MULTIPLIKASI TUNAS LATERAL LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn) PADA BERBAGAI MACAM MEDIA DASAR DAN KONSENTRASI *6 – Benzyl Amino Purine* (BAP) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

UMI SA'ADAH

NIM: 14620038

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

MULTIPLIKASI TUNAS LATERAL LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn) PADA BERBAGAI MACAM MEDIA DASAR DAN KONSENTRASI *6 – Benzyl Amino Purine* (BAP) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
UMI SA'ADAH
NIM. 14620038

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)

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PERSETUJUAN

MULTIPLIKASI TUNAS LATERAL LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn) PADA BERBAGAI MACAM MEDIA DASAR DAN KONSENTRASI *6 – Benzyl Amino Purine* (BAP) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

UMI SA'ADAH

NIM. 14620038

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

tanggal 7 November 2018

Pembimbing I,	Pembimbing II,
Suyono, M. P	**M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I**
NIP.19710622 200312 1 002	**NIPT. 20142011409**

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PENGESAHAN

MULTIPLIKASI TUNAS LATERAL LEGUNDI (*Vitex trifolia* Linn) PADA BERBAGAI MACAM MEDIA DASAR DAN KONSENTRASI *6 – Benzyl Amino Purine* (BAP) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

UMI SA'ADAH

NIM. 14620038

telah dipertahankan
di depan Dosen Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima
sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
tanggal 25 November 2018

Penguji Utama	Dr.Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji	Shinta, S.Si, M. Si NIDT. 19880110 20160801 2 064	
Sekretaris Penguji	Suyono, M. P NIP.19710622 200312 1 002	
Anggota Penguji	M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I NIPT. 20142011409	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Umi Sa'adah

NIM : 14620038

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi *6 - Benzyl Amino Purine* (BAP) secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lainyang 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, November 2018

Yang Membuat Pernyataan,

Umi Sa'adah

NIM. 14620038

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

MOTTO

Rasulullah SAW. bersabda:

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

"Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia"

(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadits ini dihasankan oleh al-Albani di dalam *Shahihul Jami'* no:3289).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PERSEMBAHAN

اَلْحَمْدُ للهِ الْمَلِكِ الْحَقِّ الْمُبِيْنِ، الَّذِي حَبَانَا بِالْإِيْمَانِ واليقينِ. اَللَّهُمَّ صَلِّ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ، خَاتَمِ الأَنْبِيَاءِ وَالمرْسَلِين، وَعَلَى آلِهِ الطَّيِّبِين، وَأَصْحَابِهِ الأَخْيَارِ أَجْمَعِين، وَمَنْ تَبِعَهُمْ بِإِحْسَانٍ إِلَى يَوْمِ الدِّيْنِ

Skripsi ini saya persembahkan secara istimewa untuk:

Kedua orang tua tercinta, Bapak Tukijan dan Ibu Suryani, yang tanpa ridho dan do'a keduanya, tidak mungkin Allah memudahkan saya dalam mencari ilmu. Serta untuk adik saya, Fathimatuz Zahro. Terimakasih untuk do'a, semangat dan dukungan yang tak pernah luput diberikan.

Keluarga Besar Filant Laboratory . Bapak Dita Agisimanto dan Ibu Nur Hayati Hadiba. Dua orang hebat yang saya temui diujung perjuangan saya menempuh Strata 1. Beliau yang dengan keserhanaannya memberikan ilmu dan wawasan baik dalam bidang riset maupun kehidupan sehari-hari. Yang tak pernah lelah mendidik dan mengajarkan arti kerja keras dan kesabaran. Terima kasih tak terhingga untuk beliau.

Pengasuh Pondok Pesantren Nurul Huda Mergosono, Griya Tahfidz Muslimah Merjosari, serta Mahad Sunan Ampel Al Aly yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk menimba ilmu, terutama ilmu agama. Juga semua teman-teman yang pernah menjadi *roommate* disana. Terimakasih untuk semua kebaikan dan nasihatnya selama ini.

Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah mendukung terselesaikannya skripsi ini. *Jazakumullahu khairan katsiraa*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur *Alhamdulillah,* penulis panjatkan kepada Allah SWT. Atas limpahan rahmat, taufiq, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **"Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn*)* pada Berbagai Macam Media dan Konsentrasi *6-Benzyl Amino Purine* (BAP) secara *In Vitro"***. Sholawat serta salam semoga senantiasa pada junjungan kita, nabi besar, Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa risalah-Nya, pendobrak pintu kejahiliyahan, salah satunya melalui pendidikan berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Penulisan skripsi yang telah penulis susun dibuat untuk diajukan kepada Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana sains (S.Si), untuk kemajuan keilmuan di Indonesia serta untuk kebermanfaatan dimasyarakat luas.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan berlangsung baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak terkait. Oleh karena itu, penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *Jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini baik dalam penelitian maupun penulisannya. Ucapan terimakasih ini penulis haturkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Dita Agisimanto dan Ibu Nur Hayati Hadiba, M. Sc, yang telah memberikan banyak ilmu kepada penulis. Semoga Allah senantiasa melindungi beliau.
5. Suyono, M.P, selaku dosen pembimbing Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ibrahim Malang yang telah memberikan arahan mengenai sains dalam perspektif islam.

7. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Ibu Shinta, S.Si, M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun serta membantu terselesaikannya skripsi ini.
8. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen wali yang selalu memotivasi dan memberikan pengarahan selama menuntut ilmu di Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh Dosen, Laboran dan Staf Administrasi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.
10. Filant Corp (Seluruh Staf Laboratorium dan Nursery), Junrejo, Batu yang telah membantu dan memberikan kemudahan dalam penyelesaian skripsi ini. Terimakasih atas ilmu dan bimbingannya.
11. Bapak Tukijan dan Ibu Suryani atas semua dukungan, semangat dan nasihat yang selalu diberikan pada penulis, serta untuk do'a yang tak pernah henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta untuk adik tercinta, Fathimatuz Zahro, terimakasih telah menyemangati, menghibur dan selalu menyayangi.
12. Teman-teman 4 Sekawan (Syafiq, Mayaa, Aulia) terimakasih telah membersamai selama ini, yang karena kalianlah orang tua penulis mengizinkan untuk kuliah sampai di Malang.
13. Teman satu Tim Penelitian, Azimatun Ni'mah dan Diah Asri Ariantika yang berjuang bersama-sama mulai dari penelitian hingga terselesaikannya penelitian ini.
14. Teman-teman yang selalu saya repotkan selama kuliah, Herlina, Anita, Ana, Alif, Mbak Halimah, Aldila, Khalimah, Isvatul, Vinia, Erta, Nur dan masih banyak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terimakasih telah membersamai, selalu mendengar keluh kesah dan menasehati.
15. Teman-teman Kelas Biologi B'14, terimakasih telah berbagi ilmu, suka dan duka bersama selama penulis mempuh S1.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

16. Teman-teman Keluarga Besar Biologi 2014 (TELOMER) yang berjuang bersama di Jurusan Biologi ini.
17. Teman-teman Biologi angkatan 2013-2017 dan para asisten yang telah memberikan banyak ilmu, semangat, motivasi dan nasihat selama penulis menyelesaikan pendidikan S1.
18. Semua pihak yang turut membantu penyelesaian skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Aamiin yaarabbal 'alamiin.*

Malang, 1 November 2018

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PERSETUJUAN ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iv
MOTTO v
HALAMAN PERSEMBAHAN vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI x
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiiiv
ABSTRAK xv
ABSTRACT xvi
الملخص xvii

BAB I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 9
1.3 Tujuan Penelitian 10
1.4 Manfaat Penelitian 10
1.5 Batasan Masalah 11

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) dalam Perspektif Islam 12
2.2 Klasifikasi dan Botani Legundi (*Vitex trifolia* L.) 16
2.2.1 Manfaat dan Kandungan Tanaman 18
2.3 Kultur Jaringan 19
2.3.1Media Kultur Jaringan 23
2.4 Zat Pengatur Tumbuh 27

BAB III METODE PENELITIAN
3.1 Waktu dan Tempat 32
3.2 Rancangan Penelitian 32
3.3 Variabel Penelitian 33

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4 Alat dan Bahan 33
3.5 Langkah Kerja 34
3.6 Pengamatan 38
3.7 Teknis Analisis Data 39
3.8 Desain Penelitian 41

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro* 42
4.2 Pengaruh BAP (*6 - Benzyl Amino Purine)* terhadap Multiplikasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro* 48
4.3 Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP (*6- Benzyl Amino Purine)* terhadap Multiplikasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*. 53
4.4 Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP terhadap Keragaan Visualisasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* L) secara *In Vitro* 61
4.5 Dialog Hasil Penelitian tentang Multiplikasi Tunas dalam Pandangan Agama Islam 63

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan 70
5.2 Saran 70

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan hara pada media dasar MS, DKW dan WV5.....26

Tabel 3.1 Notasi faktor taraf, kombinasi perlakuan.....32

Tabel 4.1 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*.....42

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam.....43

Tabel 4.3 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) BAP terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*.....48

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh BAP Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam... 49

Tabel 4.5 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*.....53

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Interaksi Jenis Media dan BAP Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam.....54

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (a) Planlet tanaman Legundi, (b) Tanaman legundi 4 minggu setelah tanam.....18

Gambar 2.2 Struktur Molekul BAP.....31

Gambar 4.1 Kurva regresi jumlah tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*.....57

Gambar 4.2 Kurva regresi berat basah tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*.....57

Gambar 4.3 Kurva regresi persentase tumbuh tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*.....58

Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*.....58

Gambar 4.5 Kurva regresi hari daun terbuka sempurna legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*.....58

Gambar 4.8 Keragaman Visualisasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* L) pada berbagai media dasar dan konsentransi BAP pada hari ke-30 setelah tanam.....61

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

Lampiran 2. Tabel Komposisi Media Dasar

Lampiran 3. Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh

Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

Lampiran 5. Tabel Hasil Pengamatan

Lampiran 6. Hasil Analisis Varian (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6 - *Benzyl Amino Purine* (BAP) secara *In Vitro*

Umi Sa'adah, Suyono, M.P dan Mukhlis Fahruddin, M.S.I

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang
Jl. Gajayana 50 Malang

ABSTRAK

Legundi (*Vitex trifolia* Linn) merupakan salah satu tanaman obat aromatik dengan habitus semak berkayu. Tanaman ini memiliki mampu mengatasi berbagai penyakit seperti asma, batuk, alergi dan beberapa penyakit lainnya. Legundi dapat tumbuh secara maksimal apabila ditanam didaerah pantai atau tanah berpasir. Perbanyakan legundi selama ini dilakukan dengan stek batang atau biji. Kebutuhan legundi di bidang industri semakin meningkat seiring meningkatknya konsumsi masyarakat pada obat herbal. Oleh karena itu, perlu dilakukan perbanyakan legundi dengan metode kultur jaringan agar berlangsung lebih cepat dan hasilnya maksimal meskipun tidak di habitat aslinya. Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman pada media tertentu dan dengan penambahan zat pengatur tumbuh agar pertumbuhan dapat terjadi secara efektif dan efisien. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 12 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan pada penelitian ini terdiri atas dua faktor yakni: jenis media, meliputi media MS, DKW dan WV5 dan penambahan BAP pada konsentrasi 0 µM; 2,2 µM; 4,4 µM; dan 6,6 µM. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *Two Way* α = 5%. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5%. Hasil pengamatan dan analisis data menunjukkan bahwa jenis media WV5 yang dikombinasikan dengan BAP pada konsentrasi 6,6 µM merupakan media yang terbaik untuk multiplikasi tunas lateral legundi dengan meningkatkan jumah tunas sebanyak 3,5 tunas.

Kata Kunci : BAP, jenis media, legundi, multiplikasi , tunas lateral.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Multiplication of Axilary Buds of Legundi (*Vitex trifolia* Linn) in Various Basic Media and 6 - *Benzyl Amino Purine* (BAP) Concentrations *In Vitro*

Umi Sa'adah, Suyono, M.P dan Mukhlis Fahruddin, M.S.I

Biology Department, Faculty of Science and Technology,
Maulana Malik Ibrahim State University

ABSTRACT

Legundi (*Vitex trifolia* Linn) is one of the aromatic medicinal plants with woody bush habitus. This plant has the ability to overcome various diseases such as asthma, cough, allergies and several other diseases. Legundi can grow optimally when planted in coastal areas or sandy soil. The multiplication of legundi has been done with stem cuttings or seeds. The need for legundi in the industrial sector is increasing along with the increase in public consumption of herbal medicines. Therefore, it is necessary to multiply legundi with tissue culture methods to take place faster and the results are maximal even if not in their natural habitat. Tissue culture is one of the techniques for plant propagation in certain media and by adding growth regulators so that growth can occur effectively and efficiently. This study was experimental, using a completely randomized design (CRD) with 12 treatments and 3 replications. The treatment in this study consisted of two factors, namely: type of media, including MS, DKW and WV5 media and the addition of BAP at a concentration of 0 µM; 2,2 µM; 4,4 µM; and 6,6 µM. Data were analyzed by *Two Way* ANOVA Test α = 5%. If there is a significant difference, then continue the *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) with a level of 5%. The results of observations and data analysis showed that the type of WV5 media combined with BAP at a concentration of 6,6 µM was the best medium for multiplication of lateral shoots of legundi by increasing the number of shoots by 3,5 shoots.

Keywords: BAP, media type, legundi, multiplication, buds.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ضرب البراعم الجانبية Legundi (*Vitex trifolia* Linn) في الوسائل الأساسية المتنوعة وفي اكتراث(BAP) *Benzyl Amino Purine* – 6 كما *In Vitro*

أمي سعاده ، سويونو ، م. ب. ومخلص فهرالدين ، م. س
قسم علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا
جامعة مولانا مالك ابراهيم مالانج

الملخص

Legundi (Vitex trifolia Linn) هي احد النباتات الطبية العطرية مع بيئات الأدغال الخشبية. لهذه النبات القدرة هي التغلب على الأمراض المختلفة مثل الربو والسعال والحساسية والأمراض الأخرى. تنمو ليجوندي بالحد الأقصى عندما تزرع في المناطق الساحلية أو التربة الرملية. وحينما الآن تتقدم legundi مع قطع الجذعية أوالبذور. وتزديد الحاجة إلى legundi في القطاع الصناعي يصاحب مع زيادة الاستهلاك العام للأدوية العشبية. ولذلك ،هذه الضرورية بمضاعفة استخدام legundi بأساليب زراعة الأنسجة لأسرع النتائج وتكون القصوى ولولا تكون في بيئتها الطبيعية. تعتبر زراعة الأنسجة واحد التقنيات من انتشار النبات في الوسيلة المعونة وبإضافة منظمات النمو لتنميتها بفعالية وكفاءة. هذه الدراسة التجريبية، باستخدام تصميم عشوائي بالكامل (CRD) مع 12 علاج و 3 مكررات. يتألف العلاج في هذه الدراسة من عاملين ، هما: نوع الوسائط ، بما في ذلك MS و DKWو WV5 media وإضافة BAP بتركيز 0 ميكرومتر. 2,2 ميكرومتر 4,4 ميكرومتر و 6,6 ميكرومتر. تم تحليل البيانات بواسطة اختبار .ANOVA Two Way α =5% إذا كان هناك اختلاف كبير ، ثم استمر في اختبارDuncan متعدد النطاق (DMRT) بمستوى 5%. أظهرت نتائج الملاحظات وتحليل البيانات أن نوع وسائط WV5 مع BAP بتركيز 6,6 ميكرومتر كان أفضل وسيط لتكاثر البقع الجانبية من legundi بزيادة عدد البراعم بمقدار3,5

الكلمات الرئيسية :BAP، نوع الوسائط ، legundi، الضرب ، البراعم الجانبية.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara beriklim tropis memiliki sumber daya alam hayati yang melimpah dan beraneka ragam, terutama pada macam-macam floranya. Kusmana dan Agus (2015) menyatakan bahwa kondisi geografis Indonesia menyebabkannya menjadi negara megabiodiversitas dengan flora yang diperkirakan memiliki 25% jenis tumbuhan berbunga dan menempati urutan ketujuh dengan jumlah spesies 20.000, 40%-nya merupakan tumbuhan endemik Indonesia. Lebih dari 400 jenis diantaranya merupakan jenis tumbuhan yang dapat dikonsumsi dan sangat bermanfaat bermanfaat sebagai sumber keragaman genetik. Hal ini tentu menjadi sumber daya yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan oleh masyarakat. Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* berfirman dalam Al Qur'an surat Asy-Syu'ara ayat 7-8 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا۟ إِلَى ٱلْأَرْضِ كَمْ أَنۢبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧ إِنَّ فِى ذَٰلِكَ لَءَايَةً ۖ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُم مُّؤْمِنِينَ ۝٨

Artinya: "*Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman.*"(*Q.S Asy- Syu'ara: 7-8)*

Al Qurthubi (2009) dalam tafsirnya menyatakan bahwa Allah memperingatkan keagungan dan kekuasaan-Nya melalui ayat diatas, yaitu Allah merupakan satu-satunya Dzat yang berhak untuk disembah, Dzat yang Maha Kuasa atas segala sesuatu jika mereka melihat dan memikirkan ciptaan dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

seluruh kejadian di alam semesta dengan mata dan hati mereka. Lafadz كريم memiliki arti baik dan mulia. Kata *al karam* dalam bahasa Arab berasal dari kata *al fadhl* yang berarti keutamaan, sehingga dapat ditafsirkan bahwa Allah SWT. telah mengeluarkan dan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik di bumi ini. Diriwayatkan dari Asy-Sya'bi bahwa dia berkata, "Manusia termasuk dari tumbuhan bumi. Maka orang yang masuk surga dari mereka adalah orang yang mulia, dan orang yang tercela akan masuk ke dalam neraka."

Lafadz إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً menunjukkan kekuasaan Tuhan yang menciptakan segala sesuatu, yang menghamparkan bumi, dan meninggikan langit. Salah satu ciptaan yang disebutkan dalam ayat ini adalah berbagai macam tumbuhan yang baik, artinya Allah SWT. telah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang dapat bernilai manfaat bagi manusia. Tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan merupakan salah satu contohnya.

Tumbuhan obat merupakan tumbuh-tumbuhan yang mampu menghasilkan satu atau lebih senyawa aktif yang mampu digunakan untuk perawatan kesehatan dan pengobatan. Seluruh jenis tumbuhan yang memiliki atau dipercaya berkhasiat obat dapat dikategorikan sebagai tumbuhan obat (Allo, 2010). Menurut Sari (2010), seluruh bagian tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dapat berupa bagian akar, *rizhome,* umbi, daun, batang, pucuk, bunga, buah, maupun biji. Semua bagian tersebut dapat digunakan secara langsung atau melalui proses pengolahan terlebih dahulu.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Saat ini permintaan dan penggunaan obat herbal terus meningkat di kalangan masyarakat. Penggunaan obat herbal dinilai lebih aman dengan efek samping yang lebih ringan daripada obat modern. Menurut *World Health Organisation* (WHO), beberapa negara di wilayah Afrika, Amerika Latin dan Asia, telah menggunakan pelengkap pengobatan primer yang berasal dari obat herbal. Bahkan, di Afrika penggunaan obat herbal untuk pengobatan primer berbagai macam penyakit mencapai 80% dari populasi penduduknya (Bustanussalam, 2016). Hal ini mendorong dilakukannya kultivasi skala besar serta pemuliaan pada beberapa komoditas tanaman obat.

Legundi (*Vitex trifolia* L.) adalah salah satu tanaman herbal yang masih belum banyak diteliti di Indonesia. Legundi merupakan anggota Laminaceae yang berhabitus pohon semak aromatik. Tumbuhan ini umumnya tumbuh tegak dengan tinggi berkisar antara 1-4 meter dan tekstur permukaan batang yang berambut halus. Daunnya berbentuk bulat telur dengan tekstur permukaan bawah yang berambut halus (Dalimartha, 2000).

Vitex trifolia merupakan salah satu tanaman obat berhabitus semak yang telah telah banyak dimanfaatkan didalam dunia farmakologi. Ekstrak dari tanaman ini dapat digunakan untuk meningkatkan daya ingat, mengurangi rasa sakit (analgesik), mengatasi demam, serta berpotensi sebagai anti bakteri, anti inflamasi, anti diabetes dan anti kanker (Bhattacharjee & De, 2005; Pullaiah & Naidu, 2003).

Tanaman legundi memiliki berbagai manfaat sebagai tanaman obat. Hal ini dikarenakan beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman ini. Cania dan Setyaningrum (2013) menambahkan bahwa tanaman legundi *(Vitex*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

trifolia L.) berkhasiat sebagai antiasma dengan zat aktif viteksikarpin. Daun legundi juga memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid, saponin dan alkaloid yang dapat dimanfaatkan di dunia farmakologi. Pengembangan obat berbahan dasar legundi perlu dikembangkan lebih lanjut mengingat banyaknya senyawa kimia bermanfaat yang dimiliki.

Kerusakan habitat dan pengambilan berlebih untuk bidang medis merupakan ancaman bagi ketersediaan tanaman obat di habitat aslinya, termasuk pada tanaman legundi. Sebagai tanaman berhabitus semak yang distribusinya terbatas di sepanjang daerah pantai dan tanah berpasir membuat tanaman ini mudah sekali dieksploitasi oleh manusia (Ahmad *et al.*, 2015).

Perbanyakan legundi secara konvensional dapat dilakukan dengan berbagai cara. Menurut Ulung (2016), perbanyakan legundi di Indonesia dapat dilakukan dengan menggunakan biji ataupun stek batang. Ahmad *et al.,* (2015) menambahkan, meskipun legundi dapat diperbanyak dengan cara stek dan biji, perbanyakan ini kurang efektif untuk dilakukan mengingat habitat asli tanaman ini adalah di daerah pantai dan berpasir, sehingga tidak dapat tumbuh optimal didaerah lain. Tanaman ini biasa tumbuh pada daerah dengan ketinggian 1-500 meter di atas permukaan laut. Legundi dapat tumbuh optimal di tekstur tanah yang kering dan daerah yang terbuka. Hal ini merupakan kendala yang dapat menghambat proses perbanyakan, yang pada akhirnya mempengaruhi keseimbangan ekosistem. Menurut Hiregoudar, *et al.* (2006) tanaman legundi juga dapat diperbanyak melalui biji atau akar pengisap, tetapi metode ini sangat tidak efisien dalam menghasilkan jumlah stok tanaman yang banyak karena frekuensi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perkecambahan biji yang rendah. Pertumbuhan tanaman ini juga lambat dan tergantung pada usia dan musim.

