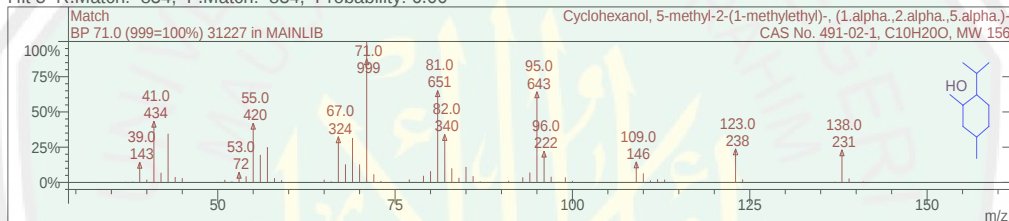
Spectrum 9901 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2,5.alpha.)]-

Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 2216-51-5 Acquired Range: 14.0 - 139.0 m/z

Hit 5 R.Match: 834, F.Match: 834, Probability: 6.00



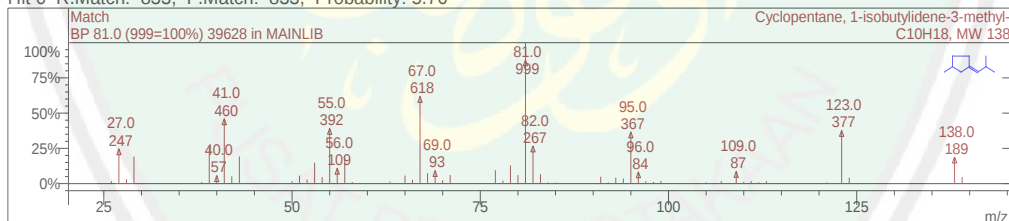
Spectrum 31227 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-

Pair Count: 79 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 491-02-1 Acquired Range: 35.0 - 156.0 m/z

Hit 6 R.Match: 833, F.Match: 833, Probability: 5.76



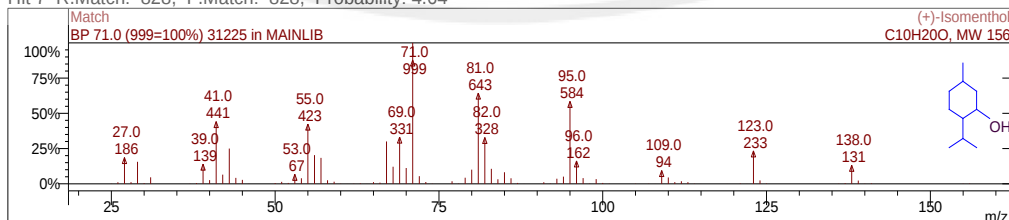
Spectrum 39628 from MAINLIB Library

Name: Cyclopentane, 1-isobutylidene-3-methyl-

Pair Count: 78 MW: 138 Formula: C₁₀H₁₈

CAS No: None Acquired Range: 26.0 - 140.0 m/z

Hit 7 R.Match: 828, F.Match: 828, Probability: 4.64



Spectrum 31225 from MAINLIB Library

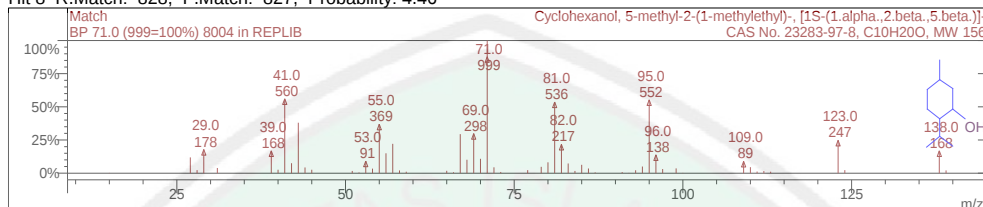
Name: (+)-Isomenthol

Pair Count: 89 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

CAS No: None Acquired Range: 25.0 - 156.0 m/z

Hit 8 R.Match: 828, F.Match: 827, Probability: 4.46



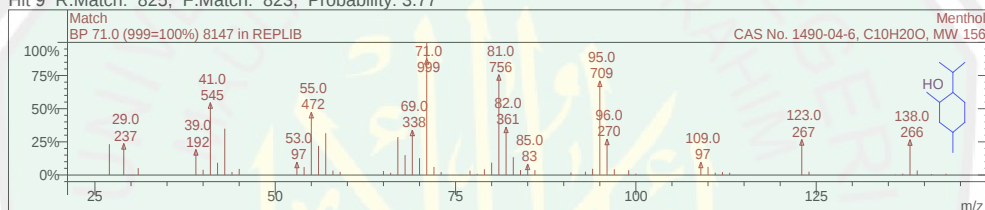
Spectrum 8004 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,5.beta.)]-

Pair Count: 58 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 23283-97-8 Acquired Range: 15.0 - 139.0 m/z

Hit 9 R.Match: 825, F.Match: 823, Probability: 3.77



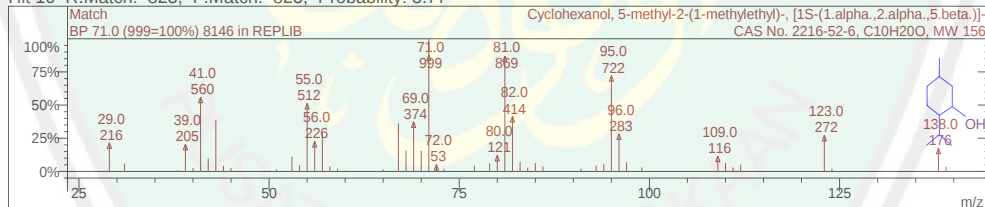
Spectrum 8147 from REPLIB Library

Name: Menthol

Pair Count: 57 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 1490-04-6 Acquired Range: 27.0 - 143.0 m/z

Hit 10 R.Match: 823, F.Match: 823, Probability: 3.77



Spectrum 8146 from REPLIB Library

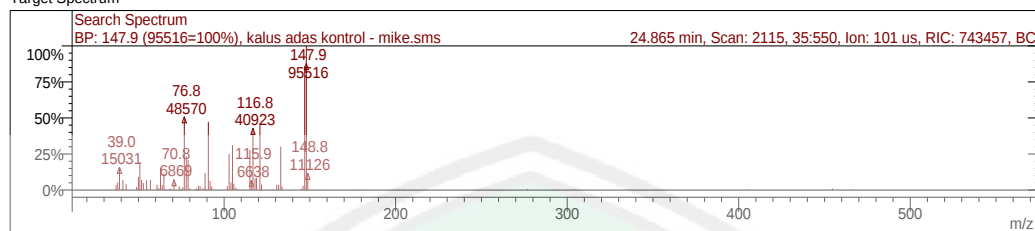
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)]-

Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

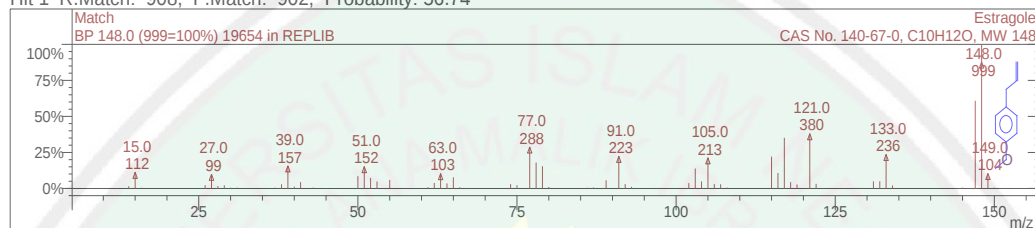
CAS No: 2216-52-6 Acquired Range: 29.0 - 139.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 908, F.Match: 902, Probability: 56.74



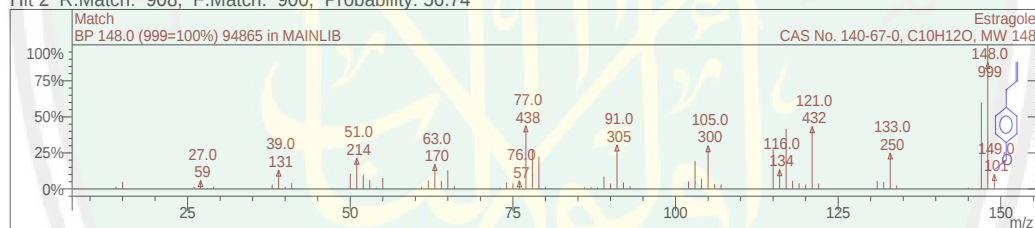
Spectrum 19654 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 2 R.Match: 908, F.Match: 900, Probability: 56.74



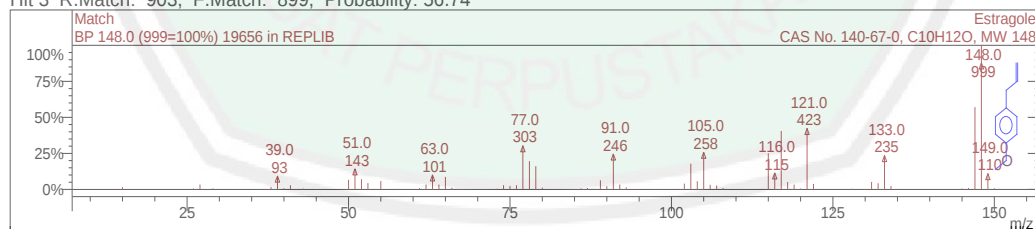
Spectrum 94865 from MAINLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

Hit 3 R.Match: 903, F.Match: 899, Probability: 56.74



Spectrum 19656 from REPLIB Library

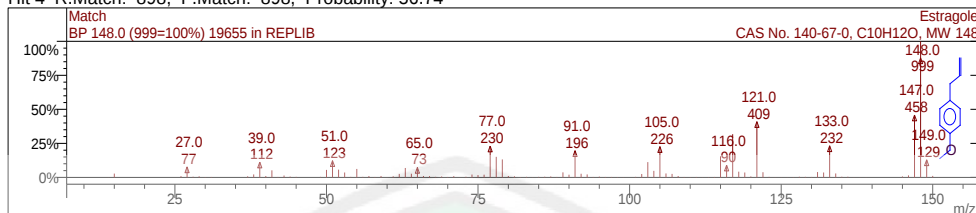
Name: Estragole

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

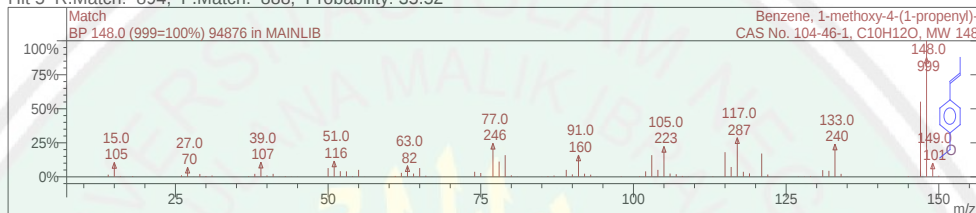
Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 898, F.Match: 898, Probability: 56.74



