

PENGARUH PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) DAN BAP (*6-Benzil Amino Purin*) TERHADAP INDUKSI KALUS METABOLIT DELIMA HITAM (*Punica granatum* L. var.) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh :
EMILIA UMROTIN
NIM. 14620005



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

2018

PENGARUH PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) DAN BAP (*6-Benzil Amino Purin*) TERHADAP INDUKSI KALUS METABOLIT DELIMA HITAM (*Punica granatum* L. var.) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh :

EMILIA UMROTIN

NIM. 14620005

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)

MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

PENGARUH PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) DAN BAP (*6-Benzil-Amino Purin*) TERHADAP INDUKSI KALUS METABOLIT DELIMA HITAM (*Punica granatum* L. Var.) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh :

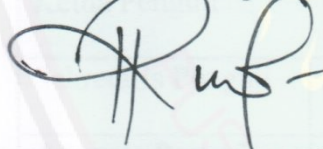
EMILIA UMROTIN

NIM. 14620005

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal: 28 Juni 2018

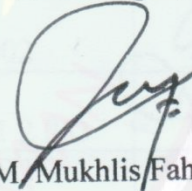
Pembimbing I,



Ruri Siti Resmisari, M.Si

NIDT. 19790123 20160801 2 063

Pembimbing II,

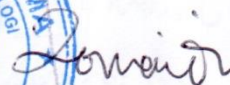


M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

NIPT. 20142011409

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) DAN BAP (*6-Benzil Amino Purin*) TERHADAP INDUKSI KALUS METABOLIT DELIMA HITAM (*Punica granatum* L. Var.) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

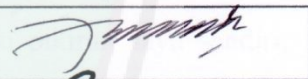
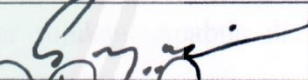
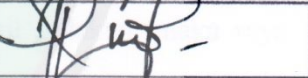
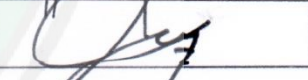
Oleh :

EMILIA UMROTIN

NIM. 14620005

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

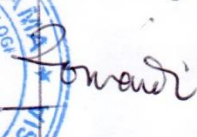
Tanggal: 28 Juni 2018

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

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Emilia.Umrotin

NIM : 14620005

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA
(*Naphtalene Asetic Acid*) Dan BAP (6-Benzil Amino Purin)
Terhadap Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica
granatum* L. var.) Secara *In Vitro*

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

Malang, 5 Juli 2018



at pernyataan,

Emilia Umrotin
NIM. 14620005

MOTTO

“ Nek Ora Iso Dadi Uwong Alim, Moko Dadio Uwong Sing ISTIQOMAH “

**“ Ilmu itu penting tapi cara mencari ilmu itu lebih penting, maka apabila ingin
ilmu itu bermanfaat, berta’dzimlah kepada guru “**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah, tiada kata terindah selain syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga saya dapat menimbah sebagian ilmu-Nya ini. Sholawat serta salam tetap terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

Kedua orang tuaku, Bapak Sholihin dan Ibu Atik Imama yang tiada hentinya memberikan dukungan, motivasi, semangat, nasihat, dan juga do'a yang selalu dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta Adikku, M. Azmi Chariri yang menjadi salah satu motivasiku dan selalu cinta kepadaku.

Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk sahabat-sahabatku, Raesita, Ikrima, Hidah, Novi, Bella, Mufit, Andy, Badrul, Faizal, dan Nukman yang telah menjadi keluarga kecilku dengan selalu memberi dukungan dan semangat dalam setiap langkahku menimbah ilmu hingga pada titik saat ini.

Terimakasih sebanyak-banyaknya pula kepada sahabatku Sakhou Shofi dan Nurul izatul Adnin yang selalu ada disaat suka maupun duka dan selalu sabar dalam memberikan semangat maupun motivasi kepadaku, sehingga tercapailah pada cita-citaku menyelesaikan skripsi ini pada tepat waktu.

Teruntuk teman-teman KJT Squad khususnya Miftah, Maslahah, Masluhah, Monik, Endah, Ana, Mas Berry (selaku sesepuh), Mas Putro (selaku sesepuh), Mbak Dian (selaku sesepuh), Mbak Ismi (selaku sesepuh), tak lupa juga kepada Alya, Nada, Nurul dan juga seluruh teman-teman seperjuanganku Biologi 14, terimakasih yang sebanyak-banyaknya telah memberikan motivasi, semangat dan membantu selama penelitian berlangsung. Dan juga monster Fu'din yang telah sabar memberikan ilmu dan bantuannya serta semangat motivasi, sehingga tercapailah hingga proses pembuatan skripsi ini selesai.

Tak lupa kepada pengasuh PPTQ Nurul Furqon Malang, KH. Chusaini Al-Hafidz dan Ibu Nyai Wardah. Terimakasih karena telah memberikan semangat dan doa yang tiada henti kepada para santrinya dan telah memberi kesempatan kepadaku untuk menimbah ilmu selama di pondok. Tak lupa pula kepada seluruh anggota kamar zaenab al-jahsyi yang selalu membuat dan menghiasi kamar dengan canda dan tawa sehingga menjadikanku terhibur dikala aku penat atau mulai lelah dalam berjuang.

Serta semua pihak yang tak bias kusebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua. Amin Ya Robbal Alamin.....

KATA PENGANTAR

Assalamu'allaikum, Wr.Wb.

Puji Syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) Dan BAP (*6-Benzil Amino Purin*) Terhadap Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum L. var.*) Secara *In Vitro*”**. Sholawat serta salam tetap tucurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Yang telah membawa cahaya penerangan bagi peradaban, salah satunya melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Penulis juga haturkan ucapan terimakasih seiring do'a 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.S, 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. drh. Bayyinatul Mukhtaromah, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan motivasi, nasihat, dan pengarahan.
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 Sholihin dan Ibu Atik Imama serta adik M. Azmi Hariri yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh teman-teman Biologi 2014 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 juga 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 pembacanya. *Amin Ya Robbal Alamiin*

Wassalamu'allaikum Wr.Wb.

Malang, 5 Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian	11
1.4 Manfaat Penelitian	11
1.5 Hipotesis	12
1.6 Batasan Masalah	12
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 14
Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var)	14
2.1.1 Delima Hitam dalam Perspektif Islam	14
2.2 Deskripsi Tanaman Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L.)	19
2.2.1 Komposisi Kimia dan Manfaat Delima Hitam	23
2.2.2 Senyawa Ellagitanin	25
2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan (<i>In Vitro</i>)	26
2.3.1 Pengertian Kultur <i>In Vitro</i>	26
2.3.2 Prinsip Kultur <i>In Vitro</i>	28
2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kultur <i>In Vitro</i>	28
2.3.4 Kultur Kalus	32
2.4 Metabolit Sekunder	39
2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	41
2.5.1 NAA (<i>Naphtalene Asetic Acid</i>)	41
2.5.2 BAP (<i>6-benzil amino purin</i>)	42
2.5.3 Interaksi Auksin dan Sitokinin	43
 BAB III METODE PENELITIAN	 45
3.1 Rancangan Penelitian	45
3.2. Variable Penelitian	46
3.3. Waktu dan Tempat	46

3.4. Alat dan Bahan	47
3.4.1 Alat	47
3.4.2 Bahan	47
3.5. Prosedur Penelitian	47
3.5.1 Langkah Penelitian	47
3.5.1.1 Sterilisasi Alat	47
3.5.1.2 Pembuatan Stok Hormon	48
3.5.1.3 Pembuatan Media	48
3.5.1.4 Sterilisasi Ruangan	49
3.5.1.5 Sterilisasi Eksplan	50
3.5.2 Induksi Kalus Delima Hitam	51
3.5.3 Teknik Pengambilan Data	51
3.5.4 Analisis Data	52
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	54
4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var)	54
4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var)	60
4.3 Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi NAA dan BAP pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var).....	65
4.3.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi NAA dan BAP pada Media Dasar MS Terhadap Hari Muncul Kalus, Persentase, dan Berat Kalus Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var).....	65
4.3.2 Pengaruh Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP pada Media Dasar MS Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var).....	72
4.3.3 Pengaruh Pemberian Konsentrasi NAA dan BAP pada Media Dasar MS Terhadap Anatomi Kalus Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var). 80	
4.4 Integrasi Hasil Penelitian Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam dengan Pandangan atau Perspektif Islam	89
BAB V PENUTUP	94
5.1 Kesimpulan	94
5.2 Saran	95
DAFTAR PUSTAKA	96
LAMPIRAN	107

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Delima (<i>Punica granatum</i> L. var.) pohon dan buah	21
Gambar 2.2 Bunga Tanaman Delima (<i>Punica granatum</i> L. var.)	22
Gambar 2.3 Buah Delima (<i>Punica granatum</i> L. var.)	23
Gambar 2.4 Rumus bangun punigasin	25
Gambar 2.5 Beberapa tekstur tanaman jarak pagar (<i>Jatropha curcas</i> L.) dan tanaman pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	36
Gambar 2.6 Berbagai warna kalus pada eksplan jarak pagar	37
Gambar 2.7 Skema interaksi penggunaan auksin dan sitokinin dalam Teknik kultur jaringan tumbuhan.....	44
Gambar 4.1 Hubungan antara konsentrasi NAA terhadap persentase tumbuh kalus delima hitam	58
Gambar 4.2 Hubungan antara konsentrasi NAA terhadap berat kalus delima hitam	59
Gambar 4.3 Hubungan antara konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus delima hitam	62
Gambar 4.4 Hubungan antara konsentrasi BAP terhadap persentase tumbuh kalus delima hitam	63
Gambar 4.5 Hubungan antara konsentrasi BAP terhadap berat kalus delima hitam	64
Gambar 4.6 Hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus delima hitam	69
Gambar 4.7 Hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap persentase tumbuh kalus delima hitam	70
Gambar 4.8 Hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap berat kalus delima hitam	71

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan NAA dan BAP.....	46
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.).....	54
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.)	55
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.)	60
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.)	60
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.).....	65
Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L. var.)	66
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pengaruh Pemberian Kombinasi NAA Dan BAP Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L.var) pada hari ke 42 HST.....	73
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pengaruh Pemberian Kombinasi NAA Dan BAP Terhadap Anatomi Kalus Delima Hitam (<i>Punica granatum</i> L.var) pada hari ke 42 HST.....	82

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Hasil Analisis Variansi (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%	107
---	-----



ABSTRAK

Umrotin, Emilia. 2018. **Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Naa Dan Ba Terhadap Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum L. var.*) Secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci : Kalus, Kotiledon Delima Hitam (*Punica granatum L. var.*), NAA, BAP.

Delima hitam (*Punica granatum L. var.*) merupakan jenis tanaman yang banyak ditemukan pada daerah tropis ataupun subtropis dan diyakini sebagai buah asli Iran. Delima hitam telah lama dikenal dapat bermanfaat sebagai olahan obat-obatan maupun kosmetik karena kandungan metabolit sekunder yang tinggi terutama senyawa antioksidan. Metabolit sekunder dapat diperoleh melalui teknik kultur kalus dengan cara penambahan konsentrasi NAA dan BAP sehingga produksi metabolit sekunder meningkat dan dapat dijadikan titik acuan penggunaan konsentrasi ZPT yang optimal dalam meningkatkan kalus metabolit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh NAA dan BAP beserta kombinasinya dalam menginduksi kalus dari kotiledon delima hitam secara *in vitro*.

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

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian NAA dan BAP terhadap induksi kalus kompak pada eksplan kotiledon delima hitam. Konsentrasi NAA 0,25 mg/L berpengaruh nyata terhadap induksi sel kalus dengan persentase 57,666% dan berat kalus sebesar 0,3307 gr. Konsentrasi 0,5 mg/L BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus selama 16,93 HST, persentase tumbuh kalus sebesar 59,83 %, dan berat kalus sebesar 0,416 gr. Kombinasi optimal 0,25 mg/L NAA + 1 mg/L BAP mampu menginduksi kalus selama 16 HST, dengan persentase kalus 83,33 % dan berat kalus sebesar 0,0203 gr. Warna dan tekstur kalus yang dihasilkan yaitu berwarna hijau, putih kemerahan dengan tekstur kompak. Anatomi yang dihasilkan kalus metabolit delima hitam yaitu selnya rapat, vakuola banyak, mengandung pati, dan sitoplasma padat.

ABSTRACT

Umrotin, Emilia. 2018. **The Effect Of Adding Growth Regulation Hormone Of NAA (*Naphtalcine Acetic Acid*) And BAP (6-Benzyl Amino Purin) On The Induction Callus Metabolite Of Black Pomegranate (*Punica granatum L. var.*) In Vitro**. Essay. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords : Callus, Black Pomegranate Kotiledon (*Punica granatum L. var*), NAA, BAP.

The black pomegranate (*Punica granatum L. var.*) Is a plant species found mostly in tropical or subtropical regions and is believed to be a native fruit of Iran. Black pomegranate has long been known to be useful as a medicinal or cosmetic preparation because of high secondary metabolite content, especially antioxidant compounds. Secondary metabolites can be obtained through callus culture techniques by adding NAA and BAP concentrations so that secondary metabolite production increases and can be used as reference point for optimal ZPT concentration in increasing metabolite callus. The purpose of this study was to determine the effect of NAA and BAP along with its combination in inducing callus from black pomegranate cotyledons in vitro.

This study was experimental, using a complete randomized design (RAL) with 25 treatments and 3 replications. Treatment in this study were two main factors: NAA concentration included 0 mg / L, 0.25 mg / L, 0.5 mg / L, 0.75 mg / L, and 1 mg / L and BAP concentration 0 mg / L, 0.5 mg / L, 1 mg / L, 1.5 mg / L, and 2 mg / L. Data were analyzed using ANAVA Two Way test $\alpha = 5\%$. If there are significant differences then continued with Duncan Multiple Range Test (DMRT) test with 5% significant level.

The results of this study indicate that the effect of NAA and BAP on the induction of compact callus on black pomegranate cotyledon eksplan. NAA concentration 0.25 mg / L has significant effect on callus cell induction with percentage of 57,666% and callus weight 0,3307 gr. Concentration of 0.5 mg / L BAP had significant effect on callus induction for 16,93 HST, callus growth percentage was 59,83%, and callus weight 0,416 gr. The optimal combination of 0.25 mg / L NAA + 1 mg / L BAP was able to induce callus during 16 HST, with callus percentage of 83.33% and callus weight of 0.0203 gr. The color and texture of the resulting callus are green, reddish white with a compact texture. The resulting anatomy of black pomegranate metabolite callus is densely packed, vacuoles, starchy, and cytoplasmic.

خلاصة البحث

أميلية أمرة. ٢٠١٨. تأثير زيادة منظم نمو ناه *NAA* و *BAP* على الاتفاق الكالوس الرمان الأسود (*Punica granatum L. var.*) في المختبر *In Vitro*. بحث الجامعي. قسم علم الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: روري سيتي ريسميساري الماجستير و محمد مخلص فهد الدين الماجستير .

الكلمات المفتاحية : الكالوس ، الرمان الأسود (*Punica granatum L. var.*) ، *Kotiledon* ، *NAA* ، *BAP* .

الرمان الأسود (*Punica granatum L. var.*) من الأنواع النبات التي توجد كثيرا في المناطق الاستوائية أو شبه الاستوائية، ويعتقد أن يكون ثمرة الأصلي من إيران. ويعرف الرمان الأسود لتكون مفيدة كأدوية معالجة ومستحضرات التجميل نظرا لنسبة عالية من المركبات الثانوية أساسا المركبات المضادة للأكسدة *antioksidan*. ويمكن الحصول على المركبات الثانوية من خلال تقنية الثقافات الكالزس بإضافة تركيزات *NAA* و *BAP* أن زيادة إنتاج المركبات الثانوية، ويمكن استخدامها كنقطة مرجعية الاستخدام الأمثل للتركيز الموارد الوراثية النباتية في زيادة الأيض الكالوس. وكان الغرض من هذا البحث هو لمعرفة تأثير *NAA* و *BAP* وكذلك مجموعاتها من حمل الكالوس من النباتات الرمان الأسود في المختبر *in vitro*.

هذا البحث تجريبيا ، تستخدم الباحثة تصميم كامل عشوائي (*RAL*) مع ٢٥ علاج و ٣ تكررات. العلاج في هذا البحث يكون نوعين من العوامل الرئيسية، وهي: ويشمل تركيز *NAA* 0 ملغم / لتر، ٠،٢٥، ملغم / لتر، و ٠،٥ ملغم / لتر، ٠،٧٥ ملغم / ، و ١ ملغم / لتر و تركيز *BAP* 0 ملغم / لتر، ٠،٥ ملغم / لتر، ١ ملغم / لتر، ١،٥ ملغم / لتر، ٢ ملغم / ل. تم تحليل البيانات باستخدام اختبار *ANAVA Two Way*

$\alpha = 5\%$ إذا كان هناك اختلافات كبيرة ، مستمر إلى اختبار *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) مع مستوى ٥٪ مهم.

نتائج هذا البحث تشير أن تأثير *NAA* و *BAP* على تحريض الكالوس المضغوط في النباتات الرمان الأسود. تركيز *NAA* 0.25 ملغم / L تؤثر تأثيرا كبيرا على تحريض خلايا الكالوس مع نسبة ٥٧.٦٦٦٪ و يبلغ وزنه ٠.٣٣٠٧ غرام الكالس. بتركيز ٠،٥ ملغم / لتر *BAP* تتأثر كثيرا تحريض الكالس لل *HST* ١٦.٩٣ ، نسبة متزايدة من ٥٩.٨٣٪ الكالوس، والوزن الكالس من ٠.٤١٦ غرام. الجمع الأمثل لل ٠،٢٥ ملغم / لتر + 1 *NAA* ملغم / لتر *BAP* قادر على إحداث الكالوس لمدة ١٦ *HST*، مع نسبة ٨٣.٣٣٪ الكالوس والوزن الكالس من ٠.٢٠٣ غرام. يكون لون ونسيج الكالس الناتج باللون الأخضر والأبيض المحمر مع نسيج مدمج. تشريح الخلية الكالس الناتج نواتج هذا الاجتماع الرمان الأسود، العديد من الفجوات، والنشا، والسيتوبلازم الكثيفة

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan bangsa yang dikenal sebagai negara yang kaya akan warisan budaya. Warisan budaya Indonesia telah lama dikenal secara turun menurun oleh masyarakat melalui sejarah pengobatan nenek moyang terdahulu. Produk pasar herbal di Indonesia semakin tinggi dengan adanya isu global *back to nature* (Kintoko, 2006). Perkembangan peradaban manusia menyebabkan salah satu faktor penyebab meningkatnya penggunaan tanaman obat (Manoi, 2015). Lestari (2003), menjelaskan bahwa hampir 60% masyarakat menggantungkan dirinya pada pengobatan herbal melalui tumbuhan obat secara alami untuk menjaga kesehatannya. Manoi (2015), menyampaikan bahwa volume perdagangan tanaman herbal dalam bentuk jamu di Indonesia dan ekspor terbatas keluar negeri telah mencapai angka 8 triliun rupiah pada tahun 2005, hingga pada akhir tahun 2010 perdagangan meningkat hingga 10-11 triliun rupiah. Ekspor obat herbal dunia mengalami pertumbuhan sebesar 4,82% per tahun selama periode 2009-2013 (Departemen Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2014).

Hal ini membuktikan bahwa di bumi ini Allah telah menyediakan tumbuhan-tumbuhan yang baik untuk kepentingan makhlukNya, sehingga dapat berguna untuk memenuhi kebutuhan manusia sebagai obat-obatan. Sehingga melalui berbagai

macam tumbuhan baik tersebut Allah SWT menurunkan berbagai manfaat dan kegunaan yang dapat di manfaatkan oleh hamba-Nya. Firman Allah SWT pada Surah Asy-Syu'araa ayat 7, yang berbunyi :

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

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Asy-Syu'araa: 7).

Berdasarkan ayat di atas, maka dapat ditarik kesimpulan (*Zaujin kariim*) yang artinya "tumbuh-tumbuhan yang baik", berdasarkan isi potongan ayat tersebut terkandung makna bahwa, berbagai macam tanaman yang baik di muka bumi ini merupakan tanaman yang sangat bermanfaat bagi kehidupan. Pada kalimat (*Zaujin kariim*) di jelaskan pada kitab tafsir as-Showi, bahwa, Allah SWT telah menciptakan tumbuhan di bumi dengan berbagai macam jenis kemudian dari tumbuhan tersebut Allah berikan manfaat yang dapat mendatangkan suatu kebaikan bagi makhlukNya (Syihab, 2001). Salah satu jenis tanaman baik yang diduga memiliki potensi kandungan manfaat tinggi salah satunya yaitu tanaman delima.

Delima merupakan jenis tanaman yang banyak ditemukan pada daerah tropis ataupun subtropis. Delima telah lama dikenal dapat bermanfaat sebagai olahan obat-obatan maupun kosmetik (Deepika, 2010). Delima ini dianggap sebagai buah asli Iran, Pakistan dan Afganistan (Deepika, 2010). Sampai saat ini delima banyak dibudidayakan di seluruh India, Asia Tenggara, Malaysia, Afrika, Amerika Serikat (Chauhan, 2012) dan telah banyak dibudidayakan hingga di Indonesia. Hingga saat ini, berdasarkan pengelompokan warnanya, maka delima dibagi menjadi tiga varietas

yang berbeda, yakni delima merah, delima putih dan delima hitam (Khasanah, 2011). Delima merah pada umumnya banyak dimanfaatkan sebagai olahan makanan maupun minuman. Sedangkan delima putih dan hitam lebih banyak dimanfaatkan sebagai obat (Mumpuni, 2014). Khasanah (2014), menambahkan bahwa delima hitam memiliki khasiat yang lebih besar dibandingkan dengan delima putih. Selain itu Andriani (2015), menyatakan bahwa tanaman delima yang banyak digunakan sebagai tanaman yang berpotensi obat adalah jenis delima hitam yang memiliki kandungan antioksidan lebih kuat daripada delima merah maupun delima putih.

Delima hitam merupakan keanekaragaman hayati yang dimiliki di Indonesia, tumbuhan ini juga termasuk tanaman hias yang memiliki manfaat dalam dunia kesehatan. Diriwayatkan oleh Rasulullah saw. Beliau bersabda bahwa :

مَا مِنْ رَمَانَةٍ إِلَّا وَفِيهَا حَبَّةٌ مِنْ رَمَانِ الْجَنَّةِ

Artinya: “Tidak ada satu delima pun kecuali di dalamnya terdapat satu biji dari delima surga”. (*Al Jami’ Al kabir* 1/719).

Ibn Abbas r.a meriwayatkan bahwa beliau sering mengonsumsi buah delima. Suatu ketika terdapat seorang yang bertanya kepada beliau, “yaa Ibn abbas, mengapa engkau sering sekali memakan buah delima?”. “aku mendengar bahwa tidaklah pada satu buah delima, kecuali terdapat satu biji dari delima surga.” Jawab Ibn abbas r.a (*Al Jami’ Al kabir* 1:719, *Ath-Thib Nabawi* hal.219) (Sayyid, 2008).

Makna yang dapat diambil dari riwayat diatas yakni, bahwa Allah telah menurunkan keberkahan dapat buah delima. Sehingga jelas bahwa delima merupakan buah yang baik untuk dikonsumsi. Berbagai penelitian telah banyak dilakukan untuk mengetahui komposisi dan kandungan yang terdapat pada tanaman delima. Al-Qur’an

banyak menjelaskan di dalamnya tentang buah-buahan yang selain baik untuk dikonsumsi, namun juga sangat bermanfaat bagi kesehatan, sehingga mampu digunakan sebagai pengobatan terhadap suatu penyakit. Menurut Andriani (2015), keunggulan yang dimiliki oleh delima hitam yaitu kandungan senyawa bioaktif yang dihasilkan lebih tinggi dan aktivitas antioksidan relatif sedang dibandingkan dengan delima merah dan delima putih. Selain itu delima hitam memiliki rasa manis yang lebih tinggi dibandingkan dengan keduanya.

Kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalam buah delima hitam menyebabkan tumbuhan ini banyak bermanfaat bagi alternatif pengobatan. Hal yang sama disampaikan oleh Suhasini (2017), bahwa kandungan bahan aktif yang terdapat dalam tanaman delima tersebut memiliki potensi untuk obat-obatan. Boggia (2016), menjelaskan hal ini karena dikaitkan oleh kandungan fenolik yang tinggi dalam buah delima. Selain itu terdapat kandungan antioksidan yang tinggi, hidrolisis anthosianin dan tannin, terutama ellagitannin (seperti punicalagin, punicalin, pudunculagin, dan asam ellagic aglycone) juga terkandung dalam konsentrasi yang tinggi pada buah delima (Faria, 2011). Purwantini (2017) menambahkan bahwa bahan aktif yang terkandung sangat beragam yang meliputi golongan fenol, flavonoid, tanin, antosianin, vitamin C dan antioksidan. Berbagai macam turunan golongan-golongan bahan aktif tersebut tersebar pada bagian akar, pohon, daun dan buah. Faria (2011), menjelaskan bahwa, senyawa utama yang paling penting pada delima adalah asam punigasin dan asam ellagic. Dimana dua komponen tersebut merupakan bagian dari senyawa ellagitanin.