Saat ini diketahui bahwa perusahaan industri farmasi untuk obat-obat herbal sangat bergantung pada bahan-bahan yang diperoleh dari alam, tidak terkecuali tanaman legundi. Hal ini tentu menyebabkan persediaan bahan di alam yang terbatas cepat habis. Dengan demikian, eksploitasi yang berlebihan dapat meningkatkan risiko kepunahan spesies, sehingga dibutuhkan metode yang tepat untuk memperbanyak tumbuhan ini. Di sisi lain, ketersediaan bahan tanam yang langka, regenerasi yang lambat baik secara vegetatif maupun generatif di alam dan kurangnya praktik budidaya legundi juga perlu dipertimbangkan sehingga ditemukan teknik perbanyakan yang efisien. Baru-baru ini legundi terdaftar dalam *Red list* oleh IUCN dengan status *Low Risk* atau *Least Concern* (Nagaveni & Rajanna, 2013).

Kultur jaringan adalah suatu metode perbanyakan tanaman yang saat ini dianggap sebagai teknik perbanyakan tanaman yang cepat dan efisien secara vegetatif. Teknik ini dilakukan dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, biji, mata tunas atau bagian lainnya kemudian menumbuhkannya dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh sehingga bagian tanaman dapat tumbuh dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Menurut Lestari (2008), kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam perbanyakan tanaman secara klonal untuk perbanyakan masal. Perbanyakan masal ini terutama digunakan untuk memenuhi kebutuhan industri. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril (*mother stock)* sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyakan selanjutnya.

Perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem tunas, tanpa melalui tahapan embrio, sedangkan embriogenesis somatik adalah proses regenerasi dengan terbentuknya struktur yang menyerupai embrio (embrioid) dari sel-sel somatik yang telah memiliki calon akar dan tunas (menyerupai embrio zigotik) (Pardal, 2003). Organogenesis dapat diartikan pula sebagai proses pembentukan sel, jaringan, ataupun kalus menjadi tunas dan tanaman sempurna.

Secara umum, organogenesis dianggap sebagai metode kultur jaringan yang efektif untuk mencapai frekuensi regenerasi tunas yang tinggi dalam waktu singkat (Salvi *et al.*, 2001). Regenerasi tunas melalui organogenesis menurut Nugrahani *et al.* (2011) secara garis besar dilakukan dalam dua tahap, yaitu induksi tunas dan multiplikasi tunas. Tahap multiplikasi tunas merupakan tahap dimana tunas terbentuk setelah inisiasi tunas pada jenis media dan komposisi media tertentu.

Nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan optimal pada tanaman yang di kultur secara *in vitro* sangat bervariasi antarvarietas maupun antarspesies. Jaringan yang berasal dari bagian tanaman yang berbeda bahkan berbeda kebutuhan nutrisinya, sehingga belum ada medium dasar yang berlaku universal untuk semua jenis jaringan dan organ. Yuniastuti (2010) menyatakan bahwa

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

media kultur yang digunakan merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan.

Berbagai media kultur telah diformulasikan komposisinya agar diperoleh pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang optimal. Masing-masing tanaman memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, tidak terkecuali pada tanaman legundi. Penelitian mengenai berbagai media untuk multiplikasi tunas pada beberapa tanaman semak berkayu seperti legundi telah banyak dilakukan sebelumnya. Hasil multiplikasi tunas ini nantinya dapat di aklimatisasi dan dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan tanaman obat, baik untuk masyarakat maupun untuk keperluan industri obat herbal.

Penelitian Jakab (2008) pada tanaman plum (*Prunus domestica)* dilakukan inisiasi tunas pada tiga jenis media yaikni Driver-Kuniyuki (DKW), Westvaco (WV5) dan Quoirin-Lepoivre (QL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses multiplikasi tunas terbaik pada kultivar Ivan tanaman plum ini diperoleh pada media DKW dengan laju multiplikasi sebesar 16,95, sedangkan untuk tanaman pada media WV5 memiliki laju dibawahnya yakni sebesar 7,58. Penelitian lain pada jenis *Vitex negundo* didapatkan bahwa multiplikasi dan pemanjangan tunas paling optimum diperoleh pada media MS yang dikombinasikan dengan 1,0 µM *benzyladenine* (BA) dan 0,5 µM NAA (Ahmad *et al.*, 2007).

Media MS (Murashige dan Skoog, 1962), pertama kali digunakan oleh Skoog dalam penumbuhan kultur tembakau. Kemudian oleh Murashige disempurnakan dengan cara mengatur komposisi garam anorganiknya. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3 dan 29 mM dalam bentuk NH_4^+. Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media-media lainnya. Walaupun

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, namun komposisinya mampu mendukung kultur jaringan tanaman lain (George dan Sherington, 1993).

Media DKW merupakan media dasar yang umumnya digunakan untuk induksi tunas pada tanaman berkayu. Salah satu kelebihan media DKW adalah memiliki kandungan sulfur hampir dua kali lipat (12,23 mM) dibandingkan dengan media WPM (7,2 mM) dan hampir enam kali lipat dibandingkan dengan media MS (1,7 mM) (Ajijah, 2016). Sulfur ini digunakan oleh tanaman dalam sintesis lipid dan berperan dalam regulasi sintesis protein sehingga mempu mengoptimalkan proses metabolisme (George dan Sherington, 1993).

WV5 merupakan media yang umumnya digunakan untuk induksi tunas atau akar pada tanaman kayu, terutama pada tanaman dari genus Pinus. Media WV5 memiliki konsentrasi *myo*-inositol 10 kali lebih tinggi dibanding media MS (Cezar, 2015). Selain sebagai sumber karbohidrat, *myo*-inositol juga berfungsi menstimulasi pertumbuhan tunas (George *et al.,* 2008).

Selain media kultur, penggunaan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) juga dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas pada tanaman yang dikultur. Sitokinin merupakan salah satu ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Badriah *et al.* (1998) menyatakan bahwa kelompok sitokinin ini mempengaruhi pertumbuhan pada inisiasi tunas. Jenis sitokinin yang paling sering dipakai pada inisiasi tunas adalah 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) karena efektivitasnya yang tinggi (Yusnita, 2003).

Penggunaan ZPT dari kelompok sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin akan menghasilkan jumlah tunas lebih baik dibandingkan dengan sitokinin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tunggal. Kelompok auksin yang sering digunakan umumnya adalah NAA dan IBA. Penelitian Vadawale *et al.* (2006) pada tanaman *Vitex negundo* menunjukkan bahwa pemberian BAP 4,4 µM dan NAA 0,53 µM yang ditambahkan pada medium MS menghasilkan 5 pucuk (tunas) pada setiap eksplan dan merupakan perlakuan terbaik untuk proliferasi pucuk aksilar, sedangkan pada penelitian Jawahar *et al.* (2008) pada konsentrasi 1,33 µM BAP dan 1,71 µM IAA pada media MS menghasilkan frekuensi tunas terbanyak dan pemanjangan tunas terbaik. Penelitian lain pada tanaman *Vitex leucoxylon* yang dikultur dalam media MS dengan penambahan 7,20 µM BAP dan 8,64 µM GA_3 menghasilkan regenerasi tunas dan kecepatan multiplikasi tertinggi (Chordia *et al.*, 2010).

Peningkatan aktivitas organogenesis pada tanaman dapat ditentukan dengan membuat media dasar dan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Hal ini sesuai dengan penelitian Yuniastuti (2010) bahwa interaksi antara media dan konsentrasi BAP secara nyata berpengaruh terhadap jumlah dan panjang tunas pada tanaman anthurium. Namun, sampai saat ini belum diketahui media tanam dan konsentrasi BAP yang sesuai untuk meningkatkan aktivitas organogenesis pada legundi (*Vitex trifolia)*. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan kombinasi konsentrasi ZPT dari jenis sitokinin (BAP) dan auksin (NAA) pada media yang berbeda yaitu media MS, WV5, dan DKW untuk diketahui konsentrasi BAP dan jenis media yang paling efektif untuk multiplikasi tunas tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.*)*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah pengaruh jenis media terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.*)*?

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Bagaimanakah pengaruh perbedaan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.)?
3. Bagaimanakah pengaruh kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh jenis media terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.).
2. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.).
3. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi tunas lateral legundi (*Vitex trifolia* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. Secara ilmiah dapat mengetahui pengaruh interaksi konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan media MS, WV5, dan DKW terhadap multiplikasi tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) secara *in vitro*.
2. Secara praktis dapat bermanfaat bagi instansi atau lembaga terkait dalam perbanyakan tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.). secara *in vitro* untuk menjadi rujukan penelitian selanjutnya yang lebih baik.
3. Berpartisipasi dalam pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya di bidang biologi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Memberikan gambaran pentingnya pemgembangan dan penggunaan tanaman obat bagi masyarakat.
5. Dapat digunakan sebagai penyuplai bahan tanaman obat bagi dunia industri.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan tunas lateral binodal tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.*)* yang di peroleh dari Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Filant Corp, Batu.
2. Media yang digunakan dalam kultur in vitro tanaman legundi (*Vitex trifolia* L.*)* adalah media Murashige-Skoog (MS), Westvaco (WV5), dan media Driver-Kuniyuki (DKW).
3. Zat pengatur tumbuh (ZPT) atau hormon yang digunakan untuk pengujian adalah BAP dengan konsentrasi 0 µM sebagai kontrol, 2,2 µM, 4,4 µM dan 6,6 µM yang dikombinasikan dengan NAA pada konsentrasi 0,27 µM.
4. Analisis data yang digunakan adalah analisis varian (ANAVA) dua jalur. Jika sidik ragam memberikan pengaruh yang nyata selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan analisis DMRT (*Duncan Multiple Range Test)* pada taraf 5% untuk mengetahui beda antar perlakuan.
5. Variabel yang di amati adalah waktu tumbuh tunas, waktu tumbuh daun, waktu daun terbuka sempurna, tumbuh tidaknya kalus, jumlah tunas, jumlah daun, tinggi planlet, serta berat basah.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Legundi (*Vitex trifolia* L.) dalam Perspektif Islam

Indonesia merupakan negara dengan spesies flora yang beraneka ragam. Al-Qur'an sebagai salah satu rujukan dalam bidang sains telah menjabarkan tentang berbagai manfaat yang dapat diambil oleh manusia dari beraneka ragam tumbuhan yang telah ditumbuhkan oleh Allah SWT. Selain itu, masing-masing tumbuhan memiliki ciri-ciri anatomi maupun morfologi yang berbeda antar satu tumbuhan dengan yang lainnya. Sebagaimana Allah SWT. berfirman dalam Al-Qur'an surat Az Zumar ayat 21 sebagai berikut:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ ٱللَّهَ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَسَلَكَهُۥ يَنَٰبِيعَ فِى ٱلْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِۦ زَرْعًا مُّخْتَلِفًا أَلْوَٰنُهُۥ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَىٰهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُۥ حُطَٰمًا ۚ إِنَّ فِى ذَٰلِكَ لَذِكْرَىٰ لِأُو۟لِى ٱلْأَلْبَٰبِ ﴿٢١﴾

Artinya: *"Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa Sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, Maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal (Q.S Az Zumar (39): 21)."*

Ibnu Abu Hatim dalam tafsir Ibnu Katsir (2002) menyatakan, telah menceritakan kepada kami Ali ibnul Husain, telah menceritakan kepada kami Amr ibnu Ali, telah menceritakan kepada kami Abu Qutaibah alias Atabah ibnul Yaqzan, dari Ikrimah, dari Ibnu Abbas r.a. sehubungan dengan makna firman-Nya pada awal ayat diatas. Tiada suatu air pun di dalam bumi, melainkan berasal dari air yang diturunkan dari langit, tetapi rongga-rongga yang ada di dalam bumilah yang mengubahnya. Yang demikian itu disebutkan oleh firman-Nya, *lalu diatur-*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Nya menjadi sumber-sumber air di bumi. Maka barang siapa yang ingin mengubah air yang asin menjadi tawar, hendaklah ia menguapkannya (dan uapnya itu akan menjadi air yang tawar).

Dikatakan pula oleh Sa'id ibnu Jubair dan Amir Asy-Sya'bi, bahwa semua air yang ada di dalam tanah berasal dari langit. Dengan memperhatikan hal tersebut, maka manusia yang berakal sehat dapat mengingat betapa besarnya perhatian Allah dan rahmat-Nya kepada hamba- Nya, dimana Dia telah memudahkan kepada mereka air tesebut dan menyimpannya di dalam bumi untuk maslahat mereka. Kemudian dari air yang diturunkan dari langit dan yang timbul dari sumber air yang ada di bumi dikeluarkanlah tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam bentuk, rasa, bau, dan manfaatnya.

Keanekaragaman tumbuhan pada ayat diatas menunjukkan bahwa masing-masing tumbuhan memiliki keunikan dan ciri khas tersendiri. Bukan hanya dari sisi morfologi saja, secara anatomi dan proses fisiologi masing-masing tumbuhan berbeda antara satu dengan yang lain. Perbedaan ini dapat berupa bentuk maupun susunan tubuh tumbuhan. Hal ini sangat menentukan fungsi dan kandungan masing-masing bagian dalam tumbuhan tersebut.

Tumbuhan yang ada di bumi ini tentunya memiliki kandungan dan manfaat tersendiri sebagai salah satu tanda kebesaran-Nya bagi orang-orang yang mau berfikir. Menurut Siwabessy (2009), dari 40 ribu jenis flora yang tumbuh di dunia, 30 ribu diantaranya tumbuh di Indonesia. Sekitar 20% telah dibudidayakan lebih dari 940 jenis digunakan sebagai obat tradisional. Diriwayatkan oleh Imam Bukhari di dalam shahihnya, dari sahabat Abu Hurairah bahwasanya Nabi SAW. bersabda,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

مَا أَنْزَلَ اللهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شَفَاءً

"Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya"(H.R. Bukhari).

Hadits diatas menunjukkan pengertian kepada kita bahwa semua penyakit yang menimpa manusia maka Allah turunkan obatnya. Hal ini menunjukkan betapa Maha Besar dan Maha Pengasih Allah SWT. terhadap seluruh makhluk-Nya. Sebagai salah satu makhluk-Nya, hendaknya manusia senantiasa bersyukur atas karunia dan kesehatan yang telah diberikan-Nya. Rasa syukur tersebut dapat diimplementasikan dengan mengkaji dan memikirkan berbagai ciptaan-Nya yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, antara lain tanaman yang bermanfaat sebagai obat.

Tanaman legundi merupakan salah satu jenis tanaman yang telah digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa yang dapat berkhasiat obat. Sayangnya, perbanyakan tanaman ini masih relatif rendah di Indonesia. Perbanyakan legundi selama ini dilakukan secara konvensional melalui biji, akar pengisap maupun stek tunas. Perbanyakan ini memiliki kendala karena legundi hanya dapat tumbuh optimal di daerah pantai atau tanah berpasir sehingga regenarasinya lambat jika dikembangkan di daerah lain. Untuk menunjang kelestarian lingkungan hidup dan menjamin suplai bahan baku bagi kebutuhan industri obat, maka perlu dikembangkan sistem budidaya tanaman obat sesuai dengan agroekosistem dalam budidaya tersebut, juga perlu diperhatikan kualitas produk bahan baku yang dihasilkan dan keaslian varietas (Supriadi, 2001).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Metode yang paling sesuai untuk perbanyakan tanaman ini dapat dilakukan dengan kultur jaringan. Berbeda dengan teknik perbanyakan vegetatif konvensional, kultur jaringan menggunakan medium dan komponen-komponen yang perlu ditentukan ukurannya untuk memperoleh hasil yang optimal. Zulkarnain (2014) menyatakan bahwa kehadiran zat pengatur tumbuh pada ukuran tertentu sebagai salah satu komponen nutrisi, berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman. Hal ini berkaitan dengan firman Allah SWT. dalam Al Qur'an surat Al A'la ayat 1-3 yang berbunyi:

سَبِّحِ ٱسْمَ رَبِّكَ ٱلْأَعْلَى ﴿١﴾ ٱلَّذِى خَلَقَ فَسَوَّىٰ ﴿٢﴾ وَٱلَّذِى قَدَّرَ فَهَدَىٰ ﴿٣﴾

"*Sucikanlah nama Tuhanmu yang Maha Tingi. Yang Menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya). Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk (Q.S Al A'la (87): 1-3).*"

Ayat diatas secara jelas menunjukkan bahwa Allah SWT. telah menentukan ukuran untuk masing-masing makhluk-Nya. Allah tidak hanya menetapkan sesuatu sesuai dengan ukurannya, tetapi juga memberikan petunjuk atas ketentuan-Nya sehingga manusia dapat mengambil pelajaran.

Shihab (1996) menyatakan bahwa Allah SWT. telah memberi ukuran, kadar atau batas tertentu dalam diri, sifat atau kemampuan makhluk-Nya. Kalimat *"dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk*" menurut Rifa'i (2000) mengisyaratkan manusia untuk memilih antara jalan menuju kesengsaraan dan jalan menuju kebahagiaan.

Ayat ketiga surat Al'Alaa ini menunjukkan bahwa Allah SWT. telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadar masing-masing. Ayat ini menmberikan is43yarat kepada kita untuk mempelajari dan meneliti "kadar" apa-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

apa yang telah di ciptakan-Nya. Penelitian ini dimaksudkan untuk memperoleh kadar (konsentrasi) yang sesuai baik dari segi media kultur yang digunakan, maupun zat pengatur tumbuh, sehingga pertumbuhan tunas pada tanaman legundi dapat dimaksimalkan.

2.2 Klasifikasi dan Botani Legundi (*Vitex trifolia* L.)

Tanaman legundi termasuk suku (famili) Laminaceae. Laminaceae merupakan salah satu suku yang termasuk tumbuhan semak berkayu yang berbunga. Kedudukan tanaman legundi dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, diklasifikasikan sebagai berikut (Sastrahidayat, 2016):

Kerajaan	: Plantae
Subkerajaan	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida (Dicotyledonae)
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Laminaceae
Marga	: Vitex
Jenis	: *Vitex trifolia* Linn.

Nama daerah dari Legundi antara lain Gendarasi (palembang), Lagundi, Lilegundi (Minangkabau), Lagondi (Sunda), Legundi (Jawa), Galumi (Sumbawa), Sangari (Bima), Lenra (Makassar), Lawarani (Bugis), Ai tuban (Ambon), sedangkan beberapa nama asingnya antara lain Man Jing (Cina), simple leaf shrub chastetree (Inggris) (Heyne, 1981).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Suku Lamiaceae merupakan suku (famili) tanaman obat yang penting. Suku ini terdiri atas sekitar 236 genera (marga) dan lebih dari 6000 spesies, dan genera terbesar adalah Salvia, Scutellaria, Stachys, Plectranthus, Hyptis, Teukrium, Vitex, Timus, dan Tepeta. Suku Laminaceae memiliki keanekaragaman jenis dan variates yang banyak dengan distribusi yang kosmopolitan (Carović-Stanko *et al.,* 2016). Spesies dari famili ini menempati ekosistem yang berbeda-beda dan beberapa famili telah banyak dibudidayakan. Sebagian besar spesies dari tanaman ini merupakan tanaman aromatik dan memiliki minyak esensial (Lawrence, 1992). Minyak esensial aromatik sebagian besar terdapat dalam daun, serta semua bagian tanaman. Tanaman dari famili ini banyak dimanfaatkan sebagai kosmetik, penyedap, wewangian, pestisida,dan industri farmasi (Ozkan, 2008).

Legundi merupakan tumbuhan anggota Laminaceae yang termasuk pohon semak. Batangnya menunduk untuk menjalar dengan perakaran pada bagian bawah tumbuhan. Tumbuhan ini memiliki percabangan berbulu halus ketika muda. Daunnya sebagian besar majemuk dengan susunan tangkai yang pendek atau *petiolate*. Helai daunnya berbentuk bulat telur (*spatulate)* atau melingkar dengan permukaan bawah yang berbulu halus. Warna daun tumbuhan ini biasanya pucat hijau kusam dan lebih tua. Bagian dasar daunnya halus dan bagian ujung daunnya membulat. Susunan bunga legundi berada pada poros utama terminal dengan warna daun mahkota ungu muda hingga biru keunguan dengan tekstur permukaan luar bunga yang berbulu halus. Sedangkan bagian buah legundi ketika kering berwarna coklat gelap dengan bentuk bulat (Heim, 2015).

Legundi pada umumnya tumbuh di tempat-tempat yang tandus, panas dan berpasir, terutama di daerah pantai. Selain itu, tanaman ini juga ditemukan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tumbuh liar berbagai tempat seperti di hutan sekunder, hutan jati, semak belukar, atau dipelihara sebagai tanaman pagar di daerah berpasir (Dalimartha, 2000; Ahmad, 2013).

(a) (b)

Gambar 2.1 (a) Planlet tanaman Legundi, (b) Tanaman legundi 4 minggu setelah tanam (Ahmed dan Mohammad, 2014a; Ahmed dan Mohammad, 2014b)

2.2.1 Manfaat dan Kandungan Tanaman

Daun legundi berkhasiat sebagai analgesik, antipiretik, obat luka, peluruh kencing, peluruh kentut, pereda kejang, germicide (pembunuh kuman), batuk kering, batuk rejan, beri-beri, sakit tenggorokan, muntah darah, obat cacing, demam nifas, sakit kepala, TBC, turun peranakan, tipus dan peluruh keringat. Pemakaian luar digunakan untuk mengatasi eksim dan kurap (Sudarsono, 2002).