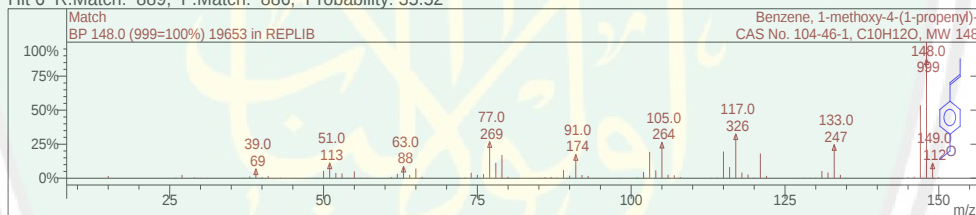
Spectrum 19655 from REPLIB Library
Name: Estragole
Pair Count: 114 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 151.0 m/z

Hit 5 R.Match: 894, F.Match: 888, Probability: 35.52



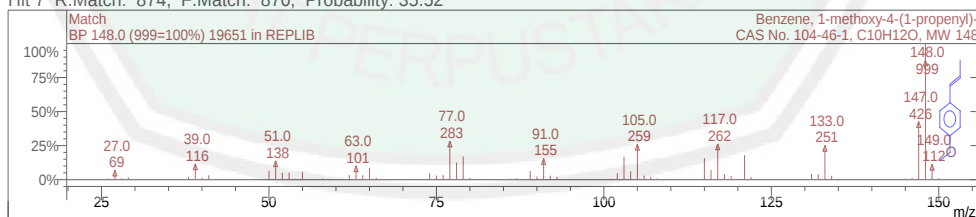
Spectrum 94876 from MAINLIB Library
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 6 R.Match: 889, F.Match: 886, Probability: 35.52



Spectrum 19653 from REPLIB Library
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 15.0 - 150.0 m/z

Hit 7 R.Match: 874, F.Match: 870, Probability: 35.52

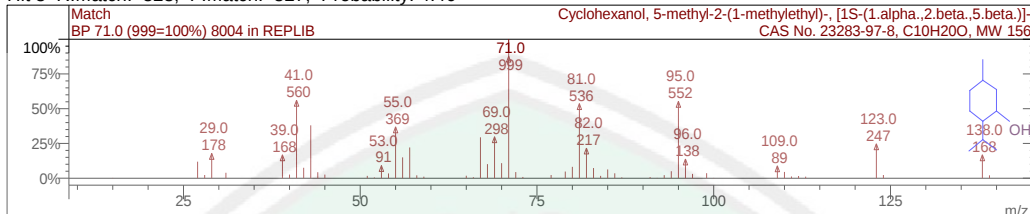


Spectrum 19651 from REPLIB Library
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
Pair Count: 93 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 26.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

CAS No: None Acquired Range: 25.0 - 156.0 m/z

Hit 8 R.Match: 828, F.Match: 827, Probability: 4.46



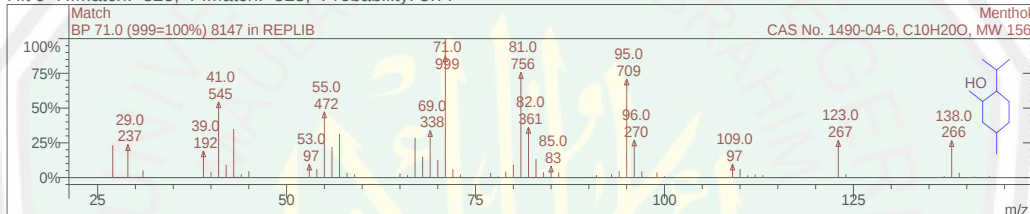
Spectrum 8004 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2,5.beta.)]-

Pair Count: 58 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 23283-97-8 Acquired Range: 15.0 - 139.0 m/z

Hit 9 R.Match: 825, F.Match: 823, Probability: 3.77



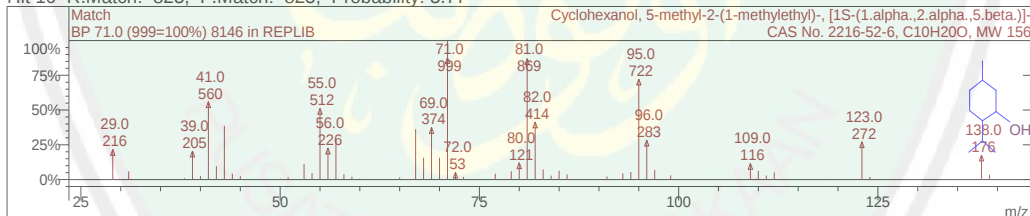
Spectrum 8147 from REPLIB Library

Name: Menthol

Pair Count: 57 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 1490-04-6 Acquired Range: 27.0 - 143.0 m/z

Hit 10 R.Match: 823, F.Match: 823, Probability: 3.77



Spectrum 8146 from REPLIB Library

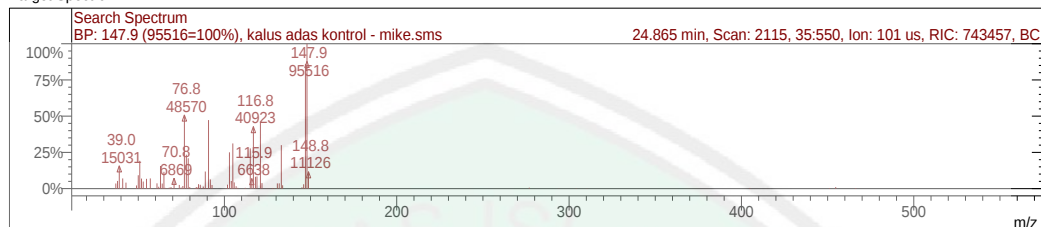
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)]-

Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

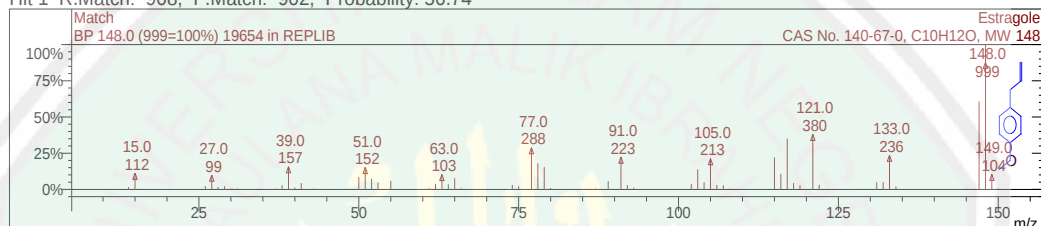
CAS No: 2216-52-6 Acquired Range: 29.0 - 139.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum

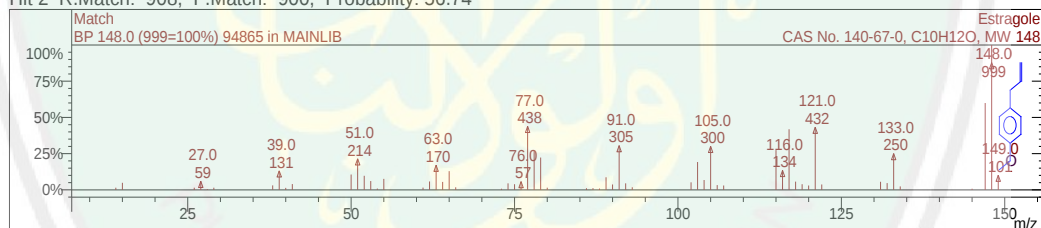


Hit 1 R.Match: 908, F.Match: 902, Probability: 56.74



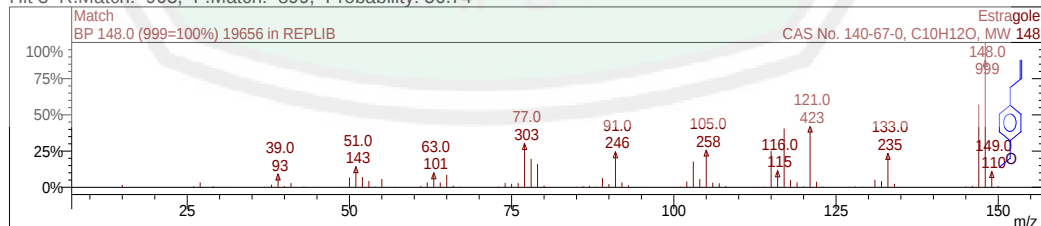
Spectrum 19654 from REPLIB Library
Name: Estragole
Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 2 R.Match: 908, F.Match: 900, Probability: 56.74



Spectrum 94865 from MAINLIB Library
Name: Estragole
Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

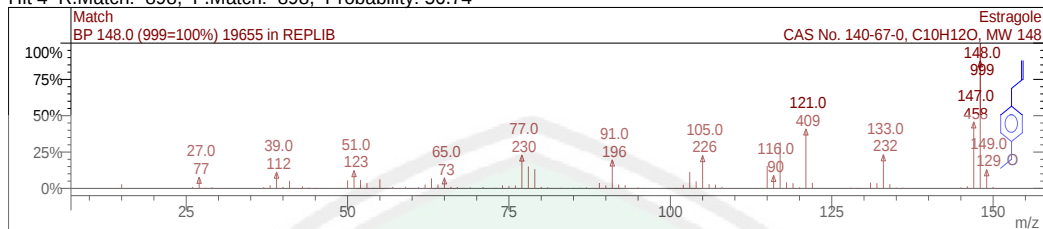
Hit 3 R.Match: 903, F.Match: 899, Probability: 56.74



Spectrum 19656 from REPLIB Library
Name: Estragole
Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 898, F.Match: 898, Probability: 56.74