Produksi obat-obatan yang berasal dari bahan alam pada umumnya adalah dengan mengekstrak dari tanamannya secara langsung, hal ini menyebabkan kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan relatif sedikit. Hal ini dapat menyebabkan ketidak efisienan hasil dari metabolit sekunder, sehingga menimbulkan kerugian bagi pengusaha dalam skala industri. Boggia (2016), menjelaskan bahwa dalam 10 tahun terakhir, jumlah publikasi ilmiah tentang buah delima telah memberikan hasil yang menjanjikan terkait manfaat buah delima. Bahwa buah delima memiliki manfaat dalam pengobatan. Hal tersebut menimbulkan adanya keinginan yang tinggi untuk dikembangkannya tanaman ini di Indonesia dengan jumlah yang besar. Tanaman di Indonesia dari tahun-ketahun saat ini mengalami kondisi yang semakin menurun, sehingga di khawatirkan akan menyebabkan musnahnya sumberdaya hayati karena pengambilan bahan obat dari alam yang begitu besar termasuk tanaman delima hitam tersebut. Sehingga dilakukannya teknik *in vitro* sebagai produksi metabolit sekunder melalui kultur kalus. George (1984), menambahkan bahwa sebagian besar tanaman yang digunakan sebagai obat merupakan hasil produksi dari komponen kimia yang berasal dari kandungan metabolit sekunder. Melalui teknik ini, metabolit sekunder yang dihasilkan dapat berupa sel-sel yang dikembangbiakkan dalam media buatan secara aseptik.

Kultur kalus merupakan hasil pertumbuhan dari salah satu teknik kultur jaringan. Kalus merupakan proliferasi masa jaringan yang belum terdeferensiasi (Wardani, 2004). Pertumbuhan dan pembentukan kalus dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu komposisi media tumbuh dan hormon yang diberikan. Gati

(1992), menyatakan bahwa komposisi media yang digunakan dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Pada umumnya media yang digunakan dalam teknik kultur jaringan adalah jenis media dasar Murashige and Skoog (MS). Husni (1997), menyampaikan bahwa pada media MS tersebut banyak mengandung unsur garam organik daripada media kultur yang lainnya. Modifikasi media kultur dengan cara menambahkan ZPT tertentu dan dengan konsentrasi tertentu, maka dapat meningkatkan jumlah kandungan senyawa kimia pada hasil kalus yang akan di tumbuhkan (Rahayu, 2003; dan Gati, 1992). Sehingga dengan pemberian konsentrasi tertentu pada suatu eksplan akan mempengaruhi komposisi bahan penyusun enzim yang digunakan sebagai sintesis protein, maka dalam proses tersebut akan menghasilkan metabolit sekunder (Wardani, 2004).

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik *in vitro* yang dapat digunakan sebagai alternatif meningkatkan senyawa metabolit sekunder dalam jumlah besar dengan efektif, daripada melalui teknik konvensional. Melalui teknik kultur jaringan inilah faktor lingkungan dapat dikendalikan dengan mudah. Sehingga tidak dipengaruhi oleh hama penyakit, iklim, musim dan faktor yang lain (Ernawati, 1992). Teknik *in vitro* biasa digunakan sebagai teknik perbanyakan secara aseptik dengan komposisi nutrisi pada media yang tercukupi layaknya seperti pada habitatnya di tanah (Yusnita, 2003). Kondisi eksplan yang baik dan media yang tepat akan mempengaruhi keberhasilan dalam perbanyakan hasil teknik kultur jaringan (Naik, 1999).

Modifikasi media dapat dilakukan melalui pengkombinasian zat pengatur tumbuh (ZPT) yang akan digunakan sebagai bahan media tanam kultur jaringan tanaman. Kombinasi ZPT bertujuan agar dapat mempercepat pertumbuhan pada eksplan tanaman tertentu yang telah disesuaikan. ZPT merupakan senyawa organik yang disintesis oleh bagian tanaman tertentu dalam takaran kecil (10^{-6} - 10^{-5} mM) dapat menimbulkan respon yang secara biokimiawi, fisiologis, dan morfologis pada tanaman (Mattimena, 1988).

Penentu arah perkembangan pada teknik kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui pertimbangan konsentrasi ZPT dan kombinasi yang diberikan kedalam media tanam. Perbedaan konsentrasi ZPT yang diberikan akan menimbulkan perbedaan pertumbuhan pada setiap tanaman tertentu. Oleh karena itu, teknik yang digunakan dalam mempercepat pertumbuhan kalus delima memerlukan hormon tambahan selain adanya hormon endogen yang telah tersuplai pada tanaman tersebut. Kombinasi antara auksin dan sitokinin dapat memacu pertumbuhan kalus (Gunawan, 1998).

Auksin merupakan suatu jenis ZPT yang sangat berperan aktif terhadap proses pertumbuhan dan perkembangan pada suatu tanaman. Selain itu, auksin sangat berperan terhadap percepatan dalam pembelahan dan pertumbuhan sel apikal. Jenis hormon ini juga sangat berperan terhadap terjadinya pertumbuhan kalus. NAA merupakan golongan auksin sintetik yang tidak mudah mengalami reaksi oksidasi enzimatis dan tidak mudah rusak terhadap proses pemanasan selama sterilisasi. Pada media *in vitro*, NAA dapat diberikan dengan konsentrasi yang rendah (Harahap, 2011). Matsuoka (1979), menyatakan bahwa pembentukan kalus bergantung pada

konsentrasi yang diberikan. Konsentrasi auksin yang lebih rendah dapat menghasilkan kalus yaitu pada konsentrasi 0,8 mg/L dapat menghasilkan pertumbuhan kultur kalus pada daun tanaman terong (*Solanum melongena* L.).

Sementara itu, sitokinin merupakan jenis senyawa turunan dari golongan adenin. Sitokinin memiliki aktivitas utama dalam pembelahan sel, sehingga aktivitas inilah sebagai kriteria utama dalam pengelompokan jenis sitokinin itu sendiri. Pengaruh yang terjadi pada pemberian jenis sitokinin ini dikarenakan adanya tingkat sintesis protein, karena adanya kesamaan pada struktur sitokinin dengan adenine yang termasuk komponen dari DNA dan RNA. Salah satu jenis hormon sitokinin yang dapat memicu munculnya kalus adalah jenis BAP (6 – Benzil Amino Purin). BAP merupakan jenis sitokinin yang mempunyai struktur menyerupai kinetin. Oleh karena itu, hormon BAP memiliki kemampuan dalam mendorong pembentukan kalus (Harahap, 2011). Yasuda (1985), menyatakan bahwa pemberian BAP dapat memicu pertumbuhan kalus pada kultur *in vitro* kotiledon tumbuhan kopi (*Coffea arabica*) pada konsentrasi 5 μ M.

Pemberian BAP dan NAA secara bersamaan dapat menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan kalus pada jenis tanaman tertentu (Deepika, 2012). Penelitian lain pada jenis delima merah dengan menggunakan metode kultur jaringan yaitu induksi kalus melalui eksplan kotiledon dan daun dengan media MS dengan menggunakan kombinasi ZPT NAA dan BA. Konsentrasi yang digunakan adalah 1,0 mg/L BA dan 0,5 mg/L NAA (Murkute, 2002). Selain itu, menurut Bonyanpour (2013), dalam penelitiannya mendapatkan media terbaik untuk induksi kalus delima merah dengan

menggunakan eksplan kotiledon, yaitu menghasilkan kalus kompak dengan penambahan 0,2 mg/L NAA dan 1 mg/L BA. Kanwar (2010), mendapat media induksi kalus delima dengan menggunakan eksplan daun pada media MS pada kombinasi NAA dan BA masing-masing sebesar 0,4 mg/L dan 1,0 mg/L.

Berdasarkan beberapa konsentrasi yang ada dalam penelitian yang telah dilakukan, hal ini seperti pada firman Allah tentang penciptaan sesuatu sesuai dengan kadarnya masing-masing yakni pada surat Al-A'laa ayat 1-4 :

سَبِّحْ اسْمَ رَبِّكَ الْأَعْلَى . الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى . وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى . وَالَّذِي أَخْرَجَ الْمَرْعَى .

Artinya : Sucikanlah nama tuhanmu yang Maha Tinggi. Yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya). Dan yang menentukan kada (masing-masing) dan memberi petunjuk. Dna yang menumbuhkan rumput-rumputan.

Ayat di atas terdapat kata “*qaddara*” yang artinya memiliki kadar. Menurut Shihab (1996), Allah swt. telah memberikan kadar atau batasan masing-masing pada setiap diri makhlukNya. Sehingga dalam kata “kadar” tersebut Allah swt. menyimpan rahasia dibalik kata tersebut, sehingga perlunya dikaji dan dipelajari agar kita mendapatkan petunjuk atau pengetahuan terhadap kajian tersebut. Sebagaimana dalam penelitian ini, yaitu pemberian konsentrasi tertentu untuk mengetahui konsentrasi optimal dalam mendapatkan hasil kalus metabolit dengan struktur kompak melalui tumbuhan delima hitam.

Kalus metabolit memiliki karakteristik diantaranya yaitu susunan selnya kompak, rapat dan padat. Adapun warna kalus memiliki variasi menurut Hendaryono (1994) yaitu karena adanya pengaruh bagian eksplan tanaman yang akan digunakan, pengaruh pigmentasi, dan adanya kandungan fenol. Kalus yang memiliki warna

dominan pekat biasanya disebabkan oleh adanya kandungan fenol yang tinggi. Oleh karena itu, terjadi proses oksidasi dengan adanya pengaruh cahaya dan berubah menjadi kuinon fenolik. Hal ini pada hasil penelitian Duangporn (2009), pada kombinasi 2 mg/L NAA dengan 0,5 mg/L BA dapat menghasilkan kalus metabolit dengan memproduksi senyawa Phyllanthusol pada tanaman *Phyllanthus acidus*.

Berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa pentingnya pengembangan kalus metabolit sebagai peluang bidang pengobatan melalui teknik *in vitro*. Maka, dalam penelitian ini akan digunakan kombinasi NAA dan BAP untuk menginduksi kalus metabolit tanaman delima hitam (*Punica granatum* L.Var) melalui teknik *in vitro* yang akan dikombinasikan dari berbagai konsentrasi perlakuan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini diantaranya yaitu :

1. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon NAA pada media dasar MS terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. var.)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP pada media dasar MS terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. var.)?
3. Bagaimana pengaruh interaksi hormon NAA dan BAP pada media dasar terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. var.) berdasarkan morfologi dan anatominya?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini diantaranya yaitu :

1. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon NAA pada media dasar MS terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. Var.).
2. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP pada media dasar MS terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. Var.).
3. Mengetahui pengaruh interaksi hormon NAA dan BAP pada media dasar MS terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L. Var.) berdasarkan morfologi dan anatomi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diantaranya yaitu :

1. Memberikan informasi penting tentang penggunaan hormon yang efektif untuk induksi kalus metabolit sekunder delima hitam (*Punica granatum* L. Var.) secara *in vitro*.
2. Memberikan informasi bagaimana respon konsentrasi hormon beserta kombinasinya terhadap induksi kalus metabolit delima hitam (*Punica granatum* L. Var.) secara *in vitro*.
3. Dapat membedakan morfologi dan anatomi kalus metabolit melalui penelitian induksi kalus delima hitam (*Punica granatum* L. Var.), sehingga dapat digunakan sebagai produksi obat-obatan.

4. Dapat menerapkan manfaat tumbuh-tumbuhan baik yang berpotensi sebagai kesehatan dan keperluan masyarakat berdasarkan nilai-nilai islam.
5. Membangun kesadaran akan pentingnya penciptaan Allah terhadap tumbuh-tumbuhan di bumi ini sebagai salah satu penunjang kehidupan makhluk hidup.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang terdapat dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon NAA pada media dasar MS terhadap induksi kalus delima hitam (*Punica granatum* L. Var.).
2. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP pada media dasar MS terhadap induksi kalus delima hitam (*Punica granatum* L. Var.).
3. Ada pengaruh interaksi hormon NAA dan BA pada media dasar terhadap induksi kalus delima hitam (*Punica granatum* L. Var.) berdasarkan morfologi dan anatomi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah yang terdapat pada penelitian ini diantaranya yaitu :

1. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian kotiledon pada kecambah delima hitam berukuran 0,5 cm dari hasil kultur biji yang berumur ± 14 HST. (Kotiledon merupakan daun lembaga yang terbentuk dari embrio).
2. Media dasar yang diperlukan untuk perkecambahan yaitu media Murashige dan Skoog (MS) yang ditambahkan dengan sukrosa 60 gr/L (Deepika, 2012).
3. Media dasar untuk pertumbuhan kalus yaitu media Murashige dan Skoog (MS) dengan pemberian ZPT sesuai perlakuan konsentrasi.

4. Konsentrasi NAA yang digunakan yaitu 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L, dan 1 mg/L.
5. Konsentrasi BAP yang digunakan yaitu 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, dan 2 mg/L.
6. Parameter kuantitas kalus *Punica granatum* L. var. yang diamati yaitu; hari munculnya kalus, pesentase tumbuh kalus dan berat kalus.
7. Parameter kualitas kalus *Punica granatum* L. var. yang diamati yaitu; warna kalus dan tekstur kalus.
8. Parameter anatomi kalus *Punica granatum* L. var. diamati secara mikroskopis berdasarkan bentuk sel dan susunannya.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Delima Hitam (*Punica granatum* L. var.)

2.1.1 Delima Hitam dalam Perspektif Islam

Bumi dan seisinya memiliki berbagai macam ciptaan Allah SWT., yang salah satunya adalah berbagai tanaman di muka bumi ini dan manfaat yang dimilikinya. Tanaman memiliki kandungan senyawa yang beragam sehingga dapat mendatangkan manfaat dan kebaikan di dalamnya, contohnya vitamin, minyak, karbohidrat dan sebagainya. Tanaman memiliki berbagai macam spesies dan jenis yang tersebar di penjuru dunia dengan bentuk dan fungsi yang bermacam-macam. Hal berikut merupakan bentuk kasih Allah SWT terhadap hamba-hambaNya, seperti hewan dan manusia. Hal ini seperti pada Firman Allah Qur'an Surat Asy-Syuara 26 ayat 7:

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

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

Shihab (2001), menyatakan bahwa, kata (الى) pada firmanNya di awal kalimat mengartikan bahwa *apakah mereka tidak melihat kebumi*, merupakan kata yang bermakna sebagai *batas akhir*. Hal ini bertujuan untuk memperluas wawasan manusia tentang tanah dan tanaman, serta berbagai keajaiban-keajaiban yang ada pada tumbuh-tumbuhan. Kemudian pada kata (زوج) berarti sebuah pasangan, dalam hal ini pasangan yang dimaksud pada tumbuh-tumbuhan adalah

adanya alat kelamin jantan pada benang sari dan betina pada putik. Apabila benang sari jatuh tepat di atas kepada putik maka akan menyebabkan sebuah penyerbukan dan diikuti dengan pembuahan, hingga akhirnya nanti akan membentuk bakal buah berkembang menjadi buah dan menghasilkan biji. Kata (كريم) biasa digunakan sebagai penggambaran segala sesuatu yang baik pada setiap objek yang disifatinya.

Berdasarkan arti ayat diatas “*Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuh-tumbuhan baik*” yaitu bahwa Allah SWT memperingatkan keagungan dan kekuasaanNya. Hal ini apabila mereka melihat dengan hati yang suci maka niscaya mereka pasti mengetahui bahwa yang berhak disembah adalah Allah SWT., karena dengan KuasaNya maka terciptalah kebaikan tersebut (Al Qurthubi, 2009). Selain itu, atas kehendak Allah pula maka tanaman dapat ditumbuh dan biakkan menggunakan teknik kultur *in vitro* dan melalui hal ini kita sebagai manusia hanya bisa mengupayakan dengan melakukan penambahan vitamin, unsur hara makro, mikro dan zat pengatur tumbuh agar tanaman tersebut dapat tetap bertahan hidup.

Surat Asy-Syuara (26) ayat 7 ini menerangkan bahwasannya Allah memiliki Kuasa dalam menciptakan segala apapun yang ada di bumi dan seisinya. Salah satunya adalah diciptakannya berbagai jenis tumbuh- tumbuhan yang bermacam-macam manfaat yang terkandung didalamnya. Tumbuhan memiliki beragam manfaat bagi kehidupan manusia, salah satunya tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat dari segala penyakit adalah delima hitam. Delima disebutkan dalam Al-Qur’an Surat Al-An’aam (6) ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونِ وَالرُّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ
فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya : “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuhan-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan Kami keluarkan pula zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buah nya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (al-An’aam [6]: 99).

Menurut Al-Hikmah (2015), dalam tafsir ibnu katsir menafsirkan pada ayat 99 kalimat (وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً) yang artinya “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit.”, maksudnya dengan kadarnya tertentu yang menjadi berkah dan rizki bagi makhluk, serta sebagai rahmat Allah bagi seluruh makhluk-Nya. Kemudian dari kalimat (فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا) yang artinya “Lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau.”) Yaitu, tanaman-tanaman dan pepohonan yang hijau, dan setelah itu kami menciptakan di dalamnya biji-bijian dan buah-buahan. Pada Firman selanjutnya (أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونِ وَالرُّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ), yang artinya “Dan (Kami keluarkan Pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa”. Qatadah dan ulama lainnya mengatakan: “Yaitu kesamaan dalam daun dan bentuk, di mana masing-masing saling berdekatan, tetapi mempunyai perbedaan pada buahnya, baik bentuk, rasa, maupun sifatnya”. Hal tersebut jelas bahwa buah-buahan yang terdapat dalam Al-

Qur'an selain baik untuk dikonsumsi, juga memiliki manfaat yang besar bagi kesehatan tubuh hingga sebagai pengobatan terhadap suatu penyakit salah satunya adalah delima.

Allah SWT berfirman dalam surat Ibrahim ayat 52 yang berbunyi :

هَذَا بَلَاغٌ لِلنَّاسِ وَلِيُنذَرُوا بِهِ وَلِيَعْلَمُوا أَنَّمَا هُوَ إِلَهُ وَاحِدٌ وَلِيَذْكُرَ
أُولُو الْأَلْبَابِ

Artinya: “(Al Quran) ini adalah penjelasan yang sempurna bagi manusia, dan supaya mereka diberi peringatan dengan-Nya, dan supaya mereka mengetahui bahwasanya Dia adalah Tuhan Yang Maha Esa dan agar orang-orang yang berakal mengambil pelajaran.”

Ayat di atas mengandung makna bahwa Allah SWT memiliki kekuasaan atas segala sesuatu yang ada di dunia. Setelah menurunkan kepadamu Al-kitab yang bermanfaat kepada manusia, yang membimbing mereka kepada sesuatu yang memuat kebaikan dan kebahagiaan dalam persoalan agama maupun dunia, yang memuat berbagai macam kemaslahatan agar dipikirkan oleh orang-orang yang mempunyai akal, yang telah diterangi oleh Allah sanubari mereka, sehingga menempuh petunjuk dan mengikuti bimbingan-Nya dalam perbuatan-perbuatan mereka, disamping mengingat nasihat-nasihat dan larangan-larangan-Nya serta dapat mengambil pelajaran dari umat terdahulu. Sehingga, mereka tidak lagi menyalahinya dan tidak ditimpa oleh apa yang pernah menimpa umat-umat terdahulu, dan tidak dibinasakan seperti halnya mereka yang telah melakukan kedurjanaan kerusakan dimuka bumi. Al Maraghi (1993) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa manusia adalah makhluk yang diberi Allah SWT daya berfikir dan kebebasan berkehendak yang oleh karenanya, seperti diindikasikan oleh

para malaikat, manusia cenderung berbuat kerusakan di muka bumi. Maka Allah SWT memberikan anugerah kepada manusia yaitu ilmu pengetahuan, dengan itu manusia dapat mengemban amanat Allah SWT sebagai *khalifah*-Nya di muka bumi.

Manusia sebagai makhluk Allah SWT yang telah dikaruniai akal fikiran harus mampu mengemban amanat dengan sebaik-baiknya, melakukan hal-hal yang tidak bertentangan dengan peran manusia sebagai *khalifah* dan hubungan dengan Tuhannya. Sehingga dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, maka diperkenalkannya manusia untuk melakukan sebuah penelitian perkembangan. Dimana penelitian yang akan dilakukan tidak menyalahi dari koridor nilai keislaman dan menyebabkan kerusakan alam. Manusia tidak bisa membuat apa yang dibuat oleh Allah SWT dan hanya bisa mengembangkan atau melestarikan saja seperti misalnya melakukan budidaya dan perbanyakan melalui teknik kultur.

Seperti pada penelitian ini, permintaan pasar terhadap tanaman delima hitam cukup besar untuk dijadikan sebagai bahan obat dan bahan makanan. Hal ini sesuai dengan kandungan ayat Ali-Imran ayat 99, yang artinya yaitu *Allah meniptakan segala di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia*". Sehingga segala macam tanaman yang ada di muka bumi ini tak lain pasti memiliki banyak manfaat yang baik bagi makhluk hidup, termasuk manusia yang biasa menggunakan tanaman sebagai obat tradisional. Berbekal dari akal dan fikiran, manusia mampu menemukan senyawa metabolit sekunder melalui penemuan dan uji kandungan suatu tanaman. Sehingga dapat mendatangkan manfaat bagi

kesehatan masyarakat. Hal ini merupakan perwujudan dari hubungan antara manusia sebagai *khalifah* di bumi dengan penciptanya yaitu Allah SWT.

Manusia selain sebagai kholifah di bumi, manusia juga berperan sebagai ilmuwan islam yang mana dalam melakukan suatu tindakan itu harus berdasarkan pada etika di alam dan nilai-nilai keislaman. Perlakuan etis terhadap tanaman misalnya melakukan perbanyakan, menanam dan memperlakukan tanaman dengan baik. Kemudian cara-cara menggunakan tanaman untuk penelitian, zat pengatur tumbuh (hormon) dan air untuk menyiram juga harus sesuai dengan etika dan aturan islam, karena setiap makhluk di bumi ini mempunyai hak terhadap sumberdaya lingkungan. Nilai-nilai keislaman yang diperoleh berdasarkan penelitian ini, dalam perbanyakan tanaman harus memperlakukan dan memperhatikan tanaman dengan baik yaitu memberikan nutrisi dengan cukup agar tanaman mampu tubuh dengan baik. Karena tanaman merupakan ciptaan Allah yang tak lain ditumbuhkan dari setetes air yang turun dari langit, maka sudah sepatutnya manusia melestarikan dan menjaganya, sebab dari tanaman itu manusia mendapatkan sumber makanan.

2.2 Deskripsi Tanaman Delima Hitam (*Punica granatum L.*)

Delima merupakan tanaman asli yang berasal dari Persia. Tanaman ini tersebar ke seluruh dunia mulai dari daerah subtropik hingga daerah tropik. Tanaman delima in sering ditanam pada perkebunan sebagai tanaman hias, tanaman obat, atau sebagai tanaman yang dikonsumsi sebagai buah-buahan. Tanaman ini memiliki karakteristik sebagai tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi 2 – 5 meter. Daunnya berbentuk lonjong, pangkal lancip, ujung tumpul, tulang menyirip, tepi rata,

permukaan mengkilap, dengan panjang 1-9 cm, dan lebar 0,5-2,5 cm. Buahnya berbentuk buah buni, dengan bulat berdiameter 5-12 cm, warna kulit beragam sesuai dengan varietasnya, mulai dari warna kulit merah, putih dan hitam (Krismawati, 2007).

Klasifikasi tanaman Delima Hitam (*Punica granatum L.*) sebagaimana dikutip dari NCBI (2017):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnolipsida
Ordo	: Myrtales
Family	: Lythraceae
Genus	: Punica
Spesies	: <i>Punica granatum L. var.</i>

Tanaman delima termasuk jenis perdu dengan tinggi mencapai 25 meter. Batang berkayu dengan ranting bersegi, bercabang banyak, dan memiliki duri pada ketiak daun. Bunga delima berjumlah 1-5 kuntum, muncul pada setiap percabangan dan ketiak daun teratas. Warna bunga pada umumnya merah atau putih kekuningan, namun ada juga yang berwarna ungu kehitaman. Buahnya berbentuk seperti granat dengan diameter 5-12 cm. Buah ini memiliki biji yang banyak didalamnya, berbentuk bulat panjang kecil-kecil, bertekstur keras dan tersusun tidak beraturan. Pada biji memiliki bantalan arilus atau daging buah yang berwarna merah, merah jambu, atau putih dengan rasa asam manis. Buah delima berbuah sepanjang tahun. Delima biasa

digunakan sebagai tanaman obat tradisional Indonesia yang merupakan sumber antioksidan tinggi (Pratiwi, 2011).