Daun legundi dikonsumsi untuk meningkatkan daya ingat, mengurangi rasa sakit, menghilangkan rasa tidak enak dimulut dan menyembuhkan demam (Kirtikar & Basu, 1991), mengurangi rambut rontok (Varier, 2003), mengurangi nyeri dan pendarahan berlebih selama menstruasi (Islam *et al.,* 2011). Bagian aerial dari tanaman ini berguna untuk mengatasi diabetes (Pullaiah & Naidu, 2003). Selain itu, tanaman ini memiliki potensi sebagai larvasida, menyembuhkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

luka, anti HIV, antikanker, tripanosida, antibakteri dan antipiretik (Li *et al.*, 2005; Woradulayapinij *et al*., 2005; Kannathasan *et al*., 2007; Manjunatha *et al.*, 2007).

Akar tanaman legundi dapat dimanfaatkan untuk mengatasi imflamasi atau peradangan, batuk serta demam (Oommen, 2000). Selain itu, buah legundi juga mengandung senyawa alkaloid vitricin yang dapat mengatasi *coryza,* demam, sakit kepala, *photopsia,* vertigo, opthalmalgia, glaucoma, reumatik dan neuralgia (Prajapati *et al.*, 2003).

2.3 Kultur Jaringan

Teknik kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari suatu tanaman, seperti sel, jaringan maupun organ kemudian menumbuhkannya pada kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat tumbuh, berdiferensiasi dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1987). Umumnya jaringan yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman berupa kalus, sel ataupun protoplasma, sedangkan pada organ tanaman, bagian yang sering digunakan meliputi pucuk, bunga, daun dan akar (Hartman *et al.,* 1990).

Keberhasilan dalam teknologi dan aplikasi metode kultur jaringan berkaitan dengan penyediaan hara yang cukup dan sesuai dengan jenis sel ataupun jaringan dari masing-masing tanaman (Gamborg & Skyluk dalam Thorpe, 1981). Keberhasilan kultur jaringan seringkali ditentukan berdasarkan dua hal, asal eksplan dan komposisi media kultur yang digunakan. Prinsip utama teknik ini adalah berdasarkan teori mengenai sel yang dikemukakan oleh Schwann dan Schleiden dalam Pierik (1987), yaitu setiap unit biologi terkecil yang mempunyai kemampuan untuk beregenerasi membentuk tanaman lengkap atau lebih dikenal

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dengan istilah *totipotensi*. Untuk perbanyakan, dianjurkan menggunakan meristem bersama daun primordia. Sebaliknya, jika tujuan untuk menghilangkan infeksi penyakit sistemik virus, jaringan meristem harus bebas dari daun primordia dan ukuran eksplan tidak melampaui 0,5 mm (Roca *et al*., 1978; Goodwin *et al*., 1980).

Zulkarnain (2014) menyatakan bahwa teknik kultur jaringan tanaman memiliki banyak keuntungan sehingga prospeknya lebih baik daripada metode perbanyakan tanaman secara vegetatif konvensional. Manfaat utama dari aplikasi teknik ini adalah perbanyakan klon atau perbanyakan massal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Keuntungan lain yang dapat diperoleh dari teknik ini antara lain jutaan klon dapat dihasilkan dalam waktu setahun hanya dari sejumlah kecil material awal. Hal ini berbeda dengan perbanyakan secara konvensional yang membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk menghasilkan tanaman dalam jumlah yang sama.

Teknik kultur jaringan juga dapat menjadi metode alternatif bagi jenis-jenis tanaman yang sulit diperbanyak dengan cara konvensional melalui manipulasi terhadap faktor-faktor lingkungan, termasuk penggunaan zat pengatur tumbuh. Teknik kultur jaringan tidak bergantung musim. Perbanyakan tanaman dapat dilakukan dengan segera pada semua musim karena semua proses dilakukan dibawah kondisi lingkungan yang terkendali, baik di laboratorium maupun rumah kaca (Zulkarnain, 2014).

Keberhasilan teknik kultur jaringan sangat bergantung pada sejumlah variabel termasuk faktor eksplan, komposisi medium, zat pengatur tumbuh, dan stimulus fisik, seperti cahaya, suhu dan kelembaban.. Konsekuensinya, keberhasilan teknik

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kultur jaringan sangat tergantung pada optimasi variabel-variabel tersebut. Setiap variabel dapat berbeda pengaruhnya terhadap organ tanaman tertentu dan berdasarkan tujuan dari pengkulturan. Beberapa variabel utama yang harus dipertimbangkan dari faktor-faktor tersebut antara lain seleksi bahan tanam, teknik sterilisasi eksplan, komposisi media dasar, keterlibatan zat pengatur tumbuh (terutama auksin dan sitokinin, serta faktor-faktor lingkungan dimana kultur diletakkan (Zulkarnain, 2014). Faktor lingkungan yang perlu diperhatikan dalam kultur jaringan terdiri dari periode penyinaran, temperatur ruang, kualitas sinar, intensitas penyinaran serta ukuran wadah kultur (Gunawan, 1995).

Seleksi bahan tanam merupakan faktor penting dalam keberhasilan teknik kultur jaringan. Pada multiplikasi tunas misalnya, *shoot tip* dan bagian binodal merupakan bagian tumbuhan yang umumnya digunakan. *Shoot tip* merupakan pucuk yang terdiri dari jaringan meristem apikal dengan beberapa primordia daun. Kultur tersebut sangat efektif untuk perbanyakan tanaman karena ukurannya cukup besar, sehingga mampu bertahan hidup dalam kondisi *in vitro* dan mampu membentuk tunas aksiler lebih cepat (Bhojwani, 1980; Buitevelds *et al*., 1993).

Perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan terbagi dalam beberapa tahapan antara lain persiapan, inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar (pengakaran) dan aklimatisasi. Kegiatan inisiasi meliputi persiapan eksplan, sterilisasi eksplan hingga mendapatkan eksplan yang bebas dari mikroorganisme kontaminan. Multiplikasi merupakan tahap perbanyakan eksplan dengan subkultur (pemindahan eksplan dalam media baru yang berisi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok bahan tanaman(eksplan). Pengakaran merupakan kegiatan terakhir sebelum planlet dipindahkan ke kondisi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

luar. Aklimatisasi ialah proses pemindahan dan pengadaptasian planlet dari kondisi *in vitro* ke kondisi luar atau lapangan (Kumar, *et al.,* 2011).

Pertumbuhan dan perkembangan eksplan terdiri dari proses organogenesis secara langsung dan tidak langsung. Organogenesis secara langsung adalah terbentuknya pucuk-pucuk adventif seperti daun atau organ lainnya pada permukaan eksplan, tanpa melalui pembentukan kalus, sedangkan organogenesis secara tidak langsung terjadi bila pembentukan pucuk-pucuk adventif pada permukaan kalus yang terbentuk terlebih dahulu pada permukaan eksplan (Nagasawa dan Finer , 1988; Hussey, 1978).

Organogenesis dapat dilakukan pada sel-sel yang bersifat meristematik dan kompeten, yaitu sel-sel yang mampu memberikan tanggapan terhadap sinyal lingkungan atau hormonal sehingga berakhir dengan terbentuknya organ. Respon tersebut bergantung pada fase dari siklus sel tersebut yaitu fase G1 (Trigiano & Gray, 2005). Gahan (2007) menyebutkan bahwa terdapat dua faktor yang mempengaruhi kemampuan sel untuk melakukan organogenesis yaitu (1) tingkat diferensiasi dan spesialisasi dan (2) pengaruh jaringan di dekatnya terhadap ekspresi gen pada sel tersebut. Pengaturan inisiasi dan perkembangan tunas dan akar serta stimulasi pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan di media juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (Beyl, 2005).

Perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan pada marga Vitex telah banyak dilakukan. Penelitian pada *Vitex trifolia* menunjukkan bahwa multiplikasi dan pemanjangan tunas tertinggi diperoleh pada kultur dalam media MS dengan penambahan 1,0 µM BA dan 0,5 µM NAA. Frekuensi regenerasi tunas tertinggi (90%) dan jumlah tunas terbanyak (22,3±0,2) dengan panjang tunas (5,2±0,2 cm)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diperoleh pada media MS yang dikombinasikan dengan 5,0 µM TDZ (Ahmed & Mohammad, 2012). Penelitian Ahmed dan Mohammad (2014), pada jenis tanaman yang sama menunjukkan bahwa penambahan NAA pada medium kultur bersama BA dengan konsentrasi optimum (10 µM) dapat memacu peningkatan multiplikasi tunas dan pemanjangan tunas (4,4±0,1 cm).

2.3.1 Media Kultur Jaringan

Salah satu faktor utama dalam keberhasilan perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan adalah komposisi dan jenis media. Pertumbuhan dan diferensiasi jaringan sangat dipengaruhi oleh media kultur. Saat ini telah ditemukan berbagai macam media kultur, sehingga jumlah jenisnya cukup banyak. Penamaan masing-masing media umumnya disesuaikan dengan penemu media tersebut. Masing-masing media kultur umumnya memiliki komponen bahan kimia yang relatif sama, hanya berbeda pada kadar masing-masing komponen senyawa (Yusnita, 2003).

Komponen penyusun media kultur umumnya terdiri atas berbagai garam mineral, hormon atau ZPT dan vitamin. Penambahan beberapa bahan seperti gula, agar, bahan organik ataupun arang aktif juga diperlukan pada media tertentu. Penambahan hormon eksogen atau ZPT pada media dapat ditentukan sesuai kebutuhan baik dari segi jumlah maupun jenisnya. Media kultur yang telah dimasak biasanya ditempatkan pada botol kaca, botol plastik atau tabung reaksi. Kondisi media kultur yang akan digunakan harus selalu steril. Sterilisasi media ini dapat dilakukan dengan pemanasan menggunakan autoklaf untuk menghindari kontaminasi jamur maupun bakteri (Beyl, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Keberhasilan kultur jaringan pada suatu tanaman sangat ditentukan oleh keasaman medium. Tingkat keasaaman media kultur berkisar antara 5,6-5,8 untuk optimalnya pertumbuhan tanaman. Jika media memiliki tingkat keasaman yang terlalu tinggi (asam) (pH < 4,5) atau terlalu rendah (basa) dengan pH > 7,0 maka pertumbuhan dan regenerasi eksplan akan terhambat. Beberapa unsur penyusun media tidak dapat tersedia pada kisaran pH tertentu merupakan salah satu penyebabnya. Ketika pH rendah, unsur-unsur seperti kalsium, magnesium, belerang, fosfor, dan molibdat tidak tersedia, namun jika pH tinggi, unsur-unsur seperti besi seng, mangan, tembaga, dan boron mengalami presipitasi sebagai hidroksida sehingga tidak tersedia bagi jaringan yang dikulturkan (Zulkarnain, 2014).

Beberapa media dasar telah digunakan untuk menginduksi pembentukan tunas pada tanaman semak berkayu. Medium kultur yang paling luas penggunaannya adalah medium dasar MS yang direvisi (Murashige dan Skoog, 1962). Media MS mengandung komponen Nitrogen 40 mM dalam bentu NO_3^- dan 29 mM dalam bentuk NH_4^+, lima kali lebih tinggi daripada N pada media Miller, dan 15 kali lebih tinggi dibandingkan Hildebrant serta 19 kali lebih tinggi dari media dasar White. Unsur makro dalam media MS pertama kali digunakan untuk mengkultur kalus tembakau, namun komposisi media ini seuai pula untuk mengkultur tanaman lain (Erwin, 2009).

Media lain yang dapat digunakan untuk tanaman semak berkayu adalah *Juglans Medium* (DKW) dan Westvaco (WV5) (Driver dan Kuniyuki, 1984; Coke, 1996). Media DKW diketahui memiliki kandungan fosfor (PO_4^-), sulfur (SO_4^-), magnesium (Mg^+) dan kalsium (Ca^{2+}) lebih tinggi daripada media dasar MS dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

WPM (Bell *et al.,* 2009). Unsur Ca pada media ini berperan di dalam pemanjangan dan pembelahan sel, pembentukan, dan penstabilan dinding sel, mempertahankan struktur dan permeabilitas membran sel, meregulasi berbagai respons sel, serta berfungsi sebagai ion pengatur di dalam translokasi karbohidrat (Aranda-Peres, 2009; Soetan, 2010). Fosfor berfungsi sebagai komponen asam nukleat dan koenzim, sulfur beperan sebagai komponen protein, vitamin, dan koenzim, sedangkan magnesium berperan sebagai kofaktor enzim. Selain itu, media DKW memiliki kadar ion P dan ion N lebih tinggi dibandingkan media MS. Ion P dan ion N merupakan makronutrien yang berperan dalam sintesis protein yaitu asam amino sehingga metabolisme dalam sel tetap terjaga, sehingga tanaman berhasil tumbuh dan memanjang membentuk tunas baru (Soetan *et al.,* 2010).

Media WV5 merupakan media dasar yang pertama kali dikembangkan dengan komposisi garam dan mineral yang sesuai untuk tanaman *Pinus taeda.* Media ini memiliki kandungan unsur B, Ca, Mg, S, Cl dan P lebih tinggi daripada media MS, namun konsentrasi nitrogen ini lebih rendah daripada media MS (Coke, 1996). Media WV5 memiliki konsentrasi *myo*-inositol sepuluh kali lebih tinggi daripada media MS sehingga dapat mendukung pemanjangan tunas. *Myo*-inositol merupakan salah satu vitamin B kompleks yang sangat dibutuhkan untuk proses pertumbuhan. Penggunaan *myo*-inositol pada kultur jaringan dapat meningkatkan pembelahan sel, sehingga pertumbuhan terjadi lebih cepat. Selain itu, media ini juga memiliki kandungan thiamin (0,4 mg/L) lebih tinggi dari media MS. Thiamin merupakan asam amino yang berperan sebagai kofaktor untuk metabolisme karbohidrat yang secara langsung berkaitan dengan biosintesis asam amino

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(George, *et al.,* 2008). Berbagai media dasar tersebut memiliki perbedaan kandungan hara makro dan mikro didalamnya (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kandungan hara pada media dasar MS, DKW dan WV5.

Komponen	**Jenis Media**					
	MS		**DKW**		**WV5**	
Unsur Makro	mg/l	mM	mg/l	mM	mg/l	mM
NH_4NO_3	1650,00	20,61	1416,00	17,70	700,00	8,74
$MgSO_4$	180,54	1,50	361,49	3,00	903,79	7,51
KNO_3	1900,00	18,79	-	-	1084,06	10,72
KH_2PO_4	170,00	1,25	265,00	1,95	270,00	1,98
KCl	-	-	-	-	718,67	9,64
K_2SO_4	-	-	1559,00	18,00	-	-
$CaCl_2$	332,02	2,99	112,50	1,01	452,88	4,08
$Ca(NO_3)_2.2H_2O$			1664,64	8,30	-	-
Unsur Mikro	mg/l	µM	mg/l	µM	mg/l	µM
$ZnSO_4.7H_2O$	8,60	29,91	17,00	72,19	8,60	29,91
$Na_2M_0O_4.2H_2O$	0,25	1,03	0,39	1,61	0,25	1,03
$MnSO_4.H_2O$	16,90	100,00	33,80	200,00	15,16	89,69
KI	0,83	5,00	-	-	0,83	5,00
H_3BO_3	6,20	100,27	4,80	77,63	31,00	501,37
FeNaEDTA	36,70	100,00	44,63	121,61	36,71	100,00
$CuSO_4.5H_2O$	0,025	0,10	0,25	1,00	0,25	1,00
$CoCl_2.6H_2O$	0,025	0,11	-	-	0,025	0,11
Vitamin	mg/l	µM	mg/l	µM	mg/l	µM
Glycine	2,00	26,64	2,00	26,64	-	-
Myo-Inositol	100,00	554,94	100,00	554,94	1000,00	5549,39
Nicotinic acid	0,50	4,06	1,00	8,12	-	-
Pyridoxine HCL	0,50	2,43	-	-	-	-
Thiamine HCL	0,10	0,30	2,00	5,93	0,40	1,19

Sumber: Murashige dan Skoog (1962); Driver dan Kuniyuki (1984); Coke (1996).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Penelitian mengenai media yang sesuai untuk kultur tanaman dari genus Vitex telah banyak dilakukan sebelumnya. Media MS merupakan media yang paling sering digunakan dalam penelitian kultur jaringan tanaman dari jenis Vitex (Silva *et al.,* 2016). Li *et al.* (2005) menggunakan media *Woody Plant Mediun* (WPM) untuk mengkultur *Vitex agnus-castus.* Park *et al.*(2004) menggunakan media Nitsch untuk mengkultur tanaman *Vitex rotundifolia.* Sampai saat ini, masih belum ada penelitian perbandingan mengenai pengaruh berbagai jenis media dasar untuk tanaman dari genus Vitex, sehingga kajian mengenai hal tersebut perlu ditingkatkan untuk mengetahui media dasar yang paling efisien bagi pertumbuhan masing-masing spesies dari genus ini dapat diketahui (Silva *et al.,* 2016).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Kemajuan pengetahuan dan industri dibidang kimia saat ini telah memberikan banyak penemuan senyawa-senyawa yang dapat mempengaruhi proses fisiologis pada tanaman sebagaimana peran fitohormon (hormon endogen). Senyawa sintetik ini biasa disebut dengan zat pengatur tumbuh tanaman (*Plant Growth Regulator)* (Widyastuti, 2006). Zat pengatur tumbuh dapat didefinisikan sebagai suatu senyawa organik yang dalam jumlah maupun konsentrasi sedikit telah mampu merangsang, menghambat, dan mengubah proses fisiologi pada tumbuhan (George *et al.,* 2008). Kehadiran zat pengatur berpengaruh sangat nyata dalam teknik kultur jaringan. Bahkan, Pierik (1997) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyakan tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Zat pengatur tumbuh tanaman memiliki peran penting dalam pengontrolan semua proses biologi dan fisiologi dalam jaringan tumbuhan (Davies, 1995; Gaba, 2005). Pengaturan kecepatan pertumbuhan jaringan dan mengintegrasikan komponen jaringan untuk menghasilkan tanaman baru merupakan salah satu peran zat ini. Aktivitas ZPT dalam mempengaruhi pertumbuhan jaringan suatu tanaman ditentukan berdasarkan struktur kimia, jenis, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al*., 2004; George, 1993; Dodds dan Roberts, 1982). Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman (Winata, 1987).

ZPT yang sangat penting dalam teknik kultur jaringan terdiri dari 2 golongan, yaitu sitokinin dan auksin. ZPT ini dapat mempengaruhi pertumbuhan, dan morfogenesis dalam kultur jaringan (Karjadi dan Buchory, 2008). Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi "faktor pemicu" dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al*., 1989).

Kelompok auksin dengan kelompok sitokinin memiliki kisaran interaksi yang luas. Kedua kelompok ini juga berinteraksi dengan komponen kimia lainnya serta dengan faktor lingkungan seperti cahaya dan suhu. Pada keadaan tertentu, sitokinin dapat bereaksi serupa dengan auksin atau sebaliknya (Kyte, 1983). Tipe morfogenesis pada kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh rasio serta jenis auksin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dan sitokinin yang diberikan. Inisiasi akar, embriogenesis, dan induksi pembentukan kalus umumnya terjadi bila terdapat rasio yang tinggi antara auksin dan sitokinin, sedangkan proliferasi pucuk adventif dan pucuk aksilar terjadi apabila rasio tersebut rendah. Selain rasio, konsentrasi auksin dan sitokinin juga sangat mempengaruhi morfogenesis yang terjadi. Konsentrasi auksin ataupun sitokinin yang berbeda akan mengakibatkan modus pertumbuhan yang berbeda pula meskipun rasionya sama (Torres, 1989).

Setiap tanaman memerlukan ZPT yang berbeda-beda tergantung jenis tanaman itu sendiri. Konsentrasi ZPT ditentukan dan disesuaikan dengan eksplan atau tipe organ yang akan ditanam, metode kultur jaringan dan tingkat kultur jaringan (pembuatan kalus, induksi akar, induksi tunas, dan lain lain) (Armini, 1991).

Auksin merupakan ZPT yang banyak digunakan dalam kultur jaringan untuk perpanjangan sel, pembentukan akar adventif, serta menghambat pembentukan tunas adventif dan tunas ketiak. NAA (1-*naphtalene acetic acid*) merupakan salah satu ZPT yang termasuk dalam golongan auksin (Karjadi dan Buchory, 2008). Selain itu, auksin berperan dalam pertumbuhan sel, dominasi apikal, dan pembentukan kalus. Auksin sintetik pada umumnya perlu ditambahkan karena auksin yang terbentuk secara alami sering tidak mencukupi untuk pertumbuhan jaringan eksplan (George *et al*., 2008).

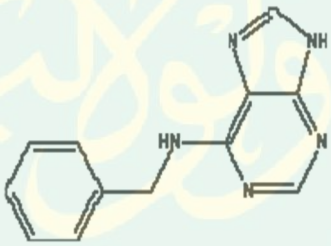
Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan penting dalam proses pembelahan dan diferensiasi sel. Sitokinin juga terlibat dalam proses fisiologi lainnya seperti senses (penuaan) dan dominansi pucuk (Salisbury dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ross, 1995). Pertumbuhan tunas dan daun terjadi secara optimum diperoleh ketika konsentrasi sitokinin lebih besar daripada auksin. (Abidin, 1994).

BAP (6-*Benzyl Amino Purine*) merupakan salah satu jenis sitokinin yang paling sering digunakan. Selain harganya murah, sitokinin dari jenis ini memiliki efektivitas kerja yang cukup tinggi. BAP atau 6-*Benzyl Amino Purine* atau 6-*benzyladenine* adalah sitokinin yang paling aktif dengan struktur yang hampir sama dengan kinetin dengan fungsi yang sangat berpengaruh dalam pertumbuhan dan proliferasi kalus (Yusnita, 2003).