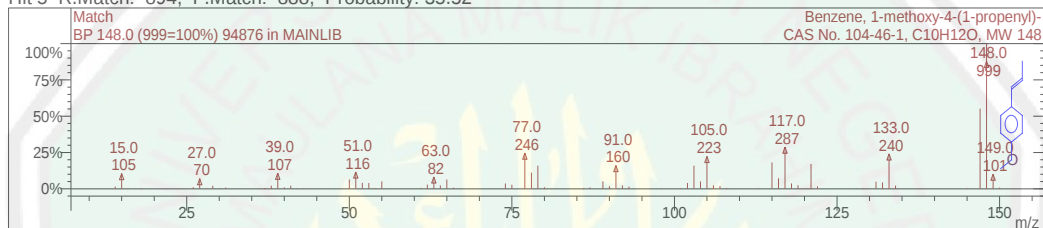
Spectrum 19655 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 114 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 151.0 m/z

Hit 5 R.Match: 894, F.Match: 888, Probability: 35.52



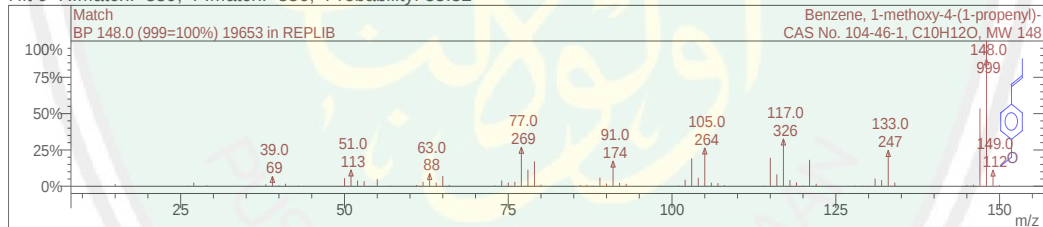
Spectrum 94876 from MAINLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 6 R.Match: 889, F.Match: 886, Probability: 35.52



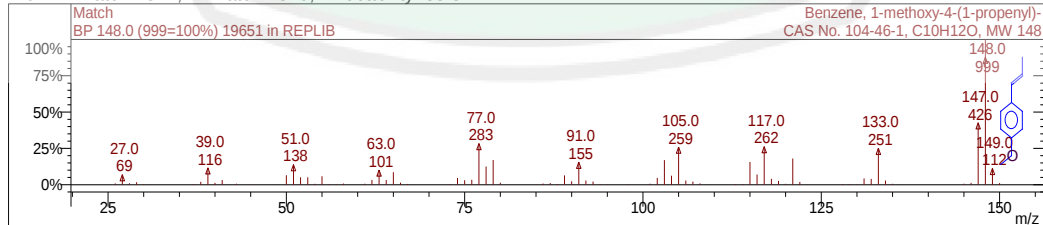
Spectrum 19653 from REPLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 15.0 - 150.0 m/z

Hit 7 R.Match: 874, F.Match: 870, Probability: 35.52



Spectrum 19651 from REPLIB Library

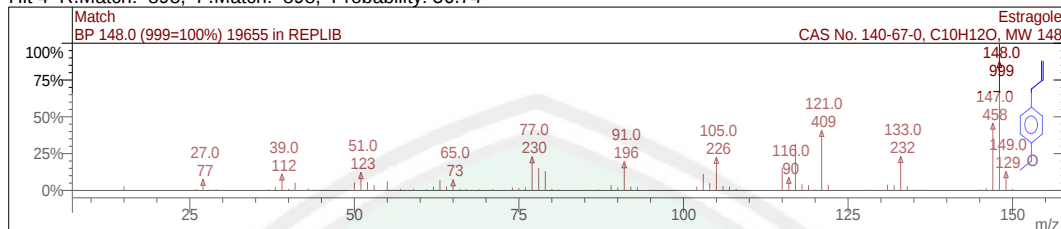
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 93 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 26.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 898, F.Match: 898, Probability: 56.74



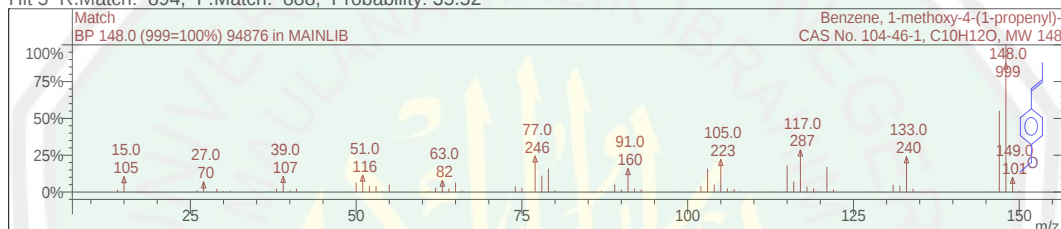
Spectrum 19655 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 114 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 151.0 m/z

Hit 5 R.Match: 894, F.Match: 888, Probability: 35.52



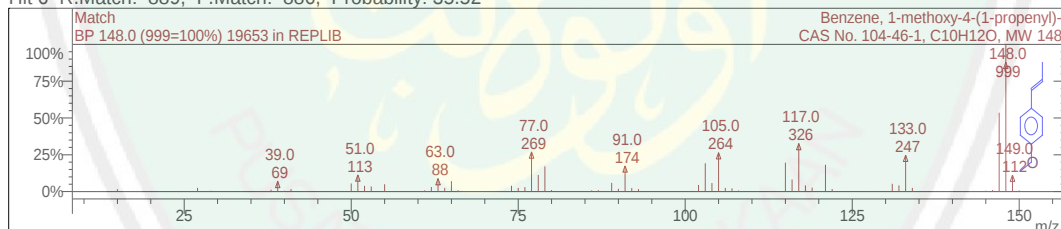
Spectrum 94876 from MAINLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 6 R.Match: 889, F.Match: 886, Probability: 35.52



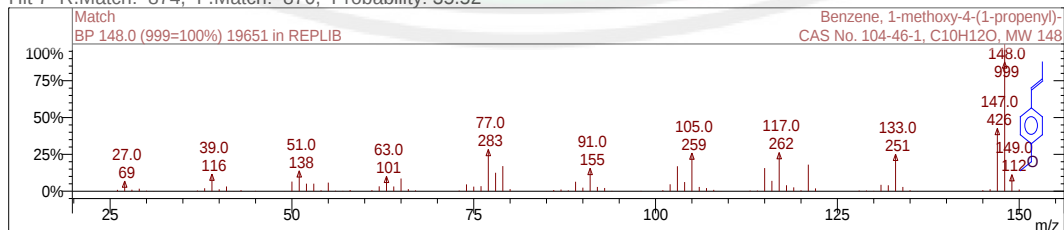
Spectrum 19653 from REPLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 15.0 - 150.0 m/z

Hit 7 R.Match: 874, F.Match: 870, Probability: 35.52



Spectrum 19651 from REPLIB Library

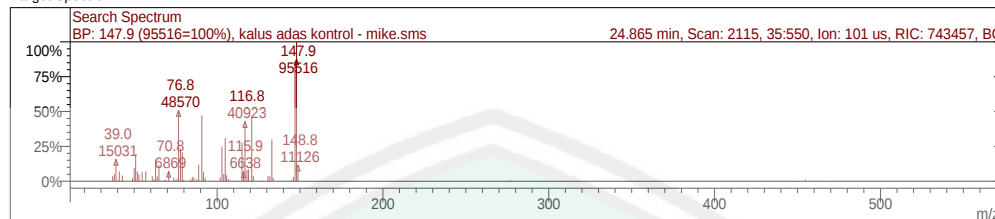
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 93 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

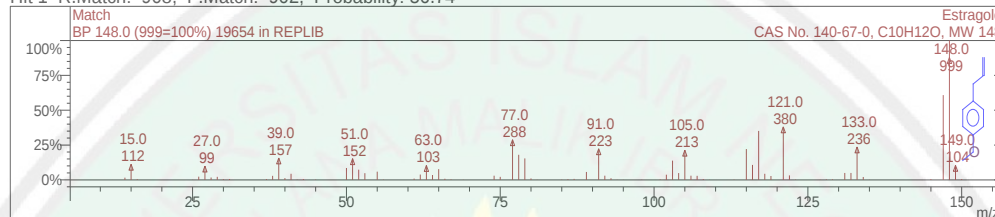
CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 26.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 908, F.Match: 902, Probability: 56.74



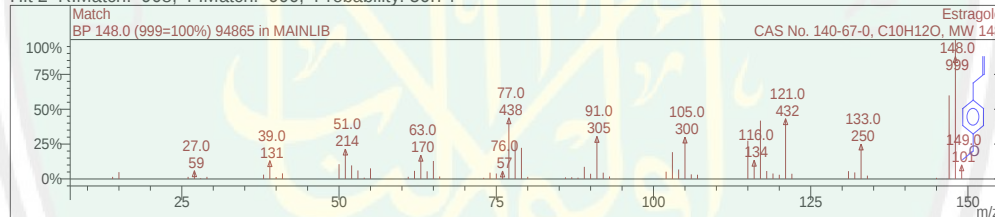
Spectrum 19654 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 2 R.Match: 908, F.Match: 900, Probability: 56.74



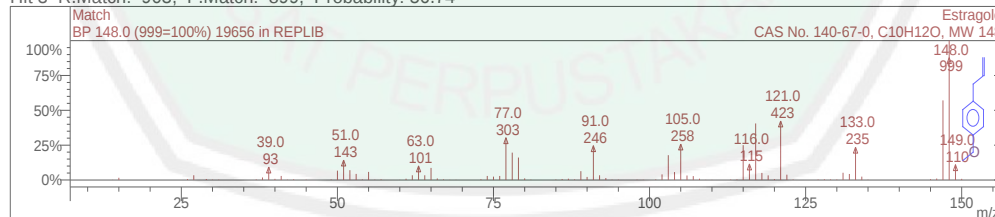
Spectrum 94865 from MAINLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

Hit 3 R.Match: 903, F.Match: 899, Probability: 56.74



Spectrum 19656 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Lampiran 17. Hasil analisis Gc-Ms Kalus Perlakuan PEG

