

**PENGARUH KOMBINASI 2,4 D (2,4 *Dichloropenoxyacetic acid*) DAN
KINETIN TERHADAP INDUKSI KALUS NILAM ACEH
VARIETAS SIDIKALANG (*Pogostemon cablin* Benth.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
ARI MUSHTOFA
NIM. 13620111



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

**PENGARUH KOMBINASI 2,4 D (*2,4 Dichloropenoxyacetic acid*) DAN
KINETIN TERHADAP INDUKSI KALUS NILAM ACEH
VARIETAS SIDIKALANG (*Pogostemon cablin* Benth.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :
ARI MUSHTOFA
NIM. 13620111



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

**PENGARUH KOMBINASI 2,4 D (*2,4 Dichloropenoxyacetic acid*) DAN
KINETIN TERHADAP INDUKSI KALUS NILAM ACEH
VARIETAS SIDIKALANG (*Pogostemon cablin* Benth.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

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

**Oleh:
ARI MUSHTOFA
NIM. 13620111**

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

**PENGARUH KOMBINASI 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) DAN
KINETIN TERHADAP INDUKSI KALUS NILAM ACEH
VARIETAS SIDIKALANG (*Pogostemon cablin* Benth.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

**Oleh:
ARI MUSHTOFA
NIM. 13620111**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 20 Desember 2017

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



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



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

HALAMAN PENGESAHAN

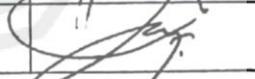
**PENGARUH KOMBINASI 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) DAN
KINETIN TERHADAP INDUKSI KALUS NILAM ACEH
VARIETAS SIDIKALANG (*Pogostemon cablin* Benth.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH:
ARI MUSHTOFA
NIM. 13620111**

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

Tanggal 20 Desember 2017

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

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ari Mushtofa

NIM : 13620111

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi 2,4 D (2,4 *Dichloropenoxyacetic acid*) dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh varietas Sidikalang (*Pogostemon cablin* Benth.) melalui Teknik *In Vitro*

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

Malang, 20 Desember 2017

Yang membuat pernyataan,



MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Artinya : Dengan Menyebut Nama ALLOH yang
Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.**

**Sawijineng niat amung dumateng Gusti ALLOH
lan sedayane namung kagungane Gusti ALLOH**

HALAMAN PERSEMBAHAN

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

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

Kedua orang tua dirumah, Bapak BUDIONO dan Ibu NURUL HIDAYATI yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, nasihat dan do'a yang tiada henti dipanjatkan untuk setiap langkahku. Serta Ibu Ruri Siti Resmisari M.Si selaku orang tua saya di kampus.

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada sahabat (CORO), mbak Bebek serta keluarga besar Tlekung (Pak dita, Bu atik, dan anak-anak semua). Terima kasih telah mau ngomel dan selalu memberi nasihat, motivasi serta semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

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

Tak lupa kepada pengasuh PP "Sabilurrosyad GASEK", Abah Marzuki Mustamar, terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di pondok. Tak lupa pula kepada teman-teman seperjuangan isbah, ubed, mahsun, viktor, nopan, fatih, eko dan teman-teman yang lain. Kata-kata "MANGAN KAANG"mu tak akan pernah terlupakan.

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

Aamiin..

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, Wr.Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Pengaruh Kombinasi 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh varietas Sidikalang (*Pogostemon cablin* Benth.) melalui Teknik *In Vitro*”**. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

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

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si, dan M.Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Azizatur Rahmah M.Sc, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

7. Kedua orang tua penulis Bapak Budiono dan Ibu Nurul Hidayati yang selalu memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan staf administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2013 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

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

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, 20 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.5 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	10
2.1.1 Nilam dalam Perspektif Islam	10
2.1.2 Deskripsi Tanaman	12
2.1.3 Manfaat Nilam	15
2.1.4 Kandungan minyak Nilam	16
2.1.5 <i>Pachouli alcohol</i> (PA)	17
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan	17
2.2.1 Kultur Jaringan dalam perspektif Islam	17
2.2.2 Pengertian Kultur Jaringan	18
2.2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tumbuhan	20
2.2.4 Zat Pengatur Tumbuh auksin	22
2.2.5 Zat Pengatur Tumbuh sitokinin	24
2.2.6 Kombinasi Auksin dan Sitokinin	25
2.3 Kultur Kalus	26
2.3.1 Tekstur Kalus	28
2.3.2 Warna kalus	29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	31
3.2 Rancangan Penelitian	31
3.3 Alat dan Bahan	32
3.3.1 Alat	32

3.3.2 Bahan	32
3.4 Prosedur Penelitian	33
3.4.1 Tahap Persiapan	33
3.4.1.1 Sterilisasi Alat	33
3.4.1.2 Pembuatan Stok Hormon	33
3.4.1.3 Pembuatan Medium	33
3.4.1.4 Sterilisasi Ruangan	34
3.4.1.5 Sterilisasi Eksplan	34
3.4.2 Penanaman eksplan	34
3.5 Teknik Pengambilan Data.....	35
3.6 Analisa Data.....	35
3.7 Desain Penelitian	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	38
4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	44
4.3 Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.) secara <i>In Vitro</i>	48
4.4 Tekstur Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	54
4.5 Warna Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	56
4.6 Hasil Penelitian tentang Kalus dalam Perspektif Islam	61
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Nilam	13
Gambar 2.2 Struktur Kimia <i>Pachouli alcohol</i>	16
Gambar 2.3 Struktur Kimia 2,4-D	23
Gambar 2.4 Struktur Kimia Kinetin	24
Gambar 2.5 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin	25
Gambar 2.6 Tekstur Kalus Nilam	28
Gambar 2.7 Warna Kalus <i>Artemisia vulgaris</i>	29
Gambar 4.1 Analisis regresi antara konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus (HST) Nilam aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>)	40
Gambar 4.2 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D dengan persentase tumbuhan kalus nilam aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>)	42
Gambar 4.3 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D dengan berat kalus nilam aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>).....	43
Gambar 4.4 Analisis regresi antara konsentrasi Kinetin dengan persentase tumbuh kalus (%) Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>)	46
Gambar 4.5 Analisis regresi antara konsentrasi Kinetin dengan Berat Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>)	47
Gambar 4.6 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D da Kinetin terhadap persentase tumbuh kalus nilam aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>).....	52
Gambar 4.7 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap berat kalus nilam aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>).....	53
Gambar 4.8 Tekstur kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin Benth.</i>)	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tabel Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan secara komersial dalam kultur jaringan tanaman	22
Tabel 3.1 Tabel kombinasi perlakuan 2,4-D dan kinetin	32
Tabel 4.1 Hasil ringkasan analisis variansi (ANOVA) Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus nilam aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	38
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	39
Tabel 4.3 Hasil Ringkasan Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	45
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	45
Tabel 4.5 Hasil Ringkasan Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Kombinasi Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	48
Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Persentase tumbuh Kalus dan Berat Kalus Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	49
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan pengaruh pemberian 2,4-D dan Kinetin terhadap tekstur dan warna kalus Nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.).....	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Data Hasil Pengamatan	74
Lampiran 2 Hasil Analisis Variansi dan uji Lanjut DMRT 5%	77
Lampiran 3 Gambar Hasil Penelitian	83
Lampiran 4 Perhitungan Larutan Stok	83
Lampiran 5 Perhitungan Pengambilan Larutan Stok	84
Lampiran 6 Alat-alat Penelitian	85
Lampiran 7 Bahan-bahan Penelitian	86
Lampiran 8 Foto Kegiatan	87



ABSTRAK

Mushtofa, Ari. 2017. **Pengaruh Kombinasi 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh Varietas Sidikalang (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Teknik *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.Si

Kata Kunci: Kalus Nilam Aceh Varietas Sidikalang (*Pogostemon cablin* Benth.), 2,4-D, Kinetin

Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan bahan baku yang penting dalam industri wewangian dan kosmetik. Tanaman nilam dapat menghasilkan minyak atsiri berupa *Pachouli oil* yang dapat memfiksasi parfum agar wanginya dapat bertahan lama. Produksi *Pachouli oil* dapat dihasilkan melalui teknik kultur jaringan dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin guna meningkatkan produksi kalus dan dapat dijadikan acuan konsentrasi yang paling optimal dalam menumbuhkan kalus nilam Aceh. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh 2,4-D dan Kinetin dan kombinasinya terhadap induksi kalus nilam Aceh secara *in vitro*.

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 25 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu: konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L dan konsentrasi kinetin meliputi 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L dan 1mg/L. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *Two Way* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5% dan dilakukan uji regresi.

Hasil dari penelitian menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi 2,4-D, kinetin serta kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus nilam aceh. Konsentrasi 2,4-D yang paling efektif untuk variabel hari muncul kalus dan berat kalus pada perlakuan 2,4-D yaitu 1 mg/L yang menginduksi kalus selama 14 HST dengan persentase tumbuh kalus 21% dan berat kalus 0,13 gr. Konsentrasi kinetin yang paling efektif untuk pertumbuhan kalus adalah konsentrasi 0,5 mg/L dengan hasil persentase tumbuh kalus 20% dan berat 0,11g. Sedangkan pada kombinasi 2,4-D dan kinetin yang paling efektif untuk variabel persentase dan berat kalus adalah konsentrasi 1 mg/L 2,4D dan 1 mg/L kinetin dengan persentase tumbuh kalus 45% dan berat kalus 0,3567 gr. Warna rata-rata keseluruhan kalus yang dihasilkan adalah kuning kecoklatan dengan tekstur kompak.

ABSTRAK

Mushtofa, Ari. 2017. **The effect of The Combination of 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) and Kinetin on the Induction of Callus Aceh Patchouli Variety Sidikalang (Pogostemon cablin Benth.) In Vitro.** Bachelor Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.Si

Keywords: The Callus of Aceh Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.), 2,4-D, Kinetin

Aceh Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) is an important raw material in the fragrance and cosmetics industry. Patchouli plants produce essential oil in the form of Patchouli oil, that is widely harnessed to fix the perfume, thus the fragrance lasts long. Currently, the need for Patchouli oil continues to increase in line with the increasing consumption of perfume products, soaps, cosmetic ingredients and etcetera. Production of Patchouli oil is obtained through tissue culture techniques with the addition of growth regulator such as 2,4-D and Kinetin. The addition of growth regulator chemical has the purpose to increase the production of the callus. Furthermore, addition of 2,4-D and Kinetin is used as the most optimal concentration reference in growing the callus of Aceh Patchouli. The purpose of this study was to investigate the effect of 2,4-D and Kinetin and its combination on the induction of the callus of Aceh Patchouli in vitro.

This study was experimental research which was designed with a complete randomized design (RAL) with 25 treatments and 3 replications. The treatments in this study were two factors: 2,4-D concentration of 0 mg / L, 0.5 mg / L, 1 mg / L, 1.5 mg / L and 2 mg / L and kinetin concentration of 0 mg / L, 0.25 mg / L, 0.5 mg / L, 0.75 mg / L and 1mg / L. Data were analyzed with Two Ways ANAVA Test with $\alpha = 5\%$. If significant difference occurred the test is continued further with Duncan Multiple Range Test (DMRT) with significance level of 5%, subsequently regression test is conducted.

The results of the study showed that there is an effect of the concentration of 2,4-D, kinetin and the combination of 2,4-D and kinetin on the induction of the callus of Aceh Patchouli. The most effective concentration of 2,4-D for the variable of callus occurrence and callus weight was on the treatment of 2,4-D with the concentration of 1.4 mg / L. This treatment induced callus after 14 days after planting with the percentage of the growth of the callus is 21% and the weight of the callus is 0.13 gr. Moreover, the most effective concentration of kinetin for callus growth is at concentration of 0.75 mg / L with the resulted growth rate of the callus is 20% and the weight of the callus is 0.11 gr. In addition, the most effective combination of 2,4-D and kinetin for the variable of percentage occurrence of the callus and the weight of the callus was D₁K₁. This treatment depicted that the percentage of the callus that occurred is 45% and the weight of the callus is 0.3567 gr. Furthermore, the overall average color of the resulting callus is brownish yellow with a compact texture.

مستخلص البحث

مصطفى، أري. 2017. تأثير اتحاد 2,4D (*2,4 Dichloropenoxyacetic acid*) والكينتين على إستقراء كالوس البتسول آتسه فارياتيس سيديكالانج (الباتشولي) بطريقة *In Vitro*. البحث الجامعي. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: روري سيتي يسميساري الماجستير ومحمد مخلص فحر الدين الماجستير.

الكلمات الأساسية: كالوس البتسول آتسه فارياتيس سيديكالانج، 2,4D، وكينتين.

إنّ كالوس البتسول (الباتشولي) هو المواد الأولية المهمة عند صناعة الطيب ومواد التجميل. تنتج هذه النبات زيت أتسيري نحو *Pachouli oil* حيث كان يحملق الطيب بدوام ريحه. ينتج الباتشولي إنتاجه بطريقة زراعة الأنسجة وبزيادة الذات المنظمة الناشئة 2,4D وكينتين لتنمية إنتاج كالوس البتسول آتسه ويمكن أن يجعل مصدرا مركزا فعالا لتنمية كالوس البتسول آتسه. وأما أهداف هذا البحث هي لمعرفة تأثير 2,4D وكينتين واتحادهما على إستقراء كالوس البتسول آتسه فارياتيس سيديكالانج (الباتشولي) بطريقة *In Vitro*. هذا البحث هو بحث تجريبي مستخدم بخطة التخليط الكاملة (RAL) بخمسة وعشرين وثلاثة مرات معاملة. وتوجد المعاملة في هذا البحث بعواملين منها: تركيز 2,4D الذي يتكون من : 0مغ/ل، 0,5مغ/ل، 1مغ/ل، 1,5مغ/ل، 2مغ/ل وتركيز الكينتين الذي يتكون من : 0مغ/ل، 0,25مغ/ل، 0,5مغ/ل، 0,75مغ/ل، 1مغ/ل. تحلل البيانات باختبار *ANAVA Two Way a = 5%* . و إذا يوجد الاختلاف بشكل ملحوظ أهمية فيقام اختبار *Duncan multiple range test (DMRT)* بمستوى معيار 5% حتى يقام اختبار التراجع. وتدل نتيجة هذا البحث على تأثير تركيز 2,4D وكينتين واتحاد 2,4D وكينتين إلى إستقراء كالوس البتسول آتسه. إنّ تركيز 2,4D الفعال لمتغيرة يوم نشأة كالوس وثقال كالوس على عملها 2,4D هو 1مغ/ل يستقرأ كالوس طوال 14 *HST* بنسبة مئوية كالوس 21% وثقال كالوس 0,13غ. وأما فعالية تركيز كينتين لتنمية كالوس فهي تركيز 0,5مغ/ل بنسبة مئوية كالوس 20% وثقال 0,11غ. وأما اتحاد 2,4D وكينتين فهو 1مغ/ل 2,4D و 1مغ/ل كينتين بنسبة مئوية كالوس 45% و ثقال كالوس 0,3567غ. إن مستوى ألوان كالوس المنتجة كلها هو مائل إلى السمرة بشكل متساوى.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk yang diciptakan oleh Allah SWT untuk dipelajari dan diambil manfaatnya. Tumbuhan banyak yang dijadikan bahan makanan, obat, hiasan, dan berbagai bahan wangi-wangian. Allah SWT telah berfirman mengenai kegunaan dari tumbuhan dalam QS. Asy-Syu'ara' (26) : (7); yang berbunyi :


 أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Tafsir Al-Misbah (Shihab, 2001), menjelaskan bahwa dalam ayat tersebut telah dijelaskan bahwa tumbuhan memiliki banyak manfaat. Dari ayat tersebut juga dapat menjadi landasan pemikiran bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai tumbuhan yang memiliki manfaat bagi manusia, sehingga perlu dikaji lebih dalam mengenai ayat tersebut. Manusia sudah memanfaatkan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan makanan, obat-obatan, dan wewangian. Tumbuh-tumbuhan yang memiliki bau harum juga sudah tercantum dalam QS. Ar-Rahman (55) : (12); yang berbunyi :

وَأَحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ﴿١١١﴾

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

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

Kedua ayat tersebut telah jelas menyebutkan Allah SWT telah menciptakan berbagai tumbuhan yang baik dan bermanfaat bagi manusia, salah satunya adalah tumbuhan yang memiliki bau harum. Dalam konteks ini salah satu tumbuhan yang memiliki bau harum adalah tumbuhan nilam (*Pogostemon cablin*). Nilam merupakan bahan baku yang penting untuk industri wewangian dan kosmetika. Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yang dibudidayakan masyarakat yaitu nilam jawa, nilam sabun dan nilam aceh. Dari ketiga jenis nilam tersebut nilam aceh merupakan jenis yang menghasilkan kadar minyak tertinggi dan mutu yang terbaik (Puteh, 2004).

Minyak nilam merupakan salah satu minyak atsiri yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi, karena minyak ini mampu mampu mengikat wewangian parfum dan sabun (Romansyah, 2002). Disamping itu dengan berkembangnya aroma terapi, penggunaan minyak nilam dalam bidang aroma

terapi juga sangat bermanfaat dalam penyembuhan fisik, mental dan emosional (Ibnusantoso, 2000).

Beberapa penelitian tentang manfaat minyak nilam dalam bidang kesehatan, diantaranya dijelaskan Chevallier (2001), bahwa minyak nilam sudah lama digunakan secara umum pada obat-obatan tradisional di Asia, terutama China, India dan Arab, diantaranya digunakan sebagai penguat imun tubuh (Liao, 2013), Anti-emetic (anti mual) (Yang, 1999), selain itu Jeong (2013) menjelaskan bahwa minyak nilam juga dapat digunakan sebagai anti influenza dan anti inflamasi.

Minyak nilam termasuk salah satu jenis minyak atsiri yang mempunyai sifat-sifat antara lain: sukar tercuci, sukar menguap dibandingkan dengan minyak atsiri lainnya, dapat larut dalam alkohol dan dapat dicampur dengan minyak atsiri lainnya. Karena sifat-sifat inilah minyak nilam dipakai sebagai fiksatif (unsur pengikat) untuk industri wewangian (Santoso, 1991). Menurut Aisyah dkk (2008) kandungan kimia minyak nilam antara lain adalah *patchouli alcohol* (32,60 %), δ -*guaiena* (23,07 %), α -*guaiena* (15,91 %), *seychellena* (6,95 %) dan α -*patchoulena* (5,47 %). Santoso (1991) menjelaskan bahwa komponen yang paling menentukan mutu minyak nilam adalah *patchouli alkhohol* karena merupakan penciri utama. *Pachouli alkohol* merupakan suatu senyawa kelompok seskuiterpen dengan rumus molekul $C_{15}H_{26}O$ (Corrine, 2004).

Peranan minyak nilam sebagai fiksatif wangi-wangian ini belum dapat dibuat secara sintetis, sehingga minyak nilam konvensional mempunyai

prospek yang cukup bagus (Daud, 1991). Menurut Rubiyanto, dkk (2011) menyatakan bahwa volume dan nilai ekspor *patchouli oil* Indonesia dari tahun 2007-2011 selalu meningkat. Setiap tahunnya ekspor minyak nilam dapat menghasilkan 60,82 juta US\$. Terbukti minyak nilam telah tercatat sebagai penyumbang terbesar devisa negara dibanding minyak atsiri lainnya (Sumarni, 2008). Selama ini minyak nilam diperoleh secara konvensional yaitu dengan ekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Namun cara tersebut membutuhkan budidaya tanaman dalam skala besar sehingga mengalami kesulitan dalam penyediaan tanaman khususnya lahan yang digunakan untuk mengembangkan tanaman tersebut (Nurlelasari, 2007). Sehingga perlu metode yang lebih efektif untuk mendapatkan minyak nilam. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Seperti yang dijelaskan Paul, dkk (2010) bahwa kandungan *pachouli alkohol* asal tanaman *in vitro* lebih tinggi 12% dari pada tanaman asli.

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan alternatif, dimana sel, jaringan atau organ tanaman diisolasi dari bagian tanaman yang selanjutnya disebut eksplan untuk distimulasi membentuk tanaman utuh dengan menggunakan media dan lingkungan yang sesuai (Gunawan, 1998). Teknik kultur jaringan ini juga dapat meningkatkan kadar metabolit sekunder dari suatu eksplan. Menurut Kyte dan Kleyn (1996) seiring perkembangan zaman teknik *in vitro* selain untuk perbanyakan dan pemuliaan tanaman, dikembangkan sebagai metode untuk memproduksi serta meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder. Teknik kultur *in vitro*

yang sering digunakan untuk memacu produksi metabolit sekunder adalah kultur kalus dan kultur suspensi sel (Scragg, 1997). Teknik kultur kalus mempunyai keuntungan antara lain dapat memproduksi metabolit sekunder yang dilakukan sepanjang tahun dan tanpa dipengaruhi oleh cuaca (Habibah, 2009)

Kultur kalus merupakan langkah awal dalam menentukan produksi bahan metabolit sekunder (Mahadi, 2008). Kalus adalah satu kumpulan sel amorphous yang terjadi dari sel-sel yang membelah diri secara terus menerus dalam keadaan *in vitro* (Sudarmaji, 2003). Kualitas kalus yang baik sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yaitu mempunyai ciri-ciri warna yang sesuai dengan metabolit sekunder yang ada didalamnya. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (non friable). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah, 2013). Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium, dan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Andaryani, 2010).

Pemilihan ZPT merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan pembentukan kalus tanaman yang dikulturkan (Indah, 2013). ZPT yang banyak digunakan untuk induksi kalus adalah kombinasi auksin dan sitokinin. Pemberian ZPT ini berperan dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Zulkarnain, 2009). Auksin merupakan salah satu ZPT yang sering

digunakan pada kultur jaringan. Diantara golongan auksin yang umum digunakan pada media kultur jaringan adalah 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxyacetic acid*), NAA (*α -naphthalenacetic acid*) dan IAA (*indole-3-acetic acid*). Auksin jenis 2,4-D berperan untuk mendorong proses morfogenesis kalus dan induksi kalus (Indah, 2013). Selain itu 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono, 1994). Wattimena (1992) menjelaskan bahwa 2,4-D merupakan ZPT yang paling sering digunakan pada kultur kalus karena aktivitasnya yang kuat untuk memacu proses deferensi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus.

Sitokinin merupakan kelompok ZPT yang sangat penting dalam pengaturan dan morfogenesis pada kultur *in vitro* (George dan Sherrington, 1984). Wattimena (1992) menambahkan bahwa sitokinin dapat menyebabkan peningkatan pembelahan sel. Beberapa jenis sitokinin yang sering digunakan dalam induksi kalus adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan Kinetin. Kinetin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam memacu pembelahan sel pada kultur *in vitro* (Moore, 1979). Wattimena (1992) menambahkan bahwa kinetin berperan dalam pembentukan kalus. Kinetin dapat mempengaruhi proses perkembangan tanaman pada konsentrasi yang rendah sedangkan pada konsentrasi yang tinggi kinetin dapat menghambat pertumbuhan (Moore, 1979).

Teori mengenai kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin menurut George dan Sherrington (1984) auksin dan sitokinin dalam keadaan

seimbang akan menimbulkan respon pertumbuhan kalus. Hasil penelitian mengenai kultur nilam dengan kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang telah dilakukan Palupi dkk (2004) pemberian 2,4-D dan BA dalam beberapa konsentrasi menghasilkan rata-rata kalus remah. Hasil penelitian Musdalifah (2017) juga menghasilkan rata-rata tekstur kalus yang didapatkan remah. Sedangkan pada penelitian lain yang dilakukan oleh Trimulyono (2004) dengan pemberian NAA dan Kinetin rata-rata hasil berat kering kalus yang didapat hanya 0,25 gr. Berdasarkan hasil kedua penelitian tersebut pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan Kinetin serta 2,4-D dan BA belum menghasilkan pertumbuhan kalus yang optimal. Sehingga perlu dilakukan kombinasi zat pengatur tumbuh lain untuk mendapatkan kalus metabolik pada kultur nilam.

Hasil penelitian lain menjelaskan bahwa penggunaan kombinasi 2,4-D dan kinetin dapat menginduksi pertumbuhan kalus secara optimal. Seperti pada penelitian Karimi (2014) yang menyatakan bahwa 2,4-D 1 mg/l dan kinetin 0,1 mg/l mampu mempercepat pembentukan kalus *Satureja hortensis*. Selain itu pembentukan kalus paling cepat pada kultur *Vitex trifolia* pada perlakuan 1 mg/l 2,4-D dan 0,5 mg/l kinetin (Puspitasari, 2002). Bakhtiar (2015) menambahkan bahwa penggunaan kombinasi 2,4-D 1 mg/l dan kinetin 0,5 mg/l pada kultur *Thymus persicus* menghasilkan kalus yang berwarna kuning keputihan dengan tekstur kompak.

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, maka dalam penelitian ini menggunakan kombinasi 2,4-D dan Kinetin dengan menggunakan beberapa

konsentrasi sehingga dapat diperoleh hasil induksi kalus tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan harapan mendapatkan konsentrasi optimum pembentukan kalus metabolik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* ?
2. Bagaimana pengaruh pemberian beberapa konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* .
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro*.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian beberapa konsentrasi kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin*) secara *in vitro* .

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah :

1. Memperluas ilmu pengetahuan dalam meningkatkan nilai jual tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)
2. Memberikan informasi pengaruh pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D dan Kinetin terhadap induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Eksplan yang digunakan dari daun muda tanaman nilam (daun pertama)
2. Tanaman yang digunakan adalah tanaman nilam Aceh varietas Sidikalang
3. Media yang digunakan adalah media MS (*Murashige and skoog*)
4. Konsentrasi Kinetin yang digunakan adalah; 0 mg/ L, 0,25 mg/ L, 0,5 mg/ L , 0,75 mg/ L, 1 mg/ L.
5. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan adalah; 0 mg/ L , 0,5 mg/ L, 1 mg/ L, 1,5 mg/ L dan 2 mg/ L.
6. Parameter kualitas kalus nilam yang diamati meliputi: warna kalus dan tekstur kalus.
7. Parameter kuantitas kalus nilam yang diamati yaitu: berat kalus, hari muncul kalus dan persentase tumbuh kalus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)

2.1.1 Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Alam semesta beserta isinya diciptakan oleh Allah SWT dengan proses penciptaan, dari ketiadaan menjadi ada. Salah satu dari ciptaan Allah SWT adalah tumbuhan (Hasan, 2015). Dalam QS. Luqman (31):(10); dan QS. Asy-Syu'ara' (26):(7);

حَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya : *Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik (QS. Luqman: 10).*

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

Artinya : *dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik (QS. Asy Syu'ara: 7).*

Didalam surat Luqman(10) dan Asy Syu'ara' (7) telah jelas di jelaskan bahwa telah ditumbuhkan di bumi tumbuh-tumbuhan yang baik. Termasuk pula tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) yang merupakan tanaman yang berbau harum dan memiliki berbagai manfaat. Di dalam Al Qur'an telah dijelaskan mengenai tanaman yang memiliki bau harum dalam QS. Ar-Rahman (55):(12) :

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ

Artinya : *dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya. (QS. Ar-Rahman : 12).*

Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Ali bin Abi Thalib meriwayatkan dari Ibnu Abbas mengenai “والحب ذو العصف” “Dan biji-bijian yang berkulit,” ia mengatakan: “Yakni, kulit yang menutupinya.” Al-‘Aufi menceritakan dari Ibnu Abbas: “العصف” berarti daun tumbuhan berwarna hijau yang telah dipotong bagian atasnya, dan ia disebut *al-‘ashfu* jika telah mengering. Demikian pula yang dikemukakan oleh Qatadah, adh-Dhahhak, dan Abu Malik. Ibnu Abbas, Mujahid dan lain-lain mengatakan: “الريحان” berarti daun. Dan al-Hasan berkata: : “Ia adalah wewangian kalian ini.” Aljazairi (2009) menambahkan bahwa “Warraihaanu” merupakan sebuah tumbuhan yang dikenal orang arab yang memiliki bau wangi dan harum.

Dilihat dari ketiga ayat diatas bahwasanya Allah SWT telah menyebutkan berbagai hal mengenai tumbuhan dari ditumbuhkannya tumbuhan hingga ditunjukkannya tumbuhan yang memiliki manfaat yaitu baunya yang harum. Ayat – ayat tersebut yang sebenarnya menjadi acuan kita untuk melaksanakan tugas kita sebagai khalifah di bumi ini. Sebagai khalifah di bumi tentunya kita harus bisa membaca petunjuk-petunjuk dari Allah SWT yang telah ditulis dalam Al-Qur’an sehingga kita dapat melaksanakan tugas menjaga dan memanfaatkan bumi sebaik-baiknya. Dalam hal ini kita dapat menjaga ekosistem tanah serta memanfaatkan hasil dari tumbuhan nilam yang memiliki berbagai manfaat untuk bidang wewangian maupun bidang obat-obatan.

2.1.2 Deskripsi Nilam

Nilam merupakan tumbuhan dari famili lamiaceae yang memiliki daun yang berbau harum. Menurut Rukmana (2003) berdasarkan taksonominya, kedudukan tanaman nilam diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : Pogostemon
Spesies : *Pogostemon cablin* Benth.

Nilam berasal dari daerah tropis Asia Tenggara terutama Indonesia dan Filipina, serta India, Amerika Selatan dan China (Grieve, 2002). Di Indonesia area pengembangan nilam tersebar di provinsi Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat dan Bengkulu (Mulyodihardjo, 1990). Nilamsering dikenal dengan sebagai Dhilep Wangi atau Pecoli (Hasanah, 2007).

Nilam merupakan tanaman perdu wangi berdaun halus dan berbatang segiempat (Dhalimi, 1998). Menurut Rukmana (2003) Tanaman nilam berupa semak tropis perdu yang tumbuh tegak, memiliki banyak percabangan, dan bertingkat-tingkat. Secara alami tanaman nilam dapat mencapai ketinggian antara 0,5 - 1,0 m. Daun nilam berbentuk bulat telur sampai bulat panjang (lonjong). Daun nilam memiliki panjang antara 5 - 11 cm, berwarna hijau, tipis, tidak kaku, dan berbulu pada permukaan bagian atas. Kedudukan daun saling berhadapan,

permukaan daun kasar dengan tepi bergerigi, ujung daun tumpul, urat daun menonjol keluar. Nilam jarang berbunga. Bunga tumbuh di ujung tangkai, bergerombol, dan memiliki warna ungu kemerahan. Tangkai bunga memiliki panjang antara 2 - 8 cm dengan diameter antara 1 - 1,5 cm. Mahkota bunga berukuran 8 mm. Gambaran tumbuhan nilam ditunjukkan pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Gambar Nilam (Dokumen penulis, 2016)

Nilam dapat tumbuh pada ketinggian 10 – 1200 m dpl. Nilam dapat tumbuh pada segala jenis tanah, akan tetapi tumbuh lebih baik pada tanah yang gembur dan banyak mengandung humus, bertekstur lempung sampai liat berpasir, pH 5-5,7. Selain itu nilam juga memerlukan curah hujan yang merata dalam jumlah cukup. Saat berumur lebih dari 6 bulan, ketinggian tanaman nilam dapat mencapai 60-90 cm dengan radius cabang sekitar 60 cm (Mauludi, 2005).

Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yang dibudidayakan masyarakat yaitu *Pogostemon heyneanus* (nilam Jawa), *Pogostemon hortensis* (nilam sabun), dan *Pogostemon cablin* (nilam Aceh). Dari ketiga jenis tersebut yang paling banyak dibudidayakan adalah varietas nilam Aceh, karena varietas inilah yang

terbaik ditinjau dari segi mutu dan kadar minyaknya, sehingga minyak dari varietas inilah yang lebih diminati di pasar dunia atau dalam dunia perdagangan minyak atsiri (Puteh, 2004).

Nilam Aceh merupakan tanaman yang memiliki aroma khas dan rendemen minyak daun keringnya tinggi yaitu 2,5 - 5% lebih tinggi dibandingkan dengan jenis lain. Nilam Aceh dikenal pertama kali dan ditanam secara meluas hampir diseluruh wilayah Aceh . Nilam Jawa disebut juga nilam hutan. Nilam ini berasal dari India dan masuk ke Indonesia serta tumbuh liar di beberapa hutan di wilayah pulau Jawa. Jenis tanaman ini hanya memiliki kandungan minyak sekitar 0,5 - 1,5%. Jenis daun dan rantingnya tidak memiliki bulu halus dan ujung daunnya agak meruncing. Nilam sabun sering dipergunakan untuk mencuci pakaian terutama kain jenis batik. Jenis nilam ini hanya memiliki kandungan minyak sekitar 0,5 - 1,5%(Mangun, 2002).

Terdapat beberapa sub-varietas tanaman nilam di Aceh, yang paling utama adalah nilam Tapaktuan (Aceh Selatan), nilam Lhokseumawe (Aceh Utara), dan nilam Sidikalang (Aceh Tamiang). Mereka masing-masing memiliki karekteristik fisik dan kandungan kimiawi yang berbeda. Nilam Tapaktuan memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi, batang berwarna hijau dengan sedikit warna ungu. Nilam Lhokseumawe juga memiliki daya adaptasi yang tinggi dan warna batang ungu. Varietas Sidikalang memiliki daya adaptasi yang tinggi dan batang ungu gelap. Tingkat *Patchoulialkohol* dari sub varietas ini juga beragam yaitu. Tapaktuan (28.69-35.90%), Lhokseumawe (29.11-34.46%) dan Sidikalang (30.21-35.20%) (Dinas Perkebunan, 2013)

2.1.3 Manfaat Nilam

Nilam adalah salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi. Indonesia adalah salah satu pemasok utama minyak nilam di dunia. Saat ini, produktivitas minyak nilam di Indonesia semakin menurun dan peningkatan produktivitas minyak nilam secara konvensional sulit untuk dilakukan (Mariska, 2002). Nilam juga telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Akar dari tanaman ini digunakan untuk pencahar, bagian daun sebagai bahan deodoran, obat luka, wasir, disentri, stomakikum, penyakit empedu, sielagogum, stemutatori, gangguan haid dan obat peluruh haid. Semua bagian dari tumbuhan ini juga dapat dimanfaatkan sebagai karminatif, obat sakit kepala, rematik, obat diare, dan insektisida (Kasahara, 1995).

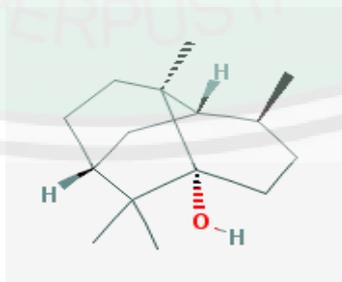
Minyak nilam merupakan komoditi ekspor, karenanya memiliki prospek yang cukup bagus dan selalu dibutuhkan secara berkesinambungan dalam industri-industri parfum, wewangian, kosmetik, sabun, farmasi, flavouring agent dan lain-lain. Minyak nilam dalam industri digunakan sebagai fiksasi yang belum dapat digantikan oleh minyak lain sampai dengan saat ini (Ketaren, 1985).

Fungsi utama minyak nilam sebagai bahan baku pengikat (fiksatif) dari komponen kandungan utamanya, yaitu *patchouli alcohol* ($C_{15}H_{26}$) dan sebagai bahan eteris untuk parfum agar aroma keharumannya bertahan lebih lama. Selain itu minyak nilam digunakan sebagai bahan campuran produk kosmetika (diantaranya untuk pembuatan sabun, pasta gigi, sampo, lotion dan deodorant), kebutuhan industri makanan diantaranya pembuatan obat anti radang, anti fungi, anti serangga, afrodisiak, anti-inflamasi, anti depresi, anti flogistik serta

dekongestan), kebutuhan aromaterapi serta berbagai kebutuhan industri lainnya. Minyak nilam dapat dicampur secara baik dengan minyak atsiri lainnya seperti minyak cengkeh, geranium, akar wangi, minyak cassia. Aroma minyak nilam sangat kaya, terkesan rasa manis, hangat dan menyengat (Dhalimi, 1998).

2.1.4 Kandungan Minyak Nilam

Daun nilam memiliki kandungan minyak atsiri, flavonoida, saponin, tanin, glikosida, terpenoid dan steroid (Bunrathep dkk, 2006). Menurut Swamy dan Uma (2015) *Patchouli oil* (minyak nilam) dianalisis dengan *comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry* mengandung komponen monoterpenes and sesquiterpenes. Identifikasi komponen tersebut yaitu; (-) β -pinene, β -pinene, β -phellandrene, δ -elemene, limonene, eucalyptol, 3-octanol, heptanal, nonanal, (-)-camphor, β -bourbonene, β -elemene, α -guaiene, 4-terpinenol, (-)- α -terpineol, α -patchoulene, β -patchoulene, α -caryophyllene, δ -guaiene, β -selinene, δ -cadinene, myrtenol, caryophyllene oxide, elemol, α -elemenone, globulol, epiglobulol, patchoulol, (-)-spathulenol, ledene oxide-(I), cis-farnesol and pogostone.



Gambar 2.2 Struktur Kimia *Patchouli Alcohol*
(Sumber: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>)

Aisyah dkk (2008) juga menjelaskan Lima komponen yang mempunyai persentase terbesar adalah *patchouli alcohol* (32,60 %), δ -guaiena (23,07 %), α -

guaiana (15,91 %), *seychellena* (6,95 %) dan *α-patchoulena* (5,47 %). Komponen yang paling menentukan mutu minyak nilam adalah *patchouli alcohol* karena merupakan penciri utama selain itu *patchouli alkohol* memiliki prosentase yang paling besar dibanding senyawa lain (Santoso, 1991).

2.1.5 *Patchouli alcohol* (PA)

Patchouli alcohol merupakan senyawa seskuiterpen alkohol tersier trisiklik, tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, eter atau pelarut organik yang lain, mempunyai titik didih 280,37⁰C dan kristal yang terbentuk memiliki titik leleh 56⁰C. *Patchouli alkohol* merupakan komponen penyusun utama yang menentukan mutu minyak nilam dengan kadar tidak boleh kurang dari 30% (Su,dkk, 2014).

Berdasarkan biosintesisnya, minyak atsiri nilam (*Patchouli oil*) dapat dibedakan menjadi dua golongan. Golongan pertama adalah turunan terpena (monoterpena dan seskuiterpena) yang terbentuk dari asam asetat melalui jalur biosintesis asam mevalonat. Golongan kedua adalah senyawa aromatik yang terbentuk dari biosintesis asam sikimat melalui jalur fenilpropanoid (Agusta, 2006).

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Kultur jaringan dalam perspektif Islam

Teknik kultur jaringan merupakan teknik yang penumbuhan tanaman yang lengkap dari suatu bagian dari tanaman. Allah SWT telah berfirman dalam Al Qur'an surat Ali 'Imran (3)(27) :

تُؤَلِّجُ اللَّيْلَ فِي النَّهَارِ وَتُؤَلِّجُ النَّهَارَ فِي اللَّيْلِ ۖ وَتُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَمَاتِ وَتُخْرِجُ الْمَمَاتِ مِنَ الْحَيِّ ۖ وَتَرْزُقُ مَنْ دَشَاءَ بِغَيْرِ حِسَابٍ ﴿٢١﴾

Artinya : *Engkau masukkan malam ke dalam siang dan Engkau masukkan siang ke dalam malam. Engkau keluarkan yang hidup dari yang mati, dan Engkau keluarkan yang mati dari yang hidup. dan Engkau beri rezki siapa yang Engkau kehendaki tanpa hisab (batas)".*

Dalam ayat tersebut yang perlu digaris bawahi adalah “*Engkau keluarkan yang hidup dari yang mati*”, konsep itu lah yang dijadikan konsep dalam teknik kultur jaringan, dimana dalam teknik kultur jaringan eksplan (sel, jaringan, dan organ) yang digunakan merupakan benda mati akan diinduksi dengan zat tertentu sehingga yang awalnya eksplan tersebut tidak menunjukkan tanda kehidupan akan tumbuh menjadi tanaman secara utuh. Sehingga dapat diartikan ayat tersebut merupakan salah satu pedoman teknik kultur jaringan.

2.2.2 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah istilah yang ditunjukkan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas, dan embrio. Bagian-bagian tersebut seperti eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada media buatan yang steril sehingga dapat bergenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Menurut Azriati, (2010), kultur *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi potongan jaringan tanaman dari kondisi alami pada media nutrisi dalam kondisi aseptik, dimana potongan yang diambil mampu mengadakan perbesaran, perpanjangan, pembelahan sel dan membentuk suatu massa sel yang belum

terdeferinsiasi yang disebut kalus serta membentuk *shootles* (tunas), *rootlet* (akar), atau *planlet* (tanaman lengkap).

Teknik *in vitro* mempunyai keuntungan antara lain produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh cuaca, serta dapat dikembangkan untuk produksi biomassa metabolit secara besar-besaran. Sehingga kultur merupakan cara yang dapat digunakan dalam meningkatkan sintesa metabolit sekunder (Nobert, 2007). Dalam bidang farmasi, kultur jaringan tanaman mempunyai manfaat yang besar yaitu selain menghasilkan tanaman sumber simplisia yang seragam juga mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai bahan obat. Tanaman tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beranekaragam sehingga memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (HendaryonodanWijayani,1994).

Isda (2009) menjelaskan bahwa penerapan kultur jaringan tumbuhan mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan penggunaan konvensional. Keuntungan-keuntungan tersebut, antara lain : dapat dibentuk senyawa bioaktif dalam kondisi terkontrol dan waktu yang relatif lebih singkat. Kultur bebas dari kontaminasi mikroba, setiap sel dapat dihasilkan untuk memperbanyak senyawa metabolit sekunder tertentu. Pertumbuhan sel terawasi serta proses metabolismenya dapat diatur secara rasional. Kultur jaringan tidak bergantung pada kondisi lingkungan seperti keadaan geografi, iklim, musim.

Teknik kultur jaringan akan berhasil dengan baik apabila syarat yang diperlukan telah terpenuhi dengan baik. Syarat-syarat tersebut meliputi pemilihan

eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang sesuai, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik. Untuk eksplan tanaman yang baik digunakan adalah bagian tanaman yang masih muda yaitu bagian meristemnya (Harahap, 2005).

2.2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tumbuhan

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* adalah eksplan, media tanam, kondisi fisik media, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dan lingkungan tumbuh (Alitalia, 2008).

1. Bahan Tanam (eksplan)

Eksplan merupakan bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan dapat berasal dari meristem, tunas, batang, anter, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizome, dan juga akar. Ukuran eksplan yang digunakan bervariasi dari ukuran $\pm 0,1$ mm sampai 5 cm. Jenis eksplan akan mempengaruhi morfogenesis suatu kultur *in vitro* (Wattimenadkk, 1992). Eksplan harus dalam keadaan aseptik melalui prosedur sterilisasi dengan berbagai bahan kimia (Gunawan, 1995).

2. Media Kultur

Dalam kultur *in vitro*, segmen tanaman hidup secara heterotrof (mendapat suplai bahan organik). Media kultur adalah media steril yang digunakan untuk menumbuhkan sumber bahan tanaman menjadi bibit. Media kultur terdiri dari garam anorganik, sumber energi (karbon), vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Selain itu, dapat pula ditambahkan komponen lain seperti senyawa organik dan senyawa kompleks lainnya.

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain itu, diperlukan juga bahan tambahan seperti agar dan gula (Gunawan, 1995).

Faktor lain yang tidak kalah penting dalam kultur jaringan adalah pengaturan pH media. Tingkat keasaman media harus diatur supaya tidak mengganggu fungsi membran sel dan sitoplasma. Sel-sel tanaman membutuhkan pH berkisar antara 5,5-5,8 (Alitalia, 2008).

3. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh didefinisikan sebagai senyawa organik bernutrisi yang aktif dalam jumlah kecil (10^{-6} - 10^{-5} mM) yang disintesis pada bagian tertentu tanaman dan pada umumnya diangkat ke bagian yang lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan tanggapan serta respon biokimia, fisiologis dan morfologis (Wattimena, 1992). Zat pengatur tumbuh pada tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilendan inhibitor dengan cirri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi. Pada kultur kalus zat pengatur tumbuh yang biasanya dipakai adalah dari golongan auksin dan sitokinin (Abidin, 1985). Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan

yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur (Gunawan, 1995).

Zat Pengatur Tumbuh	Singkatan	Keterangan
1. Kelompok Auksin		
• Asam Indo-3-Asetat	IAA	Auksin alami Tidak Stabil
• Asam Indo-3-Butirat	IBA	-
• Asam Alfa Naftalen	NAA	Stabil
• Asam 2,4-Diklorofenoksi asetat	2,4-D	Stabil Kuat
2. Kelompok Sitokinin		
• BenzilAdeninpurin	BAP	
• Kinetin	-	
• Thidiazuron	-	
• Zeatin	-	

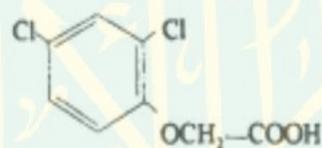
Tabel 2.1 Zat pengatur tumbuh yang digunakan secara komersial dalam kultur jaringan tanaman (Abidin, 1983)

2.2.4 Pengaruh Auksin terhadap Pertumbuhan Kalus

Auksin adalah senyawa yang berfungsi meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Auksin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah *Indole-3-acetic acid* (IAA), *Naphthalenacetic acid* (NAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan *Indol buteric acid* (IBA) (Zulkarnain, 2009). Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan, 1998).

Salah satu jenis auksin yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*). 2,4-D merupakan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman, dimana auksin jenis ini dapat menyebabkan pembelahan sel (Abidin, 1985). 2,4-D merupakan golongan auksin sintetis yang

mempunyai sifat lebih stabil, karena tidak mudah terurai oleh enzm-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau pemanasan pada saat proses sterilisasi (Hendaryono dan wijiyani, 1994). Menurut Abidin (1983), aktivitas auksin ditentukan adanya struktur cincin yang tidak jenuh, adanya rantai keasaman (*acid chain*), pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, dan adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mempunyai *carboxyl group* dipisahkan oleh karbon atau oksigen akan memberikan aktivitas yang optimal. Seperti 2,4-D yang memiliki struktur kimia pada gambar 2.3



2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

Gambar 2.3 Struktur Kimia 2,4-D

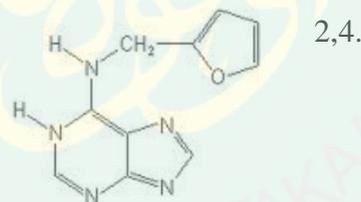
Penambahan auksin golongan 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wethrell, 1982). Namun pierik (1997) menganjurkan untuk membatasi penggunaan 2,4-D pada kultur *in vitro* karena 2,4-D dapat meningkatkan peluang terjadinya mutasi genetik dan menghambat fotosintesis pada tanaman yang diregenerasikan.

Beberapa penelitian mengenai pemberian 2,4-D terhadap pertumbuhan kalus antara lain Musdalifah (2017) menjelaskan bahwa pada konsentrasi rendah (2 mg/L) menghasilkan kalus yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian 2,4-D lebih tinggi (4 mg/L dan 6 mg/L) bila dilihat dari persentase dan berat

kalus. Selain itu Kumianjani (2015) menjelaskan bahwa penambahan konsentrasi 2,4-D (2 ppm dan 4 ppm) memiliki respon pertumbuhan 100% dalam pembentukan kalus kotiledon kedelai. Dan pada penelitian Rahayu (2003) pada konsentrasi 3 mg/L meningkatkan berat kering kalus *Acalypha indica* L.

2.2.5 Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin

Pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus (Indah,2013). Salah satu jenis sitokinin yang sering digunakan dalam pertumbuhan kalus adalah kinetin. Kinetin merupakan sitokinin tiruan pertama kali yang ditemukan oleh Miller dan Skoog yang didapat dari DNA ikan *Herring* yang di *autoclave* dalam larutan yang asam. Kinetin mempunyai berat molekul 215,21 g/mol dengan rumus kimia $C_{10}H_9N_5O$ seperti yang ditunjukkan pada gambar



Gambar 2.4. Struktur Kimia Kinetin

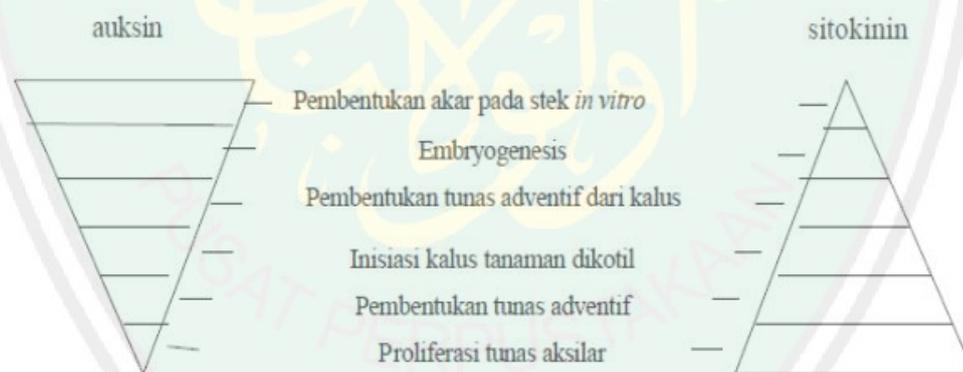
Menurut Wattimena (1992), zat pengatur tumbuh dari golongan kinetin berperan antara lain dalam pembentukan kalus, morfogenesis akar dan tunas. Dewi (2008), menjelaskan bahwa pada konsentrasi rendah kinetin dapat mempengaruhi proses perkembangan tanaman, sedangkan pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan.

Beberapa penelitian mengenai pemberian Kinetin terhadap pertumbuhan kalus antara lain dalam penelitian Musdalifah (2017) menjelaskan bahwa

konsentrasi kinetin rendah (1 mg/L) menghasilkan berat kalus nilam aceh tertinggi. Selain itu pada penelitian Trimulyono (2004) menghasilkan pada konsentrasi 2 mg/L menghasilkan berat kalus nilam 130 mg.

2.2.6 Pengaruh Interaksi auksin dan sitokinin terhadap arah pertumbuhan kalus

Dalam kultur jaringan terdapat 2 golongan ZPT yang sangat penting, yaitu auksin dan sitokinin. Interaksi auksin dan sitokinin yang diberikan pada media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur (Karjadi dan Buchory, 2008). Perlu adanya rasio tertentu antara auksin dan juga sitokinin. Konsentrasi penggunaan auksin dan sitokinin tergantung dari tujuan pengkulturan (Azizah, 2017).



Gambar 2.5 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin (George dan Sherrington, 1984)

Berdasarkan gambar 2.5 dapat diketahui bahwa keseimbangan auksin dan sitokinin berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu eksplan. Apabila konsentrasi auksin yang ditambahkan dalam media lebih tinggi dibanding konsentrasi sitokinin maka akan menginduksi terbentuknya akar. Apabila konsentrasi sitokinin yang diberikan dalam media lebih tinggi dibanding konsentrasi auksin maka akan menginduksi terbentuknya

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

Beberapa hasil interaksi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin pada kultur nilam dilakukan oleh Palupi dkk (2004) pemberian 2,4-D dan BA dalam beberapa konsentrasi menghasilkan rata-rata kalus remah. Hasil penelitian Musdalifah (2017) juga menghasilkan rata-rata tekstur kalus yang didapatkan remah. Sedangkan pada penelitian lain yang dilakukan oleh Trimulyono dkk (2004) dengan pemberian NAA dan Kinetin rata-rata hasil berat kering kalus yang didapat hanya 0,25 gr. Berdasarkan hasil kedua penelitian tersebut pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan Kinetin serta 2,4-D dan BA belum menghasilkan pertumbuhan kalus yang optimal. Selain itu secara khusus interaksi 2,4-D dan Kinetin juga akan menumbuhkan kalus seperti dalam beberapa penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan kombinasi 2,4-D dan Kinetin antara lain dalam penelitian Karimi (2014) yang menyatakan 2,4-D 1 mg/l dan kinetin 0,1 mg/l mampu mempercepat pembentukan kalus *Satureja hortensis*. Pada penelitian *Talinum paniculatum* Gaertn dengan penambahan beberapa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan kinetin menghasilkan kalus yang berwarna kuning dan bertekstur kompak (Wardani, 2004). Selain itu pada penelitian *Tymus persicus* dengan penambahan 1 mg/l 2,4-D dan 0,5 mg/l kinetin menghasilkan kalus yang berwarna kuning keputihan dengan tekstur kompak (Bakhtiar, 2016).