BAP merupakan sitokinin sintesis yang memiliki berat molekul sebesar 225,26 dengan rumus molekul $C_{12}H_{11}N_5$. Wattimena (1992) menambahkan bahwa BAP merupakan turunan adenin yang disubstitusi pada posisi 6 adalah yang memiliki aktivitas kimia paling aktif.



Gambar 2.3 Struktur Molekul BAP (Wattimena, 1992)

Penelitian mengenai multiplikasi tunas baik pada tunas ujung maupun tunas aksilar telah banyak dilakukan dan sitokinin yang paling sering digunakan adalah 6-*Benzyl Amino Purine* (BAP) atau 6-*benzyladenine* (BA), kinetin (Kin) dan thidiazuron (TDZ) (Silva, 2016). Penelitian Vadawale *et al.* (2006) pada tanaman *Vitex negundo* menunjukkan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4,4 µM dan NAA 0,53 µM yang ditambahkan pada medium MS menghasilkan 5 pucuk (tunas) pada setiap eksplan dan merupakan perlakuan terbaik untuk proliferasi pucuk aksilar, sedangkan pada penelitian Jawahar *et al.* (2008) pada konsentrasi 1,33 µM BAP dan 1,71 µM IAA menghasilkan frekuensi tunas terbanyak dan pemanjangan tunas terbaik. Penelitian lain pada tanaman *Vitex leucoxylon* yang dikultur dalam media MS dengan penambahan 7,20 µM BAP dan 8,64 µM GA_3 menghasilkan regenerasi tunas dan kecepatan multiplikasi tertinggi (Chordia *et al.*, 2010).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan "Filant Corp", Kecamatan Junrejo, Kota Batu, Jawa Timur pada bulan April hingga Agustus 2018.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan perlakuan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan, yaitu perbedaan media dasar (MS, DKW dan WV5) dan konsentrasi BAP dengan kombinasi konsentrasi NAA yang sudah ditetapkan yaitu 0,27 µM. Taraf konsentrasi BAP yang digunakan adalah 0 µM, 2,2 µM, 4,4 µM, dan 6,6 µM. Penelitian ini terdiri atas 12 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan dilakukan sebanyak 3 ulangan sehingga terdapat 36 unit percobaan dan setiap unit percobaan terdapat 4 eksplan yang diamati sehingga terdapat 144 eksplan. Tabel 3.1 berikut menyajikan kombinasi berbagai perlakuan dalam penelitian ini.

Tabel 3.1 Notasi faktor taraf, kombinasi perlakuan

Media Dasar	Konsentrasi Sitokinin (BAP)			
	0 µM (B1)	2,2 µM (B2)	4,4 µM (B3)	6,6 µM (B4)
MS (M1)	M1B1	M1B2	M1B3	M1B4
DKW (M2)	M2B1	M2B2	M2B3	M2B4
WV5 (M3)	M3B1	M3B2	M3B3	M3B4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat, dan 3) variabel terkendali. Variabel bebas d nalam penelitian ini adalah kombinasi media dasar (MS, WV5, DKW) dan konsentrasi sitokinin (BAP). Variabel terikat terdiri dari waktu tumbuh tunas, waktu tumbuh daun, waktu daun terbuka sempurna, tumbuh tidaknya kalus, jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas, serta berat basah. Variabel terkendali terdiri atas cahaya, kelembaban dan suhu.

3.4 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat-alat yang terdiri atas gelas ukur 50 ml, gelas beker 1000 ml, neraca analitik, pH meter, botol kultur dan tutup plastik, mikropipet dan tip biru, panci, kompor dan gas, pengaduk kayu, botol *durant* dan dispenser, autoklaf, penyaring, pipet ukur, alat-alat diseksi *(blade*, skalpel, pinset), LAF (*Laminar Air Flow*), penyemprot alkohol, cawan petri, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, botol balsam, lemari pendingin, rak kultur, *Air Conditioner* (AC), lampu bunsen, kertas tisu, tabung erlenmeyer, *aluminium foil*, plastik wrap, kertas label, solatip, *milimeter block*, kamera dan keranjang.

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian ini adalah tunas lateral *binodal* (diameter terukur, jumlah daun 2) dari legundi (*Vitex trifolia* L.). Bahan eksplan diperoleh dari kultur sebelumnya di Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) Batu yang dikultur dalam media MS tanpa tambahan ZPT, *myo-inositol* maupun vitamin. Bahan-bahan yang digunakan adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS), media Westvaco (WV5), media

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Driver-Kuniyuki (DKW), agar-agar, gula, BAP, alkohol 70%, alkohol 96%, spirtus, deterjen, *septic gel,* larutan NaOH, larutan HCl dan aquades.

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Tahap Persiapan

1. **Sterilisasi Alat**

   Alat-alat yang perlu disterilisasi terdiri atas alat-alat diseksi, yakni pinset, skalpel serta gunting, botol kecil (botol balsam), cawan petri dan erlenmeyer. Sterilisasi alat terdiri atas sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan autoklaf, sedangkan sterilisasi kering menggunakan oven. Alat-alat terlebih dahulu direndam didalam tipol selama 1 jam kemudian dicuci dengan detergen cair dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya, alat-alat diseksi direbus dalam air mendidih selama 30 menit, sedangkan alat-alat gelas dan botol kultur dikeringkan dengan oven selama 15 menit dengan suhu 120˚C. Alat-alat diseksi dibersihkan dengan alkohol 96% dan dibungkus dengan plastik wrap, sedangkan alat-alat gelas ditutup plastik, kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121˚C selama 20 menit .

2. **Sterilisasi Ruang Tanam**

   Sterilisasi ruang tanam pada tahap persiapan ini dilakukan dengan pembersihan tanam dengan cara disapu dan dipel menggunakan karbol atau cairan pembersih lantai lainnya. Lampu ultraviolet (UV) yang terdapat pada *Laminar Air Flow* (LAF) dinyalakan selama 45-60 menit. Selama proses ini tidak diperkenankan berada disekitar LAF. Lampu UV dimatikan kemudian dinyalakan lampu neon serta *blower* ketika akan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bekerja di LAF. Meja LAF disemprot dengan alkohol 70% kemudian dibersihkan dengan kertas tisu, selanjutnya dibersihkan dengan alkohol 96%.

3. Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok dibuat dengan tujuan untuk memudahkan pada saat proses pembuatan media. Larutan stok hormon yang diperlukan dalam penelitian ini terdiri atas larutan BAP dan NAA. Langkah-langkah yang dilakukan dalam pembuatan larutan stok ini adalah dengan menimbang serbuk BAP dan NAA masing-masing sebanyak 10 mg. Serbuk BAP dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml, sehingga diperoleh larutan BAP dengan konsentrasi 1 mg/ml atau 1000 mg/l. Serbuk NAA dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan 40 ml aquades, sehingga diperoleh larutan NAA dengan konsentrasi 0,025 mg/ml. Larutan diaduk hingga homogen.

Pengambilan larutan stok yang dibutuhkan saat perlakuan dilakukan dengan rumus M1.V1= M2.V2 (sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, yaitu NAA konsentrasi 0,27 µM dan BAP konsentrasi 2,2 µM, 4,4 µM dan 6,6 µM). Misalkan dalam pembuatan media 400 ml, BAP yang ditambahkan dihitung dengan cara mengkonversi satuan µM menjadi mg/l, sehingga 2,2 µM setara dengan 0,5 mg/l, karena nilai µM diperoleh dari membagi mol BAP dengan massa relatif volume larutan dalam satuan liter. Mol BAP diperoleh dari hasil pembagian massa BAP (dalam gram) dengan molekul relatif (Mr) dari BAP. Diketahui Mr BAP 225,26 sehingga molaritas dihitung sebagai berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

$$\text{mol BAP} = \frac{\text{Massa BAP}}{\text{Mr BAP}} = \frac{1 \text{ gram}}{225{,}26} = 0{,}0044 \text{ mol}$$

$$\text{M BAP} = \frac{\text{mol BAP}}{1 \text{ L}} = = \frac{0{,}0044 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 0{,}0044 \text{ M} = 4400 \text{ µM}$$

Hasil tersebut menjadi acuan bahwa setiap 1 gram BAP yang dilarutkan dalam 1000 ml atau 1 L aquades akan menjadi BAP dengan konsentrasi 4400 µM sehingga konsentrasi BAP 2,2 µM setara dengan 0,5 mg/L. Kemudian volume zat yang diperoleh dicari dengan menggunakan rumus:

M1.V1 = M2.V2

1000 mg/l.V1 = 0,5 mg/l. 400 ml

V1 = 0,2 ml

V1 = 200 mikrolit

4. Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas media MS, DKW dan WV5 yang ditambahkan BAP dan NAA dengan konsentrasi tertentu. Pembuatan media sebanyak 1 liter dilakukan dengan cara serbuk media yang dibutuhkan ditimbang dengan timbangan analitik dengan ketentuan Murasighe & Skoog (MS) sebanyak 4,43 gram, Driver dan Kuniyuki (DKW) sebanyak 5,48 gram, sedangkan media Westvaco (WV5) yang berupa stok cair sebanyak 50 ml, ditambahkan pula *myo-inositol* sebanyak 1 ml dan vitamin sebanyak 5 ml. Jika media yang dibuat perlu diberi ZPT maka volume pipet yang diambil berdasarkan kebutuhan perlakuan. Semua bahan dimasukkan dalam ke dalam gelas beker 1000 ml yang telah diisi aquades kira-kira 200 ml. Gula ditimbang sebanyak 30 gram dan dilarutkan dengan aquades secukupnya dalam

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

gelas, lalu dipindahkan secara kuantitatif ke dalam gelas beker berisi larutan media. Aquades ditambahkan sampai volumenya mencapai 1000 ml. Larutan didihomogenkan dengan menggunakan *hotplate* dan *magnetic stirrer,* kemudian pH media diatur menjadi 5,6-5,8 menggunakan HCl dan NaOH. Media dimasak dengan penambahan agar sebanyak 10 gram dan diaduk hingga mendidih, setelah itu api dikecilkan dan ditunggu selama 2 menit kemudian kompor dimatikan. Media dibagi kedalam botol kultur sebanyak 25 ml masing-masing botol kemudian ditutup rapat dengan penutup plastik. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan autoklaf pada tekanan 1,5 atm dan suhu 121°C.

3.5.2 Tahap Pelaksanaan

Penanaman eksplan pada penelitian ini dilaksanakan di dalam meja LAF (*Laminar Air Flow*) yang telah disterilkan dengan terlebih dahulu. Langkah-langkah yang dilakukan dalam proses penanaman diantaranya alat yang terdiri dari alat diseksi, dan cawan petri, serta bahan yang akan digunakan dalam proses subkultur disemprot dengan alkohol 70% dan dimasukkan dalam LAF. Lampu bunsen dinyalakan dalam LAF. Pinset dan skalpel disterilkan dalam alkohol 96% dan dibakar diatas bunsen sebanyak 3-5 kali untuk mengurangi risiko kontaminasi. Botol kultur yang berisi tanaman yang akan dikultur dibuka dan potong tanaman dibagian apikal dan binodalnya. Cawan petri yang telah disterilkan sebelumnya digunakan untuk memotong tanaman dengan ukuran masing-masing 0,5 cm menggunakan pinset dan pisau skalpel. Media yang akan digunakan dipanaskan ujung botolnya diatas bunsen, kemudian eksplan yang telah diseragamkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ditanam ke dalam botol berisi media tersebut. Botol kultur yang telah terisi eksplan dipanaskan kembali diatas bunsen dan ditutup dengan solatip dan plastik wrap. Botol-botol kultur diletakkan pada rak di dalam ruang kultur atau ruang inkubasi pada suhu 20-25˚C serta dilakukan pengamatan setiap hari selama 4 minggu. Keadaan lingkungan harus bersih dan kultur harus tetap steril. Apabila terdapat eksplan yang terkontaminasi maka segera dikeluarkan agar tidak menimbulkan kontaminasi pada eksplan lain.

3.6 Pengamatan

Pengamatan pada penelitian ini terdiri atas pengamatan harian yang dilakukan setiap hari, pengamatan mingguan dilakukan pada minggu ke- 2 dan 4, sedangkan pengamatan bulanan pada minggu ke- 4. Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi:

1. Waktu Tumbuh Tunas

   Waktu tumbuh tunas merupakan jumlah hari sejak eksplan ditanam sampai saat munculnya tunas untuk pertama kalinya dengan ukuran 1 mm, warna hijau dan mengalami pertumbuhan ke arah atas. Pengamatan ini dilakukan setiap hari

2. Jumlah Tunas

   Jumlah tunas diamati pada minggu ke-4 setelah penanaman dengan mengamati banyak tunas yang terbentuk pada setiap eksplan yang ditanam

3. Tinggi tunas

   Tinggi tunas diukur dengan cara mengukur tinggi planlet menggunakan penggaris dan diamati pada minggu ke- 4.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Presentase Tumbuh Tunas

   Presentase tumbuh tunas dilakukan dengan cara menghitung presentase tunas (berukuran 1 mm berwarna hijau dan tumbuh ke arah atas) setiap perlakuan yang tumbuh pada minggu ke-2. Cara menghitung presentase menggunakan rumus:

   $$= \frac{\sum \text{Eksplan yang tumbuh tunas pada setiap perlakuan}}{\sum \text{ Seluruh Eksplan pada setiap perlakuan}} \text{ x } 100\%$$

5. Saat Tumbuh Daun

   Saat tumbuh daun dihitung dengan cara menghitung jumlah hari sejak eksplan ditanam hingga saat pertama muncul daun.

6. Saat Daun Terbuka Sempurna

   Saat daun terbuka sempurna dihitung dengan cara menghitung jumlah hari sejak tumbuh daun hingga daun terbuka sempurna

7. Jumlah Daun

   Jumlah daun diamati pada minggu ke-4 dengan mengamati daun yang terbentuk pada setiap eksplan setiap perlakuan.

8. Berat Basah

   Berat basah dihitung dengan menimbang berat basah eksplan pada minggu ke- 4.

3.7 Teknis Analisis Data

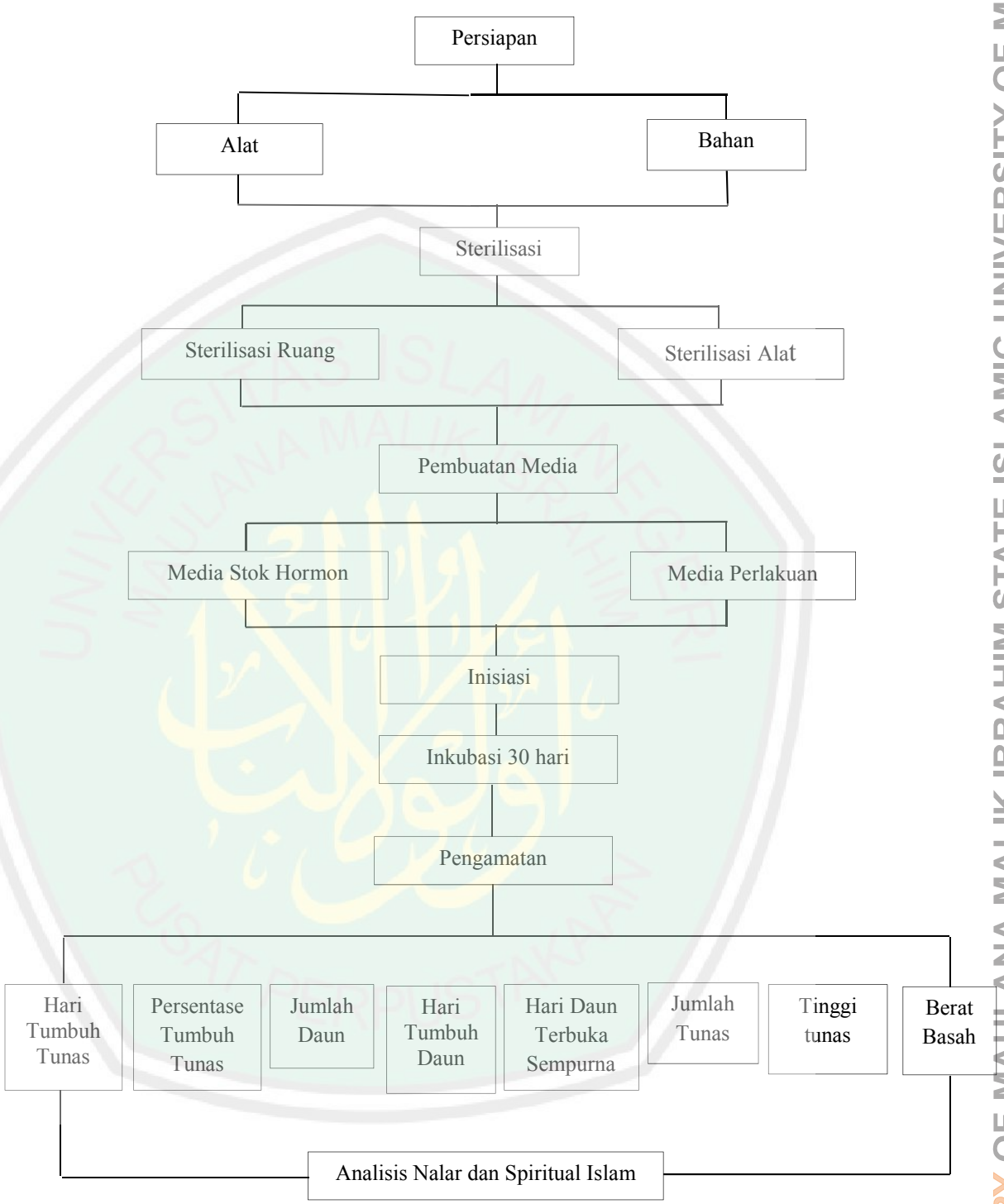
Data hasil pengamatan yang diperoleh berupa data kuantitatif. Pengaruh antar perlakuan dapat diketahuai dengan menggunakan *Analysis of Varian* (ANOVA) dua jalur. Apabila terdapat perbedaan nyata dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test)* pada taraf 5% untuk mengetahui jenis media dan kombinasi ZPT yang terbaik pada tanaman legundi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Data hasil perhitungan kemudian dianalisis dan diintegrasikan dengan ayat-ayat Al Qur'an serta Hadits Nabi SAW. sehingga diperoleh kesimpulan mengenai manfaat penelitian yang ilmiah dan berpijak serta berlandaskan nilai-nilai keislaman. Hal ini dapat menunjukkan tercapainya tujuan manusia sebagai *khalifah* dibumi ini dengan tugas untuk senantiasa menjaga dan memanfaatkan sumber daya alam dengan semestinya serta memikirkan fenomena pada ciptaan-Nya sehingga bertambahlah keimanan manusia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.8 Desain Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Hasil Analisis Varian (ANAVA) menunjukkan bahwa jenis media berpengaruh nyata terhadap berbagai variabel pengamatan multiplikasi tunas lateral legundi pada variabel nilai rata-rata jumlah tunas, berat basah, persentase tumbuh tunas, hari muncul tunas, hari muncul daun dan hari daun terbuka sempurna. Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F tabel 5%
Jumlah tunas	5,292*	3,259
Tinggi tunas	3.048^{ns}	3,259
Jumlah daun	2.096^{ns}	3,259
Berat basah	9.267*	3,259
Persentase tumbuh tunas	4.500*	3,259
Hari muncul tunas	4.629*	3,259
Hari muncul daun	8.118*	3,259
Hari daun terbuka sempurna	17.892*	3,259

Keterangan:*Perbedaan jenis media berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

^{ns}Perbedaan jenis media tidak berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil ANAVA menunjukkan bahwa pemberian jenis media berpengaruh nyata terhadap variabel jumlah tunas, berat basah, persentase tumbuh tunas, hari muncul tunas, hari muncul daun dan hari daun terbuka sempurna terlihat dari nilai F hitung lebih besar daripada F tabel 5%. Sedangkan pada variabel tinggi tunas dan jumlah daun menunjukkan nilai F hitung lebih kecil dari F tabel 5% yang berarti jenis media tidak berpengaruh nyata terhadap variabel ini. Selanjutnya ringkasan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Jenis Media terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam.

Jenis Media	**Jumlah tunas** (buah)	**Berat Basah** (gram)	**Persentase tumbuh tunas** (%)	**Hari Muncul Tunas** (HST)	**Hari Muncul Daun** (HST)	**Hari Daun Terbuka Sempurna** (HST)
MS	0,750a	0,0250a	87,5a	7,1250b	11,8333b	16,9167c
DKW	1,250ab	0,0333a	**100b**	7,1250b	10,5417b	14,7083b
WV5	**1,833b**	**0,0538b**	87,5a	**6,3750a**	**8,8333a**	**12,9583a**

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa media WV5 memberikan hasil terbaik pada variabel jumlah tunas, berat basah, persentase tumbuh tunas, hari muncul tunas, hari muncul daun maupun hari daun terbuka sempurna. Media DKW menunjukkan nilai terbaik pada variabel persentase tumbuh tunas. Rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan pada media WV5 adalah 1,833 tunas. Nilai ini tidak berbeda nyata dengan jumlah tunas pada media DKW yaitu 1,250 tunas, sedangkan pada media MS jumlah tunas berbeda nyata dibandingkan media WV5 dengan rata-rata jumlah tunas 0,750. Variabel berat basah menunjukkan perbedaan nyata antara media WV5 dengan kedua media lainnya. Berat basah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tertinggi diperoleh pada media WV5 dengan rata-rata 0,0538 gram. Variabel pengamatan hari munculnya tunas, hari muncul daun serta hari daun terbuka sempurna yang paling cepat juga terdapat pada media WV5.