Chromatogram Plot

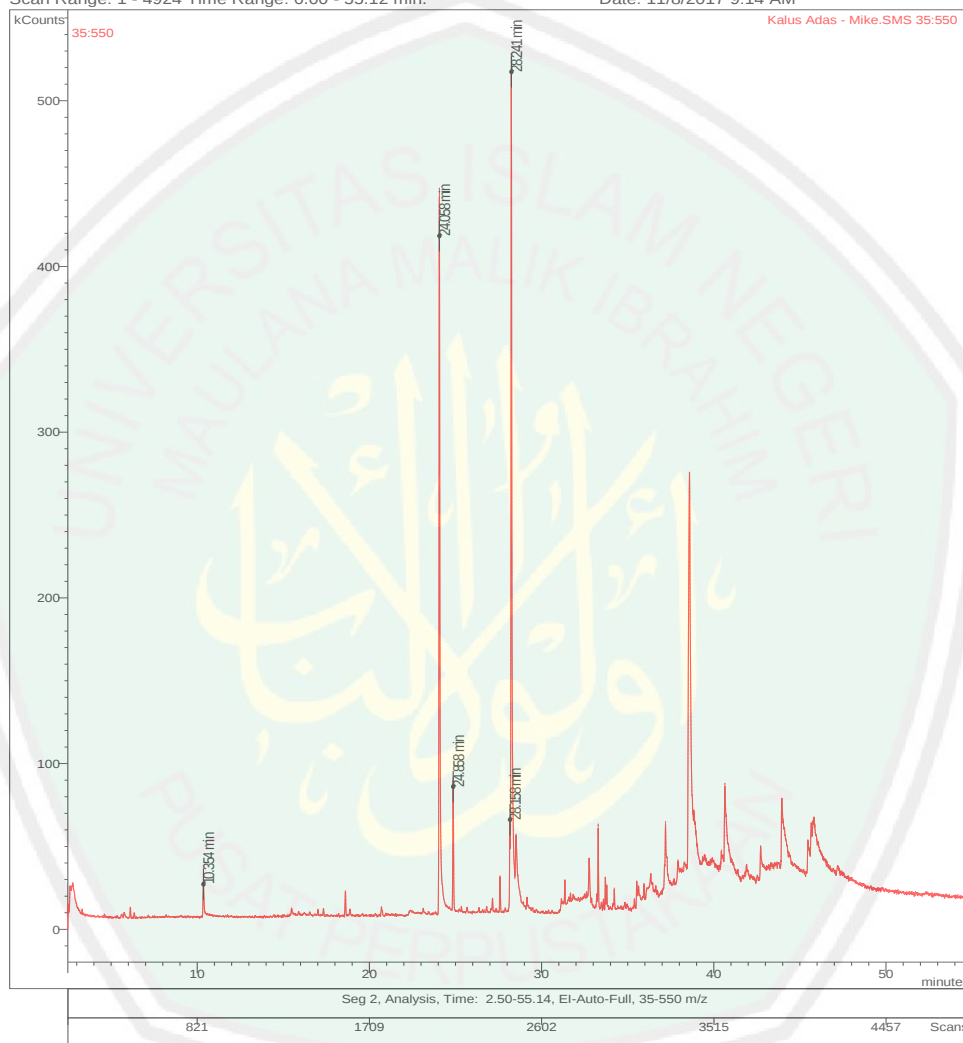
File: c:\varianws\data_xyz\analisa\kalus adas - mike.sms

Sample:

Operator: mei

Scan Range: 1 - 4924 Time Range: 0.00 - 55.12 min.

Date: 11/8/2017 9:14 AM

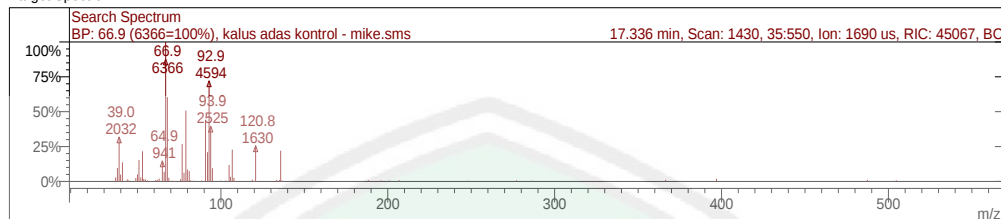


Target Compounds

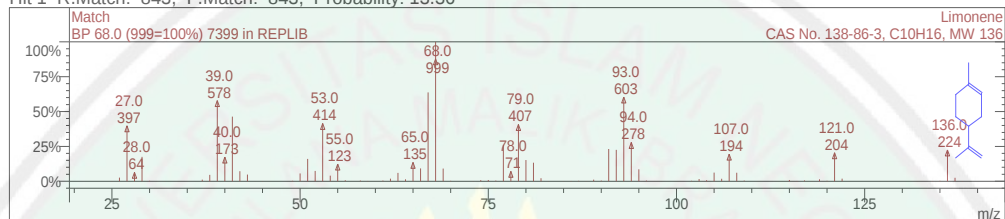
Cmpd. Number	RT (min)	Peak Name	Area	Amount/RF
1	17.338	1	21707	21707
2	24.063	2	9734	9734
3	24.862	3	310785	310785
4	28.161	4	302736	302736

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 843, F.Match: 843, Probability: 13.36



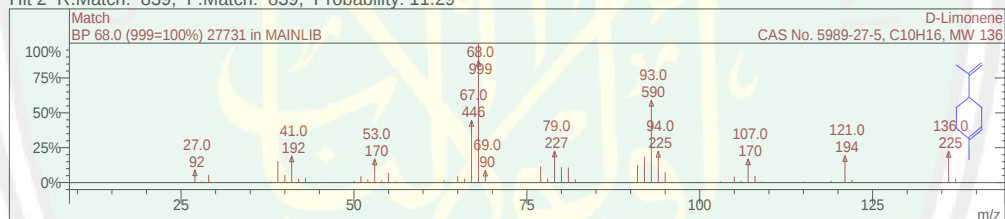
Spectrum 7399 from REPLIB Library

Name: Limonene

Pair Count: 95 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 138-86-3 Acquired Range: 25.0 - 138.0 m/z

Hit 2 R.Match: 839, F.Match: 839, Probability: 11.29



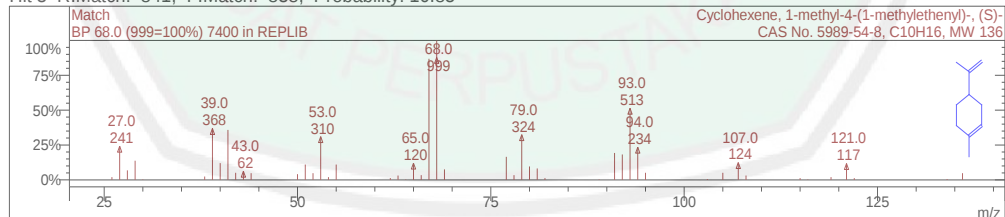
Spectrum 27731 from MAINLIB Library

Name: D-Limonene

Pair Count: 85 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 15.0 - 138.0 m/z

Hit 3 R.Match: 841, F.Match: 838, Probability: 10.85



Spectrum 7400 from REPLIB Library

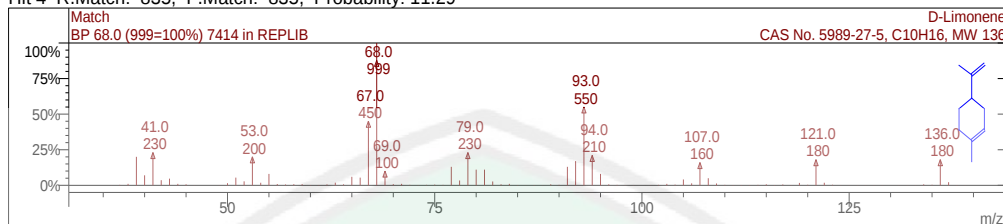
Name: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)-

Pair Count: 49 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-54-8 Acquired Range: 26.0 - 136.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 835, F.Match: 835, Probability: 11.29



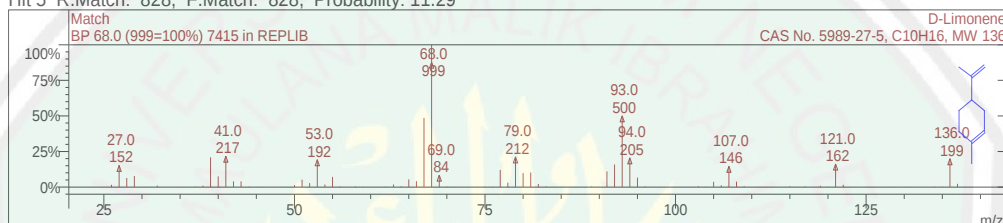
Spectrum 7414 from REPLIB Library

Name: D-Limonene

Pair Count: 100 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 36.0 - 139.0 m/z

Hit 5 R.Match: 828, F.Match: 828, Probability: 11.29



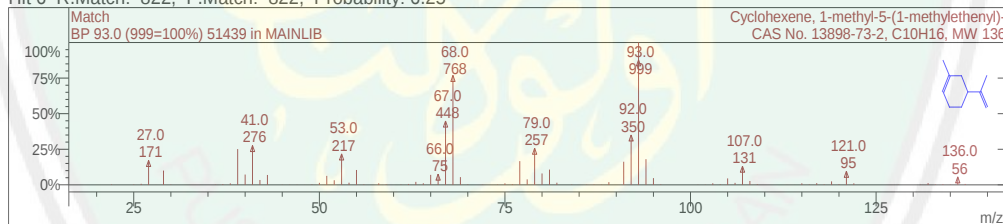
Spectrum 7415 from REPLIB Library

Name: D-Limonene

Pair Count: 86 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 5989-27-5 Acquired Range: 26.0 - 138.0 m/z

Hit 6 R.Match: 822, F.Match: 822, Probability: 6.25



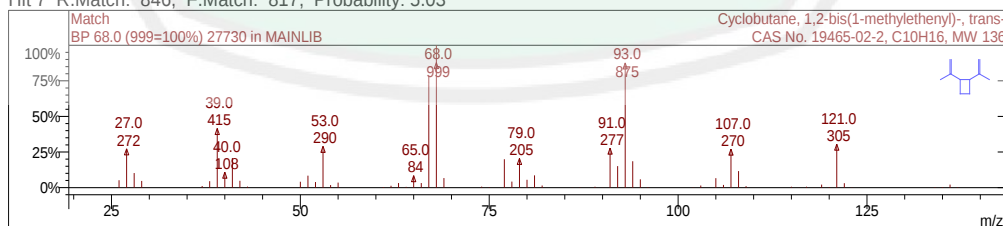
Spectrum 51439 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-