2.3 Kultur Kalus

Sebagai teknik yang memiliki banyak manfaat kultur jaringan ini memiliki salah satu metode yang dinamakan kultur kalus. Kultur kalus bermanfaat untuk

mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan diferensiasinya, misalnya mempelajari aspek nutrisi tanaman, diferensiasi dan morfogenesis sel organ tanaman, dan produksi metabolit sekunder (Yuwono, 2006). Kalus adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi. Massa sel ini terbentuk di seluruh permukaan irisan eksplan, sehingga semakin luas permukaan irisan eksplan semakin cepat dan banyak kalus yang terbentuk (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Kultur kalus dapat dikembangkan dengan menggunakan eksplan yang berasal dari berbagai sumber, misalnya tunas muda, daun, ujung akar, dan bunga. Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada eksplan melalui pembelahan sel berulang – ulang. Kultur kalus tumbuh berkembang lebih lambat dibandingkan kultur yang berasal dari suspensi sel. Kalus terbentuk melalui tiga tahapan yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium, dan faktor lingkungan. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem berkembang lebih cepat dibanding jaringan dari sel-sel berdinding tipis dan mengandung lignin (Andaryani, 2010).

Indikator pertumbuhan eksplan pada kultur *in vitro* berupa penampilan kalus sehingga dapat diketahui kalus yang masih memiliki sel-sel yang aktif membelah atau mati. Jaringan kalus yang dihasilkan dari suatu eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda-beda. Kualitas kalus yang baik sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder yaitu mempunyai ciri-ciri warna dan tekstur yang sesuai dengan metabolit sekunder. Selain warna tekstur kalus

merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Kalus yang baik untuk dipergunakan sebagai penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kalus yang kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah, 2013).

2.3.1 Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu, kompak (*non friable*), remah (*friable*) dan intermediet (Perpaduan antara kompak dan remah) (Andaryani, 2010). Kalus kompak yaitu kalus yang terbentuk dari sekumpulan sel yang kuat. Sedangkan kalus yang terdiri dari sel-sel lepas disebut kalus *friable*. Kalus *friable* sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspensi. Kalus kompak dapat menjadi kalus *friable* akan tetapi kalus *friable* tidak dapat menjadi kalus kompak. Kalus *friable* dan kalus kompak mempunyai komposisi kimia yang berbeda. Kalus kompak mempunyai kandungan polisakarida dengan pektin dan hemiselulosa. Kandungan selulosa yang tinggi meningkatkan sel lebih rigid. Pektin yang tinggi sel lebih kuat dan dapat menahan fragmentasi (Alitalia, 2008).

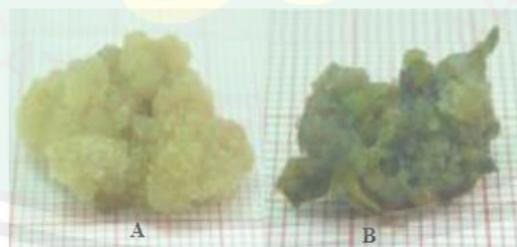


Gambar 2.6. Tekstur kalus nilam aceh (a) tekstur kalus kompak pada perlakuan 2 mg/L PIC + 0 mg/L Kn (b) tekstur kalus remah pada perlakuan 4 mg/L + 2 mg/L Kn (Musdalifah, 2017)

2.3.2 Warna Kalus

Kondisi warna kalus yang bervariasi disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang cenderung berwarna kecoklatan disebabkan oleh kondisi eksplan yang secara mempunyai kandungan fenol tinggi (Hendayono dan Wijayani,1994). Kualitas kalus yang baik untuk perbanyakan memiliki warna hijau. Warna hijau pada kalus adalah akibat efek konsentrasi sitokinin yang tinggi yang mempengaruhi pembentukan klorofil (Riyadi dan Tirtoboma, 2004). Menurut Fatmawati (2008), warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus banyak pula kandungan klorofilnya.

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 (Sholikhah,2014). Beberapa contoh warna kalus ditunjukkan pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Warna kalus *Artemisia vulgaris* 12 minggu setelah tanam : (a) Warna kalus putih kekuningan pada perlakuan 2,4-D 1 mg/L, (b) Warna kalus hijau kekuningan pada perlakuan 2,4-D 0,5 mg/L (Fadhilah, 2015).

Laju pertumbuhan sel, jaringan, dan organ tanaman di dalam kultur akan menurun setelah periode waktu tertentu, yang terlihat dengan terjadinya kematian sel atau nekrosis pada eksplan, yang disebabkan menyusutnya kadar nutrisi pada media dan senyawa racun yang terbentuk dan dilepaskan oleh eksplan disekitar

media. Bila gejala demikian mulai muncul maka harus segera dilakukan subkultur yaitu pemindahan sel, jaringan atau organ kedalam media baru (Yuliarti,2010). Kalus dapat disubkultur dengan cara mengambil sebagian kalus dan memindahkannya ke medium yang baru. Dengan sistem induksi yang tepat kalus dapat berkembang menjadi tanaman yang berkembang atau utuh (planlet) (Yuwono, 2006).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2017 di Laboratorium CV. Filant , desa tlekung, Kota Batu.

3.2 Rancangan Penelitian

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

- 0 mg/ L (D₀)
- 0,5 mg/ L (D_{0,5})
- 1 mg/ L (D₁)
- 1,5 mg/ L (D_{1,5})
- 2 mg/ L. (D₂)

Faktor kedua adalah Kinetin dengan terdiri dari :

- 0 mg/ L (K₀)
- 0,25 mg/ L (K_{0,25})
- 0,5 mg/ L (K_{0,5})
- 0,75 mg/ L (K_{0,75})
- 1 mg/ L (K₁)

Perlakuan		Kinetin (mg/L)				
		0	0,25	0,5	0,75	1
2,4-D (mg/L)	0	K_0D_0	$K_{0,25}D_0$	$K_{0,5}D_0$	$K_{0,75}D_0$	K_1D_0
	0,5	$K_0D_{0,5}$	$K_{0,25}D_{0,5}$	$K_{0,5}D_{0,5}$	$K_{0,75}D_{0,5}$	$K_1D_{0,5}$
	1	K_0D_1	$K_{0,25}D_1$	$K_{0,5}D_1$	$K_{0,75}D_1$	K_1D_1
	1,5	$K_0D_{1,5}$	$K_{0,25}D_{1,5}$	$K_{0,5}D_{1,5}$	$K_{0,75}D_{1,5}$	$K_1D_{1,5}$
	2	K_0D_2	$K_{0,25}D_2$	$K_{0,5}D_2$	$K_{0,75}D_2$	K_1D_2

Tabel. 3.1. Tabel kombinasi 2,4-D dan kinetin

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat – alat

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

3.3.2 Bahan- bahan

Bahan utama yang digunakan adalah bagian daun muda tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) sebagai eksplan yang akan ditanam pada media. Bahan untuk sterilisasi adalah aquades, alkohol 70%, alkohol 95%, desinfektan, aquades steril dan antiseptik. Media dasar yang digunakan adalah media MS

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

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Persiapan

3.4.1.1 Sterilisasi Alat

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

3.4.1.2 Pembuatan Stok Hormon

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan dalam pembuatan media. Langkah kerja dalam pembuatan larutan stok hormon dengan konsentrasi 10 mg/l dalam 100 ml aquades adalah dengan menimbang serbuk Kinetin dan 2,4-D sebanyak 10 mg kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml dalam gelas ukur yang berbeda. Larutan dihomogenkan sampai larutan tercampur merata dan dimasukkan dalam botol masing-masing diberi label.

3.4.1.3 Pembuatan Medium

Pembuatan medium, pertama dengan cara memasukkan 3,34 gr media MS ke dalam 33ormone33er berukuran 1 liter, selanjutnya ditambahkan sukrosa 30 gr kemudian ditambahkan aquades steril hingga volume larutan menjadi 1 liter, kemudian diaduk dengan menggunakan *hotplate 33ormone* hingga larutan 33ormone33. Selanjutnya ditambahkan agar 8,5 gr, kemudian dimasak dengan

menggunakan kompor hingga mendidih. Kemudian setelah mendidih diangkat gelas 34ormone34er dan dituangkan kedalam setiap perlakuan 34ormone, lalu diukur pH nya apabila pH terlalu asam ditambahkan NaOH apabila pH terlalu basa di beri larutan HCl hingga mencapai pH 5,6 – 5,8. Setelah itu dimasukkan kedalam botol kultur, ditutup dengan plastik tahan panas. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 30 menit.

3.4.1.4 Sterilisasi Ruangan

Disiapkan alat untuk menanam eksplan seperti petridish, scarpel, pinset dan busen. Dibersihkan meja LAF dan di semprot dengan alcohol 70%. Kemudian ditutup LAF dan disterilkan dengan lampu UV selama 30 menit.

3.4.1.5 Sterilisasi Eksplan

Daun muda nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) diambil dan dicuci dengan detergen dan dikocok kemudian dibilas dengan air mengalir sampai bersih, dibilas lagi dengan aquades. Daun muda yang telah bersih direndam dalam antiseptik (Betadine) selama 10 menit. Sterilisasi selanjutnya dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*) dengan cara: eksplan direndam dengan chlorox 15% selama 15 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali, setelah itu direndam dengan alkohol 70% selama 10 detik kemudian dikeringkan diatas kertas saring.

3.4.2 Penanaman eksplan

Eksplan yang telah disterilisasi dipotong ± 1 cm x 1 cm kemudian ditanam pada media perlakuan dengan posisi daun terlungkup. Selanjutnya disimpan di ruang inokulasi dengan suhu 21⁰C selama 30 hari. Penanaman dilakukan secara aseptik dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

3.5 Teknik pengambilan data

Pengamatan dilakukan dengan 3 tahap :

1. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat respon ada atau tidaknya perkembangan dan munculnya kalus pertama kali pada eksplan.
2. Pengamatan akhir yang dilakukan setelah 30 hari setelah tanam penanaman terdiri dari pengamatan persentase eksplan membentuk kalus, berat kalus, warna kalus dan tekstur kalus

Parameter pengamatan :

- a. Pengamatan warna kalus yang diambil setelah 30 hari dengan diamati warna yang terjadi pada setiap kalusnya.
- b. Tekstur kalus diamati secara visual pada penampakan kalus yaitu kalus remah, kalus kompak, dan kalus intermediet pada 30 HST.
- c. Dihitung persentase tumbuh kalus dengan menghitung pertumbuhan kalus dari suatu eksplan.

$$\text{Persentase Tumbuh Kalus} = \frac{\text{Luas Eksplan yang berkalus}}{\text{Luas total eksplan}} \times 100\%$$

- d. Ditimbang kalus (hanya yang terbentuk kalus) dengan menggunakan timbangan analitik.

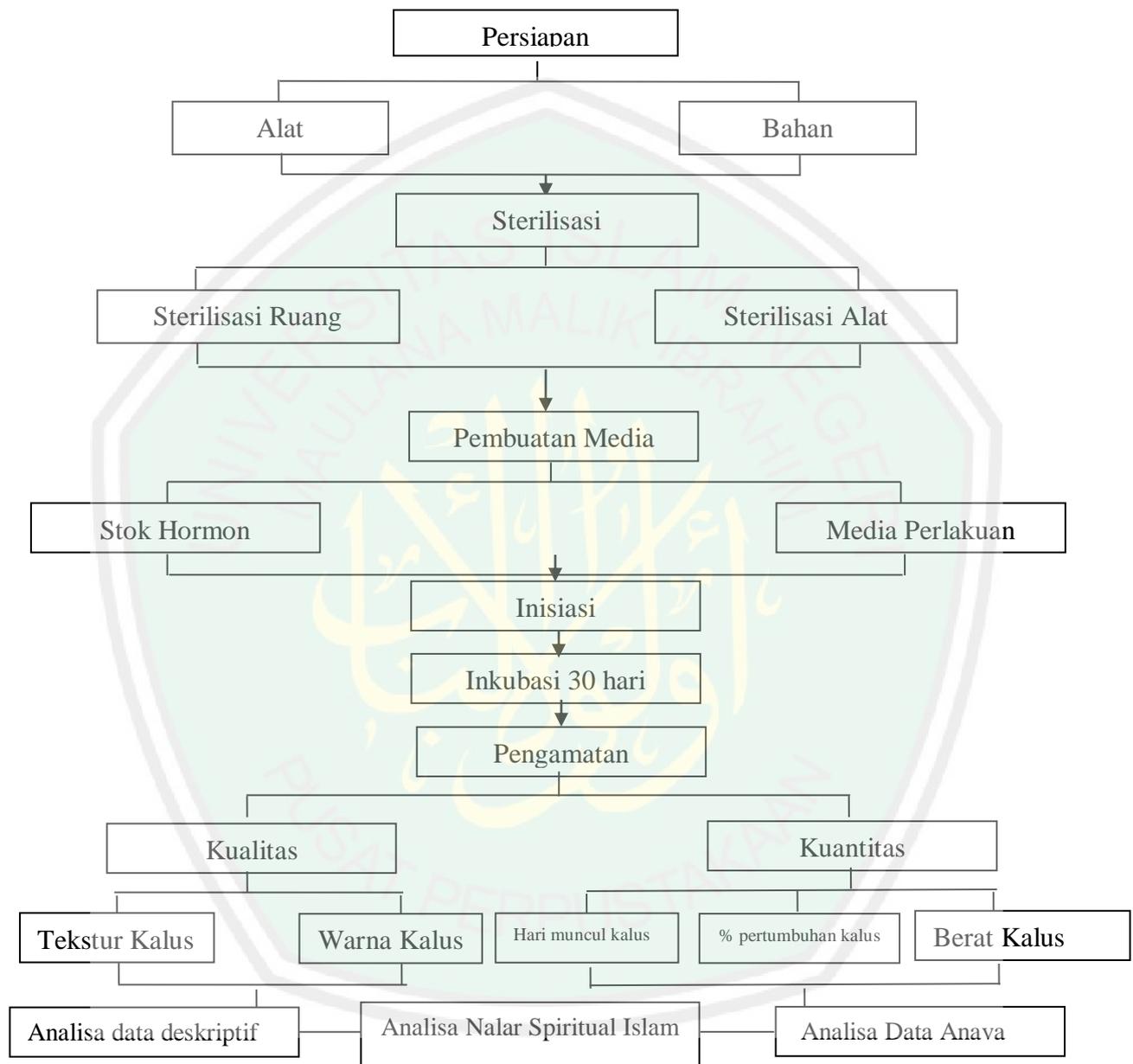
3.6 Analisa Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus, dan hari muncul kalus, sedangkan data kuantitatif berupa presentase kalus, berat kalus. Data dianalisis

dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) untuk mengetahui adanya pemberian kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin pada media MS terhadap induksi kalus nilam secara invitro. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan DMRT pada tahap 5%.

Data hasil pengamatan selain dianalisis dengan menggunakan analisis variansi, juga dianalisis dengan menggunakan analisis nalar spiritual Islam. Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan prinsip-prinsip Islam dengan menggunakan sumber-sumber dari ayat Al-Qur'an dan Hadist yang mendasari atas suatu hasil penelitian, serta didukung dengan argumen mengenai nilai-nilai Islam yang terkandung dari suatu penelitian sehingga dapat dipahami sebagai bahan pemikiran keilmuan Islam.

3.7 Desain Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Hasil pengamatan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua yaitu pengamatan kuantitatif dan pengamatan kualitatif. Dalam pengamatan parameter kuantitatif variabel pengamatannya antara lain hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Sedangkan pada parameter kualitatif terdapat dua variabel pengamatan yaitu warna dan tekstur kalus. Hasil pengamatan kuantitatif dilanjutkan dengan analisis variansi (ANOVA). Hasil analisis variansi pengaruh 2,4-D terhadap parameter kuantitatif ditunjukkan pada ringkasan hasil analisis variansi yang disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Ringkasan Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Variabel Pengamatan	F Tabel	F Hitung	Sig.
Hari Muncul Kalus	2,55717915	55,511*	,000
Persentase Pertumbuhan Kalus	2,55717915	12,031*	,000
Berat Kalus	2,55717915	11,636*	,000

Keterangan: * Kadar 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan Nilai Signifikansi ($p < 0,05$) artinya terdapat pengaruh nyata.

Berdasarkan hasil analisis variansi tabel 4.1, menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap semua variabel pengamatan yaitu hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus. Hasil tersebut dapat dilihat dari nilai signifikansi semua variabel

pengamatan mempunyai nilai yang kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Selain itu pengaruh nyata dapat dilihat dengan membandingkan F hitung dengan F Tabel. Bila $F_{hit} > F_{tabel}$ artinya terdapat pengaruh nyata. Sedangkan bila $F_{hit} < F_{tab}$ artinya tidak terdapat pengaruh nyata. Hasil dari perbandingan antara F Hitung dengan F Tabel perlakuan 2,4-D terlihat semua variabel pengamatan hasil $F_{hit} > F_{tab}$ artinya terdapat pengaruh nyata. Sehingga perlu disajikan uji lanjut dengan uji DMRT 5%. Hasil uji lanjut dengan uji DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.).

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase tumbuhan Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
0	30,1333c	0,3333a	0,0013a
0,5	17,6000b	15,3333b	0,0840b
1	16,7333ab	21,0000b	0,1367c
1,5	14,7333a	19,3333b	0,1293bc
2	15,2000ab	19,3333b	0,1013bc

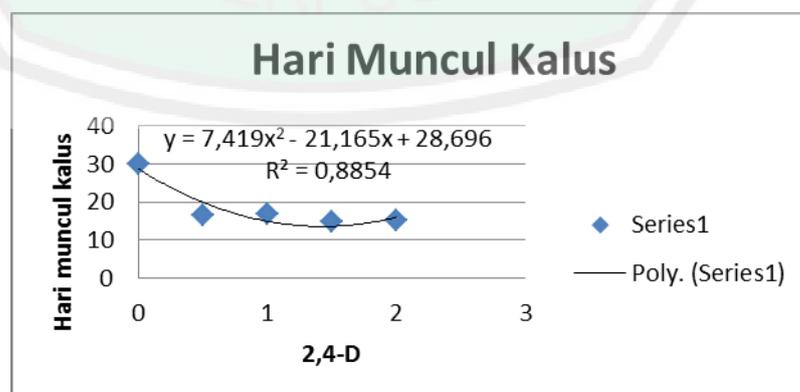
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Hasil uji lanjut yang dilakukan dengan DMRT 5% menghasilkan, pada parameter pengamatan hari muncul kalus menunjukkan bahwa pada perlakuan pemberian 2,4-D 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L dan 2 mg/L berbeda nyata terhadap kontrol. Hasil tersebut ditunjukkan dengan nilai hasil uji DMRT 5% kontrol yaitu 30.1333c. Hal tersebut menunjukkan tidak adanya pembentukan kalus karena data pengamatan diambil 30 HST sehingga hasil yang melebihi hari pengamatan artinya tidak mengalami pembentukan kalus. Sedangkan pada keempat perlakuan pemberian 2,4-D dengan berbagai konsentrasi tidak mempunyai perbedaan nyata. Munculnya kalus pada eksplan nilam Aceh dengan perlakuan pemberian 2,4-D ini

rata-rata muncul pada 14-17 HST dan bila dilihat dari hasil angka, pembentukan kalus tercepat pada perlakuan 1,5 mg/L 2,4-D dengan kecepatan tumbuh kalus 14,7 HST.

Hasil uji DMRT 5% persentase tumbuh kalus mendapatkan hasil tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi pemberian 2,4-D 1 mg/L dengan nilai 21,000b, artinya persentase tumbuh kalus tertinggi terdapat pada perlakuan 2,4-D 1 mg/L dengan persentase tumbuh kalus 21%. Namun hasil ini tidak berbeda nyata dengan keempat perlakuan, karena semua hasil uji DMRT 5% diikuti dengan huruf yang sama. Seperti halnya dengan hasil analisis DMRT 5% pada data variable berat kalus, terlihat semua perlakuan tidak berbeda nyata, namun sama seperti dengan hasil persentase kalus, hasil tertinggi terdapat pada konsentrasi 1 mg/L dengan nilai 0,1367c. Untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang paling optimum terhadap induksi kalus nilam dapat dianalisis dengan menggunakan analisis regresi.

Analisis regresi dari 3 variabel pengamatan yaitu hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Analisis regresi hari muncul kalus ditunjukkan pada gambar 4.1



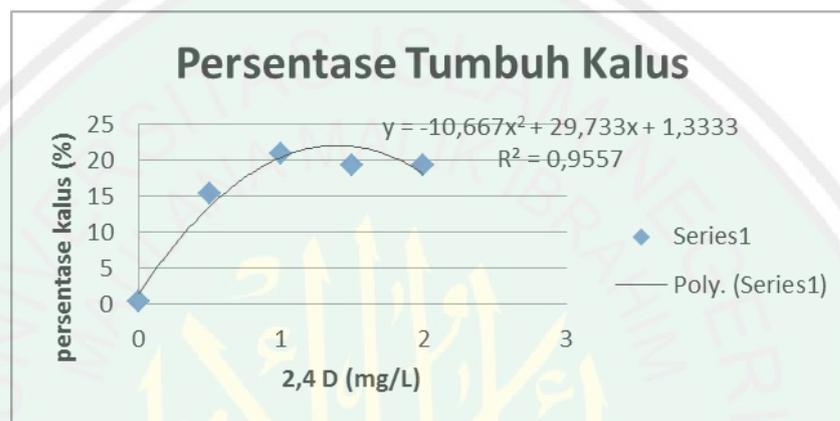
Gambar 4.1 Analisis regresi antara konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus (HST) Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth).

Berdasarkan analisis regresi hari muncul kalus gambar 4.1 membentuk garis kuadrat dengan persamaan $y=7,419x^2 - 21,165x + 28,696$ dan determinasi $R^2 = 0,8854$, artinya terdapat hubungan antara konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus sebesar 88,54%. Hasil perhitungan persamaan garis kuadrat tersebut dapat diketahui hari muncul kalus mencapai titik optimum pada titik koordinat (1,42 ; 13,60) yang artinya bahwa konsentrasi hari muncul kalus yang paling optimum adalah pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi 1,42 mg/L dengan kecepatan hari muncul kalus 13,60 hari setelah tanam (HST).

Pertumbuhan eksplan daun hingga muncul kalus biasanya memiliki proses morfologis seperti pembengkakan eksplan atau penggulungan eksplan daun. Ajjiah (2010) menjelaskan bahwa pembengkakan dan penambahan panjang pada eksplan merupakan salah satu bentuk aktifitas pembelahan jaringan eksplan. Pembengkakan eksplan juga merupakan tahap awal pembentukan kalus. Dalam penelitian ini pertumbuhan kalus diawali dari menggembungnya tulang daun dari eksplan, terutama pada tulang daun yang terkena luka bekas potongan, hal tersebut mulai terjadi sekitar 7 HST. Nurwahyuni *dalam* Intias (2012) menjelaskan bahwa pada tulang daun terdapat jaringan pengangkut sehingga nutrisi yang terdapat di media tanam akan masuk ke dalam zat pengangkut tersebut. Sehingga jaringan-jaringan yang ada dalam eksplan daun tersebut akan membengkak dan membelah oleh adanya interaksi zat pengatur tumbuh auksin dalam hal ini 2,4-D. Abidin (1985) menjelaskan bahwa 2,4-D merupakan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus dari berbagai jaringan tanaman karena auksin jenis ini dapat menyebabkan pembelahan sel. Kumianjani (2015)

juga menyatakan bahwa senyawa auksin 2,4-D merupakan jenis auksin yang berperan dalam merangsang pembesaran sel, selain itu auksin jenis ini juga sangat baik dalam pembelahan sel sehingga mampu membentuk kalus.

Analisis regresi persentase tumbuh kalus di tunjukkan pada gambar 4.2.

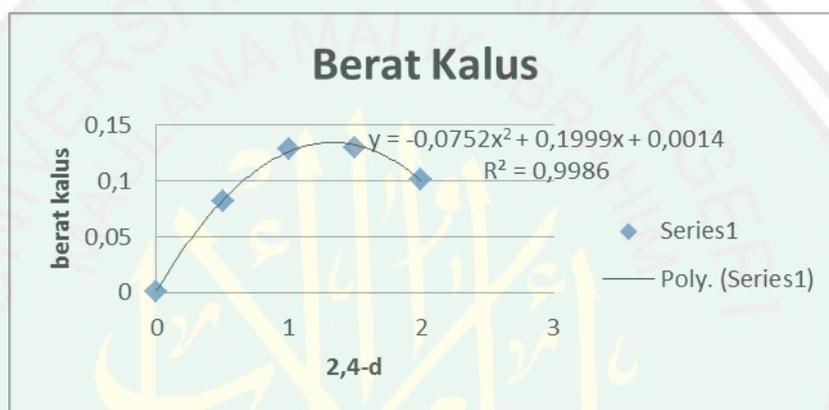


Gambar 4.2 Analisis regresi antara konsentrasi 2,4-D dengan persentase tumbuh kalus (%) Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth).

Hasil analisis regresi persentase tumbuh kalus gambar 4.2 membentuk garis kuadrat $y = -10,667x^2 + 29,733x + 1,3333$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,9557$ yang artinya hubungan antara perlakuan 2,4-D dan persentase tumbuh kalus mencapai 95%. Hasil perhitungan persamaan tersebut dapat diketahui persentase tumbuh kalus mencapai titik optimum pada titik koordinat (1,39 ; 22) yang artinya pemberian konsentrasi 2,4-D paling optimum adalah 1,39 mg/L dengan persentase sebesar 22 %. Persentase tumbuh kalus ini dapat dipengaruhi oleh tekstur kalus, karena pertumbuhan kalus remah akan lebih cepat dibanding dengan pertumbuhan kalus kompak. Manuhara (2001) menyatakan bahwa kalus remah mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal, selain itu kalus remah tersusun atas sel-sel yang renggang. Sehingga setiap sel yang terkena media dengan penambahan zat pengatur tumbuh akan lebih cepat membelah. Sedangkan pada kalus kompak

menurut Dodd (1993), menyatakan bahwa umumnya kalus kompak memiliki ukuran sel yang kecil, sehingga sel-sel yang tersusun rapat tersebut sulit mendapatkan nutrisi sehingga mengalami penurunan aktifitas pembelahan sel. Pertumbuhan kalus selain dilihat dari persentase muncul kalus, juga dapat dilihat dari berat kalus yang dihasilkan.

Hasil analisis regresi berat kalus di tunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Analisis regresi antara konsentrasi 2,4-D dengan berat kalus (gr) Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth).

Hasil analisis regresi berat kalus ditampilkan pada gambar 4.3. Pada hasil regresi membentuk garis kuadrat dengan persamaan $y = -0,0752x^2 + 0,1999x - 0,0014$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,9986$, yang artinya terdapat hubungan antara konsentrasi 2,4-D dengan berat kalus sebesar 99,86%. Hasil analisis persamaan $y = -0,0752x^2 + 0,1999x - 0,0014$ dapat menunjukkan konsentrasi 2,4-D yang paling optimal terhadap berat kalus. konsentrasi 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (1,32;0,13). Hasil tersebut dapat diartikan konsentrasi 2,4-D 1,32 mg/L paling optimal untuk mendapatkan berat kalus dengan berat 0,12 gr. Hasil tersebut mendapat hasil yang hampir sama dengan penelitian Fadhilah (2015)

yang menyatakan bahwa pada konsentrasi 1,5 mg/L 2,4-D efektif dalam meningkatkan berat basah kalus *Artemisia vulgaris* L.

Hasil pengamatan pertumbuhan kalus yang telah dianalisis dengan menggunakan analisis regresi menghasilkan konsentrasi pemberian perlakuan 2,4-D yang terbaik pada kisaran konsentrasi 1,3 mg/L hingga 1,4 mg/L hal tersebut dapat diketahui dari hasil variabel pengamatan hari muncul kalus, persentase tubuh kalus, dan berat kalus. Dari ketiga variabel pengamatan tersebut didapatkan hasil hitung persamaan analisis regresi menunjukkan semua hasil hitung pada kisaran 1,3 mg/L hingga 1,4 mg/L. Hasil tersebut dapat diartikan konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/L merupakan titik ambang dalam proses pertumbuhan kalus Nilam aceh (*Pogostemon cablin* Benth.). Konsentrasi ambang sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan kalus karena menurut Pierik (1997) penggunaan 2,4-D yang berlebihan akan meningkatkan peluang terjadinya mutasi genetik, selain itu Aprisa (2012) juga menjelaskan bahwa dalam konsentrasi tinggi 2,4-D juga dapat menjadi herbisida bagi tanaman itu sendiri. Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian zat pengatur tumbuh auksin dalam hal ini 2,4-D dengan konsentrasi 1,5 dapat menumbuhkan kalus eksplan Nilam Aceh.

4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Hasil pengamatan analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh Kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap variabel persentase tumbuh kalus dan berat kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.).

Hasil tersebut ditunjukkan pada ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Ringkasan Analisis Variasi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Variabel Pengamatan	F Tabel	F Hitung	Sig.
Hari Muncul Kalus	2,55717915	1,277	,292
Persentase Pertumbuhan Kalus	2,55717915	3,985*	,007
Berat Kalus	2,55717915	4,843*	,002

Keterangan: * Kadar Kinetin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Hasil analisis variansi (ANAVA) menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh kinetin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hal ini di tunjukkan dengan nilai signifikansi dari variabel persentase tumbuh kalus dan berat kalus kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Selain itu hal tersebut juga ditunjukkan dengan nilai F Hitung dari perlakuan persentase tumbuh kalus dan berat kalus lebih dari F Tabel ($F_{hit} > F_{tab}$). Hal tersebut menunjukkan bahwa perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan DMRT 5%.

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D terhadap Induksi Kalus Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.).

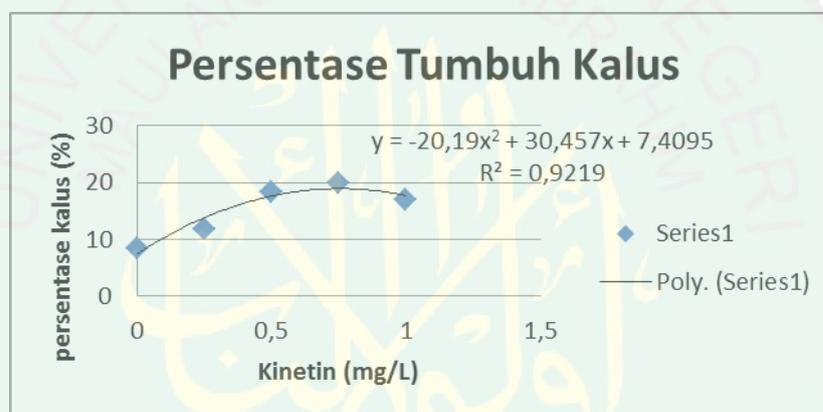
Konsentrasi Kinetin (mg/L)	Persentase tumbuhan Kalus (%)	Berat Kalus (gr)
0	8,3333a	0,0433a
0,25	11,667ab	0,0647ab
0,5	18,3333bc	0,1047bc
0,75	20,0000c	0,1147c
1	17,0000bc	0,1253c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Hasil uji lanjut yang dilakukan dengan DMRT 5% menghasilkan, pada variabel pengamatan persentase kalus dan berat kalus menunjukkan bahwa pada

perlakuan pemberian berbagai konsentrasi kinetin tidak berbeda nyata antara konsentrasi satu dengan yang lain. Pada variabel pengamatan persentase kalus hasil terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 0,75 mg/L dengan persentase 20% dan pada variabel berat kalus hasil tertinggi terdapat pada konsentrasi 1mg/L dengan berat kalus 0,12 g. Untuk mengetahui konsentrasi optimum pemberian kinetin terhadap pembentukan kalus dapat dilakukan dengan analisis regresi.

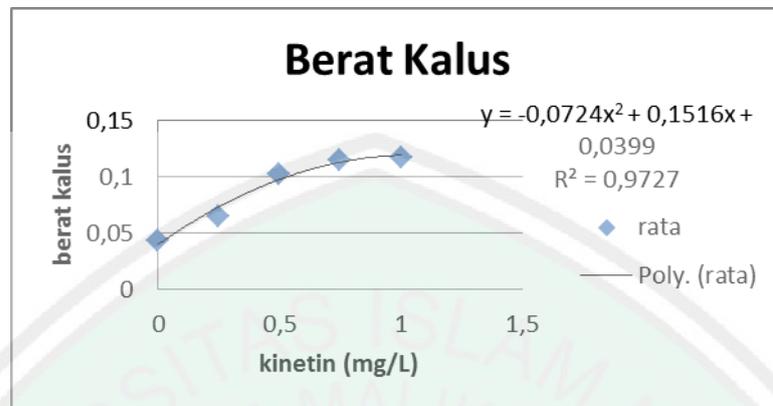
Analisis regresi persentase tumbuh kalus di tunjukkan pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Analisis regresi antara konsentrasi Kinetin dengan persentase tumbuh kalus (%) Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth).

Hasil analisis regresi persentase tumbuh kalus gambar 4.4 membentuk garis kuadrat $y = -20,19x^2 + 30,457x + 7,4095$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,9219$ yang artinya hubungan antara perlakuan kinetin dan persentase tumbuh kalus mencapai 92%. Hasil perhitungan persamaan tersebut dapat diketahui persentase tumbuh kalus mencapai titik optimum pada titik koordinat (0,75 ; 18,89) yang artinya pemberian konsentrasi Kinetin paling optimum adalah 0,75 mg/L dengan persentase sebesar 19 %.

Analisis regresi persentase tumbuh kalus di tunjukkan pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Analisis regresi antara konsentrasi Kinetin dengan Berat Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth).

Hasil analisis regresi berat kalus gambar 4.5 membentuk garis kuadrat $y = -0,0724x^2 + 0,1516x + 0,0399$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,9727$ yang artinya hubungan antara perlakuan kinetin dengan berat kalus mencapai 97%. Hasil perhitungan persamaan tersebut dapat diketahui berat kalus mencapai titik optimum pada titik koordinat (1 ; 0,11) yang artinya pemberian konsentrasi Kinetin paling optimum adalah 1 mg/L dengan berat kalus sebesar 0,11 g.

Hasil pengamatan mengenai pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kinetin terhadap pertumbuhan kalus nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) terlihat hasil terbaik pada kisaran konsentrasi 0,75 mg/L hingga 1 mg/L. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil analisis variansi dan analisis regresi. Dari hasil tersebut membuktikan bahwa penggunaan kinetin saja dapat menumbuhkan kalus. Indah (2013) menjelaskan bahwa pemberian sitokinin berperan penting dalam memicu pertumbuhan kalus. Wardani (2004) juga menjelaskan bahwa kinetin berfungsi mendorong pembelahan sel dan sintesis protein. Dalam penelitian ini perlakuan yang menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik pada kisaran 0,75 mg/L hingga 1

mg/L. Hal tersebut sama dengan hasil yang ditunjukkan pada penelitian Musdalifa (2017) yang menghasilkan perlakuan kinetin terbaik pada konsentrasi 1 mg/L. Hal tersebut membuktikan bahwa pada konsentrasi kinetin 1 mg/L belum mencapai ambang batas penggunaan kinetin, karena dalam penelitian ini konsentrasi maksimal yang kinetin yang digunakan hanya sampai konsentrasi 1 mg/L.

4.3 Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Hasil pengamatan pengaruh kombinasi konsentrasi 2,4-D dan Kinetin ini selain pada pengaruh 2,4-D dan Kinetin secara individual juga harus dianalisis pada perlakuan kombinasi yang diberikan. Hasil tersebut ditunjukkan pada ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Ringkasan Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Kombinasi Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Induksi Kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

Variabel Pengamatan	F Tabel	F Hitung	Sig.
Hari muncul Kalus	1,85031495	1,586	,108
Persentase Pertumbuhan Kalus	1,85031495	2,332*	,012
Berat Kalus	1,85031495	3,272*	,001

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

Hasil uji Analisis Variansi (ANOVA) pada pemberian kombinasi berbagai konsentrasi 2,4-D dan Kinetin menunjukkan menunjukkan 2 variabel uji terdapat pengaruh nyata yaitu variabel persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Sedangkan pada variabel pengamatan hari muncul kalus tidak terdapat pengaruh nyata, karena nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 yaitu $0,108 > 0,05$. Selain itu

hasil perbandingan F tabel dengan F hitung kedua variabel pengamatan tersebut juga menunjukkan hasil F hitung lebih besar dari pada F tabel, itu artinya pada variabel pengamatan tersebut memiliki pengaruh nyata terhadap kombinasi yang diberikan. Hasil pengamatan variabel persentase tumbuh kalus dan berat kalus perlu dilakukan uji lanjut. Dalam hal ini uji lanjut dilakukan menggunakan uji DMRT 5%.

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Persentase tumbuh Kalus dan Berat Kalus Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.).

Perlakuan	Persentase Tumbuh Kalus	Berat Kalus
0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn	,0000a	,0000a
0,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn	8,3333abcd	,0400abc
1 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn	8,3333abcd	,0333ab
1,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn	13,3333abcde	,0833abcde
2 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn	11,6667abcde	,0600abcde
0 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn	,0000a	,0000a
0,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn	13,3333abcde	,0700abcde
1 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn	13,3333abcde	,0600abcde
1,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn	16,6667abcde	,1133abcde
2 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn	15,0000abcde	,0800abcde
0 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn	,0000a	,0000a
0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn	30,0000ef	,1700e
1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn	15,0000abcde	,0800abcde
1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn	20,0000bcde	,1600cde
2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn	26,6667de	,1133abcde
0 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn	,0000a	,0000a
0,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn	18,3333abcde	,0933abcde
1 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn	23,3333cde	,1533bcde
1,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn	28,0000ef	,1600cde
2 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn	30,0000ef	,1667de
0 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn	1,6667ab	,0067a
0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn	6,6667abc	,0467abcd
1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn	45,0000f	,3567f
1,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn	18,3333abcde	,1300bcde
2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn	13,3333abcde	,0867abcde

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Hasil uji DMRT 5% persentase tumbuh kalus yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada kombinasi konsentrasi 2,4-D dan kinetin (D_1K_1) atau 2,4-D 1 mg/L + Kinetin 1 mg/L menunjukkan hasil paling tinggi yaitu sebesar 45,0000f. Hal tersebut artinya pada perlakuan D_1K_1 memiliki persentase tumbuh kalus sebesar 45%. Namun pada uji DMRT 5% persentase tumbuh kalus yang ditunjukkan pada tabel 4.6 ini tidak dapat dinyatakan terdapat pengaruh nyata, karena semua hasil yang ditunjukkan secara berturut-turut diikuti oleh huruf yang sama.

Hasil uji DMRT 5% yang telah dilakukan menghasilkan persentase tumbuh kalus terbaik pada perlakuan konsentrasi antara auksin dan sitokinin yang berimbang yaitu 2,4-D 1 mg/L + Kinetin 1 mg/L. Hal tersebut sejalan dengan pendapat George (1984) bahwa kombinasi yang seimbang antara auksin dan sitokinin akan menyebabkan terjadinya pembentukan kalus. Selain itu Wardani (2004) juga menjelaskan bahwa penambahan konsentrasi 2,4-D dan Kinetin secara berimbang dapat merangsang sel daun untuk melakukan proses diferensiasi sel membentuk kalus.

Proses pembentukan kalus oleh pengaruh 2,4-D secara fisiologis dengan cara memacu pelunakan dinding sel dengan cara mengaktifasi pompa proton (ion H^+) yang terletak pada membran plasma, sehingga menyebabkan derajat keasaman (pH) pada bagian dinding sel lebih rendah, yaitu mendekati pH pada membran plasma (sekitar pH 4,5). Aktifnya pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan hidrogen diantara mikrofibril selulosa dinding sel. Putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding sel mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel akan

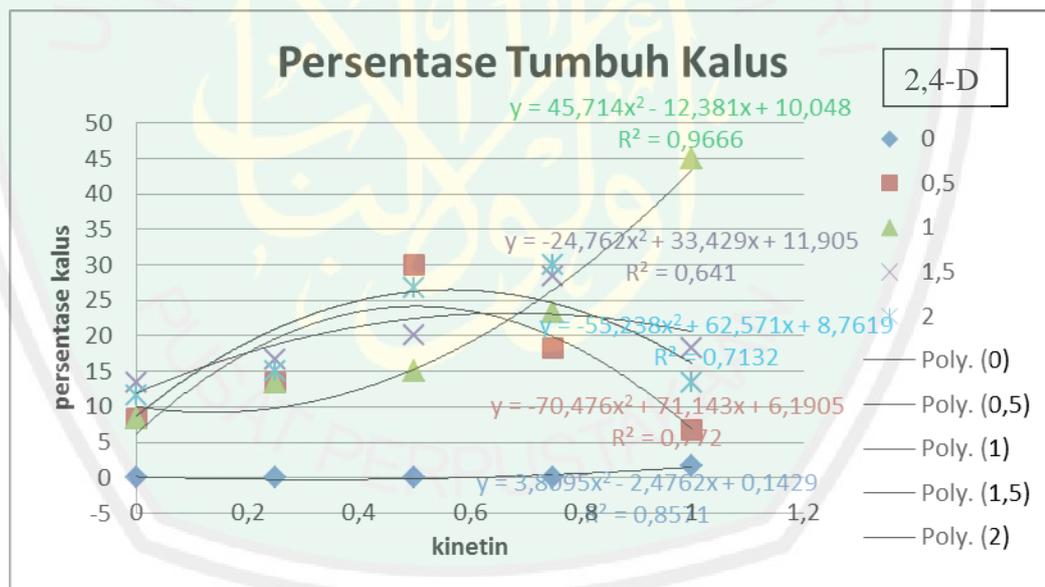
menurun dan mengakibatkan pelenturan sel. Derajat keasaman yang rendah juga dapat mengaktifasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein atau polisakarida yang menyebar pada dinding sel yang lunak dan lentur, sehingga pembesaran sel dapat terjadi. Selanjutnya sitokinin berperan memacu pembelahan dalam jaringan meristematik. Peran sitokinin dalam hal ini kinetin secara langsung adalah dalam proses transkripsi dan translasi RNA dalam proses sintesis protein (Aslamyah, 2002).

Proses masuknya kinetin dalam proses transkripsi berlangsung pada tahap interfase. Proses translasi RNA dilanjutkan dengan pembentukan asam-asam amino yang merupakan komponen dasar protein. Protein yang terbentuk antara lain berupa enzim-enzim yang berperan dalam pembelahan sel. Enzim-enzim tersebut misalnya enzim polymerase DNA yang berperan dalam memperpanjang rantai DNA dan memperbaiki kesalahan penyusunan basa nitrogen pada DNA dan enzim ligase yang berperan dalam menghubungkan fragmen-fragmen DNA yang terputus-putus saat proses replikasi. Ketersediaan enzim-enzim ini didalam sel akan menyebabkan proses pembelahan sel berlangsung lebih efektif (Stanfield, 2006 dalam Hayati, 2010).

Hasil uji DMRT 5% berat kalus yang telah dilakukan pada tabel 4.6 memperlihatkan hasil yang berbeda nyata yaitu pada perlakuan 2,4-D 1 mg/L dan Kinetin 1 mg/L (D_1K_1). Perbedaan nyata tersebut di tunjukkan dengan berbedanya huruf yang mengikuti angka pada perlakuan D_1K_1 yaitu 0,3567f. Artinya pada perlakuan D_1K_1 menghasilkan berat kalus 0,3567 gr. Hasil terbaik pada variabel pengamatan berat kalus ini sama dengan variabel pengamatan persentase kalus,

karena persentase tumbuh kalus dengan berat kalus saling berhubungan. Bila persentase kalus tinggi tentunya berat kalusnya juga akan tinggi. Hasil tersebut sejalan dengan pendapat wattimena (1998) dalam bagannya yang menjelaskan bahwa perimbangan antara auksin dan sitokinin dapat menghasilkan perkembangan kalus.

Untuk mengetahui konstansi kombinasi antara 2,4-D dan Kinetin terhadap persentase tumbuh kalus dan berat kalus nilam aceh (*Pogostemon cablin* Benth) yang paling optimum dapat menggunakan analisis regresi. Analisis regresi konsentrasi kombinasi 2,4-D dan Kinetin ditunjukkan pada gambar 4.6 .

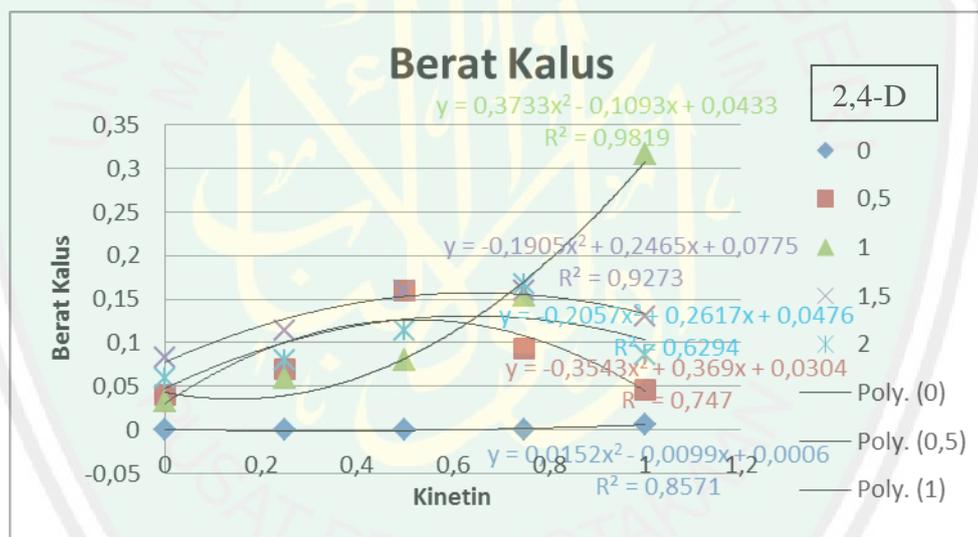


Gambar 4.6 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) terhadap Persentase tumbuh kalus Nilam Aceh (*pogostemon cablin* Benth.).

Hasil analisi regresi konsentrasi kombinasi antara 2,4-D dan Kinetin terhadap persentase tumbuh kalus yang ditunjukkan pada gambar 4.5 membentuk garis kuadratik dengan persamaan $y = -70,476x^2 + 71,143x + 6,1905$ dengan determinasi $R^2 = 0,772$, yang artinya terdapat hubungan antara perlakuan kombinasi 2,4-D dan

Kinetin terhadap Persentase tumbuh kalus sebesar 77%. Untuk mengetahui konsentrasi kombinasi antara 2,4-D dan Kinetin yang paling optimum dapat dianalisis dengan menggunakan persamaan $y = -70,476x^2 + 71,143x + 6,1905$ yang mendapatkan hasil (0,5;24,143) yang artinya konsentrasi kombinasi 2,4-D dan Kinetin yang paling optimal adalah 2,4-D 0,5 dan 0,5 kinetin dengan persentase kalus 24%.

Analisis regresi kombinasi konsentrasi 2,4-D dan Kinetin ditunjukkan pada gambar 4.7.



Gambar 4.7 Analisis regresi konsentrasi 2,4-D (mg/L) dan Kinetin (mg/L) terhadap Berat kalus Nilam Aceh (*pogostemon cablin* Benth.).

Hasil analisis regresi konsentrasi kombinasi antara 2,4-D dan Kinetin terhadap berat kalus yang ditampilkan pada gambar 4.6 membentuk garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,3543x^2 + 0,369x + 0,0304$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,747$, artinya terdapat hubungan antara kombinasi konsentrasi 2,4-D dan kinetin dengan berat kalus sebesar 75%. Hasil analisis regresi dengan menggunakan persamaan $y = -0,3543x^2 + 0,369x + 0,0304$ menghasilkan nilai (0,52;0,12) artinya konsentrasi paling optimal 2,4-D 0,5 dan Kinetin 0,52 dengan berat kalus 0,12 gr. Seperti

halnya dengan analisis regresi persentase tumbuh kalus pada analisis regresi berat kalus ini terlihat berbeda dengan hasil analisis DMRT 5%.

Hasil analisis regresi persentase tumbuh kalus dan berat kalus yang telah dilakukan menghasilkan persentase pertumbuhan kalus yang terlihat rendah dan berbeda dengan hasil tertinggi yang ditunjukkan analisis variansi karena dalam analisis regresi yang diamati adalah konsentrasi paling optimum dalam setiap kombinasi perlakuan. Dan pada analisis ini data yang dapat dihitung adalah data yang memiliki titik tertinggi dan terendah. Sehingga hasil yang didapatkan antara hasil analisis regresi dan analisis DMRT 5% akan menghasilkan hasil yang berbeda.

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

Tekstur kalus merupakan salah satu faktor yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan. Dalam suatu pertumbuhan kalus biasanya akan terbentuk 3 macam tekstur kalus yaitu kompak, intermediet dan remah. Andaryani (2010) Menjelaskan kalus kompak memiliki ruang antar sel yang sempit sehingga sel akan lebih berkumpul, sedangkan kalus remah memiliki ruang antar sel yang lebar atau cenderung berpisah antara sel satu dengan yang lain, sehingga penampakan kalus lebih terpisah, dan intermediet terdapat 2 bentuk kalus yaitu kompak dan remah dalam sisi yang berbeda. Penggolongan tekstur kalus ini berguna memudahkan untuk melihat kualitas kalus dari segi penggunaan kalus. Hasil pengamatan tekstur kalus pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin ditunjukkan pada tabel 4.7.

Hasil pengamatan tekstur kalus keseluruhan perlakuan kalus bertekstur kompak, intermediet dan remah. Tekstur kalus dapat dikatakan baik atau tidak tergantung tujuan penggunaan kalus tersebut. Penggunaan kalus secara umum dapat dibedakan menjadi 2 fungsi yaitu sebagai perbanyakan tanaman dan sebagai

penghasil metabolit sekunder. Dalam penelitian ini penumbuhan kalus ditujukan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder. Menurut Indah (2013) bahwa kalus yang baik untuk digunakan sebagai penghasil metabolit sekunder adalah kalus yang memiliki tekstur kompak, karena tekstur kompak dianggap mengandung bahan metabolit sekunder lebih banyak dibanding kalus remah dan intermediet, sedangkan kalus remah untuk perbanyakan.

Hasil pengamatan visual dari pemberian perlakuan 2,4-D dan kinetin pada pertumbuhan kalus nilam ini menghasilkan kalus yang beragam seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.7. Dimana pada gambar tersebut ditampilkan 3 bentukan kalus yaitu remah (gambar a), intermediet (gambar b) dan kompak (gambar c). Pada gambar tersebut terdapat pada masing-masing perlakuan yang berbeda yaitu pada hasil tekstur kalus yang remah terjadi pada perlakuan $D_2K_{0,75}$. hal tersebut menurut Rahayu (2003) menyatakan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D dengan jumlah yang tinggi akan menghasilkan kalus yang remah.



(a)

(b)

(c)

Gambar 4.8. tekstur kalus Nilam aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) (a) kalus remah pada perlakuan $D_2K_{0,75}$ (b) kalus intermediet pada perlakuan D_1K_1 (c) kalus kompak pada perlakuan $D_{0,5}K_{0,5}$.

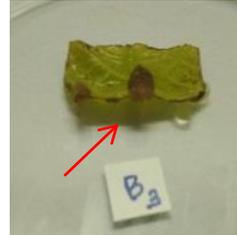
Hasil tekstur kalus intermediet terjadi pada perlakuan D_1K_1 dan tekstur kompak terdapat pada perlakuan $D_{0,5}K_{0,5}$. Seperti yang dijelaskan diatas kalus yang baik

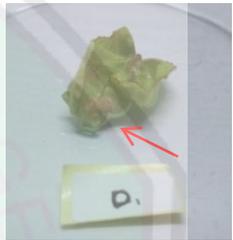
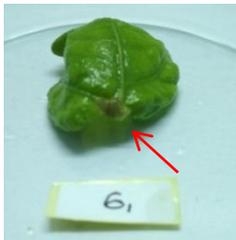
sebagai penghasil metabolit sekunder adalah kalus yang memiliki tekstur kompak. Karena pada kalus kalus kompak ruang antar sel sangat sedikit karena sel-sel yang membentuk kalus merekat kuat sehingga media atau nutrisi yang terdapat pada media tidak dapat masuk memberikan nutrisi pada sel bagian dalam yang membuat sel bagian dalam mengalami cekaman, sehingga sel-sel yang tercekam tersebut menghasilkan metabolit sekunder yang lebih.

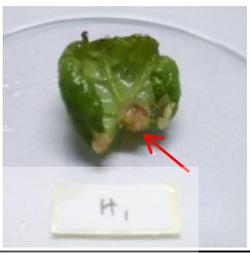
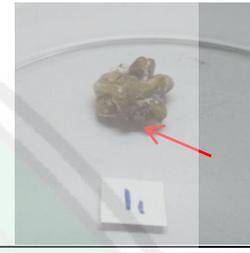
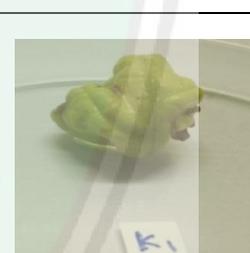
4.5 Warna Kalus Daun Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.)

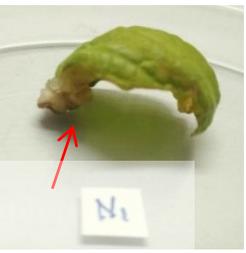
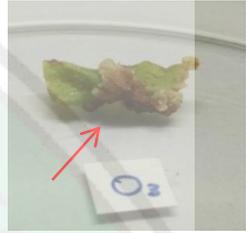
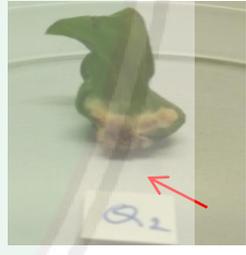
Warna kalus merupakan salah satu faktor yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan. Hasil pengamatan warna kalus pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin ditunjukkan pada tabel 4.7.

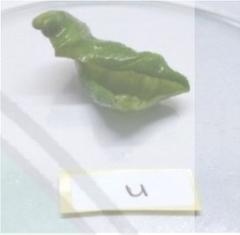
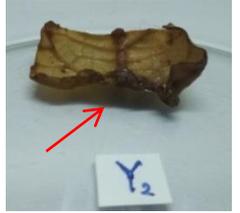
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan pengaruh pemberian 2,4-D dan Kinetin terhadap warna kalus

Perlakuan 2,4-D dan kinetin	Tekstur kalus	Warna Kalus	Gambar pengamatan
0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn (D ₀ K ₀)	-	-	
0,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn (D _{0,5} K ₀)	Kompak	Coklat	

1 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn (D ₁ K ₀)	Kompak	Coklat	
1,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn (D _{1,5} K ₀)	Kompak	Kuning	
2 mg/L 2,4-D + 0 mg/L Kn (D ₂ K ₀)	Intermediet	Coklat keputih- putihan	
0 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn (D ₀ K _{0,25})	-	-	
0,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn (D _{0,5} K _{0,25})	Kompak	Coklat keputih- putihan	

1 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn (D ₁ K _{0,25})	Kompak	Coklat keputih-putihan	
1,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn (D _{1,5} K _{0,25})	Kompak	Coklat	
2 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L Kn (D ₂ K _{0,25})	Kompak	Kuning keputih-putihan	
0 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn (D ₀ K _{0,5})	-	-	
0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn (D _{0,5} K _{0,5})	Kompak	Kuning keputih-putihan	
1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn (D ₁ K _{0,5})	Kompak	coklat	

1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn (D _{1,5} K _{0,5})	Kompak	Kuning keputih-putihan	
2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kn (D ₂ K _{0,5})	Kompak	Coklat keputih-putihan	
0 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn (D ₀ K _{0,75})	-	-	
0,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn (D _{0,5} K _{0,75})	Kompak	Coklat keputih-putihan	
1 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn (D ₁ K _{0,75})	Kompak	Coklat keputih-putihan	
1,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn (D _{1,5} K _{0,75})	Kompak	Kuning keputih-putihan	

2 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L Kn (D ₂ K _{0,75})	Remah	Kuning keputih-putihan	
0 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn (D ₀ K ₁)	-	-	
0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn (D _{0,5} K ₁)	Kompak	Kuning keputih-putihan	
1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn (D ₁ K ₁)	Intermediet	Kuning keputih-putihan	
1,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn (D _{1,5} K ₁)	Intermediat	Coklat keputih-putihan	
2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kn (D ₂ K ₁)	Kompak	Coklat	

Keterangan : - artinya tidak terbentuk kalus

→ Terbentuk kalus

Berdasarkan data pengamatan warna kalus secara keseluruhan warna yang didapat adalah kuning dan coklat keputih-putihan. Hendaryono dan Wijayani (1994) menjelaskan bahwa kondisi warna kalus yang bervariasi disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sumber eksplan. Dalam pembentukan kalus, kalus yang terbentuk dapat membentuk warna yang bermacam-macam antara lain putih, hijau, kuning dan coklat. Ariati (2012) menjelaskan bahwa kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas. Warna hijau pada kalus adalah kalus yang memiliki banyak klorofil (Riyadi dan Tirtoboma, 2004). Sedangkan kalus yang berwarna kuning dan coklat menurut Hendaryono dan wijayani (1994) memiliki kandungan fenol yang tinggi. Dalam penelitian dengan perlakuan kombinasi 2,4-D dan Kinetin hasil yang diperoleh kalus berwarna kuning hingga kecoklatan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Wardani (2004) dengan perlakuan 2,4-D dan kinetin pada kalus *Talinum paniculatum* mendapatkan rata-rata hasil kalus yang berwarna kuning kecoklatan.

4.6 Hasil penelitian tentang pertumbuhan kalus dalam Pandangan Islam

Penelitian mengenai pengaruh pemberian 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus nilam ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik untuk menumbuhkan kalus nilam. Pertumbuhan kalus nilam ini sangat dipengaruhi oleh keberadaan zat pengatur tumbuh yang ada didalam eksplan, Allah berfirman dalam QS.Al-Qamar ayat 49 yang berbunyi :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

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

Berdasarkan ayat tersebut kita dapat memahami bahwa segala sesuatu penciptaan yang dilakukan oleh Allah SWT telah diukur sedemikian rupa hingga semua berjalan dengan semestinya. Tidak terkecuali tanaman, pertumbuhan tanaman tentunya sudah diatur sejak awal kandungan dan komposisi zat pengatur tumbuh dalam tanam. Hal tersebut tentunya mempengaruhi hasil dari penelitian yang telah dilakukan. Dalam penelitian induksi kalus Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Bent.) ini secara garis besar hasil terbaik pertumbuhan kalus terlihat pada kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin. Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil variabel pengamatan persentase muncul kalus dan berat kalus nilai tertinggi terdapat pada perlakuan kombinasi 2,4-D 1 mg/L dan Kinetin 1mg/L. Sehingga dapat dinyatakan bahwa dengan komposisi antara auksin dan sitokinin yang seimbang akan membentuk kalus Nilam Aceh secara optimal. Pertumbuhan kalus diawali dengan pengembangan tulang tulang daun tanaman. Pengembangan ini terjadi karena nutrisi dan zat pengatur tumbuh pada media diserap oleh sel-sel tanaman sehingga sel-sel dapat membesar dan membelah. Proses ini berlangsung hingga sel-sel yang membesar membentuk bentukan kalus. Menurut Wijayani (1994) kalus merupakan massa jaringan yang tumbuh yang belum terdeferensiasi. Pertumbuhan ini umumnya bertahap, dari tahapan

pembengkakan hingga pembentukan kalus. Dalam hal ini Allah SWT telah berfirman dalam QS. Al-Insyiqaaq ayat 19 yang berbunyi:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

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

Dari ayat tersebut dapat dipahami semua pertumbuhan dan perkembangan baik manusia, hewan dan tumbuhan melalui tingkatan demi tingkatan tidak terkecuali pertumbuhan kalus. Dalam Surat Ali-Imran ayat 191 Allah SWT berfirman :

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

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

Sesungguhnya ayat inilah dasar dari segala penelitian dan perlakuan apapun yang kita lakukan di bumi ini. Tidak terkecuali peneliti yang dilakukan ini. Diakhir penelitian ini tentunya kita dapat mengambil kesimpulan bahwasannya betapa maha kuasanya Allah SWT, dimana dengan kekuasaannya dapat menumbuhkan dari benda mati dalam hal ini daun, dapat tumbuh sehingga membentuk kalus dan dapat diambil manfaatnya oleh manusia sebagai penghasil zat metabolit dalam hal ini *pachouli oil* yang dapat digunakan manusia sebagai bahan pewangi. Hal tersebut merupakan salah satu

tugas wajib bagi manusia, yaitu tugas sebagai khalifah di bumi. Allah SWT telah menitipkan bumi dan isinya kepada manusia untuk dirawat serta dimanfaatkan sesuai semestinya. Sepertihalnya penelitian mengenai kultur jaringan dapat digunakan sebagai pengembangan tanaman yang dapat diambil manfaatnya serta dapat menjaga kelestarian alam dan menjaga keseimbangan alam.





BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* berpengaruh nyata terhadap semua variabel pengamatan. Konsentrasi dengan hasil tertinggi terdapat pada konsentrasi 1 mg/L, menginduksi kalus selama 14 HST dengan persentase tumbuhan kalus 21% dan berat kalus 0,136 gr.
2. Pemberian berbagai konsentrasi kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* berpengaruh nyata terhadap persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Konsentrasi dengan hasil tertinggi pada konsentrasi 0,5 mg/L dengan persentase tumbuh kalus 20% dan berat kalus 0,11 gr.
3. Kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) secara *in vitro* memberikan pengaruh nyata terhadap persentase kalus dan berat kalus pada konsentrasi 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L Kinetin dengan persentase tumbuh kalus sebesar 45% dan berat kalus sebesar 0,36 gr, dengan rata-rata tekstur kalus kompak dan warna kalus kuning kecoklatan.

5.2 SARAN

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain:

1. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D secara individu sebaiknya tidak lebih dari 1,5.
2. Penggunaan kinetin sebaiknya lebih ditingkatkan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1985. *Dasar - dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa.
- Agusta, A. 2006. Diversitas jalur biosintesis senyawa terpena pada makhluk hidup sebagai target obat antiinfeksi. *Jurnal Biologi*. Vol. 8, Nomor 2: 141152.
- Aisyah, Y; Hastuti, P; Hidayat, C dan Sastrohamidjojo, H. 2008. Komposisi kimia dan sifat antibakteri minyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *Majalah Farmasi Indonesia* 19: 151-156
- Ajjjah, N, dkk. 2010. Induksi Kalus Vanili (*Vanilla planifolia* ANDREW.) dari eksplan dan buku. *Buletin RISTRI*. 1(5)
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap pertumbuhan dan perkembangan Tunas mikro Kantong semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara in vitro. *Skripsi program studi hortikultura Fakultas pertanian Institut Pertanian Bogor*
- Al-Jazairi, A. B. J. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- 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.
- Aprisa, R. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Dua Genotipe Mutan Jagung (*Zea mays* L.) Pada Media Dasar MS dan N6. *Skripsi*. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Ariati, S; Muslimin, W; dan Suwastika, Nengah. 2012. Induksi Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science*.1 (1) : 74-78
- Aslamyah, S. 2002. *Peran Hormon Tumbuhan dalam Memacu Pertumbuhan Algae*. Bogor. IPB
- Azriati, E; Asmeliza dan Nelfa Y. 2010. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Terhadap pemberian NAA secara In Vitro. *Jurnal Littri* 11 (2) : 31-38
- Bakhtiar, Z. Mohammad hossein dan ali sonboli. 2016. *In vitro* callus induction and micropropagation of *Thymus persicus* (Lamiaceae), an endangered medicinal plant. *Crop breeding and Applied biotechnology* 16: 48-54

- Bunrathep, S. G. B. Lockwood, T. Songsak and N. Ruangrunsi. 2006. Chemical Constituents from Leaves and Cell Cultures of *Pogostemon cablin* and Use of Precursor feeding to Improve Patchouli Alcohol Level. *Science Asia*. 32: 293-296.
- Chevallier, A. 2001 *Encyclopedia of Medicinal Plants*. Itali : GRB Editrice.
- Corinne, B. 2004. Analysis of Essential Oil of Indonesian Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) using GC/MS (EI/CI), *Journal of Essential Oil Research*. Jan/Feb.
- Daud, A. 1991. *Nilam Budidaya dan Penyulingan*. Jakarta: CV Yasaguna.
- Dewi, R.I. 2008. *Makalah Fitohormon*. Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran Bandung
- Dhalimi, A, dkk. 1998. *Sejarah dan Perkembangan Budidaya Nilam di Indonesia. Monograf V*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Dinas perkebunan Jawa Timur. 2013. Budidaya Tanaman Nilam. Pengembangan sarana dan prasarana perkebunan
- Dodd, B. 1993. *Plant Tissue Culture for Horticulture*. Schol of Life Science. Queensland University of Technology.
- Fadhilah, N, dkk. 2015. Induksi kalus *Artemisia vulgaris* L. Dengan pemberian beberapa konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(4)
- Fatmawati, A. 2008. *Kajian konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap induksi kalus tanaman Artemisia annua L. Secara in vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian UNS . Surakarta.
- George, D.E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England: Eastern Press
- Grieve, M. 2002. *A Modern Herbal Patchoulli*. www.Botanical.com
- Gunawan, I.W. 1995. *Teknik In vitro Dalam Hortikultura*. Jakarta : Penerbit Swadaya
- Habibah. 2009. Efektivitas Penambahan Elistator Asam Jasmonik dalam Peningkatan Sintesis Senyawa Bioaktif Andrografolid pada Kultur Suspensi Sel Sambiloto. *Biosaintifika* 1(1): 11-18.
- Harahap, R. A. 2005. Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida. *Tesis* Diterbitkan. Institut Pertanian Bogor

- Hasan, N.M. 2015. Pengaruh ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam beberapa pelarut organik terhadap aktivitas antioksidan dan antifungi secara *in vitro*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Hasanah, F . 2007 . Pembentukan Akar pada Stek Batang Nilam(*Pogostemon cablin* Benth.) setelah direndam IBA (*Indol Butyric Acid*) pada Konsentrasi Berbeda, *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. XV(2)
- Hayati, S.K; Nurchayati, Y; dan Setiari, Nintyana. 2010. Induksi Kalus Hipokotil Alfafa (*Medicago satifa* L.) secara *In vitro* dengan penambahan BAP dan NAA. *BIOMA*. 12 (1)
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ibnusantosa, G. 2000. *Kemandegan pengembangan minyak atsiri Indonesia. Makalah disampaikan pada seminar "Pengusaha Minyak Atsiri Hutan Indonesia"*. Fak. Kehutanan IPB Darmaga. Bogor
- Indah, P.N. 2013 . Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn). Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6- Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4- *Dichlorophenoxyatic Acid* (2,4 – D). Surabaya. *Jurnal sains dan seni pomits2* (1) : 2337 – 3520
- Intias, S. 2012. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Isda, M. N. 2009. Induksi Kalus *Centella asiatica* Melalui Aplikasi Auksin dan Sitokinin. *Jerami.i* 2(3)
- Jeong, J, B. dkk. 2013. *Patchouli alcohol*, an essential oil of *Pogostemon cablin*, exhibits anti-tumorigenic activity in human coloractal cancer cells. *International Immunopharmacology*. 16 (2).
- Kardiman, A dan L. Mauludi. (2004). *Nilam Tanaman Beraroma Wangi Untuk Industri dan Kosmetika*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Karimi, H. R. G and Mozghan yari. 2014. Effect of Different Growth Regulators on Callus Induction and Plant regeneration of *Satureja spesies*. *Sciencedomain international*. 4 (16)
- Karjadi dan Buchory A. 2008. Pengaruh komposisi media dasar, Penambahan BAP dan Pikloram terhadap induksi tunas bawang merah. *J. Hort*. 18 (1):1-9

- Kasahara. 1995. *Medical Herb Index in Indonesia*. Edisi kedua. Jakarta: PT Elsal Indonesia
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai pustaka.
- Kumianjani, E, dkk. 2015. Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Pertumbuhan dan Metabolisme Kalus Kedelai Pada Kondisi Hipoksida Secara *In vitro*. *Jurnal Agroteknologi*. 4. (1)
- Kyte, L and Kleyn, J. 1996. *Plants From Test Tubes, An Introduction To Plant Mikropropagation*. USA: Timber Press Inc
- Liao, J, dkk. 2013. Immunomodulatory potential of patchouli alcohol isolated from *Pogostemon cablon* (Blanco) Benth (Lamiaceae) in mice. *Tropical journal of pharmaceutical reasech august*. 12 (4).
- Mahadi, I. 2008. Produksi penggandaan pucuk (*Multiple shoots*) Kenerak (*Goniothalamus umbrosus* J. Sinclair) dengan menggunakan hormon kinetin dan BAP secara *In vitro*. *Dinamika Pertanian* 23: 34-36.
- Mangun, H. M. S. 2002. *Nilam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Manuhara, Y.S.W. 2001. Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L. var Marakot). Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA*. Universitas Airlangga 6(2): 127-130.
- Mariska, I. 2002. Perkembangan penelitian kultur *in vitro* pada tanaman industri, pangan dan hortikultura. *Buletin Agro Biogen* 5(2):45-50.
- Mauludi, L. dan A. Asman. 2005. *Profil Investasi Pengusahaan Nilam*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Moore, T. C. 1979. *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. Springer-Verlag. New York.
- Mulyodihardjo S. 1990. Program pengembangan penanaman atsiri di Sumatera. *Prosiding Komunikasi Ilmiah Pengembangan Atsiri di Sumatera – Balitro*.
- Musdaifah. 2017. Induksi kalus daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan kombinasi picloran dan kinetin dalam kultur *In vitro*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Nobert O, Zolta S, Be'la Da'nos. 2007. Influence of Different elicitors on the sunthesis of anthraquinone derivatives in *Rubia tinctorum* L. cell

- suspension cultures. *Science Direct. Dyes and Pigments* 77(2008): 249-257.
- Nurlelasari, D. H dan Rani Maharani. 2007. Peningkatan Kadar *Patchouli Alkohol* Pada Minyak Nilam Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Skripsi* . Jurusan Kimia FMIPA UNPAD
- Palupi, D; Solichatun dan Marlina, S.D., 2004. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) terhadap Kandungan Minyak Atsiri Kalus Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *BioSMART*. 6 (2).
- Paul, A; G. Thapa, Basu, A., Mazundar, P., Chandra Kalita, M., dan Sahoo, L. 2010. Rapid plant regeneration, analysis of genetic fidelity and essential aromatic oil content of micropropagated plants of Patchouli, *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *An industrially imprint aromatic plant. Industrial Crops and Products* 32: 366-374.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers.
- Puspitasari, A dan CJ, Soegihardjo. 2002. Optimalisasi media penumbuh kalus sebagai langkah awal upaya budidaya *In-vitro* tanaman *Vitex trifolia* L. *Majalah Farmasi Indonesia*. 13 (1)
- Puteh, A. 2004. Potensi dan Kebijakan Pengembangan Nilam di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. *Perkembangan teknologi TRO XVI*.
- Rahayu, B. Sholichatun. Anggarwulan E. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi. Vol 1 (1) :1-5*.
- Riyadi, I dan Tirtoboma. 2004. Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah. 10 (2) : 82-89*
- Romansyah. 2002. Studi Pengembangan Agroindustri Minyak Nilam (*Patchouli oil*) Skala Kecil Di Kabupaten Asahan-Sumatera Utara. *Skripsi*. Jurusan Teknik Industri. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Rubiyanto, C W., Suwanto dan Erlyna Wida Riptanti. 2011. *Analisis Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Volume Ekspor Minyak Nilam (Patchouli oil) di Indonesia*. Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Rukmana, Rahmat, 2003. *Nilam Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya*. Penerbit Kanisius Yogyakarta

- Santoso, H. B. 1991. *Bertanam nilam bahan industri Wewangian*. Yogyakarta : Kanisius.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press
- Scragg, A.H. 1997. *The Production Of Aromatis by Plant Cell Culture*. England: Faculty of Applied Biology, University of the West of England.
- Shihab, M. Q. 2001. *Tafsir Al Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholikhah, Li. 2014. Pengaruh Fe²⁺ pada media MS dengan penambahan 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap perkembangan dan kandungan metabolit sekunder asiaticosida dan madekasosida kalus pegagan (*Centella asiatica* L.Urban). *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Su, Z.Q; Xiao. L.We; Mei, J.B., Chu, W.L. & Song Z.K. 2014. Isolation of (-) Patchouli Alcohol from Patchouli Oil by Fractional Distillation and Crystallization. *Tropical Journal Pharmaceutical Research March 2014*. 13(3). 359-363.
- Sudarmadji, 2003. Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara *in vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*. 8 (1):8-10.
- Sumarni, N, B, A, dan Solekan. 2008. Pengaruh Volume Air dan Berat Bahan pada Penyulingan Minyak Atsiri. *Jurnal Teknologi*. 1 (1).
- Swamy, M, K and Uma Rani Sinniah. 2015. A Comprehensive Review on the Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Pogostemon cablin* Benth.: An Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. *Molecules*. 20, 8521-8547, ISSN 1420-3049.
- Trimulyono, G; Solichatun dan M. S. Dewi. 2004. Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Perlakuan Asam α -Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2 (1): 9-14, ISSN:1693-224
- Wardani, D. P dan Solichatun, A. D. S. 2004. Pertumbuhan dan produksi kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaertn pada variasi penambahan Asa 2,4 Diklorofenoksi asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2 (1):35-43
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor : Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB

- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Yang, Y. Kinoshita, K. Dkk. 1999. Anti emetic principles of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Phytomedicine*. 6 (2).
- Yelinititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah Dari Daun Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 6 (3) : 181-194
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga* .Yogyakarta : Andi
- Yuwono, T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Hari Muncul Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kn	1	2	3		
1	0	0	31	31	31	93	31
2	0,5		31	17	16	64	21,3
3	1		17	31	18	66	22
4	1,5		14	14	16	44	14,6
5	2		14	15	13	42	14
6	0	0,25	31	31	31	93	31
7	0,5		14	16	16	46	15,3
8	1		14	16	16	46	15,3
9	1,5		16	13	13	42	14
10	2		14	17	18	49	16,3
11	0	0,5	31	31	31	93	31
12	0,5		14	13	14	41	13,6
13	1		17	18	18	53	17,6
14	1,5		15	16	15	46	15,3
15	2		15	16	16	47	15,6
16	0	0,75	31	31	31	93	31
17	0,5		17	16	16	49	16,3
18	1		15	15	15	45	15
19	1,5		14	15	15	44	14,6
20	2		15	14	15	44	14,6
21	0	1	18	31	31	80	26,6
22	0,5		17	16	31	64	21,3
23	1		13	15	13	41	13,6
24	1,5		15	15	15	45	15
25	2		15	14	17	46	15,3
Total Ulangan			458	477	481		

2. Data Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kn	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,5		0	10	15	25	8,3
3	1		10	0	15	25	8,3
4	1,5		10	20	10	40	13,3
5	2		15	5	15	35	11,6
6	0	0,25	0	0	0	0	0
7	0,5		15	10	15	40	13,3
8	1		20	10	10	40	13,3
9	1,5		20	15	15	50	16,6
10	2		15	15	15	45	15
11	0	0,5	0	0	0	0	0
12	0,5		10	60	20	90	30
13	1		15	15	15	45	15
14	1,5		25	20	15	60	20
15	2		20	20	40	80	26,6
16	0	0,75	0	0	0	0	0
17	0,5		15	25	15	55	18,3
18	1		20	25	25	70	23,3
19	1,5		20	30	35	85	28,3
20	2		50	20	20	90	30
21	0	1	5	0	0	5	1,6
22	0,5		5	15	0	20	6,6
23	1		45	20	70	135	45
24	1,5		15	20	20	55	18,3
25	2		20	15	5	40	13,3
Total Ulangan			370	370	390		

3. Data Pengamatan Berat Kalus

No	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	rata-rata
	2,4-D	Kn	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0,00	0
2	0,5		0	0,04	0,08	0,12	0,04
3	1		0,04	0	0,06	0,10	0,03
4	1,5		0,09	0,1	0,06	0,25	0,08
5	2		0,04	0,08	0,06	0,18	0,06
6	0	0,25	0	0	0	0,00	0
7	0,5		0,08	0,07	0,06	0,21	0,07
8	1		0,07	0,05	0,06	0,18	0,06
9	1,5		0,1	0,16	0,08	0,34	0,11
10	2		0,16	0,16	0,02	0,24	0,08
11	0	0,5	0	0	0	0,00	0
12	0,5		0,16	0,2	0,12	0,48	0,16
13	1		0,08	0,09	0,07	0,24	0,08
14	1,5		0,18	0,16	0,14	0,48	0,16
15	2		0,12	0,1	0,12	0,34	0,11
16	0	0,75	0	0	0	0,00	0
17	0,5		0,08	0,12	0,08	0,28	0,09
18	1		0,12	0,16	0,18	0,46	0,15
19	1,5		0,15	0,18	0,15	0,48	0,16
20	2		0,16	0,18	0,16	0,50	0,16
21	0	1	0,02	0	0	0,02	0,006
22	0,5		0,08	0,06	0	0,14	0,04
23	1		0,26	0,15	0,54	0,95	0,31
24	1,5		0,16	0,14	0,09	0,39	0,13
25	2		0,12	0,12	0,02	0,26	0,08
Total Ulangan			2,27	2,22	2,15		

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

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2791,253 ^a	24	116,302	10,522	,000
Intercept	26734,080	1	26734,080	2418,644	,000
D	2454,320	4	613,580	55,511	,000
KN	56,453	4	14,113	1,277	,292
D * KN	280,480	16	17,530	1,586	,108
Error	552,667	50	11,053		
Total	30078,000	75			
Corrected Total	3343,920	74			

a. R Squared = ,835 (Adjusted R Squared = ,755)

b. Uji Lanjut DMRT 5% hari muncul kalus perlakuan 2,4-D

HMK

Duncan^{a,b}

D	N	Subset		
		1	2	3
1,5	15	14,7333		
2	15	15,2000	15,2000	
1	15	16,7333	16,7333	
0,5	15		17,6000	
0	15			30,1333
Sig.		,126	,066	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11,053.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

b. Alpha = ,05.

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9124,667 ^a	24	380,194	4,224	,000
Intercept	17025,333	1	17025,333	189,170	,000
D	4331,333	4	1082,833	12,031	,000
KN	1434,667	4	358,667	3,985	,007
D * KN	3358,667	16	209,917	2,332	,012
Error	4500,000	50	90,000		
Total	30650,000	75			
Corrected Total	13624,667	74			

a. R Squared = ,670 (Adjusted R Squared = ,511)

b. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% terhadap persentase pertumbuhan kalus perlakuan 2,4-D

PK

Duncan

D	N	Subset	
		1	2
0	15	,3333	
0,5	15		15,3333
2	15		19,3333
1,5	15		19,3333
1	15		21,0000
Sig.		1,000	,142

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 90,000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

b. Alpha = ,05.

c. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% terhadap persentase pertumbuhan kalus perlakuan Kinetin

PK

Duncan

KN	N	Subset		
		1	2	3
0	15	8,3333		
0,25	15	11,6667	11,6667	
1	15		17,0000	17,0000
0,5	15		18,3333	18,3333
0,75	15			20,0000
Sig.		,341	,074	,420

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 90,000.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.
b. Alpha = ,05.

d. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% terhadap persentase pertumbuhan kalus perlakuan kombinasi 2,4-D dan Kinetin

PK

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
D0K0	3	,0000					
D0K0,25	3	,0000					
D0K0,5	3	,0000					
D0K0,75	3	,0000					
D0K1	3	1,6667	1,6667				
D0,5K1	3	6,6667	6,6667	6,6667			
D0,5K0	3	8,3333	8,3333	8,3333	8,3333		
D1K0	3	8,3333	8,3333	8,3333	8,3333		
D2K0	3	11,6667	11,6667	11,6667	11,6667	11,6667	
D1,5K0	3	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	
D0,5K0,25	3	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	
D1K0,25	3	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	
D2K1	3	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	13,3333	

D2K0,25	3	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000	
D1K0,5	3	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000	
D1,5K0,25	3	16,6667	16,6667	16,6667	16,6667	16,6667	
D0,5K0,75	3	18,3333	18,3333	18,3333	18,3333	18,3333	
D1,5K1	3	18,3333	18,3333	18,3333	18,3333	18,3333	
D1,5K0,5	3		20,0000	20,0000	20,0000	20,0000	
D1K0,75	3			23,3333	23,3333	23,3333	
D2K0,5	3				26,6667	26,6667	
D1,5K0,75	3					28,3333	28,3333
D0,5K0,5	3					30,0000	30,0000
D2K0,75	3					30,0000	30,0000
D1K1	3						45,0000
Sig.		,057	,055	,081	,055	,056	,053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

3. Analisis ANAVA dan DMRT 5% berat kalus

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,448 ^a	24	,019	4,928	,000
Intercept	,615	1	,615	162,338	,000
D	,176	4	,044	11,636	,000
KN	,073	4	,018	4,843	,002
D * KN	,198	16	,012	3,272	,001
Error	,189	50	,004		
Total	1,252	75			
Corrected Total	,637	74			

a. R Squared = ,703 (Adjusted R Squared = ,560)

b. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% berat kalus perlakuan 2,4-D

BK

Duncan

D	N	Subset		
		1	2	3
0	15	,0013		
0,5	15		,0840	
2	15		,1013	,1013
1,5	15		,1293	,1293
1	15			,1367
Sig.		1,000	,061	,144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,004.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.
- Alpha = ,05.

c. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% berat kalus perlakuan Kinetin

BK

Duncan

KN	N	Subset		
		1	2	3
0	15	,0433		
0,25	15	,0647	,0647	
0,5	15		,1047	,1047
0,75	15			,1147
1	15			,1253
Sig.		,347	,081	,392

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,004.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.
- Alpha = ,05.

d. Hasil Uji Lanjut DMRT 5% berat kalus perlakuan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin

BK

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
D0K0	3	,0000					
D0K0,25	3	,0000					
D0K0,5	3	,0000					
D0K0,75	3	,0000					
D0K1	3	,0067					
D1K0	3	,0333	,0333				
D0,5K0	3	,0400	,0400	,0400			
D0,5K1	3	,0467	,0467	,0467	,0467		
D2K0	3	,0600	,0600	,0600	,0600	,0600	
D1K0,25	3	,0600	,0600	,0600	,0600	,0600	
D0,5K0,25	3	,0700	,0700	,0700	,0700	,0700	
D2K0,25	3	,0800	,0800	,0800	,0800	,0800	
D1K0,5	3	,0800	,0800	,0800	,0800	,0800	
D1,5K0	3	,0833	,0833	,0833	,0833	,0833	
D2K1	3	,0867	,0867	,0867	,0867	,0867	
D0,5K0,75	3	,0933	,0933	,0933	,0933	,0933	
D2K0,5	3	,1133	,1133	,1133	,1133	,1133	
D1,5K0,25	3	,1133	,1133	,1133	,1133	,1133	
D1,5K1	3		,1300	,1300	,1300	,1300	
D1K0,75	3		,1533	,1533	,1533	,1533	
D1,5K0,5	3			,1600	,1600	,1600	
D1,5K0,75	3			,1600	,1600	,1600	
D2K0,75	3				,1667	,1667	
D0,5K0,5	3					,1700	
D1K1	3						,3567
Sig.		,070	,053	,054	,054	,077	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 3. Gambar hasil penelitian



Keterangan :  = menunjukkan adanya kalus

Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stok

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

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

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

- b. Larutan stokl Kinetin 100 ppm dalam 100 ml

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

Lampiran 5. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

1. Perlakuan Pemberian 2,4-d

a. Konsentrasi 0,5 mg/L

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

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

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

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

b. Konsentrasi 1 mg/L

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

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

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

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

c. Konsentrasi 1,5 mg/L

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

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

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

$$V_1 = 1,5 \text{ ml}$$

d. Konsentrasi 2 mg/L

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

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

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

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pemberian Kinetin

a. Konsentrasi 0,25 mg/L

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

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 0,25 \times 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0,25 \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

b. Konsentrasi 0,5 ppm

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

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

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

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

c. Konsentrasi 0,75 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,75 \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,75 \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

d. Konsentrasi 1,00 ppm

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

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

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

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

Lampiran 6. Alat-alat Penelitian



Autoklaf



Oven



Laminar air flow



Timbangan analitik

Hot plate

Kompor



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

Mikropipet dan tip

pH meter

Lampiran 7. Bahan-Bahan Penelitian



Tanaman Nilam



Bayclin



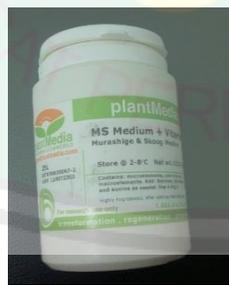
Alkohol



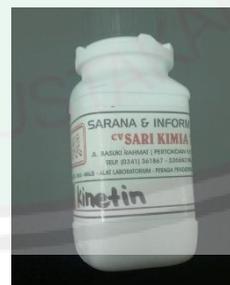
ZPT 2,4-D



Antiseptik



Media MS



ZPT Kinetin



Agar-agar



Gula pasir

HCl dan NaOH

Karet, plastik, label

Lampiran 8. Foto Kegiatan**Proses Sterilisasi Eksplan**Pencucian
detergenPencucian
antiseptikPencucian
cloroxSterilisasi
alkohol**Proses Inisiasi Eksplan dan Pengamatan**

Persiapan inisiasi



Proses inisiasi

Proses pengamatan
berat kalus



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ari Mushtofa
 NIM : 13620111
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA 2017/2018
 Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.P
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian 2,4 D (2,4 Dichloropenoxyacetic acid) dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Nilam varietas sidikalang (*Pogon temon Cablin Benth.*) Melalui Teknik *In Vitro*

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TD PEMBIMBING
1.	10-02-2017	ACC Judul Skripsi	1.
2.	20-02-2017	Revisi Judul Skripsi	2.
3.	28-02-2017	Konsultasi BAB I	3.
4.	15-03-2017	Konsultasi BAB I dan BAB II	4.
5.	22-03-2017	Konsultasi BAB I, II dan III	5.
6.	12-04-2017	Revisi BAB I, II dan III	6.
7.	20-04-2017	ACC BAB I, II dan III	7.
8.	02-11-2017	Konsultasi Hasil Data Pengamatan	8.
9.	10-11-2017	Konsultasi Analisis Data	9.
10.	20-11-2017	Konsultasi BAB IV	10.
11.	24-11-2017	Revisi BAB IV	11.
12.	27-11-2017	Revisi BAB IV	12.
13.	30-11-2017	ACC BAB IV	13.
14.	01-12-2017	Konsultasi BAB V	14.
15.	05-12-2017	ACC Skripsi	15.

Pembimbing Skripsi,

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



Malang, 03 Januari 2018
 Ketua Jurusan

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