Yuniastuti (2010) menyatakan bahwa tunas merupakan organ tanaman yang pertumbuhan dan perkembangannya dipengaruhi oleh adanya nitrogen (N), fosfor (P) dan kalium (K). Media WV5 mempunyai kandungan nitrogen sebesar 700,00 mg/l (8,74 mM) pada NH_4NO_3 dan sebesar 1084,06 mg/l (10,72 mM) pada unsur KNO_3 (Coke, 1996). Meskipun konsentrasi nitrogen ini lebih rendah daripada media MS, namun nitrogen pada media WV5 ini telah mencukupi kebutuhan tanaman legundi dalam perbanyakan tunas sehingga jumlah tunas tertinggi justru diperoleh pada media WV5. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Nursetiadi (2016), bahwa setiap jenis tanaman memerlukan jumlah unsur hara yang berbeda. Zulkarnaian (2009) menambahkan bahwa setiap tanaman memiliki unsur hara pada ambang tertentu yang dapat ditoleransi.

Media WV5 memiliki kandungan unsur K, Mg, S, Ca, Cl dan P lebih tinggi daripada media MS (Coke, 1996). Media WV5 mempunyai kandungan kalium sebesar 1084,06 mg/l (10,72 mM) pada unsur KNO_3, pada unsur KH_2PO_4 sebesar 270,00 mg/l (1,98 mM) dan pada unsur KCl sebesar 718,67 mg/l (9,64 mM) (Coke, 1996). Jumlah kalium yang tinggi pada media WV5 ini mampu meningkatkan dan memperbaiki kualitas tunas legundi, termasuk tinggi tunas dan jumlah daun. Sebagaimana pernyataan Havlin (1999), unsur kalium berperan dalam proses pembesaran sel dan membukanya stomata, sehingga pembentukan vegetatif tunas lebih cepat. Secara fisiologis, unsur kalium berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, metabolisme nitrogen dan sintesis protein,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

aktivasi berbagai enzim serta pengaturan pemanfaatan berbagai unsur hara utama yang pada akhirnya dapat mempercepat pertumbuhan dan perkembangan jaringan meristem (pucuk, tunas) (Hanafiah, 2005).

Kandungan unsur Mg dalam bentuk $MgSO_4$ dalam media WV5 sembilan kali lebih besar daripada media MS (Coke, 1996). Hanafiah (2005) menyatakan bahwa unsur magnesium (Mg) pada tanaman berperan sebagai penyusun klorofil dan aktivator enzim-enzim dalam reaksi fotosintesis, respirasi dan sintesis RNA/DNA, serta sebagai pemicu penyediaan energi kimia dari ATP yang dibutuhkan dalam berbagai reaksi. Kebutuhan nitrogen tanaman pada media WV5 juga dapat terpenuhi karena tingginya unsur Mg ini. Unsur Mg berperan penting dalam proses metabolisme N, yakni sebagai katalisator pada reaksi fosforilasinya.

Hamzah (2016) menyatakan bahwa tinggi tunas berbanding lurus dengan jumlah daun karena dapat memberikan lebih banyak ruang bagi daun untuk tumbuh. Hal ini juga diperkuat oleh pernyataan Suyanti (2013) bahwa semakin tinggi tunas, maka semakin bertambah nodus sebagi tempat tumbuh daun.

Selain menghasilkan rata-rata jumlah tunas yang terbaik, media WV5 juga menghasilkan berat basah yang terbaik yaitu 0,0538 gram. Hasil ini berbeda nyata dengan berat basah legundi pada media DKW dan WV5. Hal ini dikarenakan rata-rata jumlah daun pada perlakuan media WV5 lebih tinggi sehingga laju fotosintesis yang terjadi lebih cepat dan energi hasil metabolisme yang dihasilkan meningkat yang mengakibatkan berat basah menjadi tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suyanti (2013) bahwa berat basah merupakan akumulasi dari senyawa organik, terutama air dan karbohidrat dari unsur yang terserap dari hasil fotosintesis.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Media WV5 juga mempunyai kandungan fosfor (P) sebesar 270,00 mg/l (1,98 mM) yang lebih tinggi dibandingkan dengan media MS dan DKW. Unsur fosfor berfungsi sebagai komponen penyusun protoplasma sel dan sangat dibutuhkan dalam fotosintesis, yaitu dalam pembentukan *adenosin trifosfat* (ATP) pada fotofosforilasi dan fosforilasi oksidatif (Jumin, 1992). Selain itu, menurut Hanafiah (2005), fosfor juga berfungsi sebagai aktivator enzim, dimana P berperan mengatur reaksi-reaksi enzimatik seperti sintesis amilose lewat peran enzim *fosforilase glukosan,* yang bersifat bolak-balik *(reversible)*. Jones *et al.* (1991) menambahkan bahwa unsur P berperan vital dalam penyediaan energi kimiawi yang terlibat, cahaya dan gerak. Multiplikasi tunas yang optimal pada media WV5 ini dapat terjadi karena laju metabolisme dan sintesis proteinnya berlangsung lebih cepat.

Pengamatan pada hari muncul tunas, hari muncul daun dan hari daun terbuka sempurna yang paling cepat juga terdapat pada media WV5 dengan waktu berturut-turut 6,375 hari, 8,8333 hari dan 12,958 hari. Hal ini terjadi karena komponen penyusun media WV5 mampu mempercepat reaksi metabolisme pada tunas sehingga percepatan pertumbuhan tunas meningkat. Komponen yang perbedaannya sangat signifikan antara media WV5 dengan media MS dan DKW adalah dari kelompok vitamin yakni *myo-inositol* dan thiamin. Media WV5 memiliki kandungan *myo-inositol* sepuluh kali lebih besar dibanding media MS maupun DKW, sedangkan kandungan thiaminnya empat kali lebih tinggi dibanding media MS. Menurut George (1993), *myo-inositol* merupakan salah satu vitamin dalam media kultur yang sangat mempengaruhi pertumbuhan eksplan, terutama pada peningkatan proliferasi sel yang akhirnya dapat meningkatkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kecepatan pertumbuhan tunas. *myo-inositol* merupakan faktor penting dalam kerja fungsional membran sel tumbuhan, yang menstimulasi jalannya arus biosintesis pada sel untuk pembentukan komponen penyusun dinding sel seperti pektin dan hemiselulosa. Meskipun pada media WV5 asam amino lain seperti glisin, asam nikotin dan pyrodixin tidak ada, kebutuhan asam amino sebagai katalisator metabolisme tanaman telah tercukupi oleh komponen *myo*-inositol.

Menurut George (1993), thiamin merupakan kofaktor esensial pada metabolisme karbohidrat dan secara langsung meningkatkan biosintesis asam amino. Media MS mengandung 0,3 µM thiamin. Jumlah ini tidak cukup untuk mencapai hasil pertumbuhan yang optimum pada beberapa tanaman, sebagaimana hasil penelitian ini bahwa pertumbuhan tunas tamanan legundi pada media WV5 dan DKW lebih tinggi dibandingkan media MS. Hal ini sesuai dengan penelitian Barwale *et al.* (1990) yang menyatakan bahwa konsentrasi thiamin perlu ditingkatkan hingga 5 µM untuk dapat meningkatkan laju pertumbuhan tunas.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.2 Pengaruh BAP (*6 - Benzyl Amino Purine)* terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Hasil dari analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas legundi (Lampiran 6). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) BAP terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F tabel 5%
Jumlah tunas	2,806^{ns}	2,866
Tinggi tunas	1,757 ^{ns}	2,866
Jumlah daun	3,073*	2,866
Berat basah	5,061*	2,866
Persentase tumbuh tunas	3,333*	2,866
Hari muncul tunas	2,033^{ns}	2,866
Hari muncul daun	1,601^{ns}	2,866
Hari daun terbuka sempurna	6,558*	2,866

Keterangan: *BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.
^{ns}BAP tidak berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Hasil ANAVA menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan diantaranya jumlah daun, berat basah, persentase tumbuh tunas dan hari daun terbuka sempurna dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar daripada F tabel 5%. Sedangkan pada variabel jumlah tunas, tinggi tunas, ,hari muncul tunas dan hari muncul daun menunjukkan nilai F hitung lebih kecil daripada F tabel 5% yang berarti bahwa pemberian berbagai konsentrasi BAP tidak berpengaruh nyata terhadap variabel ini. Variabel-variabel yang menunjukkan perbedaan nyata pada uji ANAVA kemudian diuji lanjut dengan menggunakan uji DMRT 5%. Berikut hasil uji DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.4.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh BAP Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam.

Konsentrasi BAP	**Jumlah Daun** (helai)	**Berat Basah** (gram)	**Persentase Tumbuh Tunas** (%)	**Hari Daun Terbuka Sempurna** (HST)
0,0 µM	4,44a	0,0383ab	83a	16,61c
2,2 µM	**7,50b**	0,0317a	88ab	15,22bc
4,4 µM	5,78ab	0,0250a	94ab	14.22ab
6,6 µM	**8,11b**	**0,0544b**	**100b**	**13,39a**

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa BAP pada konsentrasi 6,6 µM memberikan hasil terbaik pada jumlah daun, berat basah, persentase tumbuh tunas dan hari daun terbuka sempurna. Hasil terbaik pada variabel jumlah daun juga diperoleh pada konsentrasi 2,2 µM.

Konsentrasi BAP 6,6 µM yang telah dikombinasikan dengan NAA 0,27 µM pada penelitian ini menghasilkan rata-rata jumlah tunas legundi terbanyak yaitu 2,03 tunas dengan tinggi tunas terbaik 2,37 cm. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan sitokinin (BAP) 6,6 µM mampu mendorong sel-sel meristem pada eksplan untuk membelah dan mempengaruhi sel lainnya dan berkembang menjadi tunas secara optimal. Menurut Flick *et al.* (1993) kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas apabila konsentrasinya tepat bagi suatu tanaman. Penelitian Vadawale *et al.* (2006) pada tanaman *Vitex negundo* menunjukkan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi 4,4 µM dan NAA 0,53 µM yang ditambahkan pada medium MS menghasilkan 5 pucuk (tunas) pada setiap eksplan dan merupakan perlakuan terbaik untuk proliferasi pucuk aksilar, sedangkan penelitian oleh Chordia *et al.* (2010) pada tanaman *Vitex leucoxylon* yang dikultur dalam media MS dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

penambahan 7,20 µM BAP menghasilkan regenerasi tunas dan kecepatan multiplikasi tertinggi.

Konsentrasi BAP terbaik pada penelitian ini adalah konsentrasi yang berada antara kedua penelitian tersebut. Hal ini dapat terjadi karena masing-masing spesies tanaman memiliki unsur hara pada ambang tertentu yang dapat ditoleransi. Sumiarsi dan Priadi (2002) menyatakan bahwa konsentrasi BAP yang optimal untuk memacu pertumbuhan tanaman bervariasi dan tergantung pada jenis tanaman.

Respon sitokinin terhadap proliferasi tunas juga bergantung pada bahan tanaman dan konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi BAP 6,6 µM sudah mencukupi dan sesuai dengan kebutuhan tanaman legundi untuk tumbuh optimal. Keseimbangan konsentrasi BAP yang ditambahkan dalam media mengakibatkan proses fisiologis dalam eksplan dapat berlangsung efektif dalam memacu awal pertumbuhan tunas, meskipun demikian konsentrasi BAP yang semakin tinggi tidak selalu memacu muncul tumbuh tunas lebih cepat. Hal ini dimungkinkan setiap tanaman memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon penambahan hormon pada konsentrasi tertentu.

Eady dan Lister (1998) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh yang digunakan juga tergantung interaksi antara hormon endogen dan eksogen. Tingginya pertumbuhan eksplan terjadi dikarenakan adanya interaksi yang tepat hormon endogen serta eksogen yang ditambahkan. Hal ini didukung oleh George dan Sherrington (1984) yang menyatakan bahwa kemampuan eksplan pada media pertumbuhan tidak hanya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ditambahkan saja, tetapi juga bergantung pada interaksi hormon endogen dari dalam sel tanaman dan eksogen yang ditambahkan.

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada variabel jumlah daun menunjukkan bahwa jumlah daun terbanyak terdapat pada konsentrasi BAP 6,6 µM dengan jumlah daun 8,11 helai. Nilai ini tidak berbeda nyata dengan rata-rata jumlah daun pada BAP 2,2 µM dengan rata-rata 7,5 helai. Hal serupa juga terjadi pada variabel berat basah dengan berat tertinggi 0,0544 gram pada konsentrasi BAP 6,6 µM. Suyanti (2013) menyatakan bahwa jumlah daun berbanding lurus dengan berat basah suatu tanaman karena berat basah merupakan akumulasi dari senyawa organik, terutama air dan karbohidrat dari unsur yang terserap dari hasil fotosintesis yang terjadi pada daun tanaman. Semakin banyak jumlah daun suatu tanaman, maka semakin tinggi berat basahnya.

Selain itu, konsentrasi BAP 6,6 µM juga menghasilkan rata-rata hari daun membuka sempurna paling cepat. Daun membuka sempurna pada hari ke- 13,7 setelah tanam. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan BAP 6,6 µM cukup optimal untuk mendukung pembentukan daun pada tanaman legundi. Menurut Wijayanti (2007) pembentukan daun oleh sitokinin melalui dua tahapan (1) sitokinin mendorong pembelahan sel dengan cara peralihan G2 ke mitosis, dalam hal ini sitokinin juga meningkatkan laju sintesis protein pembangun berupa enzim yang dibutuhkan dalam mitosis. Sitokinin juga mememperpendek fase S dengan cara mengaktifkan DNA, sehingga DNA menjadi dua kali lipat lebih besar dan laju sintesis DNA digandakan. (2) sitokinin berperan dalam pengkodean gen KNOX yang berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan dan pemeliharaan meristem ujung batang supaya sel-selnya selalu bersifat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

meristematis, ketika gen KNOX berukuran terlalu besar menyebabkan aktivitas meristematis berhenti dan menginisiasi terbentuknya daun.

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada variabel persentase tumbuh tunas menunjukkan bahwa hasil terbaik diperoleh pada perlakuan BAP 6,6 µM yakni 100%. Nilai ini tidak berbeda nyata dengan pelakuan BAP 2,2 µM dan BAP 4,4 µM, sedangkan pada BAP 0 µM hasilnya cukup berbeda nyata dengan nilai 83%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan BAP pada media mampu meningkatkan persentase pertumbuhan tunas pada tanaman legundi. Secara umum penambahan BAP pada media berpengaruh nyata pada konsentrasi tertentu bergantung pada bahan tanaman yang digunakan. Konsentrasinya tidak selalu yang harus tinggi. Staden (2008) menegaskan bahwa konsentrasi BAP yang tinggi bersifat mutagenik dan menghambat pertumbuhan tunas, sehingga tanaman memerlukan BAP pada konsentrasi tertentu agar multiplikasi berjalan optimal.

BAP merupakan salah satu jenis ZPT dari golongan sitokinin. Zulkarnain (2014) menyatakan bahwa sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel dan inisiasi pucuk pada tanaman serta mengatur pertumbuhan tanaman. Menurut Yusnita (2003), BAP atau 6-*Benzyl Amino Purine* adalah sitokinin yang paling aktif dengan struktur yang hampir sama dengan kinetin dengan fungsi yang sangat berpengaruh dalam pertumbuhan dan proliferasi sel tanaman.

Diketahui pula bahwa pemberian sitokinin bersamaan dengan auksin akan mendorong eksplan untuk melakukan pembelahan sel sehingga terbentuk tunas. Hal ini didukung oleh Fahmi (2012) yang menyatakan bahwa bekerja bersama-sama dengan auksin, sitokinin menstimulasi pembelahan sel dan mempengaruhi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

lintasan diferensiasi. Efek sitokinin terhadap pertumbuhan sel di dalam kultur jaringan, memberikan petunjuk tentang bagaimana jenis ZPT ini berfungsi di dalam tumbuhan. Secara umum sitokinin mempengaruhi pertumbuhan, pengaturan pembelahan sel, dan pemanjangan sel. Konsentrasi sitokinin dan auksin yang seimbang merupakan hal yang sangat penting dalam pertumbuhan tanaman. ZPT sitokinin memiliki interaksi dengan auksin dengan perbandingan tertentu. Interaksi antagonis antara auksin dan sitokinin merupakan salah satu peranan dalam mengatur derajat pertumbuhan akar dan tunas.

4.3 Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP (*6- Benzyl Amino Purine)* terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Hasil dari analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa interaksi jenis media dan BAP berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas legundi (Lampiran 6). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP terhadap Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) secara *In Vitro*

Variabel Pengamatan	F Hitung	F tabel 5%
Jumlah tunas	2,983*	2,363
Tinggi tunas	1,678^{ns}	2,363
Jumlah daun	1,335^{ns}	2,363
Berat basah	2,764*	2,363
Persentase tumbuh tunas	7,833*	2,363
Hari muncul tunas	3,790*	2,363
Hari muncul daun	1,452^{ns}	2,363
Hari daun terbuka sempurna	2,534*	2,363

Keterangan:*Interaksi jenis media dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

[ns]Interaksi jenis media dan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Hasil analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh interaksi jenis media dan BAP terhadap variabel jumlah tunas, berat basah, persentase tumbuh tunas, hari muncul tunas dan hari daun terbuka sempurna dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar daripada F tabel 5%. Hasil uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% disajikan dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada hari ke-30 setelah tanam.

Perlakuan	**Jumlah tunas** (buah)	**Berat Basah** (gram)	**Persentase Tumbuh Tunas** (%)	**Hari Muncul Tunas** (HST)	**Hari Daun Terbuka Sempurna** (HST)
MS + BAP 0,0 µM	0,33a	0,0133a	50a	6,33ab	19,33d
MS + BAP 2,2 µM	0,67a	0,0200a	**100c**	7,00bc	18,00d
MS + BAP 4,4 µM	0,67a	0,0283a	**100c**	8,16c	15,16bc
MS + BAP 6,6 µM	1,00a	0,0383a	**100c**	7,00bc	15,16bc
DKW + BAP 0,0 µM	1,83a	0,0300a	**100c**	7,83c	16,16bc
DKW + BAP 2,2 µM	1,50a	0,0400a	**100c**	6,83bc	14,00b
DKW + BAP 4,4 µM	1,83a	0,0233a	**100c**	6,83bc	13,50b
DKW + BAP 6,6 µM	0,66a	0,0400a	**100c**	7,00bc	15,16bc
WV5 + BAP 0,0 µM	0,83a	0,0717b	**100c**	7,00bc	14,33b
WV5 + BAP 2,2 µM	1,16a	0,0350a	67ab	7,00bc	13,67b
WV5 + BAP 4,4 µM	1,83a	0,0233a	83bc	6,33ab	14,00b
WV5 + BAP 6,6 µM	**3,50b**	**0,0850b**	**100c**	**5,1667a**	**9,83a**

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada perlakuan WV5 + BAP 6,6 µM menunjukkan hasil terbaik pada semua variabel, yakni variabel jumlah tunas, berat basah, persentase tumbuh tunas, hari muncul tunas maupun hari daun terbuka sempurna. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pada media WV5 dengan penambahan BAP sebanyak 6,6 µM mampu menghasilkan rata-rata tunas sebanyak 3,50, berat basah tertinggi 0,085 gram. Respon yang sama terhadap multiplikasi tunas berhubungan erat dengan kemampuan jaringan tanaman dalam menyerap nutrisi pada jenis media dan konsentrasi BAP yang sesuai.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Purnamaningsih dan Lestari (1998) bahwa salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman yang optimum secara *in vitro* adalah penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Apabila kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang digunakan pada suatu kultur tepat dan sesuai, maka aktivitas pembelahan sel akan meningkat dan proses morfogenesis serta organogenesis akan berlangsung lebih cepat. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Monnier (1990), bahwa keberhasilan perbanyakan secara in vitro, baik melalui penggandaan tunas, organogenesis, maupun organogenesis embriosomatik, sangat dipengaruhi oleh jenis media dasar, serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama 30 hari setelah inisiasi, ternyata perbedaan yang signifikan terjadi akibat perbedaan jenis media dan penambahan BAP. Media WV5 yang dikombinasikan dengan BAP menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan media DKW dan MS yang dikombinasikan dengan BAP pada konsentrasi yang sama. Hal ini menunjukkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bahwa kombinasi antara jenis media dan tidak selamanya merangsang terjadinya organogenesis pada tumbuhan. Bahkan rasio antara keduanya pun akan berbeda untuk setiap jenis tumbuhan (Hansen *et al*. (1995); Fereol *et al.,* (2002)).

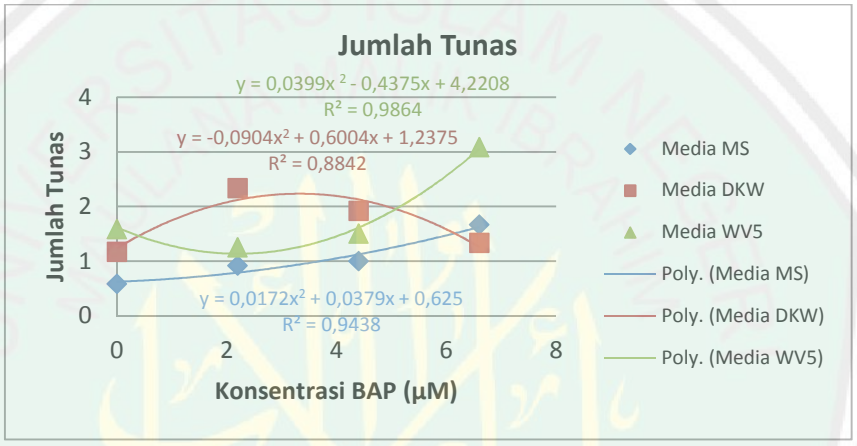
Aktivitas ZPT dalam mempengaruhi pertumbuhan jaringan suatu tanaman ditentukan berdasarkan struktur kimia, jenis, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al*., 2004; George, 1993; Dodds dan Roberts, 1982). Penambahan BAP dengan konsentrasi 6,6 µM pada media WV5 diduga telah memenuhi kebutuhan tanaman legundi untuk multiplikasi tunas, karena selain hormon eksogen berupa ZPT, pada umumnya tanaman telah memiliki hormon endogen dari dalam sel dan jaringannya. Dalam proses pembentukan organ seperti tunas maupun daun, menurut Winata (1987) ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman, sehingga perlu adanya kajian atau penelitian untuk mengetahui keseimbangan antara dua komponen tersebut.