Pair Count: 88 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

CAS No: 13898-73-2 Acquired Range: 22.0 - 137.0 m/z

Hit 7 R.Match: 846, F.Match: 817, Probability: 5.03



Spectrum 27730 from MAINLIB Library

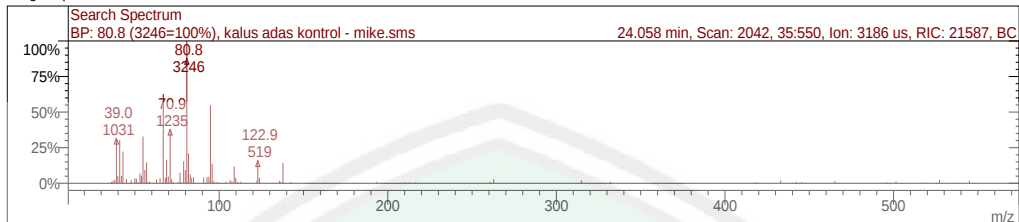
Name: Cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)-, trans-

Pair Count: 77 MW: 136 Formula: C₁₀H₁₆

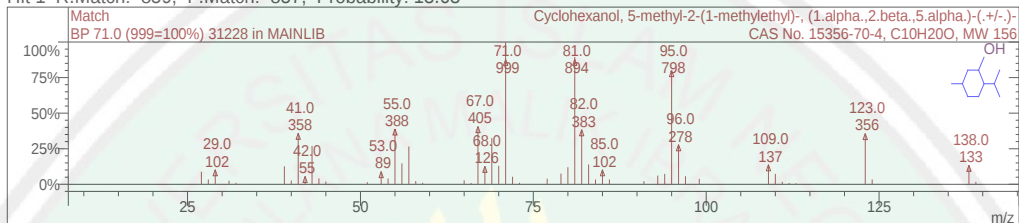
CAS No: 19465-02-2 Acquired Range: 25.0 - 138.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 859, F.Match: 857, Probability: 13.63



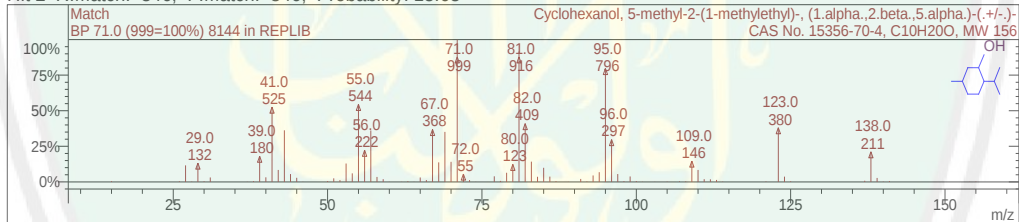
Spectrum 31228 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-(+/-)-

Pair Count: 58 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 15356-70-4 Acquired Range: 14.0 - 139.0 m/z

Hit 2 R.Match: 846, F.Match: 846, Probability: 13.63



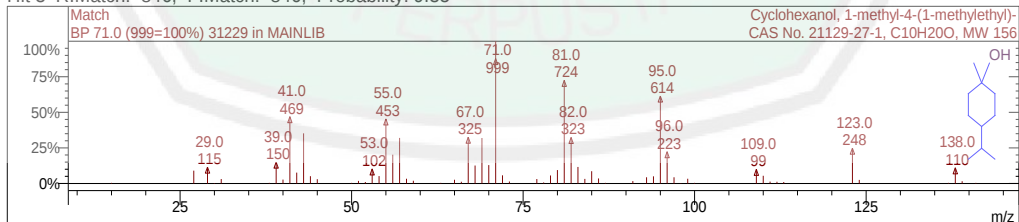
Spectrum 8144 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-(+/-)-

Pair Count: 85 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 15356-70-4 Acquired Range: 15.0 - 155.0 m/z

Hit 3 R.Match: 846, F.Match: 846, Probability: 9.35



Spectrum 31229 from MAINLIB Library

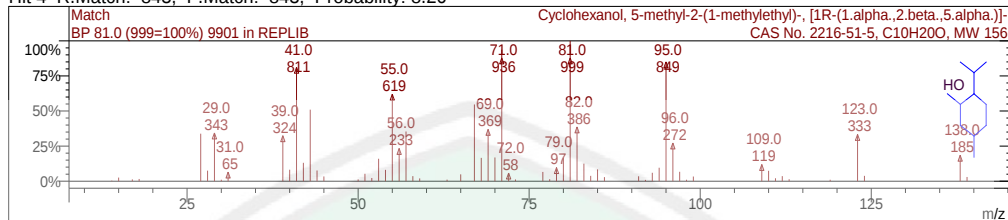
Name: Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-

Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 21129-27-1 Acquired Range: 15.0 - 141.0 m/z

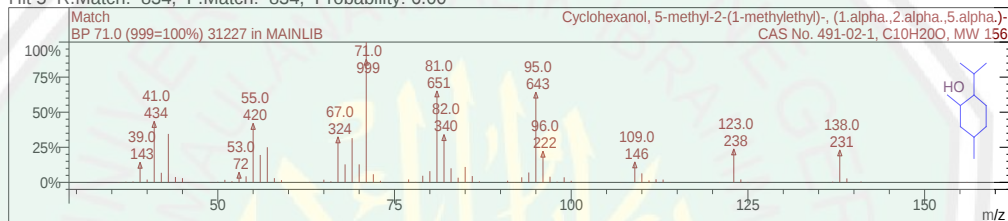
Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 843, F.Match: 843, Probability: 8.26



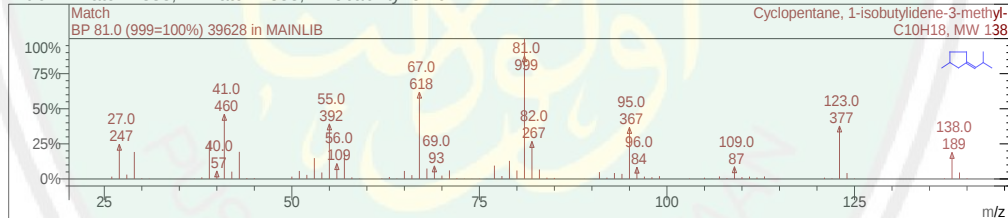
Spectrum 9901 from REPLIB Library
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]-
Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O
CAS No: 2216-51-5 Acquired Range: 14.0 - 139.0 m/z

Hit 5 R.Match: 834, F.Match: 834, Probability: 6.00



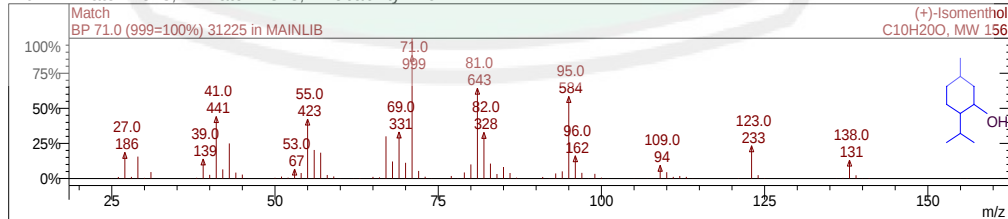
Spectrum 31227 from MAINLIB Library
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-
Pair Count: 79 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O
CAS No: 491-02-1 Acquired Range: 35.0 - 156.0 m/z

Hit 6 R.Match: 833, F.Match: 833, Probability: 5.76



Spectrum 39628 from MAINLIB Library
Name: Cyclopentane, 1-isobutylidene-3-methyl-
Pair Count: 78 MW: 138 Formula: C₁₀H₁₈
CAS No: None Acquired Range: 26.0 - 140.0 m/z

Hit 7 R.Match: 828, F.Match: 828, Probability: 4.64

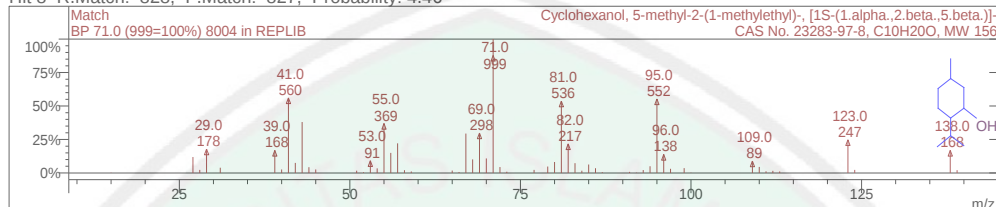


Spectrum 31225 from MAINLIB Library
Name: (+)-Isomenthol
Pair Count: 89 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

CAS No: None Acquired Range: 25.0 - 156.0 m/z

Hit 8 R.Match: 828, F.Match: 827, Probability: 4.46



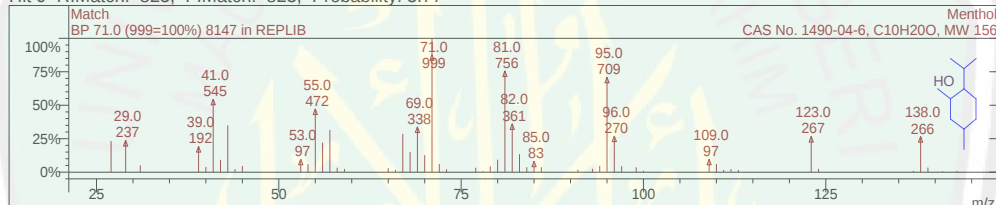
Spectrum 8004 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2,5.beta.)]-

Pair Count: 58 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 23283-97-8 Acquired Range: 15.0 - 139.0 m/z

Hit 9 R.Match: 825, F.Match: 823, Probability: 3.77



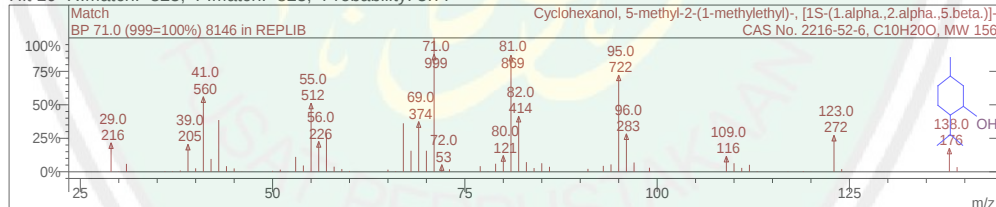
Spectrum 8147 from REPLIB Library

Name: Menthol

Pair Count: 57 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 1490-04-6 Acquired Range: 27.0 - 143.0 m/z

Hit 10 R.Match: 823, F.Match: 823, Probability: 3.77



Spectrum 8146 from REPLIB Library

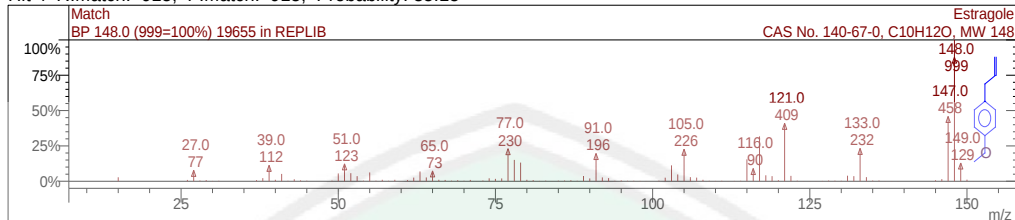
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)]-

Pair Count: 64 MW: 156 Formula: C₁₀H₂₀O

CAS No: 2216-52-6 Acquired Range: 29.0 - 139.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 915, F.Match: 915, Probability: 35.15



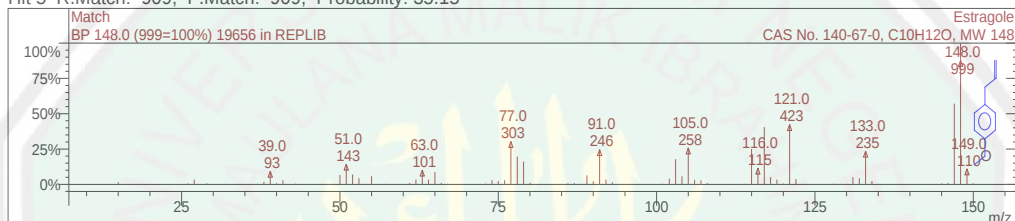
Spectrum 19655 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 114 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 151.0 m/z

Hit 5 R.Match: 909, F.Match: 909, Probability: 35.15



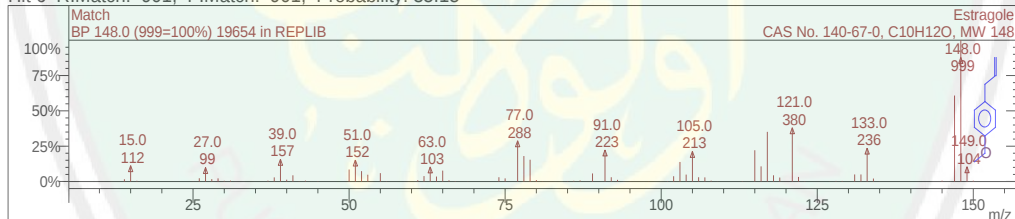
Spectrum 19656 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 6 R.Match: 901, F.Match: 901, Probability: 35.15



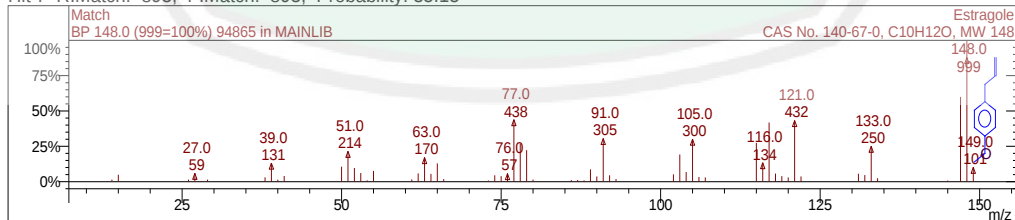
Spectrum 19654 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 7 R.Match: 893, F.Match: 893, Probability: 35.15



Spectrum 94865 from MAINLIB Library

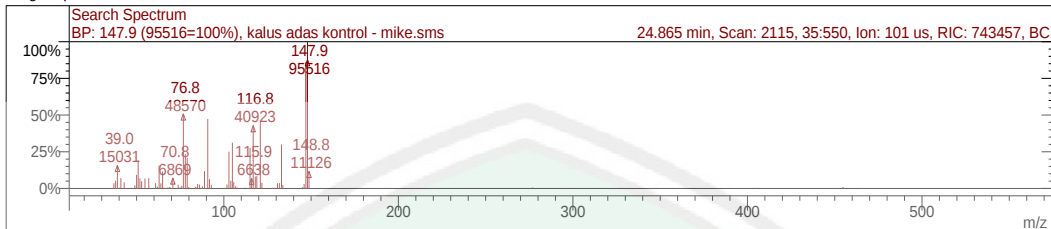
Name: Estragole

Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

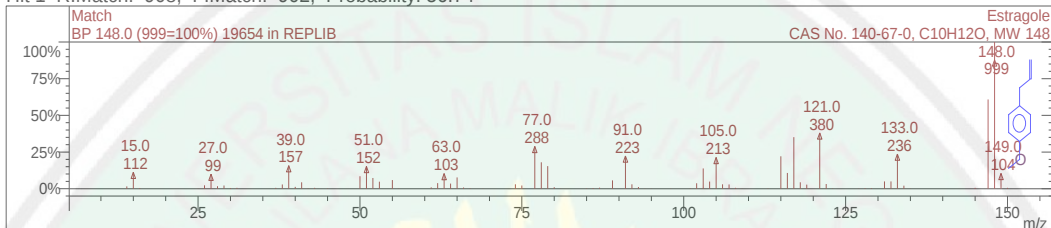
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 908, F.Match: 902, Probability: 56.74



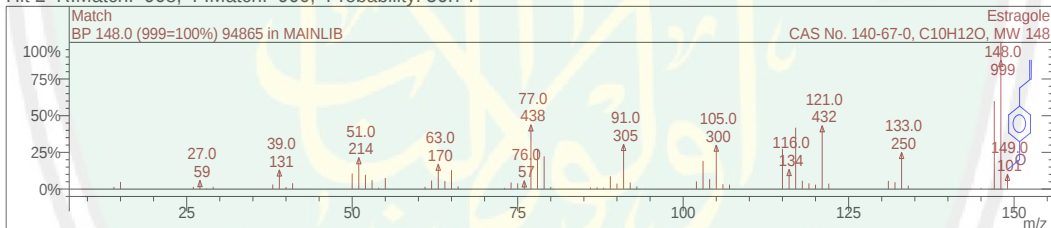
Spectrum 19654 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 2 R.Match: 908, F.Match: 900, Probability: 56.74



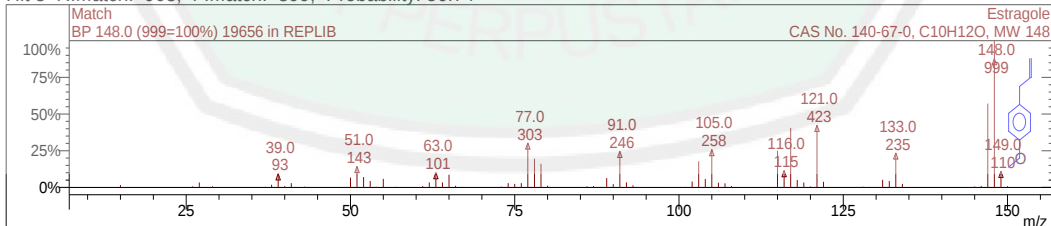
Spectrum 94865 from MAINLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

Hit 3 R.Match: 903, F.Match: 899, Probability: 56.74



Spectrum 19656 from REPLIB Library

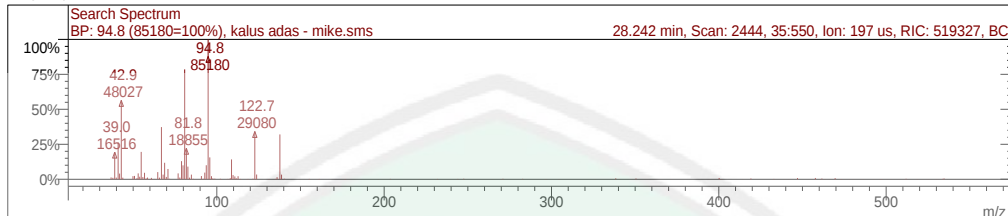
Name: Estragole

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

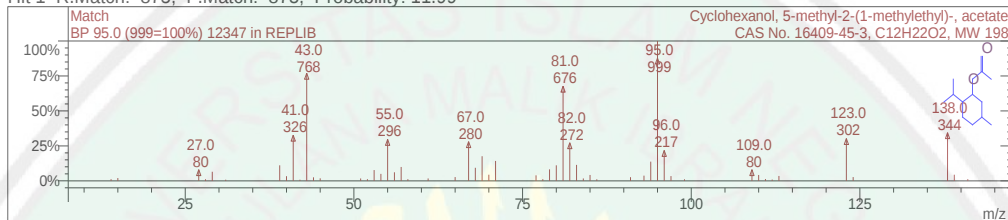
CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 875, F.Match: 875, Probability: 11.99



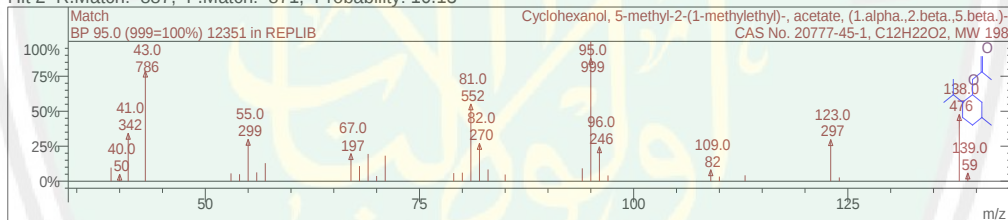
Spectrum 12347 from REPLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate

Pair Count: 55 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 16409-45-3 Acquired Range: 14.0 - 141.0 m/z

Hit 2 R.Match: 887, F.Match: 871, Probability: 10.13



Spectrum 12351 from REPLIB Library

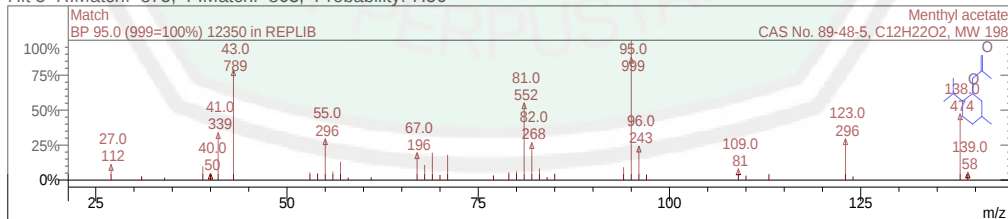
Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate, (1.alpha.,2.

beta.,5.beta.)-

Pair Count: 31 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 20777-45-1 Acquired Range: 39.0 - 139.0 m/z

Hit 3 R.Match: 875, F.Match: 863, Probability: 7.56



Spectrum 12350 from REPLIB Library

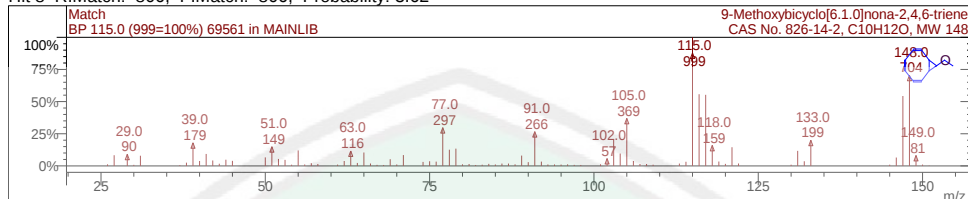
Name: Menthyl acetate

Pair Count: 39 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 89-48-5 Acquired Range: 27.0 - 139.0 m/z

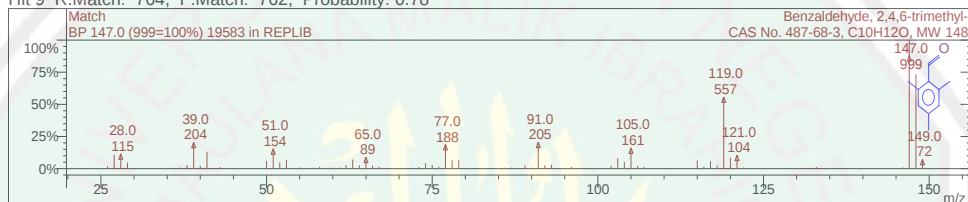
Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

Hit 8 R.Match: 806, F.Match: 806, Probability: 3.62



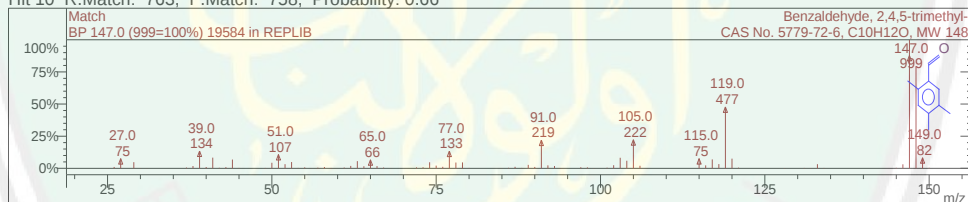
Spectrum 69561 from MAINLIB Library
Name: 9-Methoxybicyclo[6.1.0]nona-2,4,6-triene
Pair Count: 89 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 826-14-2 Acquired Range: 26.0 - 151.0 m/z

Hit 9 R.Match: 764, F.Match: 762, Probability: 0.78



Spectrum 19583 from REPLIB Library
Name: Benzaldehyde, 2,4,6-trimethyl-
Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 487-68-3 Acquired Range: 26.0 - 150.0 m/z

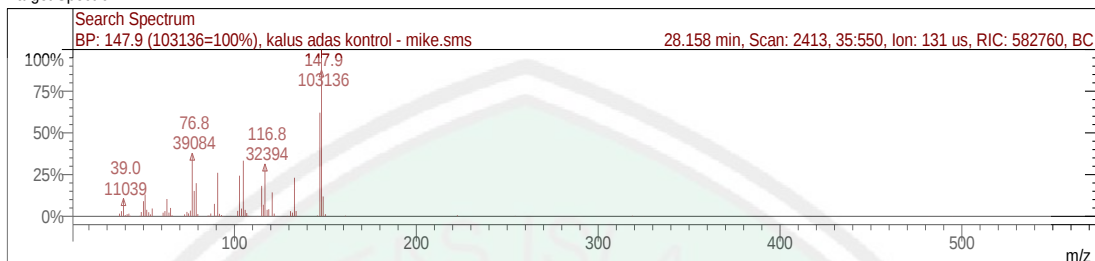
Hit 10 R.Match: 763, F.Match: 758, Probability: 0.66



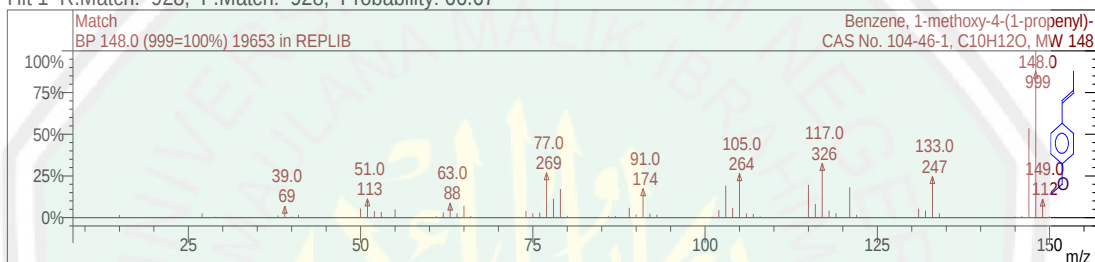
Spectrum 19584 from REPLIB Library
Name: Benzaldehyde, 2,4,5-trimethyl-
Pair Count: 81 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O
CAS No: 5779-72-6 Acquired Range: 25.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum

Target Spectrum



Hit 1 R.Match: 928, F.Match: 928, Probability: 66.67



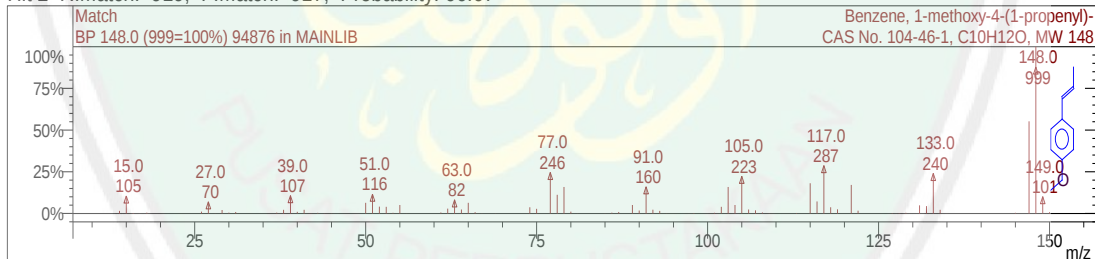
Spectrum 19653 from REPLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 15.0 - 150.0 m/z

Hit 2 R.Match: 919, F.Match: 917, Probability: 66.67



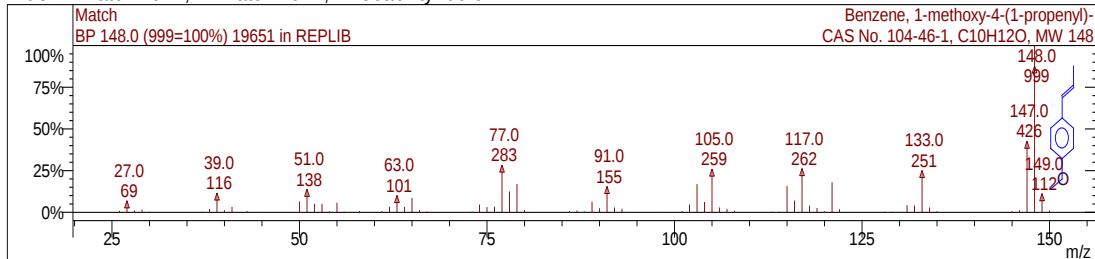
Spectrum 94876 from MAINLIB Library

Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 3 R.Match: 914, F.Match: 914, Probability: 66.67



Spectrum 19651 from REPLIB Library

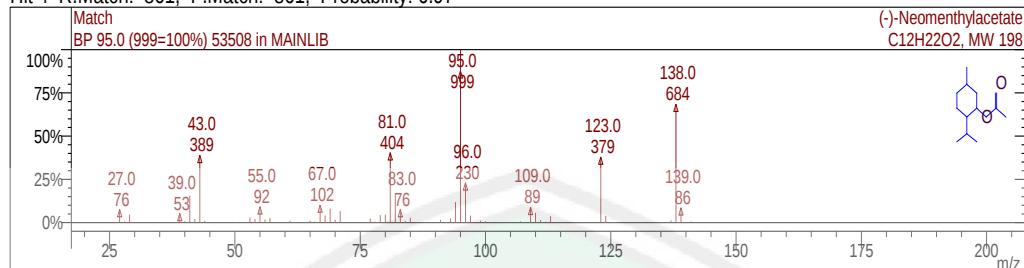
Name: Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-

Pair Count: 93 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 104-46-1 Acquired Range: 26.0 - 150.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 861, F.Match: 861, Probability: 6.97



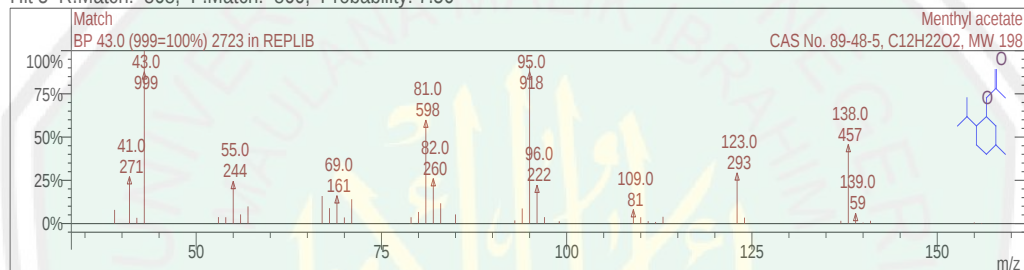
Spectrum 53508 from MAINLIB Library

Name: (-)-Neomenthylacetate

Pair Count: 103 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: None Acquired Range: 26.0 - 199.0 m/z

Hit 5 R.Match: 868, F.Match: 860, Probability: 7.56



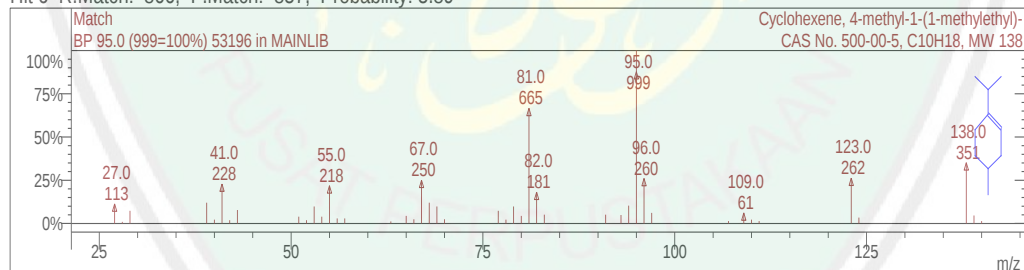
Spectrum 2723 from REPLIB Library

Name: Menthyl acetate

Pair Count: 40 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 89-48-5 Acquired Range: 39.0 - 156.0 m/z

Hit 6 R.Match: 866, F.Match: 857, Probability: 5.89



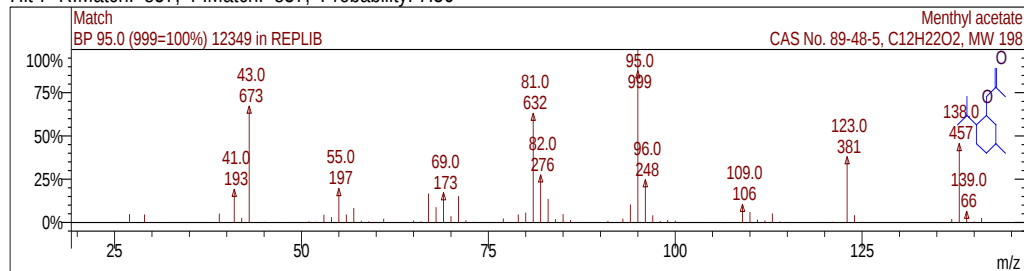
Spectrum 53196 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Pair Count: 44 MW: 138 Formula: C₁₀H₁₈

CAS No: 500-00-5 Acquired Range: 27.0 - 140.0 m/z

Hit 7 R.Match: 857, F.Match: 857, Probability: 7.56



Spectrum 12349 from REPLIB Library

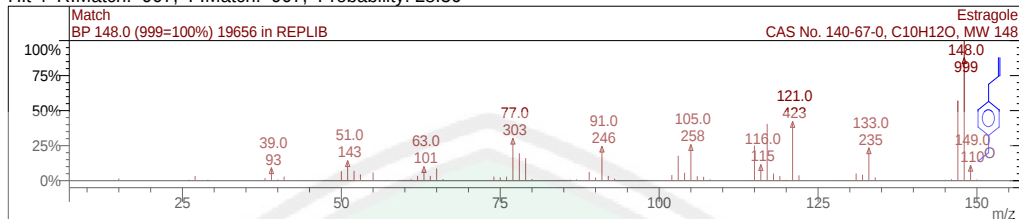
Name: Menthyl acetate

Pair Count: 113 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 89-48-5 Acquired Range: 25.0 - 141.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 2

Hit 4 R.Match: 907, F.Match: 907, Probability: 28.36



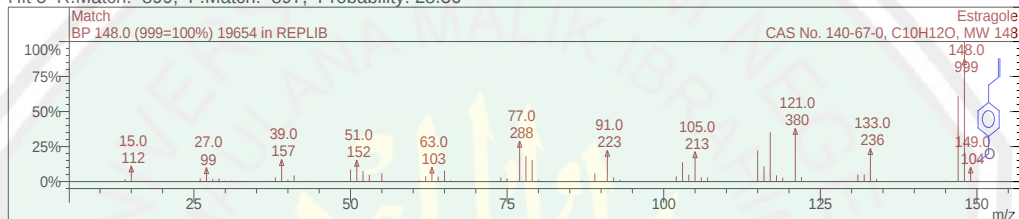
Spectrum 19656 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 92 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 150.0 m/z

Hit 5 R.Match: 899, F.Match: 897, Probability: 28.36



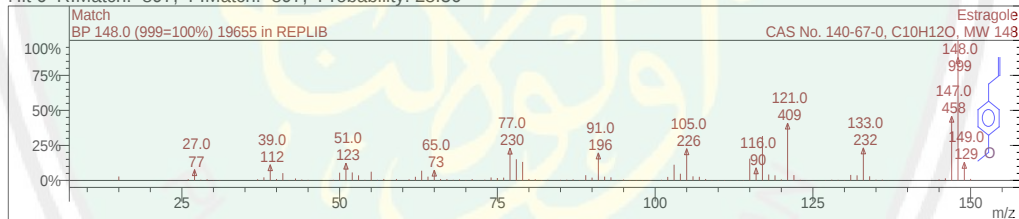
Spectrum 19654 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 82 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 12.0 - 150.0 m/z

Hit 6 R.Match: 897, F.Match: 897, Probability: 28.36



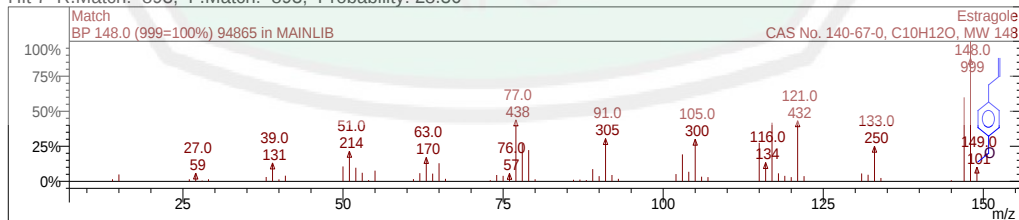
Spectrum 19655 from REPLIB Library

Name: Estragole

Pair Count: 114 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 151.0 m/z

Hit 7 R.Match: 893, F.Match: 893, Probability: 28.36



Spectrum 94865 from MAINLIB Library

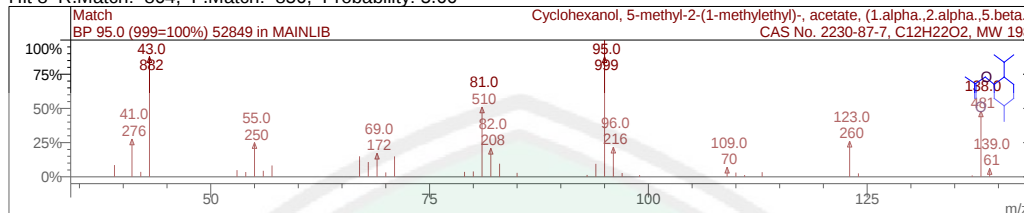
Name: Estragole

Pair Count: 60 MW: 148 Formula: C₁₀H₁₂O

CAS No: 140-67-0 Acquired Range: 14.0 - 149.0 m/z

Best 10 Hits of Search NIST Libraries for Spectrum - Page 3

Hit 8 R.Match: 864, F.Match: 856, Probability: 5.66



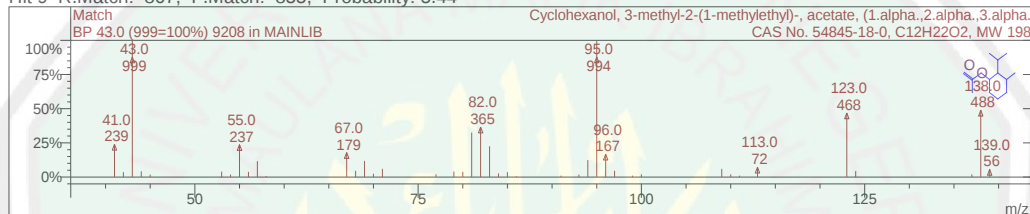
Spectrum 52849 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)-

Pair Count: 35 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 2230-87-7 Acquired Range: 39.0 - 139.0 m/z

Hit 9 R.Match: 867, F.Match: 855, Probability: 5.44



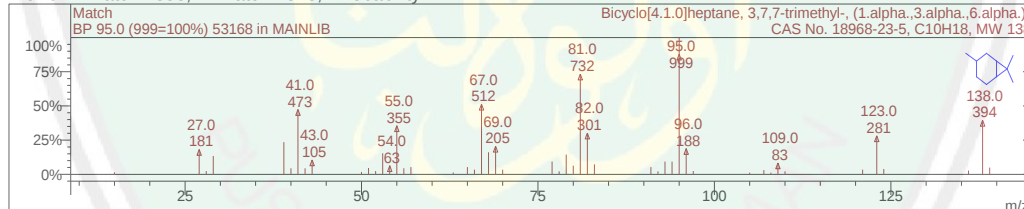
Spectrum 9208 from MAINLIB Library

Name: Cyclohexanol, 3-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.)-

Pair Count: 42 MW: 198 Formula: C₁₂H₂₂O₂

CAS No: 54845-18-0 Acquired Range: 41.0 - 139.0 m/z

Hit 10 R.Match: 858, F.Match: 848, Probability: 4.17



Spectrum 53168 from MAINLIB Library

Name: Bicyclo[4.1.0]heptane, 3,7,7-trimethyl-, (1.alpha.,3.alpha.,6.alpha.)-

Pair Count: 49 MW: 138 Formula: C₁₀H₁₈

CAS No: 18968-23-5 Acquired Range: 15.0 - 139.0 m/z

Lampiran 18. Persentase Kandungan Senyawa

$$\frac{\text{Luas area}}{\text{jumlah total luas area}} \times 100\%$$

Perlakuan Kontrol

1. Senyawa Limonen :

$$\frac{2170}{18041} \times 100\% = 0,1202\%$$

2. Senyawa Menthol :

$$\frac{9734}{18041} \times 100\% = 0,5397\%$$

3. Senyawa Anetol :

$$\frac{3107}{18041} \times 100\% = 0,1722\%$$

4. Senyawa estragol :

$$\frac{3027}{18041} \times 100\% = 0,1677$$

Perlakuan PEG

1. Senyawa Limonen : Tidak terdeteksi

2. Senyawa Menthol :

$$\frac{3131}{9813} \times 100\% = 0,3190\%$$

3. Senyawa Anetol :

$$\frac{3138}{9813} \times 100\% = 0,3197\%$$

4. Senyawa estragol :

$$\frac{3544}{9813} \times 100\% = 0,3611\%$$