Delima hitam pada umumnya dapat berkembang biak dengan baik pada iklim tropis. Meskipun buah delima termasuk buah yang jarang ditemui namun masih tersedia buah impor dipasaran. Delima hitam pada beberapa negara dikenal sebagai buah yang memiliki kandungan khasiat yang tinggi. Selain baik untuk kesehatan, buah ini dijadikan makanan sehat setiap hari. Buah ini terkenal dengan kandungan vitamin dan antioksidan tinggi, sehingga diyakini baik digunakan sebagai perawatan kulit dan kesehatan secara alami (Khasanah, 2011).



Gambar 2.1. Tanaman Delima (*Punica Granatum* L. var.): Pohon, dan Buah. (Andriani, 2017).

Delima hitam merupakan tanaman semak hingga pohon kecil. Buahnya berbentuk seperti granat dengan calix yang masih menempel pada buah dan memiliki warna yang pekat (Faria, 2011). Delima memiliki nilai ekonomi yang tinggi di daerah tropis maupun subtropis (Julie, 2008). Buah ini selain sebagai tanaman hias, namun seiring dengan berkembangnya penelitian menunjukkan tanaman delima tersebut

memiliki banyak khasiat dan kegunaan, terutama di bidang farmasi sebagai tanaman obat-obatan (Julie, 2008; dan Purwantini, 2017).

Delima biasa berbunga sepanjang tahun. Bunganya berbentuk tunggal dengan tangkai pendek dan muncul pada ranting paling ujung atau pada ujung-ujung ketiak daun. Bunga biasanya berjumlah satu sampai lima bunga dengan warna putih, merah sampai ungu. Warna bunga inilah yang nantinya akan menentukan warna buah delima. Delima hitam, saat buah masih muda berwarna hitam seperti busuk, namun setelah besar dan tua akan berubah menjadi warna hitam kemerahan (Rukmana, 2003).



Gambar 2.2. Bunga Tanaman Delima (*Punica Granatum* L. var.)
(Gambar Pribadi, 2018).

Biji buah deliam terlindungi oleh kulit luar yang tebal dan keras. Kulit terluar ini akan bisa pecah ketika buah telah matang atau tua. Bagian dalam buah delima apabila di belah secara membujur akan terlihat adanya delapan sekat, yang berisi biji-biji dengan berbentuk oval dan juga ada yang berbentuk pipih. Bagian buah yang sering dikonsumsi masyarakat adalah bagian yang melapisi biji atau yang disebut arilus (daging buah). Lapisan ini biasanya berwarna kemerahan, bening dan tidak

memiliki endosperma. Lapisan ini memiliki kandungan rasa manis dan sedikit masam dengan tekstur yang segar banyak terdapat kandungn air (Al-Najjar, 2013).



Gambar 2.3. Buah Delima (*Punica Granatum* L. var.) (Gambar Pribadi, 2018).

2.2.1 Komposisi Kimia dan Manfaat Delima Hitam

Delima (*Rumman*) disebutkan di beberapa tempat dalam Al-Qur'an, salah satunya yaitu pada Surat Al-An'am ayat 99 dan 141, dan surat Ar-Rahma ayat 68. Pada bagian kulit luar delima memiliki kandungan asam tanat (*Tannic Acid*) yaitu sebagai zat desinfektan. Sedangkan apabila dikonsumsi dengan cara memerasnya maka selain juga memiliki kandungan *tannic Acid* akan tetapi juga terkandung unsur gula mentol dan unsur besi dalam jumlah besar. Menurut ilmu kedokteran, delima mempunyai manfaat antara lain; mengobati diare, ambeien, pelega nafas, cacingan, radang gusi, radang lambung dan obat mata. Kandungan delima berupa gula inversi 20% (5-10% diantaranya berupa glukosa), asam sitrat (0,5-3,5%), asam borat, dan asam malat. Sehingga dari kombinasi senyawa tersebut yang menyebabkan delima berasa manis asam segar. Asam malat bermanfaat juga sebagai pelancar metabolisme karbohidrat (Khasanah, 2011).

Masyarakat pada umumnya mengenal delima karena buahnya yang berbentuk menarik, sehingga sering untuk dijadikan hidangan buah segar di meja, tanpa mengenal khasiatnya. Buah delima yang telah matang akan mengandung vitamin dan mineral yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Buah mengandung sejumlah bahan aktif yang terdiri dari senyawa annonaine, nornuciferin dan asimilobine yang berfungsi sebagai anti-depresi, epomusenin dan epomirinin, murisin yang berfungsi untuk melawan toksisitas sel kanker, dan juga sejumlah asam potensial. Pada daun, batang dan akar mengandung sejumlah turunan acetogenin, alkaloid, flavonoid, megastigmane, fenol dan cyclopeptida (Moghadamtousi, 2015).

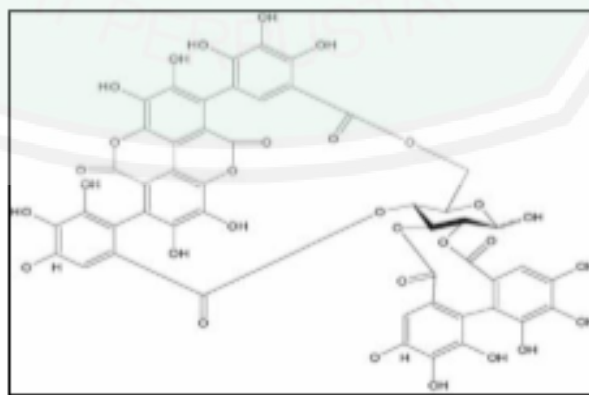
Delima mengandung sejumlah bahan aktif yang berpotensi dalam pengobatan. Bahan aktif yang terkandung sangat beragam yang meliputi golongan fenol, flavonoid, tanin, antosianin, dan vitamin C dan antioksidan. Berbagai macam turunan golongan-golongan bahan aktif tersebut tersebar pada bagian akar, pohon, daun dan buah (Purwantini, 2017).

Soemiati (2002), menambahkan bahwa pengolahan buah delima secara tradisional seperti ditumbuk dan disaring, maka seduhannya bias digunakan sebagai obat diare. Selain itu, kulit akar dan kulit batangnya berkhasiat sebagai obat sakit gigi, dan air sebusan kulit buah delima dapat digunakan sebagai obat kumur dan pengobatan gejala keputihan. Akan tetapi Andriani (2015) menjelaskan bahwa delima memiliki kandungan antioksidan tinggi. Sehingga Siahaan (2017) menyebutkan bahwa antioksidan tinggi baik untuk memelihara kesehatan kulit.

2.2.2 Senyawa Ellagitanin

Selain terdapat kandungan antioksidan yang tinggi, hidrolisis anthosianin dan tannin, terutama ellagitannin (seperti punicalagin, punicalin, pudunculagin, dan asam ellagic aglycone) juga terkandung dalam konsentrasi yang tinggi pada buah delima (Faria, 2011). Purwantini (2017) menambahkan bahwa bahan aktif yang terkandung sangat beragam yang meliputi golongan fenol, flavonoid, tanin, antosianin, vitamin C dan antioksidan. Berbagai macam turunan golongan-golongan bahan aktif tersebut tersebar pada bagian akar, pohon, daun dan buah. Faria (2011), menjelaskan bahwa, senyawa utama yang paling penting pada delima adalah asam punigasin dan asam ellagic. Dimana dua komponen tersebut merupakan bagian dari senyawa ellagitanin.

Ellagitanin merupakan bagian kecil dari tannin yang memiliki kemampuan untuk dihidrolisis menjadi asam ellagic sehingga terjadi pelepasan asam tersebut kedalam darah. Sedangkan punigasin merupakan jenis polifenol dengan memiliki berat molekul lebih dari 1000 (Faria, 2011). Rumus bangun *punigasin* disajikan pada Gambar 2.2



Gambar 2.4. Rumus bangun *punigasin* (Chengaiyah, 2010)

Tannin dan polifenol berfungsi sebagai antimikroba, antivirus, anti aterosklerotik, anticarsinogenic (Chengaiyah, 2010). Selain itu, kandungan tannin dan ellagitanin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Guo, 2003). Faria (2011), menjelaskan bahwa kapasitas antioksidan yang tinggi memiliki kemampuan sebagai antiretroviral atau mampu mencegah adanya oksigen reaktif dan penghambatan oksidasi LDL. Beberapa hasil penelitian efek farmakologis lainnya dari punica antara lain adalah : sebagai agen antiparasit (Naqvi, 1991), anti-jamur (Setyowati dkk., 1998), antiinflamasi dan antikanker (Faria, 2011), antiaging, anti-arterosklerosis, dan antioksidan (Rajan, 2011), antiantherogenik, antiploriferasi, demam, penyakit jantung, diare, maag (Anjaikumar, 2005), hipertensi, kanker prostat, kulit, paru-paru (Khan, 2009) dan antidiabet (Bektas, 2007).

2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan (*In Vitro*)

2.3.1 Pengertian Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan tumbuhan (*In Vitro*) merupakan teknik mengembangkan biakkan bagian tanaman, baik berupa jaringan, sel maupun organ yang dilakukan secara aseptik. Penggunaan ZPT (zat pengatur tumbuh) pada media kultur dengan kandungan nutrisi yang lengkap, serta kondisi lingkungan seperti suhu dan pencahayaan yang dapat dikontrol secara manual (Yusnita, 2003). Selain itu, kegunaan utama dalam teknik kultur *in vitro* ini terdiri dari dua keutamaan. Pertama, dapat diperbanyak dalam waktu yang singkat namun jumlah yang dihasilkan dapat melimpah dan seragam dengan sifat indukannya. Kedua, dapat menghasilkan bibit-bibit baru dengan kualitas yang unggul sebagai perbaikan

tanaman. Selain itu, sebagai teknik ini dapat dijadikan sebagai penciptaan tanaman baru secara efisien, dan bebas dari gangguan virus maupun cendawan (Mattjik, 2005).

Totipotensi sel merupakan dasar dari teknik kultur *in vitro*, yaitu pada setiap sel organ tanaman dapat tumbuh sebagai tanaman yang sempurna apabila lingkungannya sesuai (Yuliarti, 2010). Melalui potongan jaringan yang digunakan mampu mengadakan perbesaran, perpanjangan, dan pembelahan sel secara berkala yang nantinya akan digunakan sebagai pembentukan akar (rootlet), tunas (shootlet) dan tanaman yang lengkap (plantlet) (Azriati, 2010).

Keberhasilan metode kultur dikarenakan pengetahuan yang baik tentang kebutuhan unsur hara pada sel dan jaringan yang akan dikulturkan. Unsur hara terdiri dari dua komponen utama. Pertama, meliputi komponen garam mineral, sumber karbon (gula, vitamin dan pengatur tumbuh. Kedua, meliputi komponen senyawa nitrogen organik, asam organik, unsur metabolit, dan ekstrak tumbuhan tidak mutlak namun dapat menguntungkan bagi ketahanan sel dan perbanyakannya (Wetter dan Constabel, 1991).

Keuntungan dari teknik kultur jaringan terkait produksi senyawa metabolit sekunder dibandingann dengan teknik konvensional diantaranya ialah : (1) dalam waktu singkat dapat menghasilkan senawa metabolit sekunder secara konsisten, (2) factor lingkungan yang dapat dikendalikan secara manual, sehingga tidak terpengaruh oleh iklim, suhu, hama, dan penyakit. (3) metabolit sekunder yang

dihasilkan memiliki mutu yang lebih baik dan sistem produksinya dapat diatur kapanpun (Ernawati, 1992).

2.3.2 Prinsip Kultur *In Vitro*

Prinsip-prinsip kultur *in vitro* terdiri dari teknik perbanyakan tanaman, kondisi aseptik, dan totipotensi. Penjelasan mengenai prinsip-prinsip tersebut dapat diperhatikan sebagai berikut (Nikmah, 2017): 1) Teknik perbanyakan tanaman: Teknik kultur jaringan melakukan prinsip perbanyakan tanaman secara vegetative. (2) kondisi lingkungan yang aseptik yaitu dilakukan didalam botol steril dengan media tanam dan kondisi yang telah ditentukan, berbeda dengan teknik konvensional, (3) totipotensi yaitu pada setiap bagian tanaman dapat dikembangkan biakkan, sebab pada setiap bagian tanaman memiliki jaringan-jaringan hidup dan terus aktif membelah. Dengan demikian, sifat tanaman yang dikembangkan melalui teknik kultur akan memiliki sifat yang sama dengan induknya.

2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kultur *In Vitro*

1. Eksplan

Eksplan yang akan digunakan sebagai kultur pada umumnya berasal dari bagian meristem, batang, tunas, antera, daun, epikotil, hipokotil, kotiledon, embrio, biji, akar, atau pada bagian yang lain. Pada umumnya ukuran eksplan yang digunakan pada teknik ini sangat bervariasi sesuai dengan kebutuhan, mulai dari yang berukuran mikroskopik ($\pm 0,1$ mm) hingga makroskopik ($\pm 1-5$ cm) (Mariska, 2003).

Eksplan termasuk faktor utama dalam keberhasilan suatu teknik kultur jaringan. Diantaranya dalam memilih eksplan yang baik harus memperhatikan umur fisiologis tanaman, umur onogenetik, ukuran eksplan yang digunakan, dan bagian yang diambil merupakan hal yang harus diperhatikan dalam memilih eksplan yang baik. Pada umumnya, bagian yang digunakan sebagai kultur yaitu bagian yang masih muda atau masih aktif membelah. Jaringan yang masih muda biasanya memiliki daya regenerasi yang tinggi, sel-selnya masih aktif membelah, dan mengandung sedikit kontaminan (Yusnita, 2003).

Eksplan yang berasal dari lapangan pada umumnya banyak terkontaminasi dengan debu, kotoran-kotoran, dan berbagai organisme mikro yang hidup pada permukaan eksplan. Sterilisasi bahan tanaman yang akan dikulturkan mutlak harus dilakukan (Gunawan, 1988). Sterilisasi eksplan termasuk langkah terumit dalam proses produksi bibit baru secara kultur jaringan. Hal tersebut dikarenakan adanya berbagai macam tahap sterilisasi yang harus dilalui (Mariska, 2003).

1. Sterilisasi

Langkah penting yang harus dilalui dalam inisiasi kultur yang bebas dari kontaminan adalah proses sterilisasi. Bahan tanam yang berasal dari lapangan pada umumnya banyak terkontaminasi dengan debu, kotoran-kotoran, dan berbagai organisme mikro yang hidup pada permukaannya. Kontaminan hidup biasanya berupa cendawan, bakteri, serangga, dan telur-

telur insekta. Apabila kontaminan tersebut tidak dihilangkan, maka dapat menyebabkan pertumbuhan organisme tersebut tumbuh secara pesat, hal ini dikarenakan pada media kultur mengandung gula, vitamin, dan mineral (Gunawan, 1998).

Kontaminasi yang berangsur lama dan tidak segera ditangani, maka akan memenuhi seluruh botol dalam beberapa hari. Hal tersebut dapat menyebabkan eksplan tertutupi dan akhirnya mati. Kontaminasi tersebut dapat diatasi dengan cara sterilisasi ruang kerja (LAF), sterilisasi media dan alat-alat, serta sterilisasi eksplan (Indrianto, 2002).

2. Media Kultur

Media kultur merupakan syarat utama keberhasilan dari teknik kultur jaringan. Komposisi utama dari media kultur diantaranya ialah terdiri dari unsur hara (mikro dan makro) dan juga karbohidrat (gula) sebagai pengganti karbon yang digunakan untuk energi dalam proses fotosintesis (Gunawan, 2004). Senyawa organik dan anorganik, diantaranya seperti nutrisi makro dan mikro dengan kadar tertentu, gula, vitamin, asam amino dan juga ZPT merupakan komposisi yang digunakan dalam media dasar kultur jaringan (Santoso, 2004).

Gunawan (1988), media kultur yang baik ialah media yang mengandung segala unsur-unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman kultur. Unsur-unsur tersebut diantaranya adalah hara makro dan

mikro, glukosa (gula), vitamin, asam amino, N organik, buffer, senyawa kompleks, arang aktif, ZPT, dan agar-agar (pemadat).

Media dasar kultur jaringan yang umum digunakan adalah *Murashige and Skoog* (MS). Media ini mengandung senyawa garam amonium dan nitrat dengan jumlah besar, kedua senyawa tersebut dibutuhkan dalam proses regenerasi. Selain unsur diatas, media MS juga mengandung banyak unsur kalium (Santoso, 2002). Untuk memudahkan dalam pembuatan media biasanya dilakukan pembuatan larutan stok. Pembuatan larutan stok dari unsur hara makro mikro pada umumnya dibuat dalam konsentrasi 100 kali, sedangkan vitamin dan ZPT biasanya dibuat 1000 kali. Kemudian seluruh larutan tersebut disimpan pada ruangan bersuhu dingin hingga 10°C (Mariska, 2003).

3. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap perkembangan kultur jaringan yaitu pH, suhu, kelembaban, dan cahaya. Faktor tersebut sangat berperan dalam proses pertanaman dan proses berdiferensiasinya sel. Penggunaan pH dalam medium kultur ini sangat toleran yaitu berkisar antara 5,0-6,0. Apabila pH terlalu asam atau basa maka dapat berpengaruh terhadap berkembangnya sel-sel pada eksplan tanaman yang akan di tumbuhkan. Apabila eksplan mulai tumbuh, maka pH dalam media kultur akan naik dengan sendirinya. Keberadaan senyawa phospat dalam media sangat berperang dalam menstabilkan pH. Pengukuran pH yang digunakan dapat

dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus atau menggunakan pH meter (Gunawan, 1995).

Kegiatan dalam teknik kultur jaringan ini tak jarang yang mengalami kegagalan. Faktor yang biasa terjadi akibat gagalnya kultur jaringan yaitu adanya kontaminasi, browning, vitrifikasi dan juga nekrosis. Kontaminasi merupakan suatu gangguan yang muncul akibat adanya jenis jamur, bakteri atau virus yang menyerang media ataupun eksplan pada kultur jaringan. Browning atau pencoklatan merupakan faktor yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan, bahkan dapat menyebabkan kematian pada eksplan. Hal ini terjadi biasanya disebabkan oleh adanya pengaruh fisik maupun biokimia (memar, luka, atau senyawa fenolik) (Mariska, 2003). Vitrifikasi ialah tingkat konsentrasi pada hormon sitokinin yang tinggi, potensial matriks yang rendah, dan konsentrasi etilen dalam media meningkat. Kandungan lilin yang rendah pada media kultur disebabkan oleh tingginya kelembaban dalam wadah kultur yang tertutup rapat. Nekrosis merupakan matinya jaringan pada pucuk dan tepi daun. Terjadinya nekrosis ini diduga karena adanya defisiensi unsur hara terutama boron dan kalium (Zulkarnain, 2014).

2.3.4 Kultur Kalus

Kalus merupakan agregat besar yang berfungsi untuk menutup luka secara cepat. Kalus memiliki tekstur keras, rapuh, dan kompak. Kultur sel kalus dapat dilakukan secara *in vitro* menggunakan media agar buatan yang ditambahkan

beberapa nutrien, seperti auksin, sitokinin, vitamin, karbohidrat dan asam amino. Hampir semua tanaman baik sudah terdiferensiasi atau belum dapat tumbuh menjadi kalus, namun jaringan muda seperti kecambah (bagian hipokotil) lebih disukai karena jaringan meristem masih dalam jumlah yang banyak. Kalus yang diperoleh dapat diproses lebih lanjut menjadi kultur suspensi. Namun, jika metabolit sekunder tanaman yang diinginkan maka bentuk kalus lebih stabil daripada bentuk suspensi (Petersen dan Alfermann, 1993).

Kultur kalus merupakan salah satu tujuan dari teknik kultur jaringan untuk mengembangbiakkan massa sel yang tidak terdiferensiasi atau tidak beraturan. Tumbuhnya sel tersebut diakibatkan oleh adanya perlukaan pada sel sehingga akan mengakibatkan pembelahan yang terus menerus dan akan membesar. Kalus dapat muncul dengan cara perlukaan pada jaringan tanaman dan ditumbuhkan pada media tanam yang sesuai. Sehingga sel akan aktif membelah karena adanya rangsangan terhadap hormon endogen maupun dengan adanya ZPT yang ditambahkan pada media tanam kultur jaringan. Diferensiasi sel pada kalus dapat tumbuh menjadi jaringan atau organ tumbuhan baru melalui sel-sel yang terus membelah dan bersifat meristematic dan tidak terspesialisasi (George, 2008).

Kalus dapat diinisiasikan melalui berbagai bagian tumbuhan, akan tetapi organ tanaman yang berbeda akan memberikan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Eksplan yang baik akan menunjukkan pembelahan sel yang aktif dengan relatif lebih cepat. Bagian tanaman yang masih memiliki bagian aktif dan mudah untuk mengalami pembelahan sel dengan cepat ialah bagian yang masih

muda seperti pada embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan pucuk batang (Hartman, 1990).

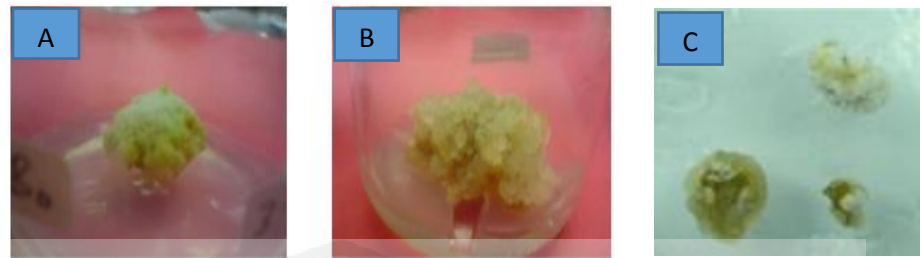
Proses terjadinya pertumbuhan kalus mulai dari eksplan tanaman hingga berubah menjadi kalus terdapat tiga tahapan yaitu, induksi, pembelahan, dan diferensiasi. Pada tahap induksi sel maka kandungan metabolisme akan aktif dan sel akan berukuran konstan atau tetap. Tahap pembelahan merupakan sel yang memiliki sifat meristematik sehingga akan mengalami pembelahan sel dengan aktif, sehingga ukuran sel akan menurun. Berakhirnya pertumbuhan kalus dapat dilihat dari meningkatnya diferensiasi pembesaran sel, sehingga tumbuhnya vakuola pada sel, dan laju pertumbuhan menurun (Alitalia, 2008). Pada fase stasioner inilah biasanya kandungan metabolit sekunder meningkat. Hal ini terjadi memungkinkan karena adanya akumulasi vakuola makanan yang meningkat. Sehingga tak jarang apabila pada fase stasioner ini sering terjadinya kematian sel akibat suplai nutrisi pada media yang mulai habis dan mengakibatkan kalus mengeluarkan akumulasi senyawa toksik dalam medium sebagai pertahanan. Pada tahap inilah diharuskan untuk dilakukannya subkultur kalus pada media yang baru (Darwati, 2007).

Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh dalam pembuatan media perlakuan, merupakan faktor utama keberhasilan dari suatu teknik kultur kalus. Auksin merupakan salah satu jenis ZPT yang berperan dalam pembentukan kalus. Diantara jenis auksin yang sering digunakan sebagai media kultur jaringan yaitu NAA, IAA, 2,4-D, dan IBA. NAA dan 2,4-D merupakan jenis auksin yang lebih

stabil dibandingkan dengan IAA, yaitu tidak mengalami penguraian terhadap jenis enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau disebabkan oleh suatu pemanasan saat proses sterilisasi. NAA termasuk jenis auksin sintetis yang tidak mengalami oksidasi enzimatis. Pada media kultur NAA dapat diberikan dalam konsentrasi rendah (Harahap, 2011). Selain pemberian auksin, pemberian sitokinin juga dapat berperan aktif dalam memicu perkembangan dan pertumbuhan kalus (Indah, 2013).

a. Tekstur Kalus

Penilaian kualitas pada suatu pertumbuhan kalus dapat dinilai melalui tekstur kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga jenis kalus, diantaranya yaitu kompak, intermediet, dan remah (Andaryani, 2010). Kalus remah dapat dibuktikan melalui mudahnya kalus yang hancur atau terpisah ketika diambil menggunakan pinset (Arianto, 2013). Kalus kompak memiliki ciri yang sulit dipisahkan ketika diambil dengan menggunakan pinset dan kalus ini mempunyai tekstur yang lebih padat atau keras. Kemudian pada kalus intermediet mempunyai tekstur kalus yang kelompok selnya sebagian ada yang bertekstur kompak dan yang lainnya remah (Lestari, 2003). Gambar beberapa contoh tekstur kalus disajikan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Beberapa tekstur kalus tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dan tanaman pegagan (*Centella asiatica*). A. kalus kompak B. kalus remah (Widyawati, 2010) C. kalus intermediet (Nazza, 2013).

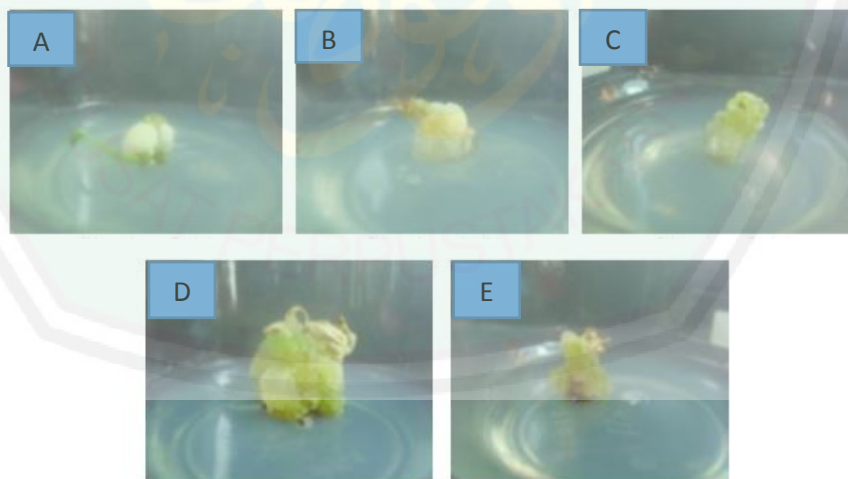
Kalus yang menghasilkan metabolit sekunder pada umumnya bertekstur kompak atau intermediet. Sedangkan pada kalus yang bertekstur remah dominan lebih sedikit kandungan metabolit sekundernya. Proses ini terjadi pada saat pertumbuhan kalus mencapai pada batas optimal atau pada fase stasioner (Lestari, 2003). Selain itu, pada kalus yang bertekstur kompak pada umumnya memiliki ukuran selnya kecil dengan sitoplasma yang padat, dan memiliki kandungan pati yang tinggi (karbohidrat) (Ariati, 2012). Sedangkan pada kalus remah akan memiliki massa proliferasi kalus lebih panjang sehingga untuk hasil dari metabolit sekunder dominan lebih sedikit dibandingkan dengan kalus yang bertekstur kompak (Lestari, 2003).

b. Warna kalus

Perbedaan warna kalus merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus dengan warna putih termasuk jenis kalus yang baik yaitu yang menandakan bahwa kalus dalam keadaan membelah. Keberadaan warna kalus menandakan adanya kehadiran klorofil, semakin hijau warna kalus maka semakin banyak kandungan klorofil dalam kalus (Dwi, 2012). Peningkatan

konsentrasi sitokinin dengan jumlah yang tinggi menyebabkan warna kalus semakin hijau. Hal ini disebabkan karena sitokinin dalam media mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, 2004). Riyadi (2004), menambahkan bahwa hadirnya warna hijau pada kalus akibat dari konsentrasi sitokinin yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi proses pembentukan klorofil.

Kalus dapat memiliki berbagai macam warna, mulai dari warna kekuningan, putih, hijau, hingga merah atau coklat akibat terpigmentasi oleh kehadiran antosianin. Warna dan tekstur kalus dapat dijadikan sebagai gambaran kalus yang masih aktif mengalami pembelahan sel atau sudah mengalami kematian. Setiap eksplan yang berbeda maka akan memiliki visualisasi warna yang berbeda pula pada kalus yang tumbuh (Indah, 2013). Gambar beberapa contoh tekstur kalus disajikan pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Berbagai warna kalus pada eksplan jarak pagar (A) kalus berwarna putih (B) kalus berwarna putihkehijauan (C) kalus berwarna hijau kekuningan (D) kalus berwarna hijau (E) kalus berwarna hijau kecoklatan (Andaryani, 2010)

Hendaryono dan Wijayani (1994), menyatakan bahwa warna kalus yang bervariasi disebabkan karena adanya pengaruh cahaya, pigmentasi dan juga bagian tanaman yang dijadikan sebagai eksplan. Kalus yang berregenerasi menjadi tunas akan mengalami perubahan warna pada kalusnya yaitu mulai dari warna kecoklatan atau kuning kemudian berubah menjadi putih kekuningan hingga berakhir berwarna kehijauan, perubahan tersebut dikarenakan adanya proses morfogeneis (Lestari, 2003).

Browning atau warna kecoklatan pada kalus biasanya disebabkan oleh adanya metabolisme senyawa fenol yang berlebih, yang biasanya terangsang akibat proses sterilisasi eksplan (Andryani, 2010). Terjadinya peristiwa browning tersebut sesungguhnya suatu proses yang alami terjadi karena adanya perubahan adaptif pada bagian tanaman karena adanya pengaruh fisik berupa pemotongan atau pengpasan. Gejala browning tersebut termasuk tanda-tanda mundurnya fisiologis pada eksplan (Rohmah, 2007).

c. Berat kalus

Berat kalus merupakan salah satu faktor yang dilakukan untuk menentukan terjadinya pertumbuhan pada kalus (Yokota, 1999). Pertumbuhan kalus sangatlah penting digunakan sebagai acuan adanya hubungan antara pertumbuhan dan akumulasi produk sekunder pada kalus. Fisiologi berat pada kalus dapat dilihat dari kandungan air dan karbohidrat yang tersuplai didalamnya. Berat basah kalus yang tinggi, disebabkan oleh adanya konsentrasi air yang tinggi. Pembelahan dan membesarnya sel yang sangat

cepat juga merupakan faktor penentu berat basah pada kalus (Rusmaningsih, 2007).

Berat kering merupakan salah satu parameter yang biasa digunakan sebagai ukuran global pertumbuhan pada kalus dengan segala peristiwa yang dialaminya. Penentuan ini didapatkan melalui dilakukannya pengeringan kalus guna menghilangkan kadar air dan menghentikan aktivitas metabolisme yang terjadi pada kalus, sehingga dapat diperoleh hasil berat yang konstan (Muryanti, 2005).

2.4 Metabolit sekunder

Kandungan metabolit sekunder pada setiap tanaman merupakan hasil dari proses metabolisme pada suatu tanaman yang bukan merupakan hasil metabolisme utama. Metabolisme tanaman tingkat tinggi memiliki hasil yang berbeda-beda. Kandungan metabolit sekunder pada setiap tanaman dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Herbet (1995), setiap makhluk hidup memiliki metabolit sekunder yang merupakan hasil dari proses metabolisme yang dibentuk melalui jalur primer seperti karbohidrat, asam amino, dan lemak. Metabolit sekunder merupakan suatu bentuk pertahanan diri pada setiap makhluk hidup.

Hasil metabolisme pada setiap makhluk hidup dibagi menjadi dua golongan, yaitu metabolisme primer dan metabolisme sekunder yang menghasilkan metabolit sekunder. Metabolisme primer pada tanaman merupakan bentuk dari fotosintesis dan respirasi bagi kehidupan tanaman. Metabolisme primer merupakan proses esensial bagi kehidupan tanaman, sedangkan metabolisme sekunder tidak merupakan proses

yang esensial bagi kehidupan tanaman. Ketidakhadiran atau hilangnya metabolisme sekunder tidak menyebabkan kematian secara langsung pada suatu tanaman, akan tetapi dapat menyebabkan berkurangnya pertahanan diri pada suatu tanaman itu sendiri (misalnya serangan hama atau serangga herbivor), ketahanan terhadap virus dan penyakit, estetika, atau bahkan tidak memberikan efek sama sekali bagi suatu tanaman (Anggarwulan, 2001). Pada awal pertanaman biasanya kandungan metabolisme sekunder belum nampak atau hanya sedikit diproduksi. Namun, pada saat menginjak fase stasioner, suatu tanaman akan mulai memproduksi metabolisme sekunder sebagai pertahanan diri (Najib, 2006).

Berdasarkan senyawa kimianya metabolit sekunder terususun dari turunan fenol. Senyawa fenol yang dihasilkan melalui metabolit sekunder dari suatu tanaman merupakan suatu kelompok hidroksi yang fungsinya sebagai cincin aromatik. Senyawa fenol dapat membantu suatu tanaman dalam melindungi diri dari serangan patogen. Selain itu, senyawa fenol dapat menarik serangga penyerbuk dan menyerap sinar radiasi UV yang berbahaya (Taiz, 2002). Mekanisme terjadinya pertahanan tanaman diantaranya yaitu ; (1) deteksi sinyal patogen, (2) aktivasi ion H^+ -ATP, (3) meningkatnya aliran kalsium kedalam sel, (4) aktivasi CDPK (Calcium dependent Protein Kinase), (5) aktivasi NADPH oksidase yang akan mengaktifkan MAP kinase, sehingga terjadinya peningkatan ekspresi gen biosintesis metabolit sekunder (Bulgakov, 2003).

2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa aktif yang dalam jumlah kecil dapat mempengaruhi fisiologi dan morfologi suatu tanaman (Wattimena, 1992). ZPT merupakan senyawa organik yang dapat pula menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara kualitatif pada konsentrasi tertentu (Davies, 2004). Dalam teknik kultur tumbuhan, terdapat dua golongan ZPT yang sangat berperan penting dalam suatu perkembangan yaitu auksin dan sitokinin. ZPT tersebut dapat mempengaruhi tumbuhan dan morfogenesis sel dan organ. Interaksi antara ZPT dengan kandungan hormon endogen sangat berpengaruh terhadap arah perkembangan suatu keberhasilan teknik kultur jaringan tanaman (Gunawan, 1998).

Zat pengatur tumbuh dapat bersifat aktif apabila penambahan ZPT tersebut tepat ukurannya pada sel target. Agar suatu ZPT dapat dikenali dan diikat oleh protein penerima dalam jaringan sasaran, maka protein penerima harus merubah bentuk metabolik tersebut sehingga mengarah pada penguatan isyarat dan mampu menimbulkan respon yang dimaksud (Salisbury, 1995). Adanya penambahan ZPT kedalam media tanam dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi ZPT endogen dari dalam tanaman. Hal tersebut menjadi faktor pemicu utama dalam proses pertumbuhan dan perkembangan suatu jaringan tumbuhan (Poonsapaya, 1989).

2.5.1 NAA (*Naphtalene Asetic Acid*)

Hormon auksin merupakan salah satu jenis ZPT yang aktivitasnya dapat mempengaruhi perkembangan sel. Golongan jenis auksin yang biasa digunakan adalah jenis auksin (2,4-D, IAA, NAA, dan IBA). NAA (*Naphtalene Asetic*

Acid) dan IAA (*Indole Asetic Acid*) merupakan jenis auksin sintetik. Pada umumnya auksin banyak digunakan pada teknik kultur jaringan sebagai perangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ tumbuhan. Jenis auksin yang biasanya digunakan pada media kultur diantaranya yaitu 2,4-D (2,4-*Dichlorophenoxy Asetic Acid*), IAA (*Indole Asetic Acid*), NAA (*Naphtalene Asetic Acid*), dan IBA (*Indolebutyric Acid*) (Gunawan, 1998).

Proses auksin terhadap perkembangan sel yakni terjadi akibat adanya peningkatan tekanan osmotik, sehingga sintesis protein naik, dan permeabilitas sel akan menjadi meningkat, sehingga dinding sel yang menjadi gerbang masuknya air kedalam sel menjadi lunak (Hendaryono, 1994). Auksin memiliki dua macam jenis, yakni auksin sebagai hormon endogen dan auksin sebagai hormon eksogen (sintetik). Auksin banyak digunakan sebagai mikropropagasi dan ditambahkan kedalam media tanam sebagai pendukung dalam pertumbuhan kalus, suspensi sel atau organ (seperti tunas, ujung akar, dan meristem) dan digunakan sebagai pengatur morfogenesis apabila dikombinasikan dengan sitokinin (George, 2008).

2.5.2 BAP atau BA (6-benzil amino purin / benzil adenin)

Hormon sitokinin adalah jenis ZPT yang sangat penting untuk mengatur pembelahan sel dan proses morfogenesis. Terdapat dua jenis golongan sitokinin sebagai regulator pertumbuhan yaitu jenis sitokinin alami (kinetin dan zeatin) dan sitokinin sintetik. Sitokinin alami didapatkan melalui jaringan yang masih aktif membelah, seperti ujung akar, embrio, dan buah. Sitokinin yang dihasilkan

oleh akar akan diangkut melalui xylem menuju sel-sel target pada batang (Gunawan, 1998).

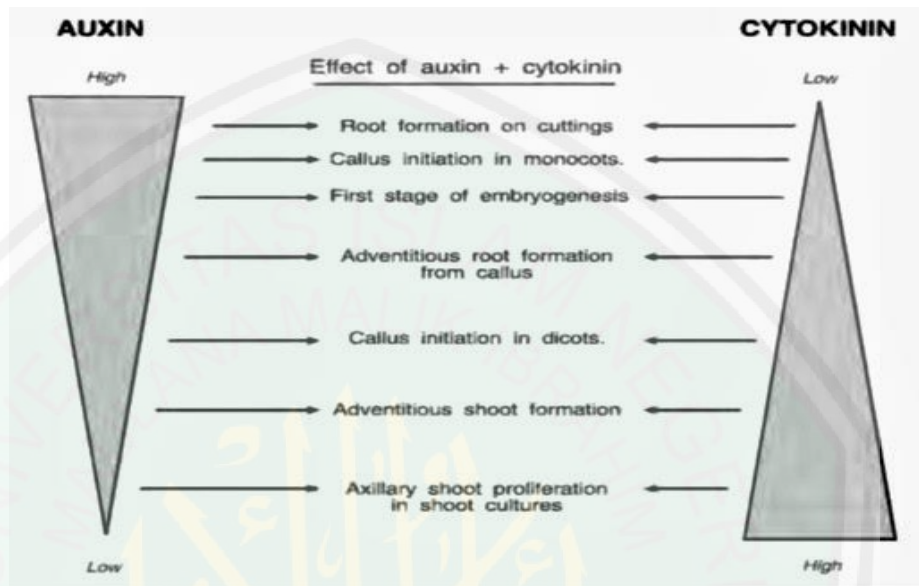
Sitokinin pada umumnya sangat berperan terhadap pertumbuhan tunas lateral, meningkatkan klorofil daun, dan memperlambat proses penuaan (senescence) pada daun, buah dan organ-organ yang lain. Sitokinin sintetik yang biasa digunakan yaitu BAP (*Benzil Amino Purin*) dan BA (*Benzil Adenin*) (Wattimena, 1992). Fungsi sitokinin tidak jauh berbeda dengan auksin, yakni dapat mempercepat pembelahan dan pertumbuhan sel tanaman. Akan tetapi peran sitokinin dapat mempengaruhi proses fisiologi pada suatu tanaman (Harahap, 2011).

Salah satu jenis ZPT dari golongan sitokinin yang umum digunakan pada teknik kultur jaringan yaitu BAP (*Benzil Amino Purin*). BAP merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya rangsangannya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman (George, 1984). Selain itu BAP memiliki struktur yang mirip dengan kinetin, sehingga mampu aktif dalam proses pertumbuhan dan proliferasi kalus (Fritz, 1983).

2.5.3 Interaksi Auksin dan Sitokinin

Interaksi antara auksin dan sitokinin yang dikombinasikan akan menimbulkan munculnya pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ, serta mengatur proses morfogenesis. Auksin pada tingkat seluler bertugas mengontrol proses dasar seperti pada pembelahan dan pemanjangan sel. Apabila auksin masih bisa menginisiasi pembelahan sel, maka tandanya bahwa auksin masih

terlibat dalam pembentukan meristem yang nantinya akan berkembang menjadi jaringan yang belum terspesifikasi membentuk suatu jaringan organ (George, 2008).



Gambar 2.7. Skema interaksi penggunaan auksin dan sitokinin dalam Teknik kultur jaringan tumbuhan (George, 2008).

Zat pengatur tumbuh yang bersifat sebagai pemicu peningkatan dalam pembelahan dan pertumbuhan sel pada suatu jaringan tanaman berasal dari golongan senyawa sitokinin. Peranan auksin dan sitokinin merupakan senyawa yang memiliki kinerja yang hampir sama, yaitu sebagai pengatur dalam pembelahan dan pemanjangan sel, diferensiasi sel, serta sebagai pembentukan organ tumbuhan. Penambahan sitokinin terhadap suatu media kultur sangatlah penting dalam proses induksi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Kedua senyawa tersebut yakni auksin dan sitokinin bekerjasama dalam meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk dan morfogenesis (Zulkarnain, 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktorial, yaitu faktor auksin, sitokinin dengan konsentrasinya. Masing-masing perlakuan dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi auksin (NAA) yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 0 mg/L (N0)
- 0.25 mg/L (N1)
- 0.5 mg/L (N2)
- 0.75 mg/L (N3)
- 1 mg/L (N4)

Konsentrasi kedua yang digunakan adalah sitokinin jenis BAP yang terdiri dari :

- 0 mg/L (B0)
- 0.5 mg/L (B1)
- 1 mg/L (B2)
- 1.5 mg/L (B3)
- 2 mg/L (B4)

Kombinasi perlakuan akan disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut :

Perlakuan		BAP (mg/L)				
NAA (mg/L)		0	0,5	1	1,5	2
	0	B0N0	B1N0	B2N0	B3N0	B4N0
	0,25	B0N1	B1N1	B2N1	B3N1	B4N1
	0,5	B0N2	B1N2	B2N2	B3N2	B4N2
	0,75	B0N3	B1N3	B2N3	B3N3	B4N3
	1	B0N4	B1N4	B2N4	B3N4	B4N4

Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan NAA dan BAP

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- 1) Variabel bebas : merupakan variabel yang terdapat pada penambahan konsentrasi NAA dan BAP yang berbeda.
- 2) Variabel terikat : merupakan variabel yang terdapat pada warna kalus, tekstur kalus, dan berat kalus pada tanaman delima hitam.
- 3) Variabel terkendali : merupakan variabel yang terdapat pada suhu, cahaya, media MS, pH, dan kelembapan.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian kultur jaringan tumbuhan ini mulai dilaksanakan pada bulan 19 Februari – 8 Juni 2018. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan (KJT), Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang diperlukan selama penelitian ini berlangsung diantaranya yaitu gelas ukur, erlemeyer, batang pengaduk, petri disk, botol kultur, scalpel, gunting, pinset, mata pisau, LAF (*Laminar Air Flow*), hot plate dan stirer, timbangan analitik, pipet tetes, mikropipet, autoklaf, bunsen, kulkas, baskom, penyemprot alkohol, kertas pH, rak kultur, AC (*Air Conditioner*), lampu, oven, plastik petromaks (tahan panas), karet, alumunium foil, plastik wrap, kertas label, tissue, spidol, pensil, penghapus, korek api, dan penggaris.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu biji delima hitam (*Punica granatum* L.var) dan kotiledon delima hitam. Bahan sterilisasi yaitu detergen, fungisida, bakterisida, aquades steril, alkohol 70% dan 96%, aquades, dan klorox. Bahan media tanam diantaranya adalah media MS (*Murashige and Skoog*), auksin (NAA), sitokinin (BAP), gula, dan agar-agar.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Langkah Persiapan

3.5.1.1 Sterilisasi Alat

Scalpel, pinset, gunting, batang pengaduk, petri disk, botol kultur mula-mula dicuci menggunakan detergen dengan bersih. Kemudian dibilas dengan menggunakan air mengalir hingga busa hilang, kemudian dikeringkan pada wadah baskom. Alat-alat logam (scalpel dan pinset) ditutup dengan menggunakan alumunium foil, kemudian petri disk di tutup dengan menggunakan kertas bekas setelah semuanya melewati proses oven selama 3 jam dengan suhu 121°C.

kemudian dilanjutkan dengan proses autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Selanjutnya alat-alat logam yang akan digunakan di dalam LAF mula-mula disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 96% dan dibakar dengan menggunakan api bunsen.

3.5.1.2 Pembuatan Stok Hormon

Pembuatan hormon stok ini bertujuan agar dapat memudahkan proses pembuatan media. Konsentrasi yang digunakan adalah 100 mg/L dalam 100 ml aquades. Langkah utama yaitu dengan menimbang NAA dan BAP sebanyak 100 mg/L kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai 100 ml dalam gelas ukur yang berbeda. Selanjutnya larutan dihomogenkan hingga tercampur rata dan dimasukkan kedalam botol masing-masing dan diberi label.

3.5.1.3 Pembuatan Media

Media yang akan digunakan dalam penelitian ini diantaranya terdapat dua macam media, yaitu media perkecambahan dan media perlakuan untuk induksi kalus delima. Media perkecambahan yaitu dengan cara memasukkan 4,43 gr media MS instan dan 60 gr sukrosa ke dalam Erlenmeyer berukuran 1 liter, kemudian ditambahkan aquades hingga volume larutan menjadi 1 liter, kemudian diaduk dengan menggunakan *hoteplate stirrer* hingga larutan homogen dan diukur pH nya apabila pH asam maka di tambahkan NaOH dan apabila pH basa maka di tambahkan HCL hingga mencapai pH 5,8-6,0. Selanjutnya di tambahkan agar 10 gr dan di tuangkan ke dalam panci, selanjutnya di panaskan diatas kompor hingga mendidih. Kemudian setelah mendidih diangkat dan di tuangkan

pada masing-masing botol kultur untuk perkecambahan sebanyak 20 ml, lalu di tutup dengan menggunakan plastik dan di beri karet hingga rapat.

Sedangkan pada media untuk induksi kalus yaitu dengan cara memasukkan 4,43 gr media MS instan dan 30 gr sukrosa ke dalam Erlenmeyer berukuran 1 liter, kemudian ditambahkan aquades hingga volume larutan menjadi 1 liter, kemudian diaduk dengan menggunakan *hoteplate stirrer* hingga larutan homogen. Selanjutnya media masing-masing di tuangkan pada botol perlakuan untuk diberikan perlakuan hormon sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian diukur pH nya apabila pH asam maka di tambahkan NaOH dan apabila pH basa maka di tambahkan HCL hingga mencapai pH 5,8-6,0. Selanjutnya di tambahkan agar 10 gr pada masing-masing media dan di tuangkan ke dalam panci, selanjutnya di panaskan diatas kompor hingga mendidih. Kemudian setelah mendidih diangkat dan di tuangkan pada masing-masing botol kultur untuk media perlakuan (kalus) sebanyak 10 ml, lalu di tutup dengan menggunakan plastik dan di beri karet hingga rapat. Disterilkan dengan autoklave pada suhu 121 °C selama 15-30 menit.

3.5.1.4 Sterilisai Ruangan

Disiapkan alat-alat *dissecting set* (scalpel, pinset, gunting) petridish dan Bunsen. Dibersihkan meja LAF dengan di semprot menggunakan alkohol 70% hingga bersih. Kemudian ditutup LAF dan di sterilkan dengan lampu UV selama 45-60 menit.

3.5.1.5 Sterilisai Eksplan

Bahan tanaman induk yang digunakan adalah buah Delima Hitam (*Punica granatum* L. Var.) yang sehat. Biji yang digunakan adalah biji yang telah dibersihkan dari daging buah yang menempel. Selanjutnya diletakkan ke dalam *beaker glass* dengan di aliri air keran selama 1-2 jam, kemudian di berikan detergen cair 3 ml dan di *hotplate stirrer* selama 30 menit, lalu dibilas menggunakan air bersih hingga 3x. Selanjutnya di tambahkan 2 gr fungisida, kemudian di *hotplate stirrer* selama 30 menit, lalu dibilas menggunakan air bersih hingga 3x. Selanjutnya di tambahkan 2 gr bakterisida, lalu di *hotplate stirrer* selama 30 menit, kemudian dibilas menggunakan air bersih hingga 3x. Selanjutnya biji di masukkan dalam LAF. Proses sterilisasi di dalam LAF yaitu dengan cara merendam biji kedalam larutan klorox 20% selama 10 menit sambil botol di goyang-goyangkan. Selanjutnya biji dibilas menggunakan air steril selama 5 menit. Kemudian biji kembali di rendam dengan menggunakan klorox 10% selama 5 menit sambil botol di goyang-goyangkan. Selanjutnya biji dibilas menggunakan air steril selama 5 menit. Selanjutnya biji kembali di rendam dengan menggunakan alkohol 70% selama 2 menit sambil botol di goyang-goyangkan. Selanjutnya biji dibilas menggunakan air steril selama 5 menit.

Biji Delima yang sudah steril kemudian ditanam pada media perkecambahan yang sudah disiapkan terlebih dahulu. Metode yang digunakan dalam perkecambahan ini adalah dengan cara memisahkan kulit biji dari embrio dengan cara membelahnya menggunakan mata pisau scalpel. Hal ini dilakukan guna untuk mempercepat proses perkecambahan pada biji. Induksi

perkecambahan biji Delima Hitam membutuhkan waktu sekitar ± 14 HST. Kemudian pada eksplan induksi kalus menggunakan bagian kotiledon dari hasil perkecambahan, maka tidak perlu menggunakan proses sterilisasi pada proses subkultur.

3.5.2 Induksi Kalus Delima Hitam

Biji delima yang telah berkecambah pada media MS tanpa ZPT berumur ± 14 HST, kemudian diambil bagian eksplan kotiledon sepanjang 0,5 cm dan disubkultur kedalam media perlakuan MS untuk induksi kalus dengan penambahan berbagai kombinasi ZPT NAA dan BAP dengan total 20 perlakuan kombinasi. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Hal ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* dan setiap langkah yang dilakukan selama kultur harus didekatkan dengan api Bunsen. Setelah selesai penanaman eksplan kemudian botol ditutup dengan plastic dan karet gelang dengan rapat. Kemudian eksplan di inkubasi selama 42 hari.

3.5.3 Teknik Pengambilan Data

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini terdapat 2 tahapan yaitu :

1. Pengamatan pertama yaitu dilakukan setiap hari untuk melihat respon pertumbuhan kalus pada setiap harinya, dan ada tidaknya kontaminasi pada eksplan.
2. Pengamatan kedua yaitu dilakukan pada akhir penelitian yaitu setelah melewati 6 minggu setelah penanaman (42 HST) yang terdiri dari :

a. Pengamatan kuantitas kalus

Parameter yang diamati untuk menunjukkan kuantitas kalus meliputi :

- Hari munculnya kalus yaitu dengan diamati perubahan eksplan membentuk kalus setiap 1 hari sekali setelah inisiasi.
- Berat kalus ditimbang dari eksplan yang berkalus (destruktif) yang didapat setiap perlakuan pada pengamatan terakhir.
- Persentase pembentukan kalus diamati pada hari terakhir dengan menghitung luasan eksplan yang berkalus. Yaitu di dapatkan melalui rumus :

$$\% \text{ Eksplan Berkalus} = \frac{\text{Luasan eksplan berkalus}}{\text{Luas eksplan}} \times 100\%$$

b. Pengamatan kualitas kalus

Parameter yang diamati untuk menunjukkan kualitas kalus meliputi :

- Warna kalus diamati melalui perubahan warna yang terjadi pada setiap kalusnya.
- Tekstur kalus diamati secara visua pada penampakan kalus yaitu kalus remah, kalus kompak, dan kalus intermediet.

3.5.4 Analisi Data

Data pengamatan yang akan dilakukan terdiri dari data kuantitatif dan data kualitatif. Data kuantitatif berupa hari munculnya kalus, berat kalus, dan persentase pembentukan kalus. Data kualitatif berupa pengamatan yang dilakukan secara visual meliputi : tekstur kalus, warna kalus dan anatomi sel kalus. Selanjutnya pada data kuantitatif akan dilakukan uji lanjut menggunakan analisis variasi (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh terhadap pemberian NAA dan BAP terhadap induksi kalus kompak delima hitam. Apabila terdapat hasil yang berbeda nyata, maka uji akan dilanjutkan menggunakan uji DMRT pada taraf 5%. Sedangkan pada data kualitatif

akan dideskripsikan melalui analisis hasil pengamatan secara visual. Pada pengamatan anatomi sel kalus menggunakan bantuan mikroskop, kemudian kalus dibuat preparat kalus dengan cara squash.

Data hasil pengamatan selain dianalisis dengan menggunakan analisis variansi, juga dianalisis menggunakan pendekatan integrasi Sains dan Islam berbabis religius. Analisis ini dikaitkan dengan sumber ayat-ayat Al-Qur'an dan Hadist sebagai pegangan umat muslim yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran dalam pandangan Islam. Analisis ini berguna sebagai petunjuk arah fungsi kebenaran penciptaan Allah yang ada di bumi ini melalui penelitian ilmuan Islam dan sebagai khalifah di muka bumi yang berakal.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA Pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. Var)

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa dengan pemberian zat pengatur tumbuh NAA dapat berpengaruh nyata terhadap induksi kalus delima hitam (*Punica granatum* L.Var) (Lampiran 1). Hasil perhitungan ANOVA disajikan dalam ringkasan tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. Var.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	3,190	3.478
Persentase Tumbuh Kalus	4.058*	3.478
Berat Kalus	4,407*	3.478

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

Hasil perhitungan ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh NAA dengan berbagai konsentrasi menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap HMK, sehingga pemberian NAA tidak berpengaruh nyata terhadap hari munculnya kalus dan tidak dilanjutkan ke uji selanjutnya. Sedangkan pada hasil yang didapat berpengaruh nyata terhadap kedua parameter pengamatan yaitu ; persentase tumbuh kalus, dan berat kalus. Hal tersebut dapat dilihat melalui nilai F hitung kedua parameter pengamatan tersebut lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel 5%.

Sehingga hal ini dapat dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% diajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. Var.)

Konsentrasi NAA (Mg/L)	Persentase Tumbuh Kalus	Berat Kalus
0	46.4286a	0.01192a
0,25	57.6667b	0.03307b
0,5	60.0667b	0.04571b
0,75	49.5000ab	0.03969b
1	59.3333b	0.03076b

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

Hasil uji DMRT 5% pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa, pemberian berbagai konsentrasi NAA dapat berpengaruh nyata terhadap parameter persentase tumbuh kalus. Pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa pada pemberian konsentrasi NAA sebesar 0,5 mg/L NAA mampu menghasilkan kalus dengan rata-rata persentase tumbuh kalus tertinggi yaitu sebesar 60,06%. Namun konsentrasi lebih efisien pada 0,25 mg/L NAA dengan hasil yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/L NAA. Hasil penelitian Matsuoka (1979) menunjukkan pada konsentrasi 0,8 mg/L NAA dapat menginduksi kalus dengan persentase 70%. Hasil penelitian berikutnya yaitu Bonyanpour (2013), menyatakan bahwa pemberian konsentrasi 0,4 mg/L pada eksplan delima merah dapat menghasilkan persentase kalus hingga 100%. (Zhang, (1991), mengatakan bahwa NAA dengan konsentrasi tinggi akan memberikan efek induksi kalus. Namun pada hasil DMRT 5% menunjukkan dengan pemberian 0,5 mg/L telah mampu menginduksi kaus, hal ini diduga kandungan auksin endogen telah

banyak terkandung di dalam eksplan delima hitam. George (2008), menambahkan bahwa

Salah satu indikator adanya ZPT dari golongan auksin berperan aktif dalam proses pembentukan kalus, sedangkan jenis auksin yang digunakan dan konsentrasi yang ditentukan akan mempengaruhi tipe pertumbuhan dan perkembangan dari suatu eksplan. Pertumbuhan dalam teknik kultur *in vitro* adalah munculnya kalus pada eksplan. Kemunculan kalus ini biasanya terjadi karena terdapat sayatan atau luka pada bagian eksplan dan respon terhadap hormon (ZPT), sehingga eksplan akan mengalami pembengkakan lalu pada bagian tersebut terjadilah pembelahan sel pada jaringan yang tidak dapat terdeferensiasikan. Munculnya kalus pada bagian yang terluka diduga karena adanya rangsangan dari jaringan pada eksplan untuk menutupi luka. George (1984), mengemukakan bahwa terbentuknya kalus dikarenakan adanya pembelahan sel pada jaringan yang dipacu oleh respon luka pada sayatan eksplan dan suplai hormon endogen atau eksogen pada eksplan.

Leon, (2001) mengemukakan bahwa jaringan atau sel tumbuhan yang mengalami luka akan mengaktifkan suatu mekanisme pertahanan diri, baik pada jaringan yang terlukai maupun yang tidak terlukai. Sehingga kemudian akan mengalami perubahan arah jalur metabolisme dan menginduksi ekspresi gen-gen tertentu. Hanya pada bagian tertentu yang terlukai akan terbentuk struktur sel yang tidak beraturan, selanjutnya mengalami diferensiasi, dan mengeluarkan senyawa metabolit sekunder. Struktur sel yang tidak beraturan tersebut yang nantinya bermula dari munculnya kalus. Gunawan (1995), dalam Sulandjari (2008), menyampaikan

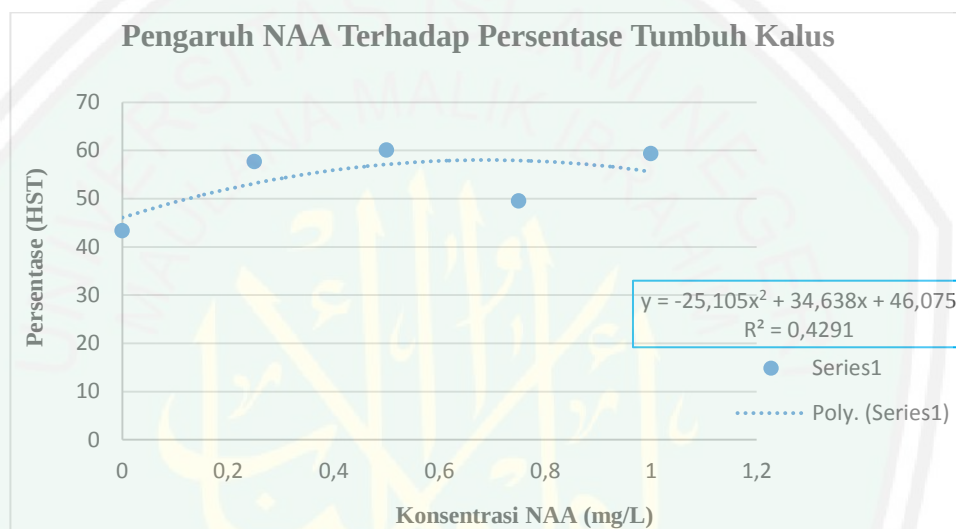
bahwa kalus merupakan kumpulan sel-sel amorphous yang bermula dari sel jaringan dan membelah diri secara terus menerus.

Hasil pengamatan berikutnya yaitu pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA terhadap berat kalus juga berpengaruh nyata. Hal ini di tunjukkan pada tabel 4.2 yang menunjukkan bahwa berat kalus tertinggi yaitu pada perlakuan 0,5 mg/L NAA dengan rata-rata nilai berat kalus sebesar 0,04571 gr. Gustian (2009), menambahkan bahwa, pada umumnya pemberian auksin dalam konsentrasi rendah akan memicu pembentukan dari kalus.

Menurut Kyte (1996), menyatakan bahwa pemberian auksin secara tunggal ataupun secara kombinasi dengan sitokinin dapat digunakan sebagai penginduksi kalus. Suryowinoto (1996), menambahkan bahwa penggunaan NAA sebagai induksi kalus pada suatu eksplan memberikan efek yang terbaik dibandingkan dengan jenis auksin sintetik lainnya. Hal ini dikarenakan NAA tidak akan mengalami mutasi genetik. Hrazdina (1992), mengemukakan bahwa NAA yang digunakan dalam suatu media kultur akan merangsang pembelahan sel dan mensintesis protein sehingga dapat memacu pertumbuhan kalus. Menurut Hendaryono (1994), bahwa penggunaan auksin terhadap suatu jaringan tanaman akan menimbulkan pengaruh yang berbeda-beda. Pada umumnya pemberian auksin dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel.

Menurut Salisbury (1995), menyatakan bahwa mekanisme auksin biasa dikenal sebagai hipotesis pertumbuhan-asam, hal ini menyebabkan sel akan mengeluarkan H^+ ke dinding sel primer yang mengelilinginya. Kemudian ion H^+

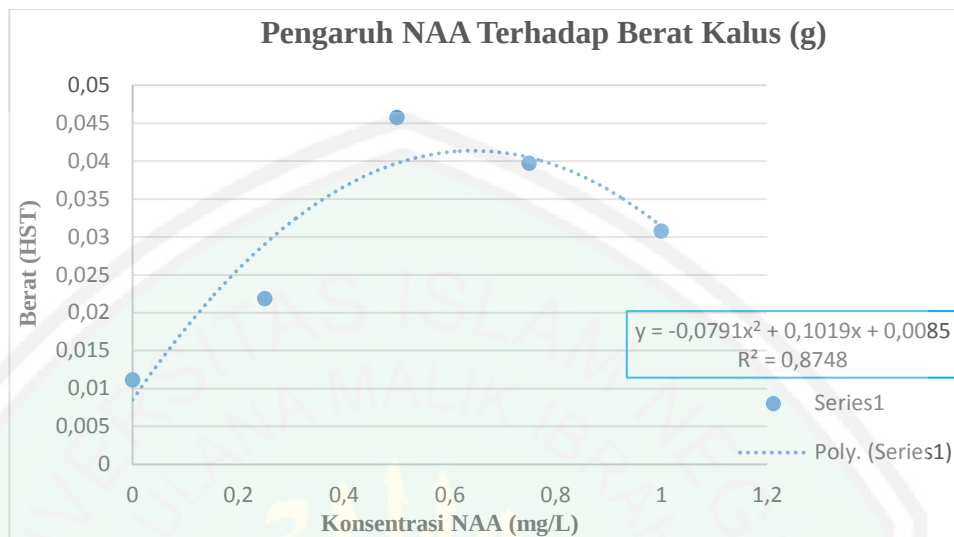
akan menurunkan pH sehingga dinding sel mengendur dan pertumbuhan menjadi cepat. Penurunan pH tersebut diduga karena aktifnya beberapa enzim merusak dinding sel tertentu, yang tidak aktif pada pH yang lebih tinggi. Enzim tersebut diduga memutus tali polisakarida dinding, sehingga memungkinkan dinding sel lebih mudah merenggang. Berikut ini terdapat gambar analisis persentase tumbuh kalus, dan berat kalus.



Gambar 4.1 Hubungan antara Konsentrasi NAA (mg/L) terhadap Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.1 digunakan sebagai parameter pengamatan persentase tumbuh kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -25.105x^2 + 34.638x + 46.075$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.4291$, terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi NAA terhadap persentase tumbuh kalus yaitu sebesar 42,91 %. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -25.105x^2 + 34.638x + 46.075$ mengartikan bahwa perlakuan konsentrasi NAA terhadap persentase tumbuh kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (0,689 ; 58,017) artinya bahwa konsentrasi NAA yang paling efektif terhadap

persentase tumbuh kalus delima hitam yaitu menggunakan konsentrasi 0,689 mg/L telah mampu menumbuhkan kalus dengan persentase 58,017%.



Gambar 4.2 Hubungan antara Konsentrasi NAA (mg/L) terhadap Berat Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.2 digunakan sebagai parameter pengamatan berat kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -0,0791x^2 + 0,1019x + 0,0085$ dan nilai determinasi $R^2 = 0,8748$, terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi NAA terhadap berat kalus yaitu sebesar 42,91 %. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -0,0791x^2 + 0,1019x + 0,0085$ mengartikan bahwa perlakuan konsentrasi NAA terhadap berat kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (0,644 ; 0,0413) artinya bahwa konsentrasi NAA yang paling efektif terhadap berat kalus delima hitam yaitu menggunakan konsentrasi 0,644 mg/L telah mampu menumbuhkan kalus dengan persentase 0,0413 gr.

4.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP Pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var)

Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	15.978*	3.478
Persentase Tumbuh Kalus	54.542*	3.478
Berat Kalus	6.127*	3.478

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

Hasil perhitungan ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh BAP dengan berbagai konsentrasi dapat berpengaruh nyata terhadap ketiga parameter pengamatan yaitu ; hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus, dan berat kalus. Hal tersebut dapat dilihat melalui nilai F hitung semua parameter pengamatan lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel 5%. Sehingga hal ini dapat dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% diajikan dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var.)

Konsentrasi BAP (mg/L)	Hari Muncul Kalus (HMK)	Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Kalus (g)
0	31.2143b	8.2143a	0.00537a
0,5	16.9333a	59.8333b	0.04163b
1	16.2667a	78.3333c	0.04032b
1,5	18.0000a	66.6667b	0.04073b
2	19.5333a	57.4000b	0.03266b

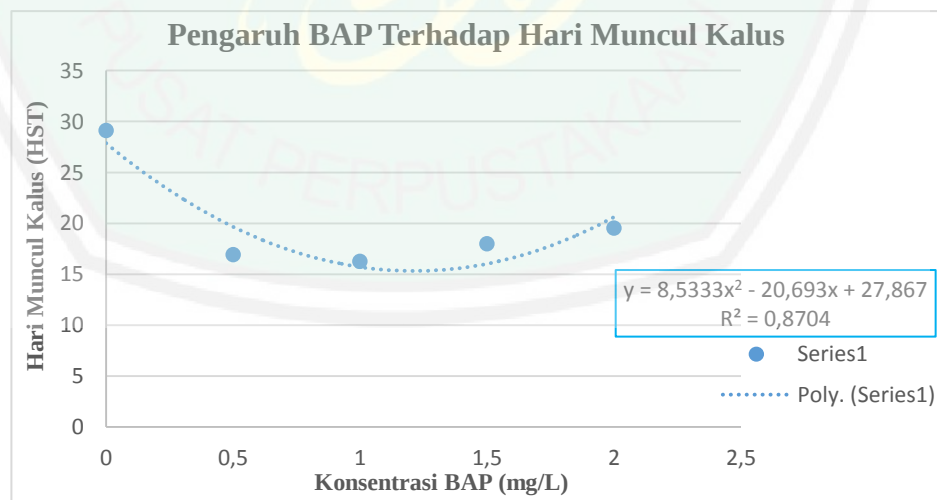
Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05.

Hasil uji DMRT 5% pada tabel 4.4, menunjukkan bahwa pada parameter pengamatan hari muncul kalus yang paling cepat untuk menginduksi kalus delima hitam yaitu berada pada konsentrasi 1 mg/L BAP dengan rata-rata 16.2667 HST. Namun pada hasil uji DMRT 5% perlakuan 1 mg/L tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 mg/L BAP, sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi yang lebih efisien adalah 0,5 mg/L BAP. Berdasarkan hasil penelitian Ramdan (2014), menyatakan bahwa dengan pemberian konsentrasi BAP sebanyak 0,5 mg/L telah mampu menginduksi kalus *Citrus rootstock* dalam waktu singkat, yaitu selama 8 HST. Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian BAP mampu menginduksi kalus. Kimbal (1983), menambahkan bahwa sitokinin dalam bentuk BAP merupakan hormon pengatur tumbuh yang mampu mempengaruhi pembelahan sel.

Hasil uji selanjutnya pada parameter pengamatan persentase tumbuh kalus, yaitu dapat dilihat bahwa pemberian hormon BAP dapat mempengaruhi induksi kalus dengan jumlah rata-rata 78.33% pada perlakuan konsentrasi 1 mg/L BAP. Hasil penelitian dari Argaloka (2013), menyatakan bahwa dengan pemberian 1 mg/L BAP mampu menginduksi kalus dengan rata-rata persentase 83,3%. Penelitian lain dari Bonyanpour (2013), menyatakan bahwa pada penambahan 1 mg/L BAP mampu menumbuhkan kalus delima merah dengan besar persentase 78,89%. Salah satu jenis sitokinin yang umum digunakan dalam teknik kultur jaringan yaitu BAP (*6-benzyl amino purine*). George (1984), menyatakan bahwa BAP merupakan salah satu jenis sitokinin sintetik yang daya rangsanganya lebih lama sehingga tidak mudah dirombak oleh adanya enzim dalam tanaman. Menurut Noggle (1983), bahwa BAP memiliki

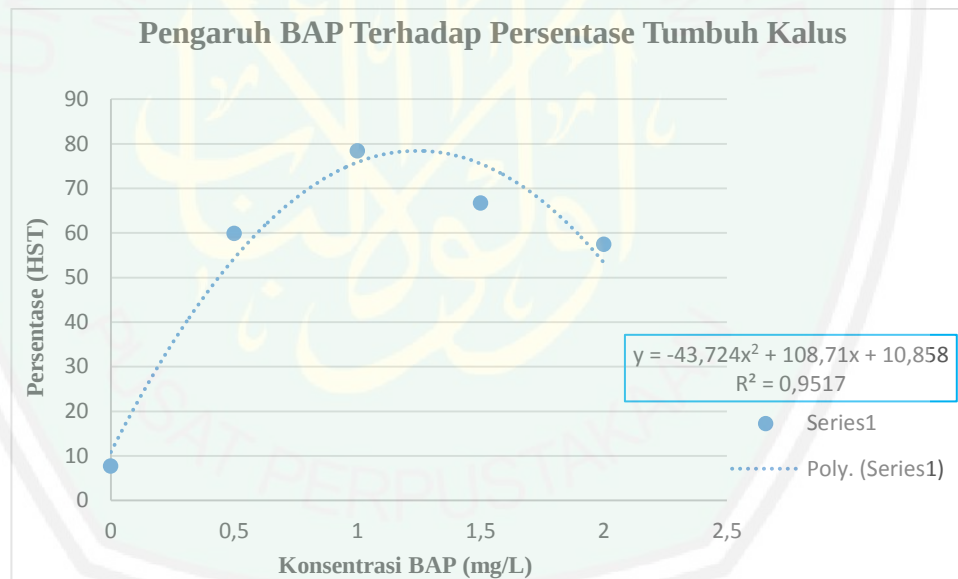
struktur yang mirip dengan kinetin dan aktif dalam pertumbuhan maupun proliferasi kalus, sehingga BAP merupakan jenis sitokinin yang paling aktif.

Pemberian berbagai perlakuan hormon BAP juga sangat berpengaruh nyata terhadap berat kalus. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.4, menunjukkan bahwa konsentrasi BAP yang paling optimal dalam menghasilkan kalus delima hitam yaitu 0,5 mg/L BAP dengan berat rata-rata sebesar 0.041 gr. Sedangkan dalam tabel tersebut dapat dilihat bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi yang semakin naik akan menghambat induksi kalus delima hitam, sehingga berat kalus semakin rendah dengan konsentrasi yang semakin tinggi. Hal ini persis seperti Sari (2013), menyatakan bahwa hormon BAP merupakan zat pengatur tumbuh yang aktif terhadap pertumbuhan dan proliferasi kalus. Akan tetapi, pertumbuhan akan dapat terhambat apabila konsentrasi BAP yang diberikan semakin tinggi. Berikutnya untuk mengetahui konsentrasi BAP yang optimal dalam menginduksi kalus delima hitam dapat dilihat menggunakan analisis regresi



Gambar 4.3 Hubungan antara Konsentrasi BAP (mg/L) terhadap Hari Muncul Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

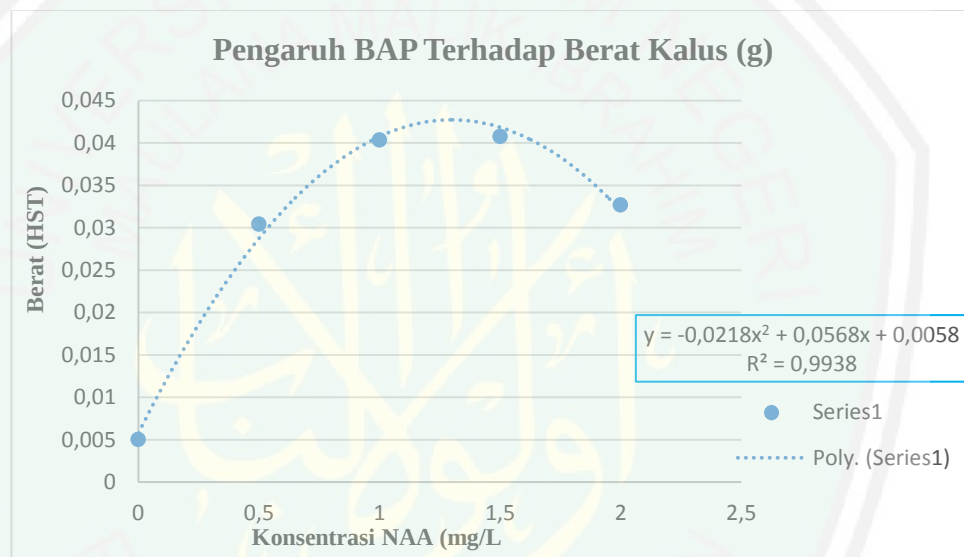
Hasil analisis regresi pada gambar 4.3 digunakan sebagai parameter pengamatan hari muncul kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = 8.5333x^2 - 20.693x + 27.867$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.8704$, artinya terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus yaitu sebesar 87,04%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = 8.5333x^2 - 20.693x + 27.867$ mengartikan bahwa perlakuan konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,212 ; 15,322) artinya bahwa konsentrasi BAP yang paling efektif terhadap hari muncul kalus delima hitam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 1,212 mg/L telah mampu menumbuhkan kalus tercepat dengan rentan waktu selama 15,32 HST.



Gambar 4.4 Hubungan antara Konsentrasi BAP (mg/L) terhadap Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.4 digunakan sebagai parameter pengamatan persentase tumbuh kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -43.724x^2 + 108.71x + 10.858$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.9517$, artinya terdapat

hubungan antara perlakuan konsentrasi BAP terhadap persentase tumbuh kalus yaitu sebesar 95,17%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -43.724x^2 + 108.71x + 10.858$ mengartikan bahwa perlakuan konsentrasi BAP terhadap persentase tumbuh kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,243 ; 78,42) artinya bahwa konsentrasi BAP yang paling efektif terhadap persentase tumbuh kalus delima hitam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 1,243 mg/L telah mampu menumbuhkan kalus dengan rata-rata persentase sebesar 78,42%.



Gambar 4.5 Hubungan antara Konsentrasi BAP (mg/L) terhadap Berat Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.5 digunakan sebagai parameter pengamatan berat kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -0.0218x^2 + 0.0568x + 0.0058$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.9938$, artinya terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi BAP terhadap berat kalus yaitu sebesar 99,38%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -0.0218x^2 + 0.0568x + 0.0058$ mengartikan bahwa perlakuan konsentrasi BAP terhadap berat

kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,302 ; 0,0428) artinya bahwa konsentrasi BAP yang paling efektif terhadap berat kalus delima hitam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 1,302 mg/L telah mampu menginduksi kalus dengan berat rata-rata kalus sebesar 0,0428 gr.

4.3 Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA Pada Media Dasar MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var)

4.3.1 Pengaruh Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA Pada Media Dasar MS Terhadap Hari Muncul Kalus, Persentase dan Berat Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L. var)

Hasil analisis variansi (ANOVA) terlihat bahwa perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dapat memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus melalui kotiledon delima hitam (*Punica granatum* L.var) (Lampiran 3). Ringkasan hasil perhitungan analisis variansi dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	60.171*	1.747
Persentase Tumbuh Kalus	13.468*	1.747
Berat Kalus	2.536*	1.747

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

Hasil perhitungan ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan berbagai konsentrasi dapat berpengaruh nyata terhadap ketiga parameter pengamatan yaitu ; hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus, dan berat kalus. Hal tersebut dapat dilihat melalui

nilai F hitung semua parameter pengamatan lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel 5%. Sehingga hal ini dapat dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Berbagai Kombinasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica granatum* L. var.)

No	Perlakuan		Hari Muncul Kalus (HMK)	Persentase Tumbuh Kalus (%)	Berat Kalus
	NAA	BAP			
1	0	0	-	0,00000a	0.00000a
2		0.5	17,3333bcde	40,0000b	0.00920ab
3		1	15,6667bc	81,6667de	0.01855abcd
4		1.5	17,3333bcde	55,0000bc	0.01495abc
5		2	18,6667cdef	40,0000b	0.01292abc
6	0.25	0	37,6667g	13,3333a	0.00885ab
7		0.5	16,0000bcd	63,3333bcde	0.07282f
8		1	15,0000b	83,3333e	0.02030abcd
9		1.5	17,6667bcdef	73,3333cde	0.04115abcdef
10		2	20,0000ef	40,0000bc	0.03933 abcde
11	0.5	0	36,0000g	8,33330a	0.00583ab
12		0.5	17,3333bcde	65,0000cde	0.04823bcdef
13		1	15,0000b	86,6667e	0.06378def
14		1.5	19,0000cdef	63,3333bcde	0.05055 bcdef
15		2	19,3333def	77,0000cde	0.06033cdef
16	0.75	0	35,3333g	10,0000a	0.00742ab
17		0.5	18,0000bcdef	57,5000bcd	0.04103abcdef
18		1	17,3333bcde	65,0000cde	0.04200abcdef
19		1.5	18,3333bcdef	75,0000cde	0.06868ef
20		2	18,6667cdef	55,0000b	0.02223abcdef
21	1	0	21,0000f	6,66670a	0.00314ab
22		0.5	16,0000bcd	73,3333cde	0.03687abcdef
23		1	18,3333bcdef	75,0000cde	0.05698cdef
24		1.5	17,6667bcdef	66,6667cde	0.02830abcdef
25		2	21,0000f	75,0000cde	0.02848abcdef

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

Pengaruh pemberian kombinasi NAA dan BAP juga dapat berpengaruh terhadap parameter perhitungan persentase tumbuh kalus. Perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh telah memberikan hasil yang sangat berpengaruh nyata. Perlakuan pengkombinasian NAA 0,5 + BAP 1 mg/L mampu menghasilkan pertumbuhan kalus dengan rata-rata persentase tertinggi yaitu sebesar 86,666 %. Pemberian berbagai konsentrasi pada kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP juga sangat berpengaruh terhadap parameter berat kalus. Pada tabel 4.6 tercatat bahwa berat kalus tertinggi yaitu dengan pemberian pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 0,25 NAA mg/L + 0,5 mg/L BAP dengan rata-rata berat terbesar yaitu 0,0728 gr. Berdasarkan hasil penelitian Bonyanpour (2013), terkait berat kalus melalui induksi kalus delima merah terdapat hasil terbesar yaitu 0,61 gr dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP. Hal ini disebabkan oleh adanya dua kandungan yang dapat mempengaruhi berat basah kalus, yaitu karena adanya kandungan air dan karbohidrat. Berat segar kalus disebabkan oleh kandungan air yang tinggi. Berat basah yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel yang membelah, memperbanyak diri, dan dilanjutkan oleh membesarnya ukuran kalus.

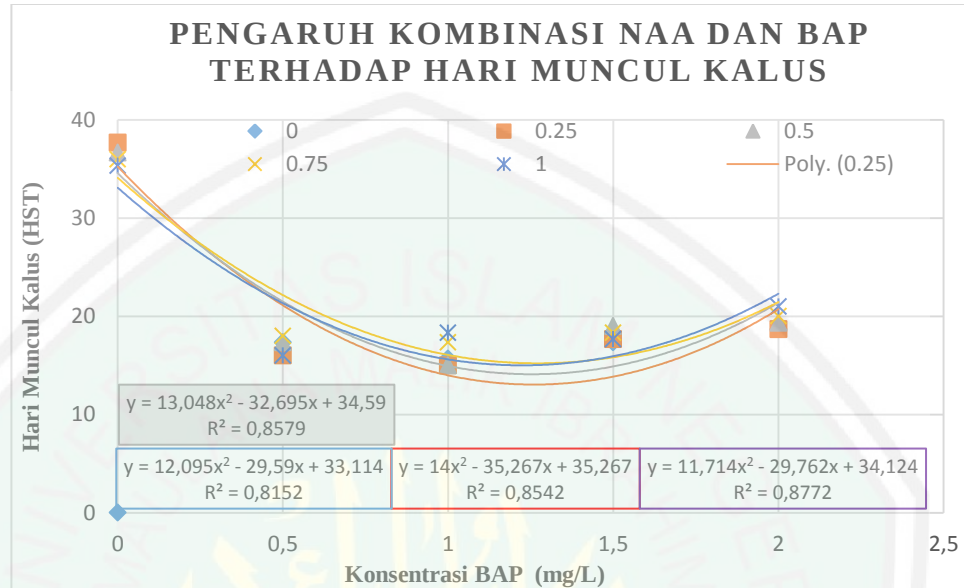
Harahap (2011), menjelaskan bahwa pemberian senyawa zat pengatur tumbuh (ZPT) yang dalam konsentrasi rendah pada suatu medium dapat merangsang dan mempengaruhi pola pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. ZPT merupakan senyawa organik bukan hara, sehingga sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi sel.

Pemberian ZPT dengan konsentrasi rendah dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan akan lambat, dan sebaliknya apabila konsentrasi ZPT tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan akan terhambat, bahkan tidak tumbuh sama sekali. Oleh karena itu pentingnya pemberian konsentrasi yang optimal untuk dapat merangsang pembelahan dan pertumbuhan eksplan dengan baik.

Abidin (1990), pemberian ZPT untuk menginduksi kalus pada umumnya mengandung konsentrasi auksin dan sitokinin dalam keadaan yang setimbang. Akan tetapi perimbangan konsentrasi tersebut dapat berubah berdasarkan jenis eksplan dan letak eksplan yang digunakan. Karena dalam setiap eksplan memiliki kandungan hormon endogen yang berbeda yang dapat mempengaruhi kecepatan dalam pertumbuhan dan perkembangan hasil kultur. Murashige (1990), secara umum regenerasi tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh jenis eksplan dan letak eksplan. Wijayani (1994), bahwa macam dan kombinasi ZPT pada media kultur sangat tergantung oleh jenis tanamannya. George (1984), interaksi antara ZPT endogen dan eksogen pada suatu media dapat mempengaruhi keberhasilan teknik kultur. Sehingga apabila sitokinin berinteraksi dengan auksin maka akan kuat merangsang pembelahan sel dalam jaringan meristematik, dan sintesis RNA nyata terjadi apabila sel-sel tumbuhan terisolasi dengan penambahan perlakuan sitokinin (Kimbal, 1983).

Berikut terdapat gambar analisis regresi terhadap masing-masing parameter pengamatan yaitu regresi hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus, dan berat kalus. Sehingga dapat diketahui respon konsentrasi optimal pada

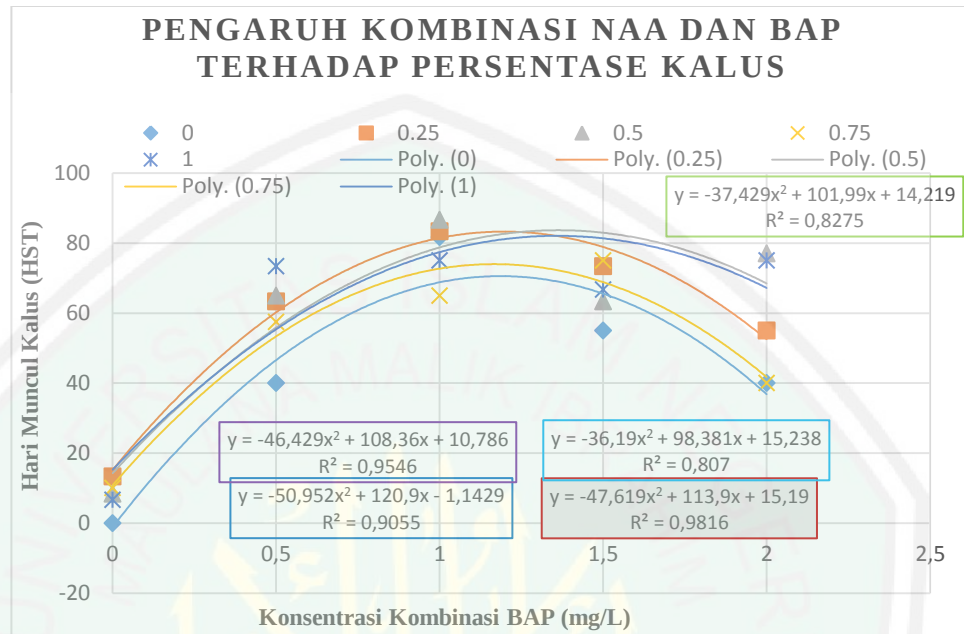
pemberian perilaku kombinasi NAA dan BAP yang dapat meningkatkan pertumbuhan kalus dengan cepat.



Gambar 4.6 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi NAA (mg/L) dan BAP (mg/L) terhadap Hari Muncul Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.6 digunakan sebagai parameter pengamatan hari muncul kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = 11.714x^2 - 29.762x + 34.124$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.8772$, artinya terdapat hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus yaitu sebesar 87,72%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = 11.714x^2 - 29.762x + 34.124$ mengartikan bahwa perlakuan interaksi antara NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,27 ; 15,219) artinya bahwa konsentrasi optimal dalam menginduksi kalus delima hitam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 0,25 mg/L NAA +

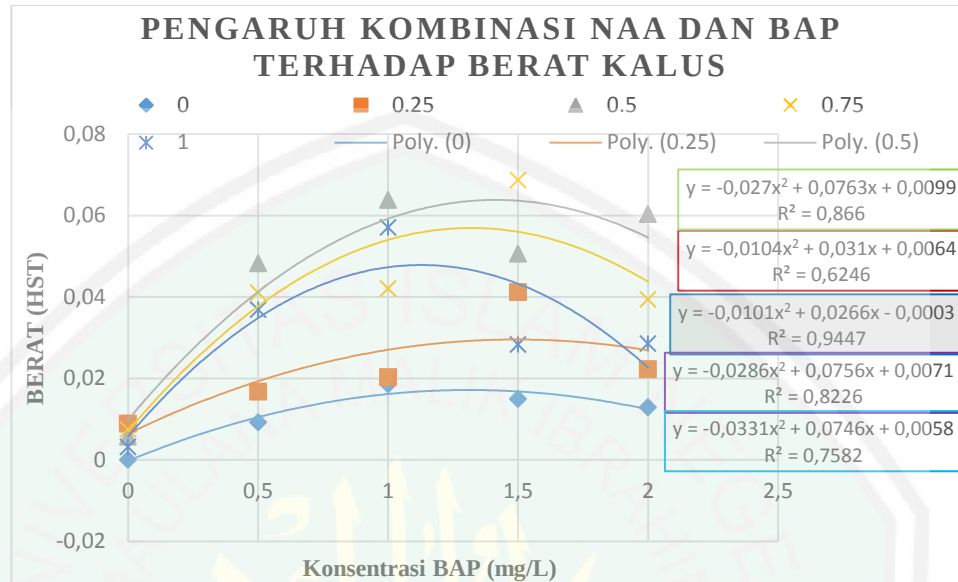
1,27 BAP mg/L telah mampu menginduksi kalus dengan rata-rata hari muncul kalus selama 15,219 HST.



Gambar 4.7 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi NAA (mg/L) dan BAP (mg/L) terhadap Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

Hasil analisis regresi pada gambar 4.7 digunakan sebagai parameter pengamatan persentase tumbuh kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -47.619x^2 + 113.9x + 15.19$ dan nilai determinasi $R^2 = 0.9816$, artinya terdapat hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap persentase tumbuh kalus yaitu sebesar 98,16%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -47.619x^2 + 113.9x + 15.19$ mengartikan bahwa perlakuan interaksi antara NAA dan BAP terhadap persentase tumbuh kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,195 ; 83,29) artinya bahwa konsentrasi optimal dalam menginduksi kalus delima hitam yaitu dengan

menggunakan konsentrasi 0,25 mg/L NAA + 1,195 mg/L BAP telah mampu menginduksi kalus dengan rata-rata persentase tumbuh kalus sebesar 83,29%.



Gambar 4.8 Hubungan antara Perlakuan Kombinasi NAA (mg/L) dan BAP (mg/L) terhadap Berat Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var).

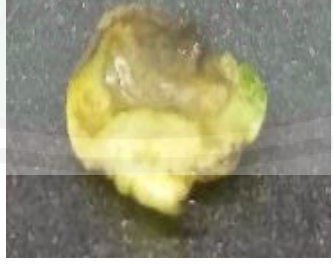
Hasil analisis regresi pada gambar 4.8 digunakan sebagai parameter pengamatan berat kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan $y = -0,0101x^2 + 0,0266x - 0,0003$ dan nilai determinasi $R^2 = 0,9447$, artinya terdapat hubungan antara perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap berat kalus yaitu sebesar 94,47%. Pada hasil analisis deferensiasi menggunakan persamaan $y = -0,0101x^2 + 0,0266x - 0,0003$ mengartikan bahwa perlakuan interaksi antara NAA dan BAP berat kalus mencapai titik puncak optimum pada koordinat (1,316 ; 0,0173) artinya bahwa konsentrasi optimal dalam menginduksi kalus delima hitam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 0,5 mg/L NAA + 1,316 BAP mg/L telah mampu menginduksi kalus dengan rata-rata berat kalus sebesar 0,0173 gr.

4.3.2 Pengaruh Perlakuan Kombinasi BAP dan NAA Pada Media Dasar Ms Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Delima Hitam (*Punica granatum L. Var*)

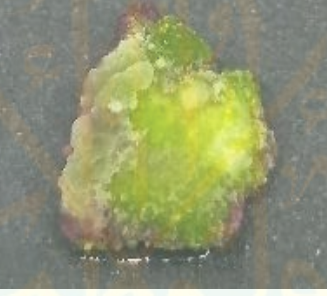
Warna dan tekstur kalus delima hitam dalam penelitian ini merupakan indikator dalam menentukan kualitas kalus. Selain itu, menurut Indah (2013) menambahkan bahwa melalui pengamatan warna dan tekstur ini menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui kalus yang masih memiliki sel yang aktif membelah atau telah mati. Berdasarkan hasil penelitian ini terdapat hasil warna kalus yang beragam namun memiliki tekstur kalus yang sama dalam setiap perlakuan.

Kalus penghasil metabolit sekunder yang baik dapat dilihat melalui kualitas kalus yang tumbuh. Pengamatan kualitas kalus ini dapat dilakukan dengan mencirikan warna dan tekstur kalus yang sesuai dengan karakteristik kalus metabolit. Pada umumnya kalus metabolit memiliki warna terang dengan tekstur kalus kompak. Hal ini sesuai dengan Indah (2013), bahwa kalus penghasil metabolit yang baik akan memiliki tekstur kompak (*non friable*). Tekstur kompak dianggap lebih baik karena dapat mengakumulasi senyawa metabolit lebih tinggi. Warna kalus yang beragam, menurut Hendaryono (1994) dapat dikarenakan oleh adanya pengaruh cahaya, pigmentasi, dan bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Hasil pengamatan pengaruh pemberian kombiner NAA dan BAP terhadap warna dan tekstur kalus delima hitam dapat dilihat pada tabel 4.7.

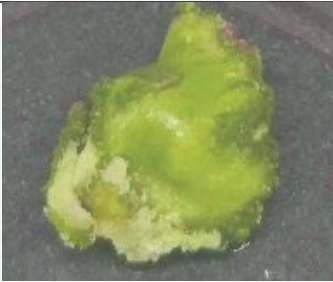
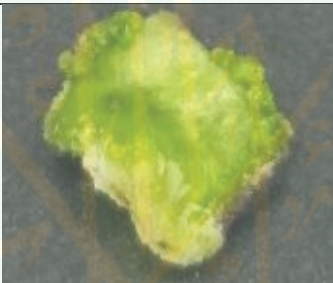
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Pengaruh Pengaruh Pemberian Kombinasi NAA Dan BAP Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.Var) pada hari ke 42 HST.

No.	Perlakuan	Gambar Pengamatan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
1	0 mg/L NAA + 0 mg/L BAP		-	-
2	0,25mg/L NAA + 0 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
3	0,5 mg/L NAA + 0 mg/L BAP		Hijau	Kompak
4	0,75 mg/L NAA + 0 mg/L BAP		Hijau	Kompak

5	1 mg/L NAA + 0 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
6	0 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
7	0,25mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
8	0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
9	0,75 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak

10	1 mg/L NAA + 0,5mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
11	0 mg/L NAA + 1 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
12	0,25mg/L NAA + 1 mg/L BAP		Hijau, putih Kemerahan	Kompak
13	0,5 mg/L NAA + 1 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
14	0,75 mg/L NAA + 1 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak

15	1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
16	0 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
17	0,25mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
18	0,5 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP		Hijau, Putih Kemerahan	Kompak
19	0,75 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak

20	1 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP		Merah	Kompak
21	0 mg/L NAA + 2 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
22	0,25mg/L NAA + 2 mg/L BAP		Hijau Keputihan	Kompak
23	0,5 mg/L NAA + 2 mg/L BAP		Hijau, Merah Kemerahan	Kompak
24	0,75 mg/L NAA + 2 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak

25	1 mg/L NAA + 2 mg/L BAP		Hijau Kemerahan	Kompak
----	----------------------------	---	------------------------	--------

Keterangan : tanda (-) merupakan tanda tidak terbentuknya kalus pada eksplan

Tabel 4.7 menunjukkan hasil pengamatan kalus delima hitam pada hari terakhir ke 42 HST (6 minggu) telah menghasilkan warna dan tekstur kalus pada setiap perlakuan kombinasi NAA dan BAP secara beragam. Warna yang dihasilkan diantaranya yaitu berwarna putih, hijau keputihan, hijau kemerahan, hijau, dan merah.

Perbedaan warna kalus menunjukkan tingkat perkembangan dari kalus. Pada umumnya kalus pertama kali muncul akan berwarna cerah atau kuning kehijauan dan selanjutnya semakin bertambahnya umur kalus maka warna kalus akan berubah sesuai kandungan yang dikandungnya. Kandungan senyawa metabolit pada setiap eksplan akan berbeda-beda. Biasanya kandungan senyawa dalam eksplan mempengaruhi warna pada kalus. Seperti pada senyawa turunan dari fenol. Abdullah (1998), mengemukakan bahwa sel kalus yang baik akan menunjukkan warna kuning bening dan semakin tua sel pada kalus maka warna akan berubah menjadi warna kecoklatan. Vickery (1980), dalam Fitriyani (2003), menyatakan bahwa akumulasi fenol dapat dipacu oleh adanya cekaman atau gangguan pada sel tanaman karena adanya perlukaan pada jaringan dan

juga karena adanya cekaman media tanam. Oleh sebab itu, harus dilakukannya pemanenan atau subkultur sebelum terjadinya kematian dan penumpukan senyawa fenol yang dapat mengakibatkan penghambatan pertumbuhan kalus hingga berakibat kematian.

Peningkatan konsentrasi sitokinin dengan jumlah yang tinggi menyebabkan warna kalus semakin hijau. Hal ini disebabkan karena sitokinin dalam media mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, 2004). Riyadi (2004), menambahkan bahwa warna hijau pada kalus merupakan efek dari konsentrasi sitokinin yang tinggi, sehingga dapat mempengaruhi terbentuknya klorofil. Warna kalus bisa beragam sesuai dengan eksplan dan ZPT yang diberikan, mulai dari warna kekuningan, hijau, putih, atau terpigmentasi oleh adanya senyawa antosianin. Indikator keberhasilan dalam inisiasi eksplan dapat diamati melalui visual warna dan tekstur kalus, sehingga dapat dibedakan penampilan kalus yang masih memiliki sel-sel aktif membelah atau telah mati (Indah, 2013).

Hasil warna kalus yang berbeda-beda pada penelitian ini membuktikan bahwa terdapat respon eksplan terhadap pemberian zat pengatur tumbuh dalam menumbuhkan kalus. Kalus yang terdapat warna keputihan itu menandakan bahwa terdapat aktivitas pembelahan sel yang aktif dan belum terbentuknya kandungan klorofil. Hal ini seperti yang disampaikan oleh Fatmawati (2008), bahwa kalus yang berwarna putih atau terang menandakan bahwa pertumbuhan

kalus dalam keadaan cukup baik. Perubahan warna akan terjadi karena adanya pigmentasi warna yang mengalami degradasi.

Tekstur kalus yang terbentuk pada penelitian ini dapat diduga merupakan golongan kalus metabolit. Karena kalus yang terbentuk pada setiap perlakuan memiliki tekstur yang kompak. Indah (2013), menyatakan bahwa tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. Kalus yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder tinggi akan mengalami penurunan dalam aktifitas pembelahan selnya (Rahmawati,1999).

4.3.3 Pengaruh Pemberian Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Anatomi Kalus Kompak Delima Hitam (*Punica granatum* L.var.)

Kalus metabolit merupakan kalus yang tujuan awalnya akan digunakan sebagai penghasil senyawa metabolit. Sehingga nantinya mampu dikelola sebagai penghasil kebutuhan pengobatan atau kebutuhan dalam bidang farmasi. Jika diamati secara morfologi kalus metabolit mempunyai ciri-ciri tekstur kalus yang kompak, susah untuk dipisahkan, dan warna kalus dominan berwarna terang sesuai dengan senyawa yang dimilikinya. Sedangkan kalus embriogenik akan bertekstur remah, mudah untuk dipisahkan dengan pinset, dan warna kalus cenderung putih hingga kuning (Peterson, 1991).

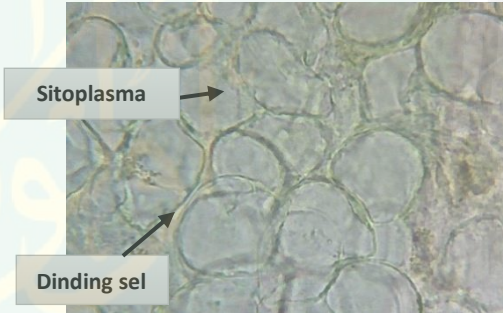
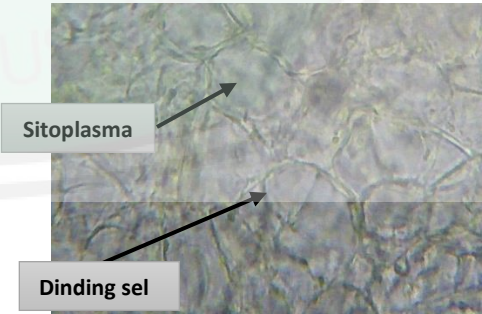
Berdasarkan hasil pengamatan anatomi kalus metabolit menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x, dapat dicirikan bahwa kalus tersebut memiliki bentuk sel-selnya berukuran kecil, memiliki sitoplasma yang padat, inti tak terlihat (kecil), vakuola besar, dan banyak mengandung pati. Hal ini

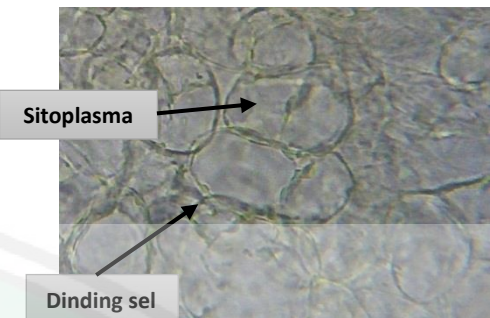
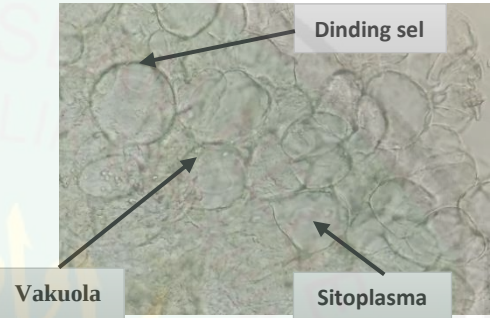
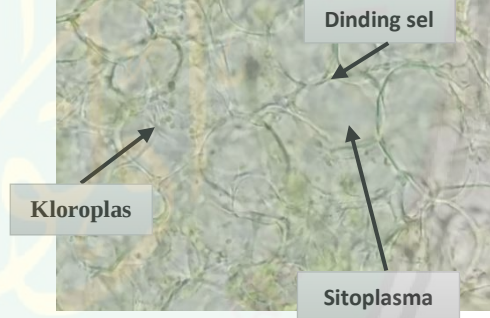
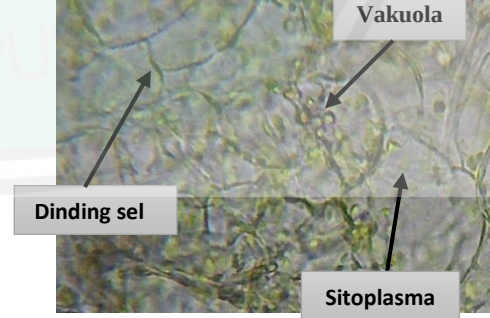
sesuai dengan penyampaian Dodd, (1993) bahwa kalus metabolit atau kalus kompak biasanya memiliki bentuk anatomi ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti kecil, dan banyak mengandung pati. Begitu juga dengan Street (1993), menyatakan bahwa susunan sel pada kalus kompak memiliki sel yang tersusun rapat, padat sehingga sulit untuk dipisahkan. Kemudian ukuran vakuolanya relatif lebih besar, mempunyai dinding polisakarida yang lebih besar dalam sel-selnya. Ukuran vakuola yang besar ini memungkinkan untuk kalus dapat menyimpan air di dalam sel, sehingga kandungan air pada kalus relatif tinggi dan berat basah pada kalus akan naik.

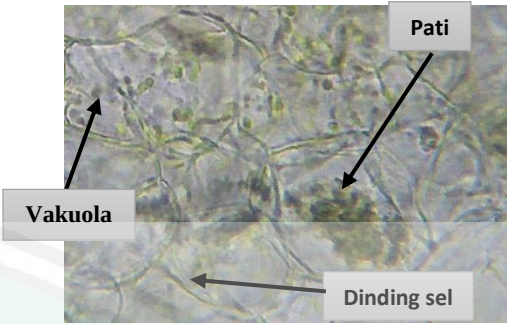
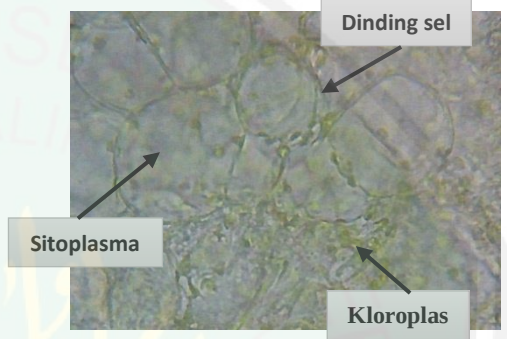
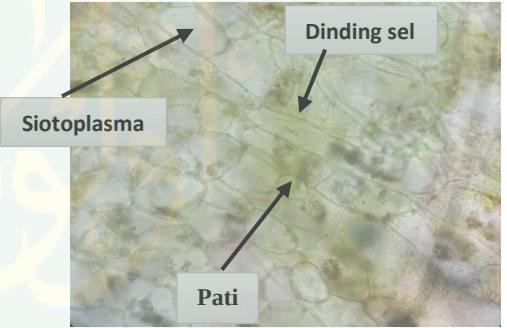
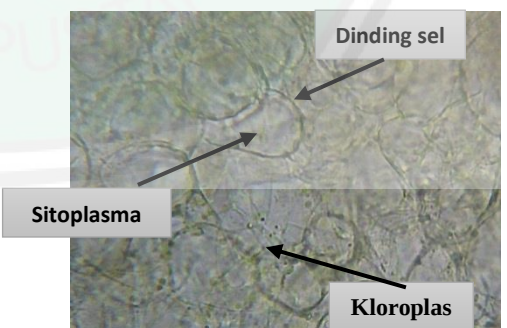
Fahn (2011), pada umumnya vakuola dapat ditemukan di dalam protoplas sel tanaman. Dalam banyak sel tanaman, vakuola biasa memiliki ukuran yang besar sehingga sitoplasma membentuk lapisan yang sangat tipis yang melapisi dinding sel. Vakuola merupakan salah satu bahan penyimpanan yang dapat dimanfaatkan oleh protoplas apabila diperlukan dan termasuk produk lain dari metabolit. Dasar unit penyusun suatu organisme terbentuk dari susunan sel. Protoplasma yang ditemukan dalam suatu sel terdapat dua kelompok. Yaitu substansi protoplasma dan non protoplasma. Sitoplasma merupakan salah satu substansi dari protoplasma, yang mana di dalam sitoplasma memiliki kandungan cairan yang mengisi interior sel. Pada protoplasma biasanya terdapat nucleus dan plastid. Dimana plastid biasanya mengandung pigmen dan menyimpang granula pati.

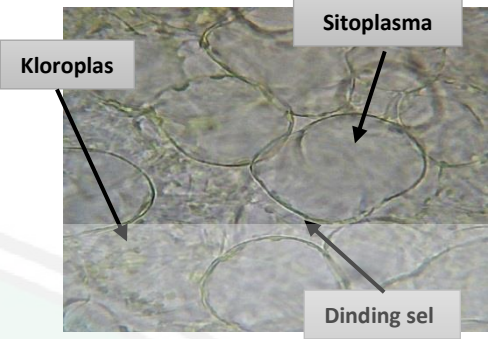
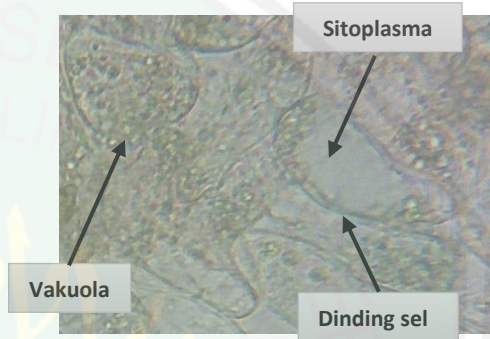
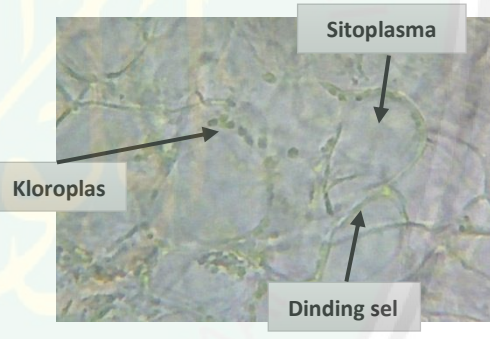
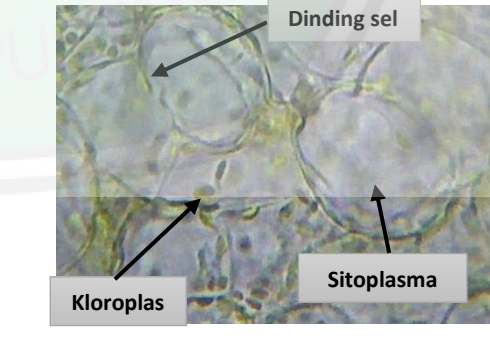
David (1984), menambahkan bahwa sebagian besar sel-sel kalus yang khas, yaitu terdapat vakuola parenkim dengan dinding selulosa, dan amiloplas besar. Kalus juga mengandung idioblas dengan deposit globular polifenol. Sel-sel korteks yang berdekatan adalah parenkim khas dengan sitoplasma perifer, tetapi mengandung plastid kecil dengan sedikit akumulasi pati.

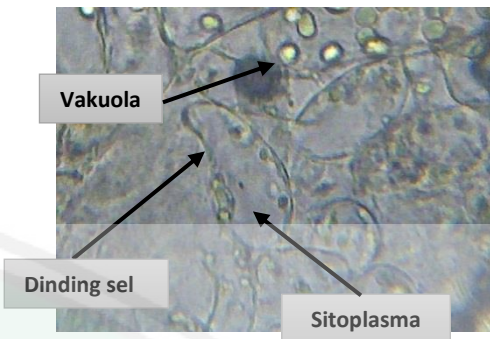
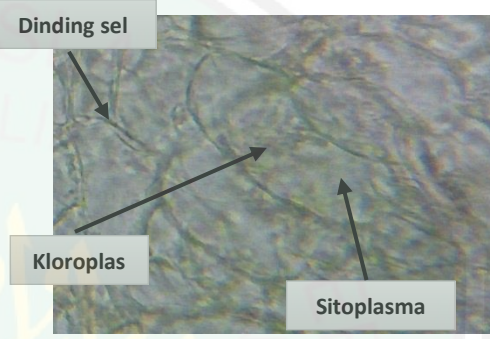
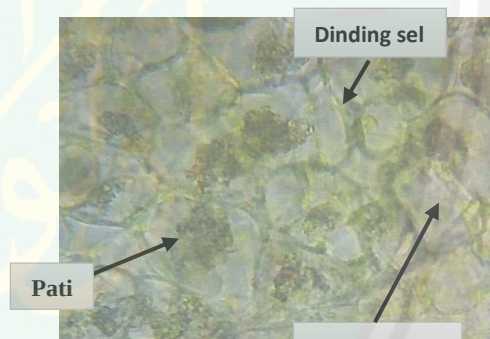
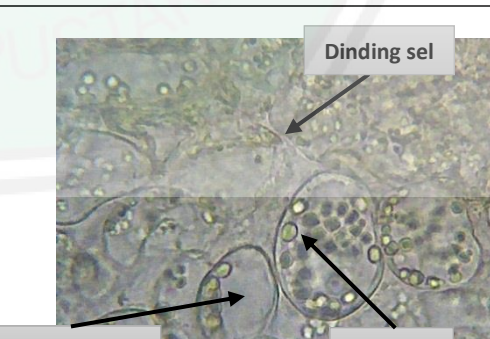
Tabel 4.8 Hasil Pengamatan Pengaruh Pengaruh Pemberian Kombinasi NAA Dan BAP Terhadap Anatomi Kalus Delima Hitam (*Punica granatum* L.var) pada hari ke 42 HST.

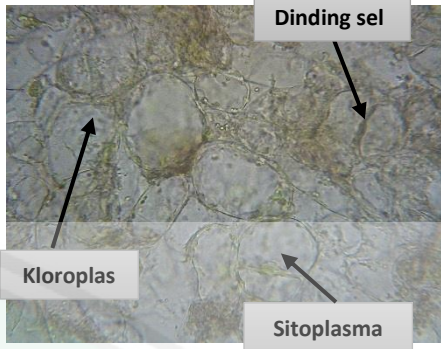
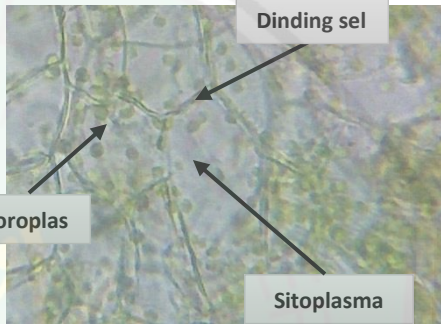
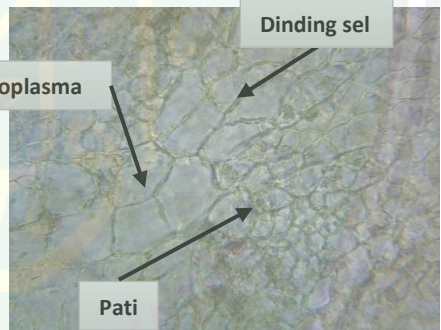
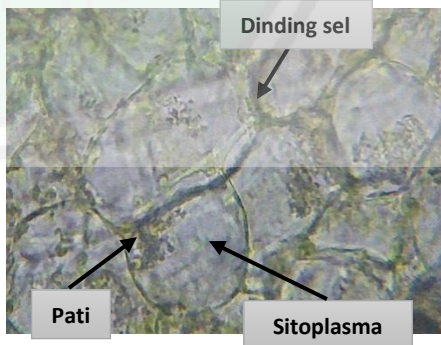
No.	Perlakuan	Gambar
1	0 mg/L NAA + 0 mg/L BAP	-
2	0,25mg/L NAA + 0 mg/L BAP	
3	0,5 mg/L NAA + 0 mg/L BAP	

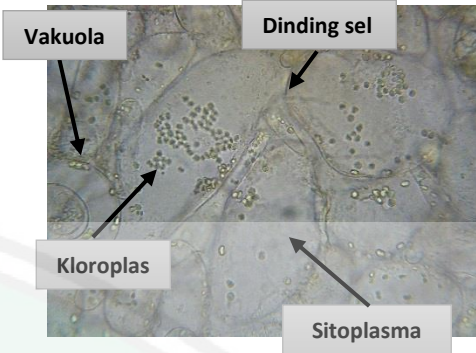
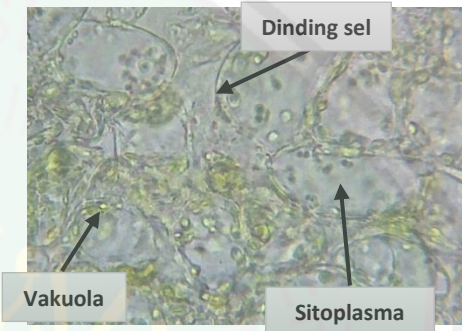
4	0,75 mg/L NAA + 0 mg/L BAP	 Sitoplasma Dinding sel
5	1 mg/L NAA + 0 mg/L BAP	 Dinding sel Vakuola Sitoplasma
6	0 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP	 Dinding sel Kloroplas Sitoplasma
7	0,25mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP	 Vakuola Dinding sel Sitoplasma

8	0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP	 Vakuola Pati Dinding sel
9	0,75 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP	 Dinding sel Sitoplasma Kloroplas
10	1 mg/L NAA + 0,5mg/L BAP	 Dinding sel Siotoplasma Pati
11	0 mg/L NAA + 1 mg/L BAP	 Dinding sel Sitoplasma Kloroplas

12	0,25mg/L NAA + 1 mg/L BAP	
13	0,5 mg/L NAA + 1 mg/L BAP	
14	0,75 mg/L NAA + 1 mg/L BAP	
15	1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP	

16	0 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP	 Vakuola Dinding sel Sitoplasma
17	0,25mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP	 Dinding sel Kloroplas Sitoplasma
18	0,5 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP	 Dinding sel Pati Sitoplasma
19	0,75 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP	 Dinding sel Sitoplasma Vakuola

20	1 mg/L NAA + 1,5 mg/L BAP	
21	0 mg/L NAA + 2 mg/L BAP	
22	0,25mg/L NAA + 2 mg/L BAP	
23	0,5 mg/L NAA + 2 mg/L BAP	

24	0,75 mg/L NAA + 2 mg/L BAP	
25	1 mg/L NAA + 2 mg/L BAP	

Keterangan : tanda (-) merupakan tanda tidak terbentuknya kalus pada eksplan

Berdasarkan hasil penelitian diduga pada semua perlakuan zat pengatur tumbuh rata-rata mencirikan kalus metabolit, baik pada perlakuan tunggal maupun perlakuan kombinasi. Hal ini dikarenakan eksplan kotiledon yang digunakan memiliki sifat totipotensi yang baik, selain itu pada eksplan delima hitam ini diduga memiliki senyawa kandungan metabolit yang tinggi sehingga mampu membentuk kalus metabolit. Menurut Nabi, (2002) dalam Satyavani, (2011) menyatakan bahwa dalam induksi kalus *Momordica*, memberikan hasil bahwa dari keempat tipe eksplan diantaranya adalah pucuk, cabang lateral, daun, dan kotiledon. Namun hasil kalus yang terbaik yaitu dihasilkan oleh eksplan kotiledon. Deepika (2013), menambahkan bahwa ukuran eksplan kotiledon yang baik untuk digunakan adalah berkisar antara 0,5-

0,8 cm. kotiledon sangat aktif dalam fisiologinya dan paling mudah untuk dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti pemberian zat pengatur tumbuh (Murkute, 2002).

4.4 Integrasi Hasil Penelitian Induksi Kalus Kompak Delima Hitam dengan Pandangan atau Perspektif Islam

Penelitian induksi kalus kompak delima hitam ini dengan menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA dan BAP. Delima hitam merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat sebagai pengobatan herbal, karena diakui delima hitam ini memiliki khasiat yang cukup besar terhadap kesehatan tubuh. Delimapun juga diyakini sebagai tanaman surga yang memiliki banyak manfaat, sehingga tak sedikit pengobatan islam yang melibatkan buah ini sebagai bahan pengobatan. Allah berfirman dalam surah Luqman ayat 10, yang menyatakan bahwa Allah telah menciptakan berbagai tumbuh-tumbuhan yang baik dengan sifat KeagunganNya. Tujuan penciptaan tumbuh-tumbuhan baik inilah tak lain adalah agar dapat bermanfaat bagi manusia.

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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 bintang, dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Berdasarkan tafsir Al Qurtubi menjelaskan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang dapat memberikan manfaat bagi manusia. Hal ini dijelaskan pada

kata (za-wa-ja) adalah warna, sedangkan kata (kariim) yang berarti menumbuhkan. Kata kariim ini digunakan sebagai penggambaran pada sesuatu yang baik bagi objek yang telah disifatinya (Ali, 1989). Selain itu pada tafsir Ibnu Katsir oleh Al-Sheikh (1994), bahwa Al-Hasan dan Qatadah mengatakan langit tak memiliki tiang. Allah telah menyebarkan berbagai macam binatang maupun tumbuhan di bumi dengan jumlah, bentuk dan warna yang tak dapat semua kita ketahui kecuali hanya penciptanya. Melalui hal ini Allah memberikan pesan bahwa Dia telah menitipkan rizki pada hambanya dengan begitu luas dan melimpah. Salah satunya telah Allah sampaikan pada firmanNya yaitu segala macam tumbuhan yang baik dan indah pemandangannya.

Manusia sebagai khalifah di bumi harus bisa berperan dalam mengolah apa yang ada di dalam bumi ini dengan baik tanpa merusak di sekitarnya. Dengan Allah menciptakan berbagai tumbuhan baik di bumi ini, maka manusia dapat menggunakannya sebagai sarana pertahanan hidup, diantaranya yaitu tumbuhan sebagai bahan makanan, bahan obat-obatan, dan bahan bangunan. Sedangkan dalam penelitian ini delima hitam dikenal sebagai tumbuhan obat yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang tinggi. Kandungan metabolit sekunder ini merupakan dari golongan fenol, tannin, flavanoid dan lain-lain. Metabolit sekunder inilah yang banyak digunakan manusia sebagai pengobatan herbal melalui proses pengekstrakan dalam bentuk obat-obatan yang dapat diperoleh melalui teknik kultur jaringan.

Delima hitam merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan manfaat yang sangat besar, sehingga melalui kandungannya inilah dapat bermanfaat

besar terhadap kesehatan manusia. Oleh karena itu delima hitam sangat berpotensi untuk diambil kandungan metabolitnya melalui kultur teknik kultur jaringan, sehingga manfaat dari metabolit sekunder inilah yang nantinya dapat diperbanyak produksinya secara masal. Dalam penelitian induksi kalus metabolit dapat dihasilkan melalui protokol konsentrasi ZPT yang tepat, sehingga diharapkan pertumbuhannya dapat optimal dan melimpah sesuai pada target. Dalam hal ini maka Allah telah menyinggung pada firmanNya surah Al-A'laa ayat 3 menerangkan tentang penciptaan Allah terhadap makhluknya yang telah sesuai kadarnya sehingga dapat berkembang secara optimal.

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ

Artinya : "Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk".

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah telah menetapkan segala sesuatunya dengan sesuai pada kadarnya msing-masing. Sehingga dalam penelitian ini pemberian berbagai konsentrasi ZPT pada kalus delima hitam tentunya akan memberikan respon atau hasil yang berbeda-beda. Karena setiap ZPT akan memberikan hasil yang berbeda pada tumbuhan yang berbeda pula, sehingga untuk mendapatkan hasil yang baik maka membutuhkan kadar yang optimal dalam penentuan konsentrasi ZPT tersebut. Pemberian ZPT yang terlalu rendah juga akan memberikan pertumbuhan yang kurang cepat, sedangkan pemberian ZPT pada konsentrasi tinggi juga dapat menghambat pertumbuhan dari tumbuhan tersebut bahkan bisa juga mengalami kematian. Sehingga penelitian ini dengan tema induksi kalus kompak delima hitam yaitu dengan cara menambahkan berbagai konsentrasi ZPT NAA dan BAP terhadap

media perlakuan, dapat menghasilkan kalus yang terbaik dari konsentrasi yang optimal.

Penelitian kultur jaringan ini dapat dijadikan suatu sarana atau upaya dalam menjaga bumi yang telah Allah titipkan kepada manusia. Sehingga persediaan yang ada pada bumi ini dapat lestari hingga anak cucu kita berikutnya. Selain itu, dalam penelitian kultur jaringan tersebut dapat dijadikan sebagai salah satu tindakan bahwa manusia diwajibkan untuk selalu memikirkan tentang penciptaan Tuhan, baik sambil berdiri, duduk maupun berbaring, seperti ayat yang tercantum pada Surah Ali-Imron ayat 191, yaitu :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

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

Ayat diatas memiliki pesan bahwa sebagai manusia yang berakal harus selalu mengingat Allah dalam berbagai kondisi apapun. Allah telah menetapkan manusia sebagai khalifah bumi yang berakal, artinya yaitu bahwa manusia harus biasa memanfaatkan akal fikirannya dalam mempelajari ciptaan Tuhan yang ada di bumi ini. Sehingga manusia mampu mengetahui permasalahan yang terjadi pada lingkungan sekitarnya. Dengan begitu bumi akan tetap terjaga kelestarian alam maupun seisinya. Hal ini merupakan salah satu implementasi dari ayat diatas terhadap penelitian kultur jaringan tumbuhan. Kultur jaringan selain digunakan sebagai

penghasil kalus metabolit yang nantinya akan diambil senyawa metabolit sekundernya seperti kalus kompak delima hitam pada penelitian ini, kultur jaringan juga dapat digunakan sebagai sarana perbanyakan tumbuhan secara masal dalam waktu singkat namun dapat menghasilkan jumlah tanaman yang banyak. Sehingga bumi ini akan tetap terjaga kesuburannya yang nantinya akan dapat dimanfaatkan dengan baik bagi generasi penerus berikutnya.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan terhadap pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L.var.), dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian berbagai konsentrasi hormon NAA terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L.var) berpengaruh nyata terhadap kedua variabel pengamatan, dengan konsentrasi optimal dalam menghasilkan persentase dan berat kalus yang baik adalah 0,25 mg/L NAA dengan hasil persentase 57,666% dan berat kalus sebesar 0,3307 gr.
2. Pemberian berbagai konsentrasi hormon BAP terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L.var) berpengaruh nyata terhadap ketiga variabel pengamatan, dengan konsentrasi 0,5 mg/L BAP yang menghasilkan hari muncul kalus selama 16,93 HST, persentase tumbuh kalus sebesar 59,83 %, dan berat kalus sebesar 0,416 gr.
3. Interaksi kombinasi pemberian konsentrasi hormon NAA dan BAP terhadap induksi kalus kompak delima hitam (*Punica granatum* L.var) berpengaruh nyata

terhadap ketiga variabel pengamatan, hari muncul kalus, persentase dan berat kalus dengan perlakuan kombinasi optimal 0,25 mg/L NAA + 1 mg/L BAP mampu menginduksi kalus selama 16 HST, dengan persentase kalus 83,33 % dan berat kalus sebesar 0,0203 gr. Warna dan tekstur kalus yang dihasilkan yaitu berwarna hijau, putih kemerahan dengan tekstur kompak. Adanya warna kemerahan menandakan terdapat kandungan senyawa metabolit yang tinggi. Anatomi kalus delima hitam yang dihasilkan dapat mengindikasikan bahwa memenuhi karakteristik kalus metabolit yaitu memiliki sel yang rapat, sitoplasma yang padat, memiliki vakuola yang banyak, dan mengandung pati didalamnya.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait kandungan senyawa metabolit yang terkandung pada kalus delima hitam.
2. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan mengenai penelitian anatomi kalus metabolit.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.A., A.M. Ali, M. Marzali, dan A.B. Ariff. 1998. Establishment Of Cell Suspension Cultures Of *Morinda elliptica* For The Production Of Anthraquinones. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. Vol. 54. 173-182.
- Abidin, Z. 1990. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung : Penerbit Angkasa.
- Al – Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan : Pustaka Azzam.
- Ali. 1989. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghiy*. Semarang : Toha Putra.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kanton Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Al-Maraghi, dan Ahmad M. 1993. *Tafsir Al-Maraghi*, (Terjemahan), Juz 15. Semarang : Toha Putra.
- Al-Najjar, Z. R. 2013. *Buku Pintar Sains dalam Hadist : Mengerti Mukjizat Ilmiah Sabda Rasulullah saw*. Jakarta : Zaman.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Andriani, V. 2015. Karakterisasi Anatomi dan Aktivitas Antioksidan Delima (*Punica granatum* L.). *Tesis*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Anggarwulan, E. S. 2001. *Fisiologi Tumbuhan*. Surakarta : UNS Press.

- Arianti, S. N. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP, dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science*. 1(1). 78-84.
- Arianto, B. dan M. U. Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D Secara *In Vitro*. *E. J. Agrotekbis*. 1(3).
- Bektas, N., dan Nilgun O. 2007. Antioxidant Activity of *Punica granatum* (Pomegranate) Flowers. *Toxicology Letters*. DOI: 10.1016/j.toxlet.2007.05.183.
- Bermawie, N. dan Natalini N. K. 2003. Penyimpanan *In Vitro* Tanaman Obat Potensial. *Jurnal Perkembangan Teknologi TRO*. 15(1). 51-60.
- Boggia, R., Federica T, Carla V. 2016. Green Extraction from Pomegranate Marcs for the Production of Functional Foods and Cosmetics. *Pharaceuticals*. 9(63). DOI: 10.3390/ph9040063.
- Boyanpour, A., dan Morteza K. 2013. Callus Induction and Plant Regeneration in *Punica granatum* L. 'Nana' from Leaf Explant. *Journal of Central European Agriculture*. 14(3). 928-936.
- Chengaiyah. B., K. Mallik A. R., dan K. Mahesh K. 2010. Medicinal Importance of Natural Dyesa Review. *International Journal of PharmTech Research CODEN (USA)*. 2(1). 144-154. ISSN : 0974-4304.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid I*. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Darwati, I. 2007. Kultur Kalus Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) untuk Metabolit Sekunder. *Skripsi*. Institute Pertanian Bogor.

- David T. Webb. 1984. Developmental Anatomy And Histochemistry Of Light-Induced Callus Formation By *Diöon Edule* (Zamiaceae) Seedling Roots In Vitro. *American Journal of Botany*. 71(1).
- Davies P. J. 2004. *Plant Hormones*. London : Kluwer Academic Publisher.
- Deepika, R., dan Kamlesh K. 2010. In Vitro Regeneration of *Punica granatum* L. Plants from Diferent Juvenile Explant. *Journal of fruit and Ornamental Plant Research I*. 18(1). 5-22.
- Deepika, R., dan Kamlesh K. 2012. Biotechnological advances in pomegranate (*Punica granatum* L.). *In Vitro Cell.Dev.Biol. Plant*. Vol. 48. 579–594. DOI 10.1007/s11627-012-9467-7.
- Departement Kementrian Perdaangan Republik Indonesia. 2014. *Warta Eksplor Obat Tradisional Indonesia*. Jakarta : Kementrian Perdagangan Republik Indonesia.
- Duangporn, P., dan Premjet S. 2009. Effect of Auxin and Cytokinin on Phyllanthusol A Prodution by Callus Culture of *Phyllanthus acidus* Skeels. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*. 5(2). 258-263. ISSN : 1818-6769.
- Dwi, N. M., Waeniati, Muslimin dan, Suwastika, I. N. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau. (*Vitis vinifera* L). *Jurnal Nasiona Science*. 1(1). 53-63
- Ernawati, A. 1992. *Produksi senyawa-senyaw Metabolit Sekunder dengan Kultur Jaringan Tanaman*. Bogor : Bioteknologi IPB Press.
- Fahn, A. 2011. *Anatomi Tumbuhan* Diterjemahkan oleh Sodiarto, A. Yogyakarta : UGM Press.

- Faria, Ana dan Conceicao C. 2011. The Bioactivity of Pomegranate : Impact on Health and Disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol. 51. 626-634.
- Fitriyani, A. 2003. Kandungan Ajmalisin pada Kultur *Catharantus roseus* L. G. Don. Setelah Dielisisasi Homogenat Jamur *Phythium aphanidermatum* Edson Fitzp. *Makalah Pengatur Falsafah Sains*. PPS 702. Wttp: //rud yet. Tripod.com scm 2-022/Any Fitriani htm (6 juni 2018).
- Gati, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Kalus *Mentha piperita* Linn. *Buletin Littri*. Vol. 3. 1-4.
- George, E. F. dan Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England : Eastern Press.
- George, E. F., dan P. D. Sherrington. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England : Exegetics Limited.
- Gunawan, L. W. 1998. *Budidaya Anggrek*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Guo, C. J., Yang, J. J., Wei, J., dan Jiang, Y. G. 2003. Antioxidant Activities of Peel, Pulp and Seed Fractions of Common Fruits as Determined by FRAP. *Essay Nutr. Res.* 23(12). 1719-1726.
- Handaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif Media)*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Hanifah, N. 2007. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Surakarta.
- Harahap, F. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Medan : Unimed Press.
- Hartman, H. T., D. G. Kester, dan F. T. Davier. 1990. *Plant Propagation : Principles and Practices*. 5th ed. Singapore : Prentice Hall Inc.

- Herbert, R. B. 1995. *Biosynthesis of Secondary Metabolites*. 2nd edition. New York : Chapman and Hall.
- Hrazdina, G. 1992. *Compartementation in Aromatic Metabolism*. In A. H. Stafford and K. R. Ibrahim (Eds.), *Phenolic Metabolism in Plant*. New York : Plenum Press.
- Husni, A. 1997. Perbanyakan dan Penyimpanan Tanaman Ingggu Melalui Kultur Jaringan. *Plasma Nutfah*. 11(1). 9-23.
- Indah, N., P. dan Ernaitalini, D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Konsentrasi 6 Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic. *Jurnal Sains dan Semi Pomits*. 2(1).
- Indrianto, A. 2002. *Bahan Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM Press.
- Kanwar, K., Joseph J., Deepika R. 2010. Comparison of In Vitro Regeneration Pathways in *Punica granatum* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. Vol. 100. 199-207.
- Keyte, L. dan Kleyn, J. 1996. *Plant from Test Tubes an Introduction to Micropropagation. Third Edition*. Washington : Timber Press Inc.
- Khan, S. A. 2009. The Role of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Colon Cancer. *Pak. J. Pharm. Sci*. 22(3). 346-348.
- Khasanah, N. 2011. Kandungan Buah-Buahan dalam Al-Qur'an : Buah Tin (*Ficus carica* L.), Zaitun (*Olea europae* L.), Delima (*Punica granatum*), Anggur (*Vitis vinivera*), dan Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) untuk Kesehatan. *Jurnal Phenomenon*. 1(1).
- Kimball, J. W. 1983. *Biologi Jilid 2*. Jakarta : Erlangga.

- Kintoko. 2006. *Prospek Pengembangan Tanaman Obat*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Press.
- Krismawati, A. 2007. Pengaruh Ekstrak Tanaman Ceremai, Delima Putih, Jati Belanda, Kecombrang, dan Kemuning Secara *In Vitro* Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Manusia. *Skripsi*. Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- Leon, L. L. dan Araujo, C. A. C. 2001. Biological Activities of *Curcuma longa* L. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. *Rio de Janeiro*. 95(5).
- Lestari, E. G., I. Mariska. 2003. Pengaruh Berbagai Formulasi Media Terhadap Regenerasi Kalus Padi Indica. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, 157.
- Manoi, F. 2015. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Menara Perkebunan*. Vol. 65. 1-8.
- Mariska dan Sukmadjaja. 2003. *Kultur Jaringan Abaka Melalui Kultur Jaringan*. Bogor : Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian.
- Matsuoka, H., dan Kokichi H. 1979. NAA Induced Organogenesis and Embryogenesis in Hypocotyl Callus of *Solanum melongena* L. *Journal of Experimental Botany*. 30(3).
- Moghadamtousi, S. Z., M. Fadaeinasab, S. Nikza, G. Mohan, dkk. 2015. *Annona muricata* (Annonaceae) : A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *Int. J. Mol. Sci*. Vol. 16. DOI: 10.3390/ijms 160715625.
- Mumpuni, K. E., Herawati S., dan Fatchur R. 2014. The Potential of Local Plants as a Source of Learning Biology. *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*.

- Murashige, T. 1990. Plant Propagation by Tissue Culture: A Practise with Unrealized Potential. In: Ammirato P.V. Evans D.A., Sharp W.R., and Bajaj Y.P.S. (eds.). *Hand book of plant cell culture*. Volume 5. *Ornamental Species*. Pp. 3-9. Mc. Graw Hill. USA.
- Murkute A. A., Patil S, Patil B. N., Kumari M. 2002. Micropropagation in Pomegranate Callus Induction and Differentiation. *South Indian Hortic*. 50(3). 49-55.
- Muryati, S., dan Anggarwulan E. 2005. Pertumbuhan dan Produksi Resepin Kalus Pule Pandak (*Raufolevia serpentin* L. Bentham ex. Kurz) pada Pemberian Metil Jasmonat Secara *In Vitro*. *J. Bioteknologi*. 22(2).
- Naik, V., Jonathan B. Berk, dan Richard C. G. 1999. Optimal Invetement Growth Option and Security Returns. *The Journal of Finance*. 54(5).
- Najib, A. 2006. *Ringkasan Materi Kuliah Fitokimia II*. Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.
- Naqvi, S. A. H., Khan, M. S. Y., dan Vohora, S. B. 1991. Anti-bacterial Antifungal and anthelmintic Investigations on Indian Medicinal Plant. *Fitoterapia*. 62(3). 221-228.
- Nazza. 2013. Induksi Kalus Pegagan (*Centelaasiatica*) pada Media MS Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasikan Dengan Air Kelapa. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- NCBI. 2017. Encyclopedia of Life.
- Noggle, G. R. dan G. J. Fritz. 1983. *Introductory Plant Physiology : Second Edition*. New Jersey : Prentince-Hall.

- Petterson, G., R. Smith. 1991. Effect of Abisicic Acid and Callus Size on Regeneration of American and International Rice Varieties. *Plant Cell Rep.* Vol. 10. 35-38.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Hinger Plant*. Netherlands : Martinus Nijhoft Publisher.
- Poonsapaya, P. M. W., Nabors, W. Kersi, dan M. Vajrabhaya. 1989. A Comparison of Methods for Callus Culture and Plant Regeneration of RD-25 Rice (*Oriza sativa* L.) In Vitro Laboratoris. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* Vol. 16. 175-186.
- Purnamaningsih, R. 2011. Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi*. 10(4).
- Purwantini, I., dan Subagus W. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antijamur (*Candida albicans*) dari Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.). *Majalah Farmasi Indonesia*.
- Rahayu, B., Solichatun, dan Endang Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasestat Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavanoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*. 1(1). 1-6.
- Rajan S., S. Mahalakshmi, V. M. Deepa, K. Sathya, S. Shajitha, dan T. Thirunalasundari. 2011. Antioxidant Potentials of *Punica granatum* Fruit Rind Extracs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(3). ISSN : 0975-1491.
- Riyadi, I., dan Triboma. 2004. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabica. *Bulletin Plansma Nutfah*. 10(2).
- Rohmah. S. N. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D dalam Kultur *In Vitro* Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Skripsi*. Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- Rukmana, R. 2003. *Tabulampot : Delima*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.

- Rusmaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. pada Kultur *In Vitro*. Skripsi. Surakarta.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Penerjemah : Lukman, D. R. dan Sumaryono. Bandung : ITB Press.
- Santoso, U. dan Nursandi, P. 2001. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Malang : UMM Press.
- Santyavani K., T. Ramanathan dan S. Gurudeeban. 2011. Effect pf Plant Growth Regulators on Callus Induction and Plantlet Regeneration of Bitter Apple (*Citrullus colocynthis*) from Stem Eplant. *Asian Journal of Biotechnology*. ISSN : 1996-0700 / DOI : 10.3923/ajbkr.
- Sayyid, A.B.M.. 2008. *Terapi Herbal dan Pengobatan Cara Nabi Saw*. Jakarta : Penebar Plus.
- Setyowati, E. P. 1998. *Pemeriksaan Potensi Antijamur (Candida albicans) pada Beberapa Penyusun Jamu Keputihan yang Beredar di Pasaran*. Yogyakarta : Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada.
- Shihab, Q. 2001. *Membumikan Al-Qur'an, Fungsi dan Peran Wahyu dalam Kehidupan Manusia*. Bandung : Mizan.
- Siahaan, E. R., Wimpie Pangkahila, dan A. Wiraguna. 2017. Krim Ekstrak Kulit Delima Merah (*Punica granatum*) Menghambat Peningkatan JuMLAH Melanin sama Efektifnya dengan Krim Hidrokuinon pada Kulit Marmut (*Cavia porcellus*) Betina yang Dipapar Sinar UVB. *Journal Biomedik (JBM)*. 9(1). 7-13.
- Soemiati, A., dan Berna E. 2002. Uji Pendahuluan Efek Kombinasi Antijamur Infus Daun Sirih (*Piper betle* L.), Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.), dan

Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Jamur *Caandida albicans*. *Makara, Seri Sains*. 6(3).

Sriyanti, D. P. dan Wijayani A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta : Kanisius.

Suhasini S. C., S. N. Patil, P. G., Venkateshalu, dan S. L. Jagadeesh. 2017. In Vitro Culture Establishment in Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cv. Bhagwa. *Int. J. Curr Sci*. 20(1). 57-62.

Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta : Kanisius.

Taiz, L. dan Zeigr, E. 1998. *Plant Physiology*. Sinaver Asosiates : Inc. Publisher.

Tavares, Ana C., Ligia R., Salgueiro, dan Jorge M. C. 2009. In Vitro Propagation of The Wild *Daucus carrota* L. subsp. *Halophilus* (Brot.) A. Pujades for Conservation Purposes. *Biology Plant*. 46(1). 47-56.

ValizadehKaji, B., Ahmad E., dan Mosoud T. 2013. In Vitro Propagation of Two Iranian Commercial Pomegranates (*Punica granatum* L.). *Physiol Mol Bio Plants*. 19(4). 597-603. DOI : 1007/s12298-013-0193-3.

Wardani, D. P., Sholichatun, Setiawan, dan Ahmad D. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. Pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2(3). 35-43.

Wattimena, G. A. 1992. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor : IPB Press.

Wetter, L. R. dan F. Constabel. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung : ITB Press.

Widyawati, G. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar. *Tesis*. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.

- Yasuda, T., Yoko F., dan Tadashi Y. 1985. Embryogenic Callus Induction from *Coffea arabica* Leaf Explants by Benzyladenine. *Plant and Cell Physiology*. 26(3).
- Yokota, T., Tutumi, N., and Takahasi, K. 1999. Growth Rate Estimation of In Vitro Primarily Induced Carrot Callus by a Fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 2. 231-234.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur In Vitro Tanaman*. Yogyakarta : Andi Offset.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta : Agro Media Pustaka.
- Zhang, B., dan Leonard P., Stoltz. 1991. In Vitro Shoot Formation and Elongation of Dwarf Pomegranate. *HortScience*. 26(8).
- Zulkarnain. 2014. *Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya Kultur Jaringan Tumbuhan*. Jakarta : PT. Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Hasil Analisis Variansi (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%

1.1 A. Hasil Analisis Variansi pada Hari Muncul Kalus Delima Hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2580.882 ^a	8	322.610	10.011	.000
Intercept	30509.115	1	30509.115	946.701	.000
NAA	411.218	4	102.804	3.190	.019
BAP	2059.618	4	514.904	15.978	.000
Error	2094.739	65	32.227		
Total	35000.000	74			
Corrected Total	4675.622	73			

a. R Squared = .552 (Adjusted R Squared = .497)

Kombinasi NAA dan BAP

ANOVA

HMK	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4909.947	24	204.581	60.171	.000
Within Groups	170.000	50	3.400		
Total	5079.947	74			

1.2.B. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Hari Muncul Kalus

HMK

Duncan

NAA	N	Subset	
		1	2
NAA 0	14	14.7857	
NAA 0.25	15		21.0000
NAA 0.5	15		21.4667
NAA 1	15		21.6667
NAA 0.75	15		21.9333
Sig.		1.000	.689

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 32.227.

HMK

Duncan

BAP	N	Subset	
		1	2
BAP 1	15	16.2667	
BAP 0.5	15	16.9333	
BAP 1.5	15	18.0000	
BAP 2	15	19.5333	
BAP 0	14		31.2143
Sig.		.159	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 32.227.

1.3.A. Hasil Analisis Variansi pada Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:PERSENTASE

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44421.448 ^a	8	5552.681	28.726	.000
Intercept	214916.284	1	214916.284	1.112E3	.000
NAA	3137.902	4	784.475	4.058	.005
BAP	42171.973	4	10542.993	54.542	.000
Error	12564.555	65	193.301		
Total	278477.250	74			
Corrected Total	56986.003	73			

a. R Squared = .780 (Adjusted R Squared = .752)

Kombinasi NAA dan BAP**ANOVA**

PERSENTASE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51909.387	24	2162.891	13.468	.000
Within Groups	8029.833	50	160.597		
Total	59939.220	74			

1.4.B. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam

PERSENTASE

Duncan

NAA	N	Subset	
		1	2
NAA 0	14	46.4286	
NAA 0.75	15	49.5000	49.5000
NAA 0.25	15		57.6667
NAA 1	15		59.3333
NAA 0.5	15		60.0667
Sig.		.550	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 193.301.

PERSENTASE

Duncan

BAP	N	Subset		
		1	2	3
BAP 0	14	8.2143		
BAP 2	15		57.4000	
BAP 0.5	15		59.8333	
BAP 1.5	15		66.6667	
BAP 1	15			78.3333
Sig.		1.000	.091	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 193.301.

1.5.A. Hasil Analisis Variansi pada Berat Kalus Delima Hitam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:BERAT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.024 ^a	8	.003	5.022	.000
Intercept	.075	1	.075	125.113	.000
NAA	.011	4	.003	4.407	.003
BAP	.015	4	.004	6.127	.000
Error	.039	65	.001		
Total	.141	74			
Corrected Total	.063	73			

a. R Squared = .382 (Adjusted R Squared = .306)

Kombinasi NAA dan BAP

ANOVA					
BERAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.035	24	.001	2.536	.003
Within Groups	.029	50	.001		
Total	.064	74			

1.6.B. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Berat Kalus Delima Hitam

BERAT			
Duncan			
NAA	N	Subset	
		1	2
NAA 0	14	.01192	
NAA 1	15		.03076
NAA 0.25	15		.03307
NAA 0.75	15		.03969
NAA 0.5	15		.04571
Sig.		1.000	.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

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

BERAT			
Duncan			
BAP	N	Subset	
		1	2
BAP 0	14	.00537	
BAP 2	15		.03266
BAP 1	15		.04032
BAP 1.5	15		.04073
BAP 0.5	15		.04163
Sig.		1.000	.371

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

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

1.7.A. Hasil Analisis Variansi dan Uji DMRT 5% Kombinasi Terhadap Persentase Tumbuh Kalus Delima Hitam

PERSENTASE

Duncan

NAA & BAP	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
N0B0	3	.0000				
N1B0	3	6.6667				
N0.5B0	3	8.3333				
N0.75B0	3	10.0000				
N0.25B0	3	13.3333				
N0B0.5	3		40.0000			
N0B2	3		40.0000			
N0.75B2	3		40.0000			
N0B1.5	3		55.0000	55.0000		
N0.75B2	3		55.0000	55.0000		
N0.75B0.5	3		57.5000	57.5000	57.5000	
N0.25B0.5	3		63.3333	63.3333	63.3333	63.3333
N0.5B1.5	3		63.3333	63.3333	63.3333	63.3333
N0.5B0.5	3			65.0000	65.0000	65.0000
N0.75B1	3			65.0000	65.0000	65.0000
N1B1.5	3			66.6667	66.6667	66.6667
N0.25B1.5	3			73.3333	73.3333	73.3333
N1B0.5	3			73.3333	73.3333	73.3333
N0.75B1.5	3			75.0000	75.0000	75.0000
N1B1	3			75.0000	75.0000	75.0000
N1B2	3			75.0000	75.0000	75.0000
N0.5B2	3			77.0000	77.0000	77.0000
N0B1	3				81.6667	81.6667
N0.25B1	3					83.3333
N0.5B1	3					86.6667
Sig.		.259	.057	.084	.057	.067

BERAT

Duncan

NAA & BAP	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
N0B0	3	.00000					
N1B0	3	.00314	.00314				
N0.5B0	3	.00563	.00563				
N0.75B0	3	.00742	.00742				
N0.25B0	3	.00885	.00885				
N0B0.5	3	.00920	.00920				
N0B2	3	.01292	.01292	.01292			
N0B1.5	3	.01495	.01495	.01495			
N0B1	3	.01855	.01855	.01855	.01855		
N0.25B1	3	.02030	.02030	.02030	.02030		
N0.75B2	3	.02223	.02223	.02223	.02223	.02223	
N1B1.5	3	.02830	.02830	.02830	.02830	.02830	.02830
N1B2	3	.02848	.02848	.02848	.02848	.02848	.02848
N1B0.5	3	.03687	.03687	.03687	.03687	.03687	.03687
N0.75B2	3	.03933	.03933	.03933	.03933	.03933	.03933
N0.75B0.5	3	.04103	.04103	.04103	.04103	.04103	.04103
N0.25B1.5	3	.04115	.04115	.04115	.04115	.04115	.04115
N0.75B1	3	.04200	.04200	.04200	.04200	.04200	.04200
N0.5B0.5	3		.04823	.04823	.04823	.04823	.04823
N0.5B1.5	3		.05055	.05055	.05055	.05055	.05055
N1B1	3			.05698	.05698	.05698	.05698
N0.5B2	3			.06033	.06033	.06033	.06033
N0.5B1	3				.06378	.06378	.06378
N0.75B1.5	3					.06868	.06868
N0.25B0.5	3						.07282
Sig.		.085	.053	.051	.062	.054	.065



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : EMILIA UMROTIN
NIM : 14620005
Program Studi : Biologi
Semester : VIII
Pembimbing : Ruri Siti Resmisari M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) Dan BAP (*6-Benzil Amino Purin*) Terhadap Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica Granatum L. var.*) Secara *In Vitro*

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	7 Juni 2018	Konsultasi data pengamatan kalus	
2.	8 Juni 2018	Konsultasi data pengamatan kalus ke 2	
3.	11 Juni 2018	Konsultasi BAB IV dan data SPSS	
4.	12 Juni 2018	Konsultasi data SPSS dan regresi	
5.	18 Juni 2018	Konsultasi BAB IV dan data SPSS	
6.	19 Juni 2018	Revisi BAB IV dan V	
7.	20 Juni 2018	Revisi BAB IV, V, dan SPSS	

Malang, 5 Juli 2018

Pembimbing Skripsi,

Ruri Siti Resmisari M.Si
NIP. 19790123 20160801 2 063

Ketua Jurusan,



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



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : EMILIA UMROTIN
NIM : 14620005
Program Studi : Biologi
Semester : VIII
Pembimbing : Ruri Siti Resmisari M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA
(*Naphtalene Asetic Acid*) Dan BAP (*6-Benzil Amino Purin*)
Terhadap Induksi Kalus Metabolit Delima Hitam (*Punica
Granatum L. var.*) Secara *In Vitro*

No	Tanggal Uraian	Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	7 Juni 2018	Konsultasi Ayat Integrasi BAB I, II	
2.	8 Juni 2018	Konsultasi Ayat Integrasi BAB IV	

Malang, 5 Juli 2018

Pembimbing Agama,

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

Ketua Jurusan,



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