Hasil uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa hari munculnya tunas, hari munculnya daun serta hari daun terbuka sempurna tercepat diperoleh pada perlakuan media WV5 dengan penambahan BAP 6,6 µM. Munculnya tunas terjadi pada rata-rata hari ke 5,16 setelah tanam, sedangkan daun terbuka sempurna terjadi pada hari ke 9,83 setelah tanam (HST). Hal ini terjadi karena komponen penyusun media WV5 yang berinteraksi dengan BAP pada konsentrasi tersebut mampu mempercepat reaksi metabolisme pada tunas sehingga percepatan pertumbuhan tunas meningkat Jenis media kultur dan konsentrasi nutrisi berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan *in vitro*, pemanjangan dan kualitas

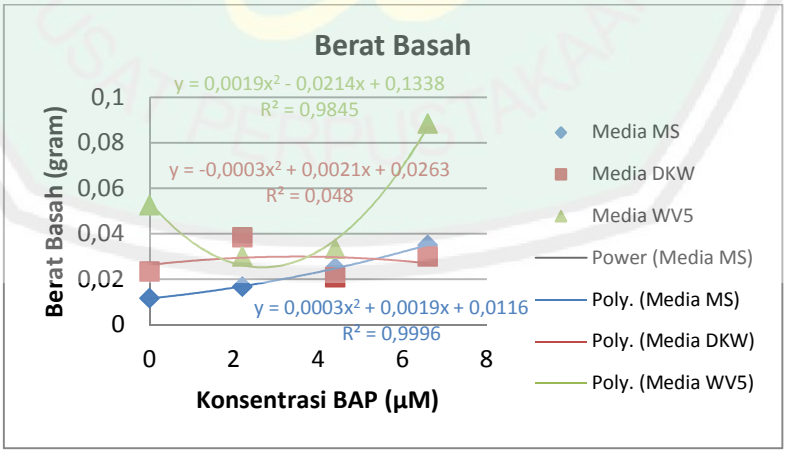
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

morfogenesisnya. Kesesuaian eksplan yang dikultur dan medium yang digunakan menjadi faktor penentu dan bersifat spesifik terhadap keberhasilan kultur in vitro tanaman untuk berbagai tujuan (George *et al.,* 2007), termasuk substitusi medium kultur yang bertujuan meningkatkan efisiensi biaya produksi.

Interaksi jenis media dan BAP terbaik yang dapat meningkatkan multiplikasi tunas legundi dapat diketahui dengan analisis regresi. Hasil analisis regresi disajikan pada gambar 4.1; 4.2; 4.3; 4.4 dan gambar 4.5 berikut:

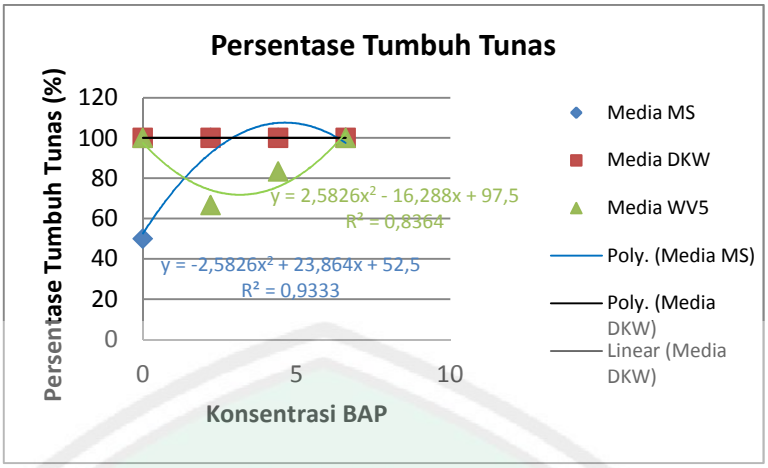


Gambar 4.1 Kurva regresi jumlah tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*

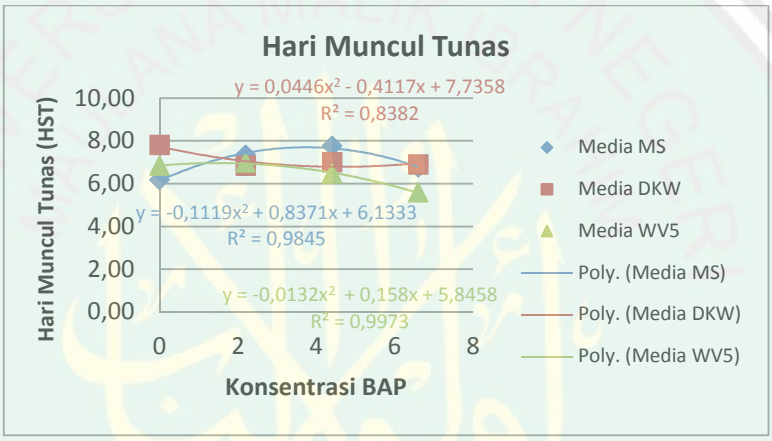


Gambar 4.2 Kurva regresi berat basah legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*

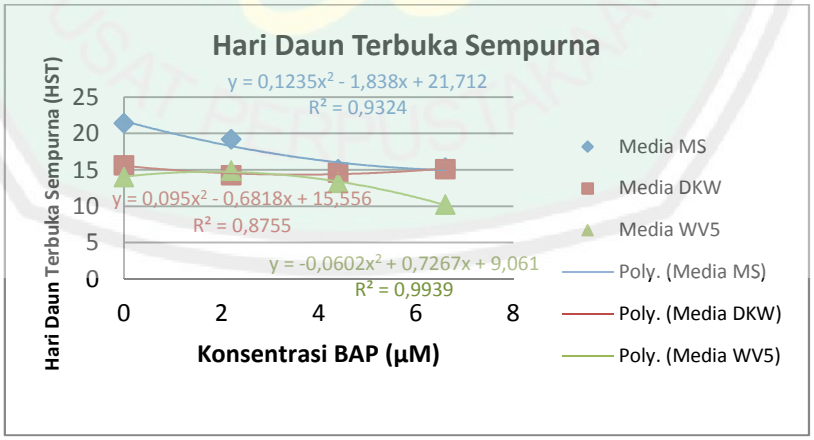
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.3 Kurva regresi persentase tumbuh tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*



Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul tunas legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*



Gambar 4.5 Kurva regresi hari daun terbuka sempurna legundi (*Vitex trifolia* L.) pada jenis media dan konsentrasi BAP secara *In Vitro*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil analisis regresi untuk variabel jumlah tunas (gambar 4.1) pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan y = 0,0399x2 - 0,4375x + 4,2208 dengan nilai determinasi R^2 = 0,9864 yang artinya hubungan antara jenis media dan konsentrasi BAP dengan hari muncul daun mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 98,64%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan y = 0,0399x2 - 0,4375x + 4,2208 didapatkan perlakuan kombinasi media WV5 dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (5,48; 3,02). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian media WV5 dan konsentrasi BAP 5,48 µM memperbanyak jumlah tunas rata-rata 3,02 tunas.

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah (gambar 4.2) pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan y = $0,0019x^2$ - 0,0214x + 0,1338 dengan nilai determinasi R^2 = 0,9845 yang artinya hubungan antara jenis media dan konsentrasi BAP dengan hari muncul daun mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 98,45%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan y = $0,0019x^2$ - 0,0214x + 0,1338 didapatkan perlakuan kombinasi media WV5 dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (5,63; 0,073). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian media WV5 dan konsentrasi BAP 6,18 µM meningkatkan berat basah dengan rata-rata berat basah sebesar 0,078 gram.

Hasil analisis regresi untuk variabel persentase tumbuh tunas (gambar 4.3) pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan y = $2,5826x^2$ - 16,288x + 97, dengan nilai determinasi 5 R^2 = 0,8364 yang artinya hubungan antara jenis media dan konsentrasi BAP dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hari muncul daun mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 83,64%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan y = -0,0132x^2 + 0,158x + 5,8458 didapatkan perlakuan kombinasi media WV5 dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (5,3; 98). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian media WV5 dan konsentrasi BAP 5,98 µM meningkatkan persentase tumbuhnya tunas yakni mencapai 98%.

Hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul tunas (gambar 4.4) pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan y = -0,0132x^2 + 0,158x + 5,8458 dengan nilai determinasi R^2 = 0,9973 yang artinya hubungan antara jenis media dan konsentrasi BAP dengan hari muncul daun mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 99,73%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan y = -0,0132x^2 + 0,158x + 5,8458 didapatkan perlakuan kombinasi media WV5 dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (5,98; 6,31). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian media WV5 dan konsentrasi BAP 5,98 µM meningkatkan kecepatan munculnya tunas yakni pada hari ke- 6,31 atau hari ke 6 setelah tanam.

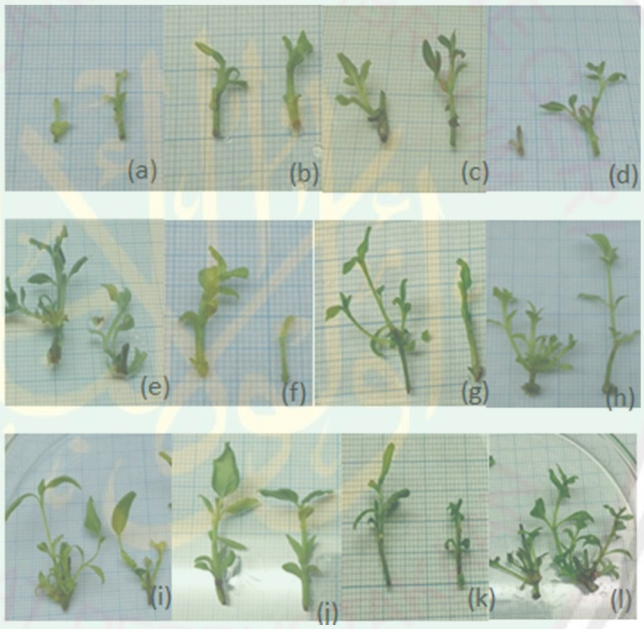
Hasil analisis regresi untuk variabel hari daun terbuka sempurna (gambar 4.7) pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan y = -0,0602x2 + 0,7267x + 9,061 dengan nilai determinasi R^2 = 0,9939 yang artinya hubungan antara jenis media dan konsentrasi BAP dengan hari muncul daun mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 99,39%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan y = -0,0602x2 + 0,7267x + 9,061 didapatkan perlakuan kombinasi media WV5 dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (6,035; 11,25). Hal tersebut menunjukkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bahwa pemberian media WV5 dan konsentrasi BAP 6,035 µM meningkatlan laju daun untuk terbuka sempurna yakni pada hari ke-11,25 setelah tanam atau hari ke -11 setelah tanam.

4.4 Pengaruh Interaksi Jenis Media dan BAP terhadap Keragaan Visualisasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* L) secara *In Vitro*

Masing-masing perlakuan pada penelitian ini menunjukkan pengaruh pada keragaan tunas hasil dari multiplikasinya. Keragaaan visualisasi tersebut dapat dilihat pada gambar 4.8 berikut.



Gambar 4.8 Keragaman Visualisasi Tunas Legundi (*Vitex trifolia* L) pada berbagai media dasar dan konsentransi BAP pada hari ke-30 setelah tanam. (a) Media MS + BAP 0,0 µM (b) Madia MS + BAP 2,2 µM (c) Media MS + BAP 4,4 µM (d) Media MS + BAP 6,6 µM (e) Media DKW + BAP 0,0 µM (f) Media DKW + BAP 2,2 µM (g) Media DKW + BAP 4,4 µM (h) Media DKW + BAP 6,6 µM (i) Media WV5 + BAP 0,0 µM (j) Media WV5 + BAP 2,2 µM (k) Media WV5 + BAP 4,4 µM (l) Media WV5 + BAP 6,6 µM.

Hasil keragaman visualisasi menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas paling optimal terdapat pada perlakuan kombinasi Media WV5 dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

konsentrasi BAP 6,6 µM. Hal ini ditandai dengan jumlah tunas terbanyak, tinggi tunas serta jumlah daun yang tumbuh. Pertumbuhan optimal pada perlakuan ini terjadi karena unsur hara yang terkandung pada kombinasi media dan BAP pada perlakuan ini sesuai dengan kebutuhan untuk multiplikasi tunas legundi. Yuniastuti (2010) menyatakan bahwa tunas merupakan organ tanaman yang pertumbuhan dan perkembangannya dipengaruhi oleh adanya nitrogen (N), fosfor (P) dan kalium (K). Unsur-unsur tersebut telah ada pada media WV5 dengan komposisi yang berbeda dengan media MS dan DKW. Media WV5 mempunyai kandungan nitrogen sebesar 700,00 mg/l (8,74 mM) pada NH_4NO_3 dan sebesar 1084,06 mg/l (10,72 mM) pada unsur KNO_3 (Coke, 1996).

Tinggi tunas hasil visualisasi berbanding lurus dengan jumlah daun pada tanaman karena semakin tinggi suatu tanaman, maka ruang bagi daun untuk tumbuh semakin banyak. Hal ini juga diperkuat oleh pernyataan Suyanti (2013) bahwa semakin tinggi tunas, maka semakin bertambah nodus sebagi tempat tumbuh daun.

Warna semua planlet pada penelitian ini pada umumnya adalah hijau. Tanaman ke-4 pada gambar (g) dan gambar (i) menunjukkan penampakan warna kecoklatan dan tidak adanya gejala pertumbuhan. Hal ini terjadi karena planlet mengalami *browning* (pencoklatan). Hal ini dapat terjadi dimungkinkan terjadi karena beberapa faktor, diantaranya terlalu panasnya pinset atau skalpel pada saat melakukan inisiasi (*human error)* atau karena ketidak sesuaian kandungan unsur hara dengan tanaman yang dikultur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zulkarnain (2014) bahwa timbulnya penguningan atau pencoklatan pada planlet disebabkan oleh defisiensi unsur hara, terutama unsur boron dan kalsium. Purnamaningsih

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(2003) menambahkan bahwa sumber eksplan diduga sebagai salah satu kendala. Tunas yang berasal dari pucuk (tunas terminal) pertumbuhannya jauh lebih baik dari ruas kedua dan ketiga, tunas terlihat menguning bahkan ada yang mati.

4.5 Dialog Hasil Penelitian tentang Multiplikasi Tunas dalam Pandangan Agama Islam

Berbagai tumbuhan di muka bumi ini ditumbuhkan oleh Allah SWT dengan kekuasaan-Nya, melalui berbagai proses dan tahapan hingga terbentuklah suatu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, tidak terkecuali manusia. Tumbuhan dalam proses pertumbuhan dan perkembangannya membutuhkan media taman yang sesuai dengan unsur hara yang tepat agar dapat tumbuh normal dan optimum.

Faktor kesediaan unsur hara media tanam untuk memperoleh pertumbuhan optimum dan morfogenesis pada tumbuhan berbeda antara satu dengan yang lainnya. Bahkan, masing-masing bagian tumbuhan, baik organ maupun jaringan memiliki kebutuhan unsur hara yang berbeda untuk pertumbuhan terbaiknya (Skoog F. dan Murashige T., 1962). Tanah sebagai salah satu media tanam bagi tumbuhan memiliki berbagai kandungan unsur hara yang sangat menentukan tingkat kesuburannya. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Al- A'raf ayat 58 sebagai berikut:

وَٱلۡبَلَدُ ٱلطَّيِّبُ يَخۡرُجُ نَبَاتُهُۥ بِإِذۡنِ رَبِّهِۦۖ وَٱلَّذِي خَبُثَ لَا يَخۡرُجُ إِلَّا نَكِدٗاۚ كَذَٰلِكَ نُصَرِّفُ ٱلۡأٓيَٰتِ لِقَوۡمٖ يَشۡكُرُونَ ٥٨

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Abu Ja'far berkata dalam tafsir Ath-Thabari (2008) bahwasanya negeri atau bumi yang baik adalah yang tanahnya subur dan airnya segar. Tumbuh-tumbuhannya dapat keluar apabila Allah menurunkan hujan dan mengirimkan kehidupan kepadanya dengan izin-Nya. Tumbuh-tumbuhan itu mengeluarkan buah-buahan yang baik sebagai hasil yang dapat dimanfaatkan pada saat itu. Lafadz وَالَّذِى خَبُثَ memiliki arti tanah yang tidak subur dan airnya asin sehingga sebagaimana lafadz berikutnya yakni لاَ يَخْرُجُ maka tumbuh-tumbuhannya tidak keluar melainkan sangat sulit. Al-Jazairi (2009) menambahkan bahwa pada tanah yang baik, hujan dapat membuat tanah itu bisa bermanfaat sehingga menumbuhkan tanaman. Sedangkan tanah yang tidak subur, hujan tidak akan membuatnya menumbuhkan sesuatu yang bermanfaat.

Kajian tafsir tersebut telah menyatakan bahwa tanah merupakan faktor penting yang menjadi syarat optimumnya pertumbuhan suatu tumbuhan. Tanah yang subur merupakan tanah yang komposisinya terdiri atas unsur makro dan mikro yang cukup. Selain dengan media tanah, tumbuhan juga dapat tumbuh di media lain seperti agar ataupun cairan yang mengandung unsur hara sesuai dengan kebutuhan tumbuhan. Pemanfaatan agar atau cairan sebagai media tanam dapat dilakukan dengan teknik propagasi berupa kultur jaringan.

Kultur jaringan secara umum diartikan sebagai suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman, baik berupa protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ, untuk selanjutnya ditumbuhkan dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi individu tanaman lengkap (Gunawan, 1987 dalam Karjadi dan Buchory, 2008). Kultur jaringan biasanya dilakukan menggunakan media buatan dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

komposisi nutrisi tertentu yang ditambahkan dengan beberapa zat pengatur tumbuh (ZPT) agar diperoleh tanaman dengan pertumbuhan yang sesuai.

Penelitian ini menggunakan kombinasi antara jenis media dasar yang digunakan dengan berbagai konsentrasi sitokinin, digunakan pula auksin dalam konsentrasi yang sama. Media dasar yang digunakan terdiri dari media MS, DKW dan WV5, sitokinin yang digunakan adalah BAP (*6-Benzyl Amino Purine)* dengan 4 taraf konsentrasi yaitu 0,0 µM, 2,2 µM, 4,4 µM dan 6,6 µM, sedangkan auksin yang digunakan adalah NAA dengan konsentrasi 0,27 µM. Keseimbangan antara unsur-unsur penyusun media ini diharapkan mampu memberikan pertumbuhan optimal dari tunas legundi. Allah SWT berfirman dalam surat Al-Qamar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَٰهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya*: "Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran."*

'Aidh al-Qarni (2007), mengartikan bahwa pada semua makhluk ciptaan-Nya, Allah SWT. telah menentukan ukurannya sesuai ketetapan, ilmu pengetahuan dan takdir-Nya, sehingga semua yang terjadi di alam semesta pasti berdasarkan kekuasaan takdir-Nya. Ayat ini merupakan sebuah pemberitahuan dari Allah tentang aturan alam semesta yang telah Dia ciptakan, bahwa segala kejadian yang terjadi dialam ini telah diketahui oleh ilmu Allah dan telah ditentukan. Tidak ada sesuatu pun yang terjadi di alam ini tanpa adanya takdir yang telah diketahui oleh ilmu Allah yang Maha Sempurna sebelum terjadinya sesuatu itu (Al-Jazairi, 2009). Sebagaimana hasil dari penelitian ini, diketahui bahwasanya kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP paling optimal untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menumbuhkan tunas legundi (*Vitex trifolia* L) adalah pada media WV5 dengan penambahan BAP 6,6 µM.

Pertumbuhan eksplan yang diamati pada penelitian ini merupakan tahap multiplikasi atau penggandaan tunas pada tanaman legundi. Purnamaningsih (2003) menyatakan penggandaan biakan dalam kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik. Penelitian ini terbatas pada multiplikasi melalui proses organogenesis. Organogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan tunas dari jaringan meristem tunas atau dapat diartikan pula terbentuknya pucuk-pucuk adventif secara langsung pada permukaan eksplan, seperti daun, tanpa melalui pembentukan kalus (Pardal, 2003; Nagasawa dan Finer, 1988). Pertumbuhan tunas ini melalui tahapan-tahapan hingga akhirnya memunculkan tunas baru. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT. dalam surat Al-Insyiqaaq ayat 19 yang berbunyi:

لَتَرۡكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

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

(QS. Al- Insyiqaaq [84]: 19)

Kata tingkat demi tingkat pada ayat ini dimaksudkan sebagai tahap penciptaan manusia dari setetes air mani sampai dilahirkan, kemudian melalui masa kanak-kanak, remaja dan sampai dewasa, dari hidup menjadi mati kemudian dibangkitkan kembali. Imam al-Bikhari dalam riwayatnya dari Mujahid dalam tafsir Ibnu katsir bahwa Ibnu Abbas mengatakan "*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)",* yaitu satu keadaan yang lain. Hal ini dapat dikategorikan sebagai pertumbuhan pada tanaman. Tunas merupakan bagian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tanaman yang tumbuh dari bagian meristem suatu tanaman. Pertumbuhannya melalui tahap-tahap sebelum akhirnya menjadi suatu tunas yang utuh.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa Allah SWT. berkuasa dalam mengatur segala seuatu yang diciptakan-Nya. Manusia sebagai *khalifah* di dunia ini diberikan petunjuk oleh-Nya melalui apa-apa yang telah diciptakan-Nya, tidak terkecuali pertumbuhan suatu tanaman. Pertumbuhan optimal tunas legundi pada kombinasi jenis media dan konsentrasi BAP ini menunjukkan pada kita segala sesuatu yang diciptakan-Nya telah memiliki ketetapan masing-masing agar dapat diambil hikmah dan kebermanfaatannya bagi kemaslahatan. Ini merupakan bentuk anugerah akal oleh Allah SWT kepada manusia untuk memikirkan ciptaan-Nya seperti yang dijelaskan dalam QS. Ali-Imran (3) ayat 191 yang berbunyi:

ٱلَّذِينَ يَذۡكُرُونَ ٱللَّهَ قِيَٰمٗا وَقُعُودٗا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمۡ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلۡقِ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلۡأَرۡضِ رَبَّنَا مَا خَلَقۡتَ هَٰذَا بَٰطِلٗا سُبۡحَٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ ٱلنَّارِ ١٩١

Artinya : *"(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka." (Q.S Ali Imran (3): 191)*

Ayat di atas mengandung maksud bahwasanya orang yang mengingat Allah SWT. adalah orang yang senantiasa mengingat-Nya dalam keadaan apapun dan dimanapun, serta orang-orang yang senantiasa memikirkan dan mempelajari ciptaan-Nya yang ada di alam semesta ini. Akal dan pikiran yang telah dianugerahkan oleh Allah SWT digunakan untuk mempelajari, memecahkan permasalahan serta mengambil hikmah dari fenomena-fenomena yang telah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terjadi. Sama halnya dengan penelitian mengenai multiplikasi tunas legundi melalui teknik kultur jaringan ini.

Legundi merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Sudarsono (2002) menyatakan daun legundi berkhasiat sebagai analgesik, antipiretik, obat luka, batuk kering, batuk rejan, beri-beri, sakit tenggorokan, muntah darah, obat cacing, demam nifas, sakit kepala, TBC, tipus dan peluruh keringat. Pemakaian luar juga dapat digunakan untuk mengatasi eksim dan kurap. Hal ini menunjukkan bahwa secara ekonomi, tamanan ini dapat dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat untuk bahan baku obat tradisional. Selain dimanfaatkan secara konvensional, legundi juga berpotensi untuk skala industri yang lebih besar.

Permasalahan dalam budidaya tanaman legundi yang memiliki daya regenarasi lambat serta habitatnya yang spesifik di daerah pantai menyebabkan budidaya secara konvensional dengan stek tidak akan memenuhi kebutuhan di bidang industri. Hal ini perlu disikapi dengan mencari metode yang tepat agar kelestariannya tetap terjaga, dan kultur jaringan merupakan solusinya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu kemaslahatan ummat karena tersedianya legundi sebagai salah satu tanaman obat dan pada akhirnya dapat menambah keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.

Manusia diciptakan sebagai *khalifah* mempunyai tugas untuk mengatur, merawat serta menjaga segala sesuatu yang ada di bumi, baik yang di darat maupun di lautan agar dapat dimanfaatkan sesuai dengan ketentuan-Nya. Manusia juga mengemban tugas untuk memecah atau memberi solusi atas suatu masalah yang ada di masyarakat. Sebagaimana pada tanaman legundi ini, terdapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

permasalahan dalam hal budidaya atau perbanyakannya. Maka Allah SWT. sebagai Zat Yang Maha Sempurna dan Maha Mengetahui memberikan petunjuk bagi kita melalui metode kultur jaringan sebagai pemecahan masalah tersebut.

Saat ini, obat herbal dari berbagai tanaman telah banyak digunakan masyarakat. Hal ini terjadi karena meningkatnya kesadaran masyarakat akan manfaat dan kelebihan obat herbal dibanding obat-obatan kimia. Apabila legundi sebagai salah satu jenis tanaman herbal tersedia dalam jumlah banyak, masyarakat dapat memanfaatkannya sebagai salah satu sumber obat herbal yang dapat diperoleh secara murah dan mudah.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh jenis media dan BAP pada multiplikasi tunas legundi (*Vitex trifolia* L) dapat disimpulkan bahwa:

1. Jenis media WV5 berpengaruh terhadap multiplikasi tunas lateral legundi dengan meningkatnya jumlah tunas sebanyak 3,5 tunas.
2. Pemberian BAP pada konsentrasi 6,6 µM berpengaruh nyata meningkatkan multiplikasi tunas lateral legundi dengan jumlah tunas sebanyak 3,5 tunas.
3. Interaksi antara jenis media WV5 dan BAP pada konsentrasi 6,6 µM berpengaruh nyata terhadap variabel jumlah tunas terbanyak 3,50 tunas, berat basah tertinggi 0,085 gram, persentase tumbuh tunas 100%, muncul tunas pada hari ke 5 setelah tanam dan daun terbuka sempurna pada hari ke 9 setelah tanam.

5.2 SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi BAP yang sesuai untuk multiplikasi tunas legundi karena pada penelitian ini konsentrasi BAP paling tinggi merupakan yang terbaik sehingga belum ditemukan nilai optimum untuk multiplikasi tunas tanaman legundi. Selain itu, penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan secara menyeluruh mulai dari proses eksplanting hingga terbentuk planlet yang dapat diaklimatisasi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

‘Aidh al-Qarni. 2007. *at-Tafsir al-Muyassar.* Terjemahan tim Qisthi Press. Jakarta: Qisthi Press.

Abidin. 1994. *Dasar-dasar Pengetahuan Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.

Ahmad, N., Saad bin Javed, Md Imran Khan dan Mohammad Anis. 2015. Rapid plant regeneration and analysis of genetic fidelity in micropropagated plants of *Vitex trifolia*: an important medicinal plant. *Acta Physiol Plant*. 35: 2493–2500.

Ahmad, Naseem dan Mohammad Anis. 2007. Rapid clonal multiplication of a woody tree, *Vitex negundo* L. through axillary shoots proliferation. *Agroforest Syst.* 71:195-200.

Ahmed, Rafique dan Mohammad Anis. 2012. Role of TDZ in the Quick Regeneration of Multiple Shoots from Nodal Explant of *Vitex trifolia* L.—an Important Medicinal Plant. *Appl Biochem Biotechnol.* 168: 957–966.

Ahmed, Rafique dan Mohammad Anis. 2014a. In vitro regeneration and the antioxidant enzymatic system on acclimatization of micropropagated *Vitex trifolia* L. 88: 437–447.

Ahmed, Rafique dan Mohammad Anis. 2014b. Rapid in vitro propagation system through shoot tip cultures of *Vitex trifolia* L.–an important multipurpose plant of the Pacific traditional Medicine. *Physiol Mol Biol Plants.*

Ajijah, Nur. 2016. Pengaruh Komposisi Media Dasar dan Jenis Eksplan terhadap Pembentukan Embrio Somatik Kakao. *J. TIDP.* 3(3) : 127–134

Al Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Al Jami’ li Ahkaam Al Qur’an*. Jakarta: Pustaka Azzam.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Alam, G., Wahyuono, S., Gandjar, I.G., Hakim, L.,Timmerman, H., dan Verporte, R. 2002. Tracheospasmolytic Activity of Viteosin-A and Vitexicarpin isolated from *Vitex trifolia. Planta Medica*. 68: 1047-1049.

Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi. 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 23*. Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.

Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al- Aisar (Jilid 7)*. Terjemahan Fityan Amaliy dan Edi Suwanto. Jakarta: Darus Sunnah.

Allo, M. K. 2010. *Kajian Keragaman Tumbuhan Hutan Berkhasiat Obat Berdasarkan Etnobotani dan Fitokimia di Taman Nasional Lore Lindu.* Laporan Hasil Penelitian Insentif TA. 2010 Flora Fauna dan Mikroorganisme. Balai Penelitian Kehutanan Makassar.

Aranda-Peres, A. N., Pereim Peres L. E., Higashi E. N. dan Martinelli A. P. 2009. Adjustment of mineral elements in the culture medium for the micropropagation of three *Vriesea bromeliads* from the Brazilian atlantic forest : The importance of calcium. *HortScience.* 44(1):106–112.

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

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

Badriah, D., N. T. Mathius, dan T. Sutater. 1998. Tanggap Dua Kultivar Gladiol terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyakan *In vitro. J. Hort.* 8(2): 1048-1059.

Barwale, U.B. 1990. Whole plant regeneration via organogenesis and somaclonal variation in *Glycine* species. U.S. Patent No. 4857465.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Bell, R. L., Srinivasan C. Dan Lomberk D. 2009. Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 45(6): 708–714.

Bell, R. L., Srinivasan, C., & Lomberk, D. (2009). Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 45(6): 708–714.

Beyl, C.A. 2005. *Getting started with tissue culture: media preparation, sterile technique, and laboratory equipment.* In: Trigiano, R.N. dan D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. New York: CRC Press.

Bhattacharjee S. K. dan De L. C. 2005. *Medicinal Herbs and Flowers*. Jaipur: Avishkar.

Bhojwani, S.S.1980. In Vitro Propagation of Garlic by Shoot Proliferation. *Scientia Horticulturae*. 13:47-52.

Buitevelds, J., P.F. Rans J. Creemers – Molenaar, and C.M. Colijn Hooymans. 1993. Callus Induction and Plant Regenaration from Explant of Commercials Cultivars of Leek (*Allium ampeloprasum* var. Porrium L). *Plant . Cell Reports*. 2 :7-8.

Bustanussalam. 2016. Pemanfaatan Obat Tradisional (Herbal) sebagai Obat Alternatif. *BioTrends.* 7(1).

Cania, E. dan Sulistyaningrum, E. 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypty. Medical Journal of Lampung University.* 2(4) : 52-60.

Carović-Stanko, K., Petek M., Grdiša M., Pintar J., Bedeković D., Herak Ćustić M., Satovic Z. 2016. Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review. *Czech J. Food Sci*. 34: 377–390.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cezar, T.M., Antonio R.H., Henrique S.K., Luciana L.F. 2015. Influence of culture medium, explant length and genotype on micropropagation of *Pinus taeda* L. *Ciência Florestal*. 25 (1): 13-22

Chordia, M.A., R. Sangeeta Kumari dan R. Ramesh Kannan. 2010. *In vitro* regeneration of plantlets from internodal callus culture of *Vitex leucoxylon* L. – A rare medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(22): 2399-2403.

Coke, J.E. 1996. *Westvaco Medium Composition.* U.S. Patent 5.534.433.

Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5.* Jakarta: Trubus Agriwidya.

Davies, P.J. 1995. *The plant hormone their nature, occurence and function*. In Davies (ed.) Plant Hormone and Their Role in Plant Growth Development. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publisher.

Dodds, J.H. and L.R. Roberts. 1982. *Experiments in Plants Tissue Culture*. Cambridge: Cambridge University Press.

Driver, J. A., and A. H. Kuniyuki (1984). In vitro propagation of Paradox walnut Juglans hindsi X Juglans regia rootstock. *Hort Science*. 19: 507-509.

Eady , C.C and C.E. Lister. 1998. A Comparison of Four Selective Agents for use with *Allium cepa* L. Immature Embryos and Immature Embryo Derived Cultures. *Plant Cell Reports*. 18:117-121.

Erwin, N. A., Soekmato, N. H. 2009. 6,6-Dimethoxy-4,4-Dihydroxy 3,2-FuranoIsoflavane, A New Compound from *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf Var. Degrabrata K. (Palisia). *Indonesian Journal of Chemistry*. 10 (2): 215-218.

Fereol, L ; Chovelon, V; Causse S; Michaux – Ferriere, N and Kahane, R. 2002. Evidence of Somatic Embryogenesis Proces for Plant Regeneration in Garlic (*Allium sativum* L). *Plant Cell. Reports*.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Flick, C.E., D.A. Evans, and W.R. Sharp. 1993. Organogenesis. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amirato, and T. Yamada (eds.) *Handbook of Plant Cell Culture Collier Macmillan.* Publisher London.

Gaba, V.P. 2005. *Plant Growth Regulator*. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) Plant Tissue Culture and Development. London: CRC Press.

Gahan, P.B. 2007. *Totipotency and the cell cycle.* In: Jain, S.M. & H. Häggman (eds.). *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. Netherlands: Springer.

George E.F. dan Sherington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture: Technology part I. 2nd (ed)*. England: Exegetics Limited.

George, E.F., Hall M.H dan De Klerk G.J. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture,* Vol. 1, 3rd Ed. Netherlands: Springer.

Goodwin, P.B., Y.C. Kim, dan T. Adisarwanto. 1980. Propagation of Potato by Shoot Tip Culture, Shoot Multiplication. *Potato Res*. 23:9-18.

Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan (in vitro) dalam Hortikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi, IPB.

Hamzah. 2016. Pengaruh Konsentrasi Indole Butyric Acid (IBA) dan Lama Perendaman terhadap Pertumbuhan Stek Tembesi. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi.* 8(1) : 69-80.

Hanafiah, Kemas Ali. 2005. *Dasar-dasar Ilmu Tanah*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.

Hansen, E.E ; J.F. Hubstenberger and G.C. Phillips. 1995. Regeneration of Shoot from Cell Suspension–Derived Protoplasts of *Allium Cepa. Plant Cell Reports.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hartman, H.T., D.E. Kester, dan F.T. Davis-Jr. 1990. *Plant Propagation: Principles and Practices.* Englewood Clifts. New Jersey: Prectice-Hall International, Inc.

Havlin J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale, and W.L. Nelson. 1999. *Soil Fertility and Fertilizers*. 6th Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ.

Heim, Edgar. 2015. *Flora and Vegetation of Bali Indonesia.* Herstellung und Verlag Bod Book on Demands Nordestedt.

Hendaryono, D.P.S. 1994. *Teknik Kultur Jaringan.* Jakarta: Penerbit Kanisius.

Heyne, K. 1981. *De Nuttige Planten Van Indonesia N.V.* Bandung: Utigeverijw van Hoeve's Gravenhage.

Hiregoudar, L.V., Murthy H.N., Bhat J.G., Nayeem A., Hema B.P., Hahn E.J dan Paek K.Y. 2006. Rapid clonal propagation of *Vitex trifolia. Biol Plant*. 50(2) :291–294.

Hussey, G. 1978. In Vitro Propagation of the Onion *Allium cepaby* Axillary and Adventitious Shoot Proliferation. *Scientia Horticulturae*. 9:227-236.

Islam F, Jahan I.F., Seraj S., Malek I., Sadat A.F., Bhuiyan M.S., Swarna A., Sanam S., Rahmatullah M. 2011. Variations in Disease and Medicinal Plant Selection among Folk Medicinal Practitioners: a Case Study in Jessore District, Bangladesh. *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 5(2): 282–291.

Jakab, Zs.I., Doina Clapa dan Alexandru Fira. 2008. Contributions Concerning The In Vitro Multiplication In *Prunus Domestica. Annals of RSCB.*65 (1).

Jawahar, M., S. Ravipaul dan M. Jeyaseelan. 2008. *In vitro* Regeneration of *Vitex negundo* L. - A Multipurpose Woody Aromatic Medicinal Shrub. *Plant Tissue Cult. & Biotech*. 18(1): 37-42.

Jumin, H.B. 1992. *Ekologi Tanaman, Suatu Pendekatan Fisiologis.* Jakarta: Rajawali Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kannathasan K., Senthilkumar A., Chandrasekaran M. dan Venkatesalu V. 2007. Differential larvicidal efficacy of four species of Vitex against *Culex quiquefasciatus* larvae. *Parasitology Res*. 101:1721–1723.

Karjadi, A.K dan Buchory, A. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*. 18 (1).

Kirtikar, K.R. dan Basu B.D. 1991. *Indian medicinal plants*. India: Lalit Mohan Basu, Allahabad.

Kumar, Manish. 2011. In Vitro Morphogenesis of *Stevia rebaudiana*, A Naturally Occuring Sweet Plant. *International Journal Of Advanced Research*. 2(3)

Kusmana, C. dan Agus H. 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan.* 5 (2).

Lawrence, B.M. 1992. *Chemical components of Labiatae oils and their exploitation*, dalam : Harley R.M., Reynolds T. (eds): *Advances in Labiate Science*. Richmond: Royal Botanic Gardens Kew: 399–436.

Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. Jakarta: AkaDemia.

Li, W.X., Cui C.B., Cai B., Wang H.Y. dan Yao X.S. 2005. Flavonoids from *Vitex trifolia* L. inhibit cell cycle progression at G2/M phase and induce apoptosis in mammalian cancer cells. *Journal Asian Nat Prod Res Asian*. 7:615–626.

Mangguang, Masrizal Dt. 2016. Faktor Resiko Kejadian Asma pada Anak di Kota Padang. *Arc. Com. Health.* 3 (1).

Manjunatha B.K., Vidya S.M., Krishna V., Mankani K.L., Singh S.D. dan Manohara Y.N. 2007. Comparative evaluation of wound healing potency of *Vitex trifolia* L. and *Vitex altissima* L. *Phytother Res*. 21:457–461.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Monnier, M. 1990. Induction embriogenesis in suspension culture. Metode in Molecular Biology. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. Springer, The Netherlands. 6: 149–157.

Murashige T. and F. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15: 473-497.

Nagasawa, A and Finner J. J. 1988. Induction of Morphogenic Callus Cultures from Leaf Tissue of Garlic. *Hort Sci*. 23: 1068-1070.

Nagaveni, C. dan Rajanna L. 2013 . In-vitro Flowering in *Vitex trifolia* L. *Botany Researh International.* 6(1):13–16.

Nugrahani, Pangesti, Sukendah dan Makziyah. 2011. *Regenerasi Eksplan melalui Organogenesis dan Embriogenesis Somatik*. Fakultas Pertanian Pembangunan Nasional "Veteran".

Nursetiadi, Eka. 2016. Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostena* L.) secara *In vitro.* SKRIPSI. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

Oommen, S., D.K. ved dan R. Krishnan. 2000. *Tropical Indian Medicinal Plants-Propagation methods, Foundation for Revitalization of Local Health Tradition*. India: Bangalore.

Ozkan, M. 2008. Glandular and eglandular hairs of *Salvia recognita* Fisch. & Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*. 37: 93–95.

Pardal, S.J. 2003. Perkembangan penelitian regenerasi dan transformasi pada tanaman kedelai. *Bul. Agrobio*. 5(2):37-44.

Pardal, S.J. 2003. Perkembangan Penelitian Regenerasi dan Transformasi pada Tanaman Kedelai. *Buletin Agrobio.* 5(2):37-44.

Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publisher.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Poonsapaya, P.M.W, Nabors, W. Kersi, and M. Vajrabhaya. l989. A comparison of methods for callus culture and plant regeneration of RD-25 rice (*Oryza sativa* L.) in vitro laboratoris. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 16:175-186.

Prajapati, N.D., S.S. Purohit, A.K. Sharma dan T. Kumar. 2003. *A Handbook of Medicinal Plants - A Complete Source book*. Jodhpur: Agrobios, India.

Pullaiah T., dan Naidu K.C. 2003. *Antidiabetic plants in India and herbal based antidiabetic research.* New Delhi: Recency Publications.

Purnamaningsih, R. 2003. Regenerasi tanaman melalui embryogenesis somatic dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Bul. Agrobio*. 5(2):51-58.

Purnamaningsih, R. dan E.G. Lestari.1998. Multiplikasi tunas temu giring melalui kultur in vitro. *Buletin Plasma Nutfah*. 1(5):24-27.

Rifa'i, M.N. 2000. *Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4 Surah Ash-Shaaffat - An-Naas.* Jakarta: Gema Insani Press.

Roca, W.M., N.O. Espinoza, M.R. Roca, dan J.E. Bryan. 1978. Tissue Culture Methods for the Rapid Propagation of Potatoes. *Amer. Pot. J*. 55:691-701.

Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 4. Bandung: ITB.

Salvi, N.D., L. George dan S. Eapen. 2001. Plant regeneration from leaf callus of turmeric and random amplified polymorphic DNA analysis of regenerated plants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 66: 113-119.

Sari, N. I. 2010. *Studi Etnobotani Tumbuhan Herba oleh Masyarakat Karo di Kawasan Taman Nasional Gunung Leuser*. (Studi Kasus di Desa Telagah Kecamatan Sei Bingai Kabupaten Langkat). Skripsi. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.

Sastrahidayat, Ika Rohjatun. 2016. *Penyakit pada Tumbuhan Obat-Obatan, Rempah-Bumbu, dan Stimula.* Malang: UB Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, and M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic and biotechnology efects of growth regulators on in vitro plant regeneration. *Crop Sci.* 44:1839-1846.

Shihab, M.Q. 1996. *Wawasan Al-Qur'an Tafsir Maudhu'i atas pelbagai Persoalan Umat*. Bandung : Mizan.

Silva, Jaime A. Teixeira, Mafatlal M. Kher dan M. Nataraj. 2016. Biotechnological advances inVitex species and future perspectives. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 4: 335–348.

Siwabessy. R. 2009. *Tinjauan Tentang Persepsi Masyarakat Mengenai Cara Pemanfaatan Dan Pengolahan Tanaman Obat Sebagai Obat-Obatan Alternatif* . Skripsi. Ambon: UNPATTI.

Skoog F, and Murashige T. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol.Plant*. 15: 473-479.

Soetan, K. O., Olaiya C. O. dan Oyewole, O. E. 2010. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science*. 4: 200–222.

Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, dan S., Donatus, I.A. 2002. *Tumbuhan Obat II Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, Cetakan I.* Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.

Suyanti, Mukarlina, dan Rizalinda. 2013. Respon Pertumbuhan Stek Pucuk Keji Beling (*Strobilanthes crispus* BI) dengan Pemberian IBA (*Indole Butyric Acid). Jurnal Protobiont*. 2 (2): 26-31.

Thorpe, T.A. 1981. *Plant Tissue Culture, Methods and Application in Agriculture*. New York : Academic Press Inc: 45-113.

Trigiano, R.N. dan D.J. Gray. 2005. *A brief introduction to plant anatomy.* In: Trigiano, R.N. & D.J. Gray (eds.) *Plant development and biotechnology*. New York: CRC Press. 87–99.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ulung, Gagas dan Pusat Studi Biofarma LPPM IPB. 2016. *Sehat Alami dangan Herbal, 250 Tanaman Herbal Berkhasiat Obat dan 60 Resep Menu Kesehatan.* Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Vadawale, A. V., Barve D.M. dan A.M. Dave. 2006. *In vitro* Flowering and Rapid Propagation of *Vitex negundo* L. – A Medical Plant. *Indian Journal of Biotechnology*. 5:112-116.

Varier, P.S. 2003. *Indian medicinal plants*. India: Orient Longman Hyderabad.

Wattimena, G.A. 1992. *Bioteknologi tanaman*. Bogor: IPB.

Widyastuti, N. dan D. Tjokrokusumo. 2006. Peranan Beberapa Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Tanaman pada Kultur In Vitro. *Jurnal Saint dan Teknologi BPPT*. 3(5).

Wijayanti, K.A. 2007. *Nutrisi Tanaman Sebagai Penentu Kualitas Hasil dan Resistensi Alami Tanaman*. Prestasi Pustaka Publisher.

Winata, L. l987. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: PAU.

Woradulayapinij, W., Soonthornchareonnon N. dan Wiwat C. 2005. In vitro HIV type 1 reverse transcriptase inhibitory activities of Thai medicinal plants and *Canna indica* L. rhizomes. *J. Ethnopharmacol*. Vol. 101(1–3):84–89.

Yuniastuti, E., Praswanto dan I. Harminingsih. 2010. Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden) pada beberapa Media Dasar secara *In Vitro*. *Caraka Tani*. 25 (1).

Yusnita, 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman *Secara In vitro*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Zulkarnain. 2014. *Kultur Jaringan Tanaman.* Jakarta: Bumi Aksara.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

Lampiran 2. Tabel Komposisi Media Dasar

Komponen	Jenis Media		
	MS	DKW	WV5
Unsur Makro (mg/L)			
Amonium nitrat	1650,000	1416,00	700,000
Kalsium nitrat	-	1367,47	-
Kalsium klorida	332,200	149,00	341,920
Magnesium sulfat	180,690	361,38	903,790
Potassium nitrat	1900,000	-	1084,060
Potassium sulfat	-	1559,00	-
Potassium fosfat monobasic	170,000	265,00	270,000
Potassium klorida	-	-	718,670
Unsur Mikro (mg/L)			
Asam borat	6,200	4,80	31,000
Kobalt klorida hexahidrat	0,025	-	0,025

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cupri sulfat pentahidrat	0,025	33,80	0,250
Garam EDTA disodium dihidrat	37,300	45,40	37,300
Besi (II) sulfat heptahidrat	27,800	0,25	-
Mangan sulfat monohidrat	16,900	33,50	15,160
Asam molibdat (garam sodium)	0,213	0,39	0,213
Zinc nitrat hexahidrat	-	17,00	-
Zinc sulfat heptahidrat	-	-	8,600
Myo-Inositol	100,000	100,00	100,000
Tiamin hidroklorida	0,100	2,00	0,400
Asam nikotin	0,500	1,00	-
Glisin	2,000	2,00	-
Pirodixin	0,500	-	-

Lampiran 3. Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh

Larutan stok NAA dibuat 0,025 mg dalam 100 ml aquades. Sedangkan larutan stok BAP dibuat 1 mg dalam 1000 ml aquades dengan perhitungan:

a) Larutan stok NAA 25 mg = $\frac{25\ mg}{1000\ ml} = \frac{0{,}025\ mg}{100\ ml}$

b) Larutan stok BAP 1 mg = $\frac{10\ mg}{1000\ ml} = \frac{1\ mg}{100\ ml}$

Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

a) Perlakuan Pemberian NAA

Konsentrasi 0,05 mg/l (0,27 µM)

M1 x V1 = M2 x V2

25 mg x V1 = 0,05 mg x 1600 ml

$V1 = \frac{0{,}05\ mg\ x\ 1600}{25\ ml}$

V1 = 3,2 ml

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

b) Perlakuan Pemberian BAP

1. Konsentrasi 0,5 ppm (2,2 µM)

   M1 x V1 = M2 x V2

   1000 mg x V1 = 0,5 mg x 400 ml

   $$V1 = \frac{0{,}5\ mg\ x\ 400\ ml}{1000\ mg}$$

   V1 = 0,2 ml

2. Konsentrasi 1 ppm (4,4 µM)

   M1 x V1 = M2 x V2

   1000 mg x V1 = 1 mg x 400 ml

   $$V1 = \frac{1\ mg\ x\ 400\ ml}{1000\ mg}$$

   V1 = 0,4 ml

3. Konsentrasi 1,5 ppm (6,6 µM)

   M1 x V1 = M2 x V2

   1000 mg x V1 = 1,5 mg x 400 ml

   $$V1 = \frac{1{,}5\ mg\ x\ 400\ ml}{1000\ mg}$$

   V1 = 0,6 ml

Lampiran 5. Tabel Hasil Pengamatan

a. Jumlah Tunas

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	0,5	0	0,5	1	0,333
	M1B2	0	1	1	2	0,667
	M1B3	0	1	1	2	0,667
	M1B4	1	1,5	1,5	4	1,333
Media DKW+BAP	M2B1	1,5	1	0,5	3	1,000
	M2B2	3	1,5	1	5,5	1,833
	M2B3	1	1,5	1	3,5	1,167
	M2B4	2	0	1	3	1,000
Media WV5+BAP	M3B1	1	0,5	1,5	3	1,000
	M3B2	0	1	2,5	3,5	1,167
	M3B3	0,5	3	2	5,5	1,833

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	M3B4	5	3	2,5	10,5	3,500
Total		15,5	15	16	46,5	15,500

b. Tinggi Tunas

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	0,95	1,15	0,95	3,05	1,017
	M1B2	0,95	1,15	1,5	3,6	1,200
	M1B3	1,85	2,35	1,3	5,5	1,833
	M1B4	1,5	2,7	1,2	5,4	1,800
Media DKW+BAP	M2B1	1,8	1	1,35	4,15	1,383
	M2B2	2,8	2,25	1,4	6,45	2,150
	M2B3	2,3	1,7	1,4	5,4	1,800
	M2B4	1,3	2,5	1,45	5,25	1,750
Media WV5+BAP	M3B1	2,85	1,25	2,35	6,45	2,150
	M3B2	0,8	1,75	1,4	3,95	1,317
	M3B3	2,45	1,85	2,7	7	2,333
	M3B4	2,7	2,5	2,5	7,7	2,567
Total		22,25	22,15	19,5	63,9	21,300

c. Jumlah Daun

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	2	3,5	3,5	9	3,000
	M1B2	8	4	5	17	5,667
	M1B3	5,5	4	8	17,5	5,833
	M1B4	11	4,5	2	17,5	5,833
Media DKW+BAP	M2B1	3	4,5	5	12,5	4,167
	M2B2	13,5	7,5	9,5	30,5	10,167
	M2B3	7	7	6	20	6,667
	M2B4	7,5	11,5	3	22	7,333
Media WV5+BAP	M3B1	10,5	5,5	2,5	18,5	6,167
	M3B2	2	9,5	8,5	20	6,667
	M3B3	7	3,5	4	14,5	4,833
	M3B4	10	11	12,5	33,5	11,167
Total		87	76	69,5	232,5	77,500

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

d. Berat Basah

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	0,01	0,02	0,01	0,04	0,013333
	M1B2	0,03	0,015	0,015	0,06	0,02
	M1B3	0,03	0,025	0,03	0,085	0,028333
	M1B4	0,065	0,03	0,02	0,115	0,038333
Media DKW+BAP	M2B1	0,04	0,03	0,02	0,09	0,03
	M2B2	0,06	0,03	0,03	0,12	0,04
	M2B3	0,025	0,025	0,02	0,07	0,023333
	M2B4	0,055	0,05	0,015	0,12	0,04
Media WV5+BAP	M3B1	0,105	0,075	0,035	0,215	0,071667
	M3B2	0,02	0,04	0,045	0,105	0,035
	M3B3	0,01	0,045	0,015	0,07	0,023333
	M3B4	0,095	0,08	0,08	0,255	0,085
Total		0,545	0,465	0,335	1,345	0,448333

e. Persentase Tumbuh Tunas

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata (%)
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	50	50	50	150	50,00
	M1B2	100	100	100	300	100,00
	M1B3	100	100	100	300	100,00
	M1B4	100	100	100	300	100,00
Media DKW+BAP	M2B1	100	100	100	300	100,00
	M2B2	100	100	100	300	100,00
	M2B3	100	100	100	300	100,00
	M2B4	100	100	100	300	100,00
Media WV5+BAP	M3B1	100	100	100	300	100,00
	M3B2	50	100	50	200	66,67
	M3B3	100	50	100	250	83,33
	M3B4	100	100	100	300	100,00

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Total	1100	1100	1100	3300	1100,00

f. Hari Muncul Tunas

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	6	6	7	19	6,33
	M1B2	6,5	7,5	7	21	7,00
	M1B3	9,5	8	7	24,5	8,17
	M1B4	6,5	7	7,5	21	7,00
Media DKW+BAP	M2B1	8	7,5	8	23,5	7,83
	M2B2	7	7	6,5	20,5	6,83
	M2B3	7	7	6,5	20,5	6,83
	M2B4	6,5	7	7,5	21	7,00
Media WV5+BAP	M3B1	6	6,5	8,5	21	7,00
	M3B2	7	6	8	21	7,00
	M3B3	6,5	6	6,5	19	6,33
	M3B4	5	5,5	5	15,5	5,17
Total		81,5	81	85	247,5	82,50

g. Hari Muncul Daun

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	14	16	10	40	13,33
	M1B2	11,5	11,5	12,5	35,5	11,83
	M1B3	12,5	11	9	32,5	10,83
	M1B4	9	9	16	34	11,33
Media DKW+BAP	M2B1	12	11,5	11	34,5	11,50
	M2B2	9	9	8	26	8,67
	M2B3	9	12	9	30	10,00
	M2B4	14	10	12	36	12,00
Media WV5+BAP	M3B1	9,5	9	11	29,5	9,83
	M3B2	10	8	10	28	9,33

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	M3B3	9	9	9,5	27,5	9,17
	M3B4	8	7	6	21	7,00
Total		127,5	123	124	374,5	124,83

h. Hari Daun Terbuka Sempurna

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Media MS+BAP	M1B1	20	20	18	58	19,33
	M1B2	17	18,5	18,5	54	18,00
	M1B3	16	15,5	14	45,5	15,17
	M1B4	12,5	14	19	45,5	15,17
Media DKW+BAP	M2B1	17	16	15,5	48,5	16,17
	M2B2	14,5	14	13,5	42	14,00
	M2B3	12,5	15,5	12,5	40,5	13,50
	M2B4	17	13,5	15	45,5	15,17
Media WV5+BAP	M3B1	14	13,5	15,5	43	14,33
	M3B2	16	12	13	41	13,67
	M3B3	16	13	13	42	14,00
	M3B4	10	10,5	8,5	29	9,67
Total		182,5	176	176	534,5	178,17

Lampiran 6. Hasil Analisis Varian (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5%

1. Hasil Analisis Varian (ANAVA) dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Jumlah Tunas Legundi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:jumlahtunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23.722[a]	11	2.157	3.235	.008
Intercept	58.778	1	58.778	88.167	.000
jenismedia	7.056	2	3.528	5.292	.012
bap	5.611	3	1.870	2.806	.061
jenismedia * bap	11.056	6	1.843	2.764	.035
Error	16.000	24	.667		

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Total	98.500	36			
Corrected Total	39.722	35			

a. R Squared = ,597 (Adjusted R Squared = ,413)

jumlahtunas

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
MS	12	.7500	
DKW	12	1.2500	1.2500
WV5	12		1.8333
Sig.		.147	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,667.

jumlahtunas

Duncan

kombinasi	N	Subset 1	Subset 2
M1B1	3	.3333	
M1B2	3	.6667	
M1B3	3	.6667	
M2B4	3	.6667	
M3B1	3	.8333	
M2B1	3	1.0000	
M3B2	3	1.1667	
M1B4	3	1.3333	
M2B3	3	1.5000	
M2B2	3	1.8333	
M3B3	3	1.8333	
M3B4	3		3.5000
Sig.		.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,667.

2. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Tinggi tunas

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:tinggitunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.321[a]	11	.575	1.948	.083
Intercept	109.900	1	109.900	372.631	.000
jenismedia	1.798	2	.899	3.048	.066
bap	1.555	3	.518	1.757	.182
jenismedia * bap	2.969	6	.495	1.678	.170
Error	7.078	24	.295		
Total	123.300	36			
Corrected Total	13.400	35			

a. R Squared = ,472 (Adjusted R Squared = ,230)

Tinggitunas

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
MS	12	1.4625	
DKW	12	1.7708	1.7708
WV5	12		2.0083
Sig.		.177	.295

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,295.

3. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Jumlah Daun

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:jumlahdaun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	174.354[a]	11	15.850	1.947	.083
Intercept	1501.563	1	1501.563	184.492	.000
jenismedia	34.125	2	17.063	2.096	.145
bap	75.021	3	25.007	3.073	.047
jenismedia * bap	65.208	6	10.868	1.335	.280
Error	195.333	24	8.139		
Total	1871.250	36			

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:jumlahdaun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	174.354[a]	11	15.850	1.947	.083
Intercept	1501.563	1	1501.563	184.492	.000
jenismedia	34.125	2	17.063	2.096	.145
bap	75.021	3	25.007	3.073	.047
jenismedia * bap	65.208	6	10.868	1.335	.280
Error	195.333	24	8.139		
Total	1871.250	36			
Corrected Total	369.687	35			

a. R Squared = ,472 (Adjusted R Squared = ,229)

jumlahdaun

Duncan

bap	N	Subset 1	Subset 2
0	9	4.4444	
4,4	9	5.7778	5.7778
2,2	9		7.5000
6,6	9		8.1111
Sig.		.331	.113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 8,139.

4. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Persentase Tumbuh Tunas

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:persentasetumbuh

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.917[a]	11	.083	6.000	.000
Intercept	30.250	1	30.250	2.178E3	.000
jenismedia	.125	2	.062	4.500	.022
bap	.139	3	.046	3.333	.036
jenismedia * bap	.653	6	.109	7.833	.000
Error	.333	24	.014		

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Total	31.500	36			
Corrected Total	1.250	35			

a. R Squared = ,733 (Adjusted R Squared = ,611)

persentasetumbuh

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
MS	12	.8750	
WV5	12	.8750	
DKW	12		1.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,014.

persentasetumbuh

Duncan

bap	N	Subset 1	Subset 2
0	9	.8333	
2,2	9	.8889	.8889
4,4	9	.9444	.9444
6,6	9		1.0000
Sig.		.069	.069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,014.

persentasetumbuh

Duncan

kombinasi	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

M1B1	3	.5000		
M3B2	3	.6667	.6667	
M3B3	3		.8333	.8333
M1B2	3			1.0000
M1B3	3			1.0000
M1B4	3			1.0000
M2B1	3			1.0000
M2B2	3			1.0000
M2B3	3			1.0000
M2B4	3			1.0000
M3B1	3			1.0000
M3B4	3			1.0000
Sig.		.096	.096	.150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,014.

5. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Berat Basah

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:beratbasah

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.015[a]	11	.001	4.692	.001
Intercept	.050	1	.050	177.355	.000
jenismedia	.005	2	.003	9.267	.001
bap	.004	3	.001	5.061	.007
jenismedia * bap	.005	6	.001	2.983	.025
Error	.007	24	.000		
Total	.072	36			
Corrected Total	.021	35			

a. R Squared = ,683 (Adjusted R Squared = ,537)

Beratbasah

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
MS	12	.0250	
DKW	12	.0333	
WV5	12		.0538

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sig.		.237	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,000.

Beratbasah

Duncan

bap	N	Subset 1	Subset 2
4,4	9	.0250	
2,2	9	.0317	
0	9	.0383	.0383
6,6	9		.0544
Sig.		.124	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,000.

Beratbasah

Duncan

kombinasi	N	Subset 1	Subset 2
M1B1	3	.0133	
M1B2	3	.0200	
M2B3	3	.0233	
M3B3	3	.0233	
M1B3	3	.0283	
M2B1	3	.0300	
M3B2	3	.0350	
M1B4	3	.0383	
M2B2	3	.0400	
M2B4	3	.0400	
M3B1	3		.0717
M3B4	3		.0850
Sig.		.108	.342

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Beratbasah

Duncan

kombinasi	N	Subset 1	Subset 2
M1B1	3	.0133	
M1B2	3	.0200	
M2B3	3	.0233	
M3B3	3	.0233	
M1B3	3	.0283	
M2B1	3	.0300	
M3B2	3	.0350	
M1B4	3	.0383	
M2B2	3	.0400	
M2B4	3	.0400	
M3B1	3		.0717
M3B4	3		.0850
Sig.		.108	.342

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,000.

6. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Hari Muncul Tunas

7. **Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:harimuncultunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18.521[a]	11	1.684	3.464	.005
Intercept	1701.562	1	1701.562	3.500E3	.000
jenismedia	4.500	2	2.250	4.629	.020
Bap	2.965	3	.988	2.033	.136
jenismedia * bap	11.056	6	1.843	3.790	.008
Error	11.667	24	.486		
Total	1731.750	36			
Corrected Total	30.188	35			

a. R Squared = ,614 (Adjusted R Squared = ,436)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

harimuncultunas

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
WV5	12	6.3750	
MS	12		7.1250
DKW	12		7.1250
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,486.

Harimuncultunas

Duncan

Kombinasi	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
M3B4	3	5.1667		
M1B1	3	6.3333	6.3333	
M3B3	3	6.3333	6.3333	
M2B2	3		6.8333	6.8333
M2B3	3		6.8333	6.8333
M1B2	3		7.0000	7.0000
M1B4	3		7.0000	7.0000
M2B4	3		7.0000	7.0000
M3B1	3		7.0000	7.0000
M3B2	3		7.0000	7.0000
M2B1	3			7.8333
M1B3	3			8.1667
Sig.		.063	.322	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,486.

7. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Hari Muncul Daun

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:harimunculdaun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Corrected Model	99.576[a]	11	9.052	2.704	.020
Intercept	3895.840	1	3895.840	1.164E3	.000
jenismedia	54.347	2	27.174	8.118	.002
Bap	16.076	3	5.359	1.601	.215
jenismedia * bap	29.153	6	4.859	1.452	.237
Error	80.333	24	3.347		
Total	4075.750	36			
Corrected Total	179.910	35			

a. R Squared = ,553 (Adjusted R Squared = ,349)

harimunculdaun

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	Subset 2
WV5	12	8.8333	
DKW	12		10.5417
MS	12		11.8333
Sig.		1.000	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 3,347.

8. Hasil ANAVA dan Uji Lanjut DMRT 5% pada Hari Daun Terbuka Sempurna

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:haridaunterbukasempurna

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	186.472[a]	11	16.952	6.424	.000
Intercept	7950.694	1	7950.694	3.013E3	.000
jenismedia	94.431	2	47.215	17.892	.000
Bap	51.917	3	17.306	6.558	.002
jenismedia * bap	40.125	6	6.687	2.534	.048
Error	63.333	24	2.639		
Total	8200.500	36			
Corrected Total	249.806	35			

a. R Squared = ,746 (Adjusted R Squared = ,630)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

haridaunterbukasempurna

Duncan

jenismedia	N	Subset 1	2	3
WV5	12	12.9583		
DKW	12		14.7083	
MS	12			16.9167
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 2,639.

haridaunterbukasempurna

Duncan

bap	N	Subset 1	2	3
6,6	9	13.3889		
4,4	9	14.2222	14.2222	
2,2	9		15.2222	15.2222
0	9			16.6111
Sig.		.287	.204	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 2,639.

haridaunterbukasempurna

Duncan

kombinasi	N	Subset 1	2	3	4
M3B4	3	9.8333			
M2B3	3		13.5000		
M3B2	3		13.6667		
M2B2	3		14.0000		
M3B3	3		14.0000		
M3B1	3		14.3333		
M1B3	3		15.1667	15.1667	
M1B4	3		15.1667	15.1667	
M2B4	3		15.1667	15.1667	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

M2B1	3		16.1667	16.1667	
M1B2	3			18.0000	18.0000
M1B1	3				19.3333
Sig.		1.000	.095	.066	.325

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 2,639.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Umi Sa'adah
NIM : 14620038
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ ~~Genap~~ TA. 2018/2019
Pembimbing : Suyono, M.P
Judul Skripsi : Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6- *Benzyl Amino Purine* (BAP) secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	2 Januari 2018	Konsultasi Judul dan Latar Belakang	1.
2.	4 Januari 2018	Konsultasi BAB I	2.
3.	4 April 2018	Konsultasi BAB I dan BAB II	3.
4.	6 April 2018	Revisi BAB I dan BAB II	4.
5.	10 April 2018	Konsultasi BAB I, BAB II dan BAB III	5.
6.	14 Mei 2018	Revisi BAB I, BAB II	6.
7.	20 Mei 2018	Revisi BAB III	7.
8.	16 Agustus 2018	Konsultasi Data Hasil Pengamatan	8.
9.	20 Agustus 2018	Konsultasi Analisis Data	9.
10.	28 September 2018	Konsultasi Analisis Data	10.
11.	5 November 2018	Konsultasi BAB IV, V	11.
12.	20 Desember 2018	ACC BAB I-V	12.
13.			13.
14.			14.
15.			15.
16.			16.

Malang, 20 Desember 2018

Pembimbing Skripsi,

Suyono, M.P
NIP.19751006 200312 1 001

Ketua Jurusan,

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Umi Sa'adah
NIM : 14620038
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ ~~Genap~~ TA 2018/2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I
Judul Skripsi : Multiplikasi Tunas Lateral Legundi (*Vitex trifolia* Linn) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6- *Benzyl Amino Purine* (BAP). secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	4 Januari 2018	Konsultasi Integrasi BAB I	1.
2.	10 April 2018	Konsultasi Integrasi BAB II, III	2.
3.	5 Agustus 2018	Revisi Inetgrasi BAB I,II,III	3.
4.	5 November 2018	Konsultasi Integrasi BAB IV	4.
5.	20 Desember 2018	ACC BAB I-IV	5.

Malang, 20 Desember 2018

Pembimbing Skripsi,

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

Ketua Jurusan,

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG