

**PENGARUH JENIS ANTIBIOTIK *PLANT PRESERVATIVE MIXTURE*
DAN PROPOLIS PADA BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP
PERTUMBUHAN TUNAS TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

KAMILIA NAFIATUL FAIZAH

NIM. 13620067



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM**

MALANG

2019

**PENGARUH JENIS ANTIBIOTIK *PLANT PRESERVATIVE MIXTURE*
DAN PROPOLIS PADA BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP
PERTUMBUHAN TUNAS TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

KAMILIA NAFIATUL FAIZAH

NIM. 13620067

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)

MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH JENIS ANTIBIOTIK *PLANT PRESERVATIVE MIXTURE* DAN PROPOLIS
PADA BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN SIRSAK
(*Annona muricata* L.) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

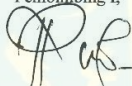
Oleh:

KAMILIA NAFIATUL FAIZAH

NIM. 13620067

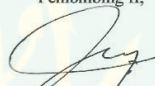
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 10 Agustus 2018

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



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

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Romaedi, M.Si., D.Sc
NIP. 19410201 200901 1 019

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH JENIS ANTIBIOTIK *PLANT PRESERVATIVE MIXTURE*
DAN PROPOLIS PADA BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP
PERTUMBUHAN TUNAS TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

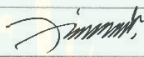
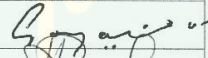
Oleh:

KAMILIA NAFIATUL FAIZAH

NIM. 13620067

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

Tanggal: 21 Desember 2018

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



Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi

Romaidi M.Si, D.Sc

NIP. 198110201 200901 1 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Kamilia Nafiatul Faizah

NIM : 13620067

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Jenis Antibiotik *Plant Preservative Mixture* dan Propolis pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*

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

Malang, Desember 2018

Yang membuat pernyataan,



Kamilia Nafiatul Faizah

NIM. 13620067

MOTTO

< Ikhtiyyar, Tawakkal, Bersyukur >

“Manusia hanya bisa merencanakan, Allah SWT
yang berhak menentukan”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Robbil 'Alamin. Rasa syukur yang sebesar-besarnya saya ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya sehingga saya dapat menimba sedikit dari ilmu-Nya. Sholawat serta salam semoga tetap terlimpahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW.

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua, Ayah,, Ibuk,, Alhamdulillah putrimu ini sudah menyelesaikan salah satu tugasnya. Semoga bisa menyelesaikan salah satu amanah lagi,, Aamiin,, Aku selalu ingat ketika salah satu usahaku berhasil, berarti ada satu do'a orang tua yang dikabulkan oleh Allah SWT. Terima kasih saja tidak akan cukup untuk membalas semua yang telah Ayah dan Ibuk lakukan,, aku hanya bisa melakukan yang terbaik untuk membuat Ayah dan Ibuk bangga,, Ayah dan Ibuk adalah salah satu motivasiku untuk tetap semangat untuk menghadapi semua kesulitan.

Kakakku, Mas Nuha,, yang selalu memotivasi dan mendukung hingga akhir penyelesaian skripsi. Kedua adikku Salma dan Chalim,, yang selalu memberiku semangat,, Terima kasih sebanyak-banyaknya.

Kepada Bu Ruri Siti Resmisari dan Pak Mukhlis Fahrudin sebagai dosen pembimbing serta Bu Kholifah Kholil sebagai Dosen Wali yang selalu sabar memberikan bimbingan motivasi dan masukannya untuk menjadi lebih baik.

Terima kasih kepada sahabat-sahabat seperjuanganku di Biologi 13,, khususnya Muzdalifah, Yayang, Dian, Shaddiqah, Nadia, Sayyidah, Victy, Subriyah, Qonita, Ismi, Pipit, dan sahabat-sahabat KJT yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu yang telah memberi motivasi dan dukungannya dalam hal apapun.

Kepada Pengasuh Ponpes Khaira Ummah, Abah Alm. KH Noor Chozin Askandar, Umi Hj. Muti'ah, Gus Fuad, Gus Hirshi, Ning Aida, Ning Nuvis. Terima kasih karena telah diberikan kesempatan untuk menimba ilmu di pesantren. Tak lupa sahabat-sahabatku Farah, Imas, Caca, Nikmah, khususnya personil komplek D yang tidak bisa aku sebutkan satu per satu termasuk Babang Atheef dan Adek Tisya wkwk, terima kasih atas dukungannya dalam hal apapun. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya kepada kita semua. Aamiin.. Ya Robbal 'Aalamiin..

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah. Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas berkat dan hidayah-Nya akhirnya penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul “**Pengaruh Jenis Antibiotik Plant Preservative Mixture dan Propolis pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona Muricata* L.) Secara *In Vitro***” dan dapat terselesaikan dengan baik sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Sholawat serta salam tetap terlimpakan kepada junjungan kita Nabi Agung Muhammad SAW.

Penyusunan skripsi ini tentu mendapat dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih sekaligus do'a penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si, dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberi masukan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
5. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen wali yang senantiasa sabar memberikan bimbingan.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Imam Sodik dan Ibu Siti Fatimah, kakak Ulinnuha, serta adik Salma dan Chalim yang telah memberikan kasih sayang, do'a, motivasi, serta pengertiannya kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan Staff Administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

9. Teman-teman Biologi angkatan 2013 yang telah bekerjasama, memberikan motivasi dan bantuannya selama menempuh studi dan dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan motivasi, do'a, dan dukungan lainnya sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan yang telah dilakukan. Sebagai penutup, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri khususnya dan bagi para pembaca umumnya. *Aamiin Ya Robbal 'Aalamiin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
الخلاصة	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	8

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	10
2.1.1 Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dalam Perspektif Islam	10
2.1.3 Deskripsi Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	12
2.1.4 Kandungan dan Manfaat Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	14
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan	15
2.2.1 Kultur Jaringan Tumbuhan dalam Perspektif Islam	15
2.2.2 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan	17
2.2.3 Faktor yang Mempengaruhi Kultur Jaringan Tumbuhan	18
2.2.4 Kontaminasi	21
2.3 Antibiotik	24
2.3.1 Pengertian Antibiotik	24
2.3.2 PPM (<i>Plant Preservative Mixture</i>)	31

2.3.3 Propolis	33
----------------------	----

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	36
3.2 Rancangan Penelitian	36
3.3 Variabel Penelitian	37
3.4 Alat dan Bahan	37
3.5 Prosedur Kerja	37
3.5.1 Sterilisasi	37
3.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur	37
3.5.1.2 Sterilisasi Lingkungan Kerja	38
3.5.1.3 Sterilisasi Bahan Eksplan	38
3.5.2 Pembuatan Media	39
3.5.2.1 Pembuatan Media Murashige Skoog (MS) dengan Larutan BAP	39
3.5.2.2 Pembuatan Media Perlakuan	39
3.5.3 Penanaman Eksplan	40
3.5.4 Pemeliharaan Kultur	40
3.5.5 Pengamatan	41
3.6 Analisis Data	41
3.7 Desain Penelitian	43

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh PPM (<i>Plant Preservative Mixture</i>) terhadap Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak	44
4.2 Pengaruh Propolis terhadap Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak	49
4.3 Pengaruh Kombinasi Antibiotik (<i>Plant Preservative Mixture</i> dan Propolis) terhadap Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak	54
4.4 Analisa Nalar Spirial Islam	61

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68

DAFTAR PUSTAKA	70
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	77
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	13
Gambar 2.2 Contoh kontaminasi jamur	22
Gambar 2.3 Eksplan terkontaminasi bakteri	23
Gambar 2.4 Mekanisme kerja antibiotik pada bakteri	25
Gambar 2.5 Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif dan masuknya antibiotik melalui porin pada dinding bakteri Gram negatif	26
Gambar 3.1 Desain Penelitian	44
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L)	47
Gambar 4.2 Kurva Hari Muncul Tunas Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L)	48
Gambar 4.3 Kurva Kontaminasi Bakteri Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L)	48
Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Kombinasi PPM dan Propolis (ml/L)	51
Gambar 4.5 Kurva Browning Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Konsentrasi Propolis (ml/L)	53
Gambar 4.6 Kurva Hari Muncul Tunas Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) pada Konsentrasi Propolis (ml/L)	54

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis Antibiotik Berdasarkan Tempat Kerjanya	30
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan PPM dan Propolis	36
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Antibiotika PPM terhadap Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	44
Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Antibiotika PPM terhadap Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	49
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Antibiotika Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	50
Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Antibiotika Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	51
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Pemberian Kombinasi Antibiotika PPM dan Propolis terhadap Tingkat Keberhasilan Kultur <i>In Vitro</i> Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	55
Tabel 4.6 Gambar Hasil Penelitian	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Data Hasil Pengamatan 77

Lampiran 2 Hasil Analisis Variansi (ANAVA) 81

Lampiran 3 Bahan-bahan Penelitian 86

Lampiran 4 Alat-alat Penelitian 86

Lampiran 5 Foto Kegiatan 87



ABSTRAK

Faizah, Kamilia Nafiatul. 2018. **Pengaruh Jenis Antibiotik *Plant Preservative Mixture* dan Propolis pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci: *Plant Preservative Mixture*, Propolis, Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh *Plant Preservative Mixture* (PPM) dan Propolis serta kombinasinya terhadap tingkat kontaminasi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) secara *in vitro*. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 25 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu: konsentrasi PPM meliputi 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L dan 2 ml/L dan konsentrasi propolis meliputi 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L dan 2 ml/L. Data dianalisis dengan Uji ANAVA *Two Way* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5%. Hasil dari penelitian menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi PPM dan konsentrasi propolis terhadap variabel hari muncul tunas, persentase hidup, dan kontaminasi bakteri. Konsentrasi PPM 1 ml/L berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tunas tanaman sirsak yaitu 22 HST dan persentase hidup 48%. Konsentrasi propolis 0,5 ml/L juga berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tunas tanaman sirsak yaitu 23 HST dan persentase hidup 40%. Interaksi antibiotika PPM dan propolis tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat kontaminasi pertumbuhan tunas tanaman sirsak.

ABSTRACT

Faizah, Kamilia Nafiatul. 2018. **The Influence of the Type of Antibiotics Plant Preservative Mixture and Propolis at Different Concentrations against the Growth of the Shoots of the Plant Soursop (*Annona muricata* L.) in In Vitro.** Thesis. Department of Biology of the Faculty of Science and technology in the Islamic State University Maulana Malik Ibrahim was unfortunate. Supervisor: Ruri Siti Resmisari, M.Si and M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: Plant Preservative Mixture, Propolis, Growth of Shoots the Soursop Plant (*Annona muricata* L.)

The purpose of this research is to know the influence of Plant Preservative Mixture (PPM) and Propolis and combination against the level of contamination of the soursop plant (*Annona muricata* L.) in in vitro fertilization. This research is experimental, using a complete randomized design (RAL) with 25 treatments and five repetitions. The treatments in this study there are two factors which are: concentrations of PPM include 0 ml/L, 0.5 ml/L, 1 ml/L, 1.5 ml/L and 2 ml/L and concentrations of propolis include 0 ml/L, 0.5 ml/L, 1 ml/L, 1.5 ml and 2 ml/L/l. Data were analyzed with the test of ANAVA Two Way $\alpha = 5\%$. If there is a significant difference then resumed Duncan Multiple Range Test (DMRT) with a significant level of 5%. The result of the research shows that there is influence the concentrations of PPM and the concentration of propolis against to the variables day the emergence of shoots, percentage of living, and bacterial contamination. PPM's concentration of 1 ml/L gives the real against to the growth of shoots of the soursop plant on 22 HST and the percentage of living is 48%. Propolis's concentration of 0.5 ml/L also has real against to the growth of shoots of the soursop plant on 23 HST and the percentage of living 40%. Interaction of antibiotics propolis and PPM don't give the effect against contamination level of the growth of the shoots of the soursop plant.

الخلاصة

نافعة الفائزة, كاميليا. ٢٠١٨. تأثير أنواع المضادات الحيوية من خليط النباتات المحفوظة والدنج على تركيزات مختلفة في نمو نباتات قشطة شائكة (*Annona muricata* L.) بواسطة في المختبر. أطروحة. قسم علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المستشار: روري سيتي ريسميساري الماجستير ومحمد مخلص فخر الدين الماجستير.

كلمات الأساسية : خليط النبات الحافظة ، دنج ، نمو نبات قشطة شائكة (*Annona muricata* L.)

كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير خليط النباتات المحفوظة ودنج وتركيبه على مستوى تلوث نباتات قشطة شائكة (*Annona muricata* L.) في المختبر. كانت هذه الدراسة تجريبية ، باستخدام تصميم عشوائي بالكامل RAL مع ٢٥ علاج و ٥ مكررات. كانت العلاجات في هذه الدراسة عاملين: تركيزات خليط النبات الحافظة بما في ذلك ٠ مل / لتر ، ٠.٥ مل / لتر ، ١ مل / لتر ، ١.٥ مل / لتر و ٢ مل / لتر وتركيزات العكبر التي تغطي ٠ مل / لتر ، ٠.٥ مل / لتر ، ١ مل / لتر ، ١.٥ مل / لتر و ٢ مل / لتر. تم تحليل البيانات بواسطة اختبار *One way Anova* إذا كان هناك فرق معنوي فإن اختبار DMRT مع مستوى كبير من ٥٪ مستمر. وأظهرت نتائج الدراسة ان هناك تأثير تركيز جزء في المليون وتركيز دنج ضد متغير اليوم ، والنسبة المئوية من برعم يبدو حيه ، والتلوث البكتيري. تركيز جزء في المليون من ١ مل/لتر تأثير حقيقي ضد براعم النمو النبات شائكة اي HST ٢٢ والنسبة المئوية من ٤٨٪ الحية. تركيزات دنج من ٠.٥ مل/لتر لديها أيضا حقيقية ضد نمو براعم النبات شائكة اي HST ٢٣ والنسبة المئوية ٤٠٪ الحياة. التفاعل من المضادات الحيوية خليط النبات الحافظة والدنج ليس له تأثير علي المستوي الحقيقي للتلوث براعم النمو النبات قشطه شائكه.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman yang telah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. Sirsak sudah lama dikenal masyarakat sebagai tumbuhan yang berbuah masam dan berkhasiat obat (Sunyoto, 2013). Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an Surah Asy-Syu'ara (26) ayat 7 yaitu sebagai berikut:

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

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

Surah Asy-Syu'ara ayat 7 di atas ditekankan pada kalimat (زَوْجٍ كَرِيمٍ) “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, selain dapat dimanfaatkan untuk makanan sehari-hari, di dalamnya juga terkandung zat yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit sehingga mendatangkan suatu kebaikan. Dalam kitab Tafsir al-Qurtubi pada kalimat (زَوْجٍ) “warna” (كَرِيمٍ) “baik dan mulia”. Penafsiran menurut Ibnu Abbas pada kalimat (زَوْجٍ) “warna” (كَرِيمٍ) “baik dalam penglihatannya”. Dalam hal ini salah satu tumbuhan yang baik karena memiliki banyak khasiat dan manfaat adalah sirsak.

Secara tradisional, sirsak digunakan sebagai antikanker, analgesik, dan sifat antispasmodic (Junqueira et al., 1999). Survei etnobotani yang dilakukan oleh Va'squez et al. (2014) di lingkungan masyarakat, penggunaan daun dan kulit

batang *A. muricata* dibuat teh untuk pengobatan masalah gastrointestinal antara lain: masalah pencernaan dan gastritis. Penelitian telah menunjukkan bahwa graviola atau sirsak memiliki efek gastroprotektif (Parmar dan Parmar, 1998) dan telah digunakan sebagai terapi karena sifat anti-inflamasi, antijamur, antioksidan, dan bersifat menyembuhkan (Zuanazzi dan Montanha, 2004) karena mengandung sejumlah besar senyawa termasuk tanin dan flavonoid (Reis, 2011; Lima, 2007; Luna et al., 2006).

Kebutuhan akan tanaman obat seperti sirsak menjadikan tanaman ini sebagai salah satu tanaman yang paling dicari terutama bagi keperluan industri jamu maupun farmasi. Tanaman sirsak dapat berbuah sepanjang tahun sehingga dapat dikembangkan dalam rangka pengembangan agroindustri dan agribisnis (Fredika, 2002). Tetapi meskipun tanaman sirsak memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan secara komersial, masih terdapat kendala utama yang dihadapi yaitu kurang tersedianya bibit tanaman berkualitas dalam jumlah yang banyak. Bibit yang berkualitas merupakan salah satu komponen produksi paling utama dalam proses budidaya tanaman (Sudjijo, 2011).

Perbanyakan tanaman sirsak secara konvensional masih ditemukan banyak kendala, cara yang dilakukan selama ini menggunakan biji, stek dan cangkok. Perbanyakan dengan biji tidak memerlukan keahlian khusus, tetapi perlu keterampilan dalam melakukan persemaian (Suratman, 2013). Menurut Sukarmin (2010) bahwa perbanyakan dengan biji biasanya memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perbanyakan vegetatif lainnya. Meskipun cara ini dianggap paling menghemat biaya produksi, tetapi untuk perkebunan komersial yang bibitnya berasal dari biji hasilnya cenderung tidak memuaskan

karena tingkat heterozigositasnya yang tinggi. Cara ini juga tidak dianjurkan karena karakteristik buahnya yang sering menyimpang dari induknya (Sukarmin, 2009).

Hal tersebut disebabkan adanya keragaman sifat yang dipengaruhi oleh mutasi gen dari pohon induknya. Dengan demikian perbanyakan dengan biji akan menghasilkan tanaman yang tidak seragam karena merupakan hasil penyerbukan silang. Selain itu biji sirsak juga memiliki struktur permukaan kulit yang keras dan tebal sehingga permeabilitasnya rendah. Sehingga masa dormansi biji sirsak cukup lama yaitu antara 1-3 bulan (Baddrie dan Schauss, 2009). Tanaman sirsak juga dapat diperbanyak secara vegetatif melalui pencangkakan, akan tetapi teknik ini memiliki kendala dalam hal biaya dan waktu (Bridg, 2000).

Melalui kultur *in vitro* maka dapat diperoleh bibit dalam jumlah besar, dapat diperbanyak secara berkelanjutan, serta lebih efisien tempat dan waktu. Selain itu, teknik kultur *in vitro* mampu menghasilkan bibit yang bermutu, seragam, sifatnya identik dengan induknya, masa non produktif lebih singkat dan produksinya lebih tinggi (Yunus, 2010). Dibandingkan dengan produksi tanaman utuh, budidaya melalui kultur *in vitro* merupakan pilihan yang mempunyai harapan untuk produksi metabolit sekunder acetogenins tanaman sirsak (Kurv dan Costabel, 1991).

Kegiatan kultur *in vitro* dilakukan di lingkungan yang steril dan menggunakan bahan-bahan yang steril pula. Namun, dalam kegiatan kultur *in vitro* sendiri juga terdapat permasalahan yang sangat umum terjadi dan harus ditemukan solusinya dengan baik dan tepat. Adapun permasalahan tersebut yaitu kontaminasi. Adanya kontaminasi ini akan sangat mengganggu jalannya kegiatan

kultur *in vitro* karena dapat menurunkan tingkat keberhasilan secara drastis. Kontaminasi dapat berasal dari kontaminan eksternal maupun internal.

Mencegah dan menghindari kontaminasi dapat dilakukan melalui sterilisasi. Salah satu tahap yang perlu mendapat perhatian lebih karena sering terkait dengan masalah kontaminasi yaitu inisiasi. Proses sterilisasi bahan eksplan merupakan salah satu kegiatan penting dalam kultur jaringan. Kegiatan sterilisasi eksplan bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan, yang dapat menimbulkan kontaminasi sehingga menghambat pertumbuhan eksplan menjadi tanaman utuh (Suratman, 2013).

Eksplan sendiri juga dapat memberi andil yang cukup besar sebagai penyebab terjadinya kontaminasi. Sirsak merupakan tumbuhan berkayu yang mengeluarkan banyak getah. Probawati (2011) menyatakan bahwa tanaman yang cenderung bergetah juga memiliki tingkat kontaminasi lebih tinggi dari pada yang tidak memiliki getah. Hal ini dikarenakan getah yang masih keluar meskipun dilakukan sterilisasi, sehingga dapat menimbulkan kontaminasi pada eksplan ketika sudah ditanam. Handoyowati (2016) juga menambahkan bahwa setiap bahan tanaman mempunyai tingkat kontaminasi yang berbeda, salah satunya yaitu morfologi tumbuhan seperti tumbuhan berbulu, bersisik, berduri, dan lain-lain. Oleh karena itu, salah satu upaya sterilisasi internal untuk mengatasi tanaman yang mengalami kesulitan dalam sterilisasi eksternal adalah dengan pemberian antibiotika pada media kultur. Menurut Bezoen (2001) bahwa antibiotika dapat berfungsi untuk membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain.

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Probowati (2011) mengenai antibiotika pada kultur jaringan tanaman Pulai (*Alstonia scholaris* L.), diketahui bahwa PPM (*Plant Preservative Mixture*) dan Propolis merupakan antibiotika yang tepat untuk mengatasi masalah kontaminasi pada kultur jaringan tumbuhan. Propolis merupakan suatu senyawa resin yang diekskresikan oleh lebah madu yang digunakan untuk melapisi dan merekatkan sarangnya (Suranto, 2010). Kemampuan antimikroba propolis ditentukan oleh flavonoid, pinocembrin, galangin dan pinobanksin (Castaldo, 2002). Propolis adalah antibiotika berspektrum luas yang efektif dalam melawan berbagai macam bakteri Gram positif dan Gram negatif (Burdock, 1998). Sehingga selain digunakan sebagai obat herbal dalam bidang kesehatan juga dapat digunakan sebagai bahan untuk sterilisasi dalam kultur jaringan tumbuhan. Meskipun hanya efektif jika ditambahkan ke media kultur, bukan sebagai bahan sterilisasi eksplan.

Menurut Syatria (2010) PPM memiliki spektrum luas yang efektif dalam mencegah kontaminasi jamur dan bakteri dalam kultur jaringan tumbuhan. Lebih lanjut menurut Fuller (2001) menyatakan bahwa PPM adalah antibiotika formula pabrik yang mengandung senyawa aktif seperti: *isothiazol*, *methyl chloroisothiazol*, dan *methylishiothiazol*. Target PPM adalah bakteri dan jamur pada media pertumbuhan kultur jaringan tanaman serta jaringan tumbuhan yang terkontaminasi (Plant Cell Technology, 2018). Bahan aktif biosida PPM dapat terserap oleh dinding sel bakteri atau cendawan dan menghambat aktivitas enzim dalam siklus metabolisme utama, seperti siklus asam sitrat dan rantai transport elektron. Biosida PPM juga dapat menghambat transport monosakarida dan asam amino dari media ke sel bakteri atau cendawan (Niedz, 1998).

Menurut Probowati (2011) bahwa dosis penggunaan PPM yang baik yakni 0,5 ml/liter media atau rekomendasi dari pabrik penggunaan PPM yang baik yaitu antara 1 sampai 2 ml/liter media. Sedangkan pada penelitiannya untuk tanaman Pulai digunakan media perlakuan antibiotika berupa PPM dan/atau propolis dengan konsentrasi sebesar 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L dan 2 ml/L. Dari masing-masing konsentrasi tersebut didapatkan 4 jenis kombinasi yang menghasilkan tingkat keberhasilan tumbuh tertinggi yaitu kombinasi PPM 0,5 ml/L dan propolis 0,5 ml/L (A1B1), kombinasi PPM 0,5 ml/L dan propolis 2 ml/L (A1B4), kombinasi PPM 1 ml/L dan propolis 0,5 ml/L (A2B1), serta kombinasi PPM dan propolis 1 ml/L (A2B2).

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan tersebut perlu dilakukan kombinasi antara PPM dan Propolis sehingga dapat terjadi interaksi karena cara kerja dua antibiotika yang saling melengkapi. Kemudian dapat diketahui tingkat konsentrasi yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman sirsak secara *in vitro*. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan konsentrasi antibiotika pada media perlakuan sebanyak 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, dan 1,5 ml/L. Berdasarkan hal tersebut di atas perlakuan pemberian antibiotika diharapkan mampu untuk menekan atau meminimalisir terjadinya kontaminasi sehingga diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro* tumbuhan sirsak.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang melatarbelakangi penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian jenis antibiotika *Plant Preservative Mixture* terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak?
2. Bagaimana pengaruh pemberian jenis antibiotika Propolis terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak?
3. Bagaimana pengaruh interaksi jenis antibiotika terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian jenis antibiotika *Plant Preservative Mixture* terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.
2. Mengetahui pengaruh pemberian jenis antibiotika Propolis terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.
3. Mengetahui pengaruh interaksi jenis antibiotika terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ada pengaruh pemberian jenis antibiotika *Plant Preservative Mixture* terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.

2. Ada pengaruh pemberian jenis antibiotika Propolis terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.
3. Ada pengaruh interaksi jenis antibiotika terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Secara akademis diharapkan mampu memberikan informasi dasar mengenai pemberian jenis antibiotik (*Plant Preservative Mixture* dan Propolis) dan kombinasi konsentrasi yang baik untuk meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro* sirsak (*Annona muricata* L.).
2. Bagi penulis sendiri diharapkan dapat intropeksi diri sebagai khalifah di bumi untuk mengatur kehidupan yang seimbang. Penelitian ini juga dapat digunakan sebagai upaya meningkatkan budidaya tanaman sirsak sehingga bermanfaat untuk industri farmasi.
3. Bagi masyarakat diharapkan dapat memahami pentingnya sirsak sebagai tanaman berkhasiat obat sehingga budidaya sirsak dapat dikembangkan.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Eksplan sirsak (*Annona muricata* L.) berasal dari Materia Medica Batu Malang.
2. Bagian tanaman sirsak yang digunakan sebagai eksplan adalah nodus batang pertama sampai ketiga dari pucuk apikal tanaman, dengan ukuran panjang $\pm$ 1,5 cm yang memiliki satu nodus.
3. Propolis yang digunakan merupakan produksi Pusat Perlebahan Kota Batu.

4. Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan yaitu BAP tunggal untuk pertumbuhan tunas (Najati, 2016).
5. Parameter yang diamati yaitu persentase eksplan yang hidup (tumbuh tunas), persentase eksplan yang mati (*browning* dan kontaminasi), dan persentase eksplan yang terkontaminasi (jamur dan bakteri).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.1.1 Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Perspektif Islam

Al-Qur'an memandang tumbuhan sebagai ciptaan yang bernilai tinggi. Tumbuhan dan bagiannya banyak disebutkan di dalamnya, baik dalam gambaran fisiknya maupun sebagai perumpamaan. Selain berfungsi sebagai makanan, tumbuhan juga menghasilkan produk sampingan yang disebutkan dalam Al-Qur'an mempunyai fungsi sebagai penawar penyakit (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, Badan Litbang, Diklat Kemenag RI dan LIPI, 2011). Dalam hal ini sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tumbuhan yang sudah berabad-abad digunakan sebagai penawar penyakit. Allah berfirman dalam QS An-Nahl/16: 69:

ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بَطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾

Artinya: “Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan.”

Demikian Allah memberi manusia berkah yang sangat besar melalui kehadiran tumbuhan. Mereka tercipta untuk manusia, baik sebagai sumber makanan maupun bahan obat. Allah berfirman dalam A-Qur'an Surah Al A'raf:7 ayat 58:

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

Artinya: “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya

tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur.”

Penafsiran dalam kitab tafsir *Ruh al-Bayan* dijelaskan pada setiap tumbuhan sudah terjamin terdapat faedah dan hikmahnya untuk membuktikan tanda-tanda atas kebesaran dan nikmat yang diberikan Allah kepada hamba-hambanya. Dalam hal ini adalah tumbuh-tumbuhan yang diciptakan memiliki manfaat dapat menyembuhkan berbagai penyakit yaitu diantaranya adalah tanaman sirsak. Rasulullah SAW bersabda:

مَا اللَّهُ دَاءٌ إِلَّا أَنْزَلَ أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: *Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan Dia turunkan pula obat untuk penyakit tersebut” (HR Bukhari).*

Salah satu nikmat dari Allah SWT ketika Allah SWT memberikan obat dari penyakit apa saja yang diderita oleh seorang hamba. Dari hadits di atas membuktikan bahwa betapa Maha Pengasih dan Maha Besar Allah telah memberikan obat atas segala macam penyakit. Jika disesuaikan dengan Firman Allah SWT di atas yaitu Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan di bumi ini untuk dimanfaatkan sebagai obat dari penyakit apa saja yang diderita seorang hamba. Firman Allah SWT dalam Surah Qaf/50: 9

وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُبْرَكًا فَأَنْبَتْنَا بِهِ جَنَّاتٍ وَحَبَّ الْحَصِيدِ ۝٩

Artinya: *“Dan Kami turunkan dari langit air yang banyak manfaatnya lalu Kami tumbuhkan dengan air itu pohon-pohon dan biji-biji tanaman yang diketam.”*

Tanaman sirsak ditanam oleh manusia agar dapat diambil manfaatnya oleh manusia dan hewan peliharaannya sendiri. Nabi Muhammad SAW bersabda dalam hadits riwayat Anas bin Malik:

مَا مِنْ مُسْلِمٍ يَغْرِسُ غَرْسًا أَوْ يَزْرَعُ زَرْعًا فَيَأْكُلُ مِنْهُ طَيْرٌ أَوْ إِنْسَانٌ أَوْ بَهِيمَةٌ إِلَّا كَانَ لَهُ بِهِ صَدَقَةٌ. [رواه البخاري و مسلم عن أنس]

Artinya: “*Tidaklah seorang muslim menanam suatu tanaman atau pohon, kemudian hasilnya dimakan oleh burung, manusia atau binatang, melainkan apa yang dilakukannya itu menjadi sedekah baginya.*”
(Riwayat al-Bukhori dan Muslim dari Anas)

Sebagian besar obat-obatan yang ada saat ini diperoleh dari tumbuhan. Sebanyak 80% penduduk di bumi dalam menjaga kesehatannya sangat bergantung pada obat-obatan tradisional yang menggunakan bahan alami dari tumbuhan, hewan, dan mineral. Belum semua tumbuhan memiliki nama ilmiah dan diakui dengan baik. Dengan kecepatan pembangunan seperti sekarang ini, menurut perkiraan *Wildlife Conservation Network* (WCN), sebanyak 40.000 jenis tumbuhan akan masuk dalam daftar jenis tumbuhan yang rawan punah pada tahun 2030 (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, Badan Litbang, Diklat Kemenag RI dan LIPI, 2011).

2.1.2 Deskripsi Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sirsak (*Annona muricata* L.) berasal dari wilayah Amerika yang beriklim tropis, terutama Amerika Tengah dan Selatan. Tanaman ini menyebar luas ke Asia di antaranya Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Pada abad ke-19, tanaman sirsak mulai dibudidayakan di Malaysia dan Indonesia (Sukarmin, 2010). Moghadamtousi (2014) juga menambahkan bahwa pohon buah *A. muricata* L. yang terkenal (Annonaceae) umumnya dikenal sebagai graviola atau sirsak secara komersial berbudaya di Amerika Tengah dan Amerika Selatan, dan negara-negara tropis. Sirsak terdiri dari sekitar 130 genera, termasuk sekitar 2300 spesies. Genus Annonaceae ini, 51 genus terdapat di Amerika, sedangkan dua genus terdapat di Afrika (*Annona* and *Xylopia*) dan satu genus terdapat di Asia (*Anoxagorea*). Di Brazil, genus ini terdapat di seluruh negara, dan adanya 29 genera dan sekitar 260 spesies telah tercatat (Alali et al., 1999) dalam Bento (2016).

Menurut Tjitrosoepomo (1991) klasifikasi tanaman sirsak adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Dikotil
 Ordo : Ranales
 Famili : Annonaceae
 Genus : Annona
 Species : *Annona muricata* L.



Gambar 2.1 Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) (Sinurat, 2011)

Perawakan pohon, tinggi mencapai 8 m. Daun tunggal, berbentuk helaian daun bulat memanjang-lanset-bulat telur terbalik, pangkal runcing-meruncing, atau kadang meruncing pendek, permukaan bawah berambut, permukaan atas sangat mengkilap, panjang helaian 5,5-18 cm, lebar 2-7 cm. Bunga tunggal atau berpasangan, jumlah daun kelopak 3, daun kelopak 6 dalam dua lingkaran berjumlah masing-masing 3 daun mahkota. Daun mahkota berwarna hijau kemudian berubah menjadi kekuningan sampai kuning pucat. Pada bagian pangkal sebelah dalam daun tidak terdapat noda merah. Panjang daun kelopak lingkaran luar 3,5-5 cm, meruncing, tidak berambut, daun mahkota pada lingkaran

dalam tumpul, panjang 2,5-3,5 cm, panjang benang sari 4-5 mm, panjang putik 2-3 mm, aroma bunga khas. Buah berbentuk bulat telur, miring atau melengkung, ujung membulat, permukaan buah ditutupi duri lunak, warna hijau, bagian dalam berwarna putih, ukuran buah 15-35 x 10-15 cm (Steenis, 2003).

2.1.3 Kandungan dan Manfaat Sirsak (*Annona muricata* L.)

A. muricata adalah tanaman yang terkenal di Brazil, senyawa yang paling ditemukan dalam tanaman ini adalah *acetogenins* dan alkaloid (Vila-Nova et al., 2011; Tempone et al, 2005), dan memiliki antiprotozoal, antioksidan, dan sifat antikanker (Boyom et al., 2009; Rondon et al., 2011; Lima et al., 2011; Chen et al., 2012). Adi (2009) menambahkan bahwa selain *acetogenin*, daun sirsak mengandung beberapa senyawa seperti *annonatacin*, *annonacatalin*, *annonahexocin*, *annonacin*, *annomuricin*, *annomurin*, *anolol*, *caclourin*, *genticid acid*, *gegantronin*, *linoleic acid* dan *muricapentocin*.

Sugeng (2010) juga menambahkan bahwa *Annonaceous acetogenins* telah menunjukkan toksisitas selektif untuk sel tumor pada dosis yang sangat rendah. Penelitian telah menunjukkan bahwa graviola atau sirsak mengandung sejumlah besar senyawa, termasuk tanin dan flavonoid (Luna et al., 2006; Lima, 2007; Reis, 2011), yang telah digunakan sebagai terapi karena sifat anti-inflamasi, antijamur, antioksidan, bersifat menyembuhkan (Zuanazzi dan Montanha, 2004) dan efek gastroprotektif (Parmar dan Parmar, 1998).

Pentingnya tanaman ini juga berkontribusi untuk berbagai aplikasi dalam obat tradisional (Moghadamtousi, 2014). Semua bagian tanaman ini, termasuk kulit, biji buah, daun dan akar digunakan dalam obat-obatan alami di daerah tropis (Adewole, 2009). Daun sirsak secara tradisional digunakan untuk mencegah dan

mengobati abses, asthenia, bronkitis, kolik, gangguan empedu, kurap, kejang, dan malaria (Adi, 2009). Sousa (2010) juga menambahkan bahwa daun sisak biasa digunakan untuk sistitis, diabetes, sakit kepala, hipertensi, insomnia, penyakit liver dan sebagai *antidysenteric*, *antiinflamasi* dan *antispasmodic*. Di Afrika tropis, termasuk Nigeria, daun sirsak secara tradisional digunakan untuk penyakit kulit (Adewole, 2009).

A. muricata telah secara luas digunakan dalam obat tradisional sebagai obat cacing, antispasmodic, obat penenang, antikonvulsan, antipiretik dan sebagai agen hipotensif pada manusia. Penelitian yang telah dilakukan dengan spesies berbeda dari genus *Annona* menunjukkan bahwa larutan ekstrak *Annona senegalensis* (Alawa et al., 2003; Ndjonka et al., 2011) dan ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat *A. squamosa* (Souza et al., 2008; Ibnu dan Abdul Rahuman, 2011) secara *in vitro* terdapat aktivitas obat cacing melawan nematoda berbeda, membenarkan potensi farmakologis genus tersebut. Zuhud (2011) juga menambahkan bahwa senyawa *Annonaceous acetogenins* pada *Annona* telah dicatat memiliki sifat antitumor, antiparasit, insektisida, dan aktivitas antimikroba sehingga dapat melawan organisme bersifat parasit.

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Kultur Jaringan Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Allah berfirman dalam Al Qur'an Surah Al Waqi'ah ayat 62-63 yaitu sebagai berikut:

وَلَقَدْ عَلِمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾ أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ﴿٦٣﴾

Artinya: “Dan Sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, maka mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua). Maka terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam.”

Penafsiran menurut kitab Tafsir Jalalain pada ayat 62 yaitu menurut suatu qiraat lafadz **النَّشْأَةَ** boleh dibaca **النَّشْأَةَ** yang berarti penciptaan. Dan lafadz **تَذَكَّرُونَ** asalnya adalah **تَتَذَكَّرُونَ**, lalu huruf *Ta'* yang kedua diidghomkan kepada huruf *Dzal* yang berarti kalian belajar atau kalian mengambil pelajaran. Kemudian pada ayat 63 “maka terangkanlah kepada-Ku tentang yang kalian tanam?”, yaitu tentang tanah yang kalian bajak lalu kalian semaikan benih-benih di atasnya. Berdasarkan tafsir di atas dijelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini dengan perantara dan proses yang berbeda-beda. Maka manusia hendaknya mengambil pelajaran dari proses penciptaan yang berbeda-beda tersebut, agar dapat melestarikan ciptaan-Nya seperti dalam kalimat di atas “penciptaan yang kedua”.

Ayat berikutnya menjelaskan bahwa setelah manusia mengambil pelajaran dari proses penciptaan tumbuhan, maka bagaimana hasil dari tanah yang telah dibajak kemudian disemaikan benih di atasnya?. Dalam ilmu pengetahuan modern hal ini dapat berupa teknologi dalam penanaman dan pelestarian tumbuhan seperti teknik kultur jaringan tumbuhan. Manusia telah mengambil pelajaran dari proses penciptaan tumbuhan sehingga diketahui faktor-faktor yang dapat menjadikan tumbuhan itu dapat tumbuh dan bermanfaat. Seperti menumbuhkan biji yang dormansi sehingga menjadi tumbuhan yang hidup kembali. Allah berfirman dalam Al Qu'an Surah Al-An'am ayat 95 sebagai berikut:

﴿إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذَٰلِكُمُ اللَّهُ فَأَنَّى تُؤْفَكُونَ ۝﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat)

demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling.” (Al-An’am/6: 95)

Ayat di atas berbicara mengenai biji tumbuhan dan persoalan “yang hidup dari yang mati dan yang mati dari yang hidup. Dari perspektif ilmu pengetahuan, ayat ini hendak menegaskan bahwa penciptaan bukanlah suatu kebetulan. Alasannya apabila ia merupakan suatu kebetulan maka mustahil untuk dapat berkesinambungan. Pembangkitan yang mati menjadi hidup terlihat pada kejadian sehari-hari dalam proses perkembangan benih tumbuhan (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur’an, Badan Litbang, Diklat Kemenag RI dan LIPI, 2011). Dalam kultur jaringan, menghidupkan sesuatu dari yang mati seperti halnya daun atau tunas yang diambil dari tumbuhan hidup maka sudah menjadi benda mati, ketika sudah dikultur maka akan hidup kembali dan mengalami pertumbuhan menjadi kalus atau tumbuhan baru.

2.2.2 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan

Pemuliaan tanaman dengan melibatkan kultur jaringan mencakup tentang semua metode kultur sel atau jaringan yang meliputi perbanyakan, pengamatan, dan manipulasi genetik tanaman tanpa melibatkan siklus seksual (Nasir, 2001). Pokok dasar kultur *in vitro* adalah merupakan teknik budidaya sel, jaringan, organ tanaman dalam suatu lingkungan terkendali dan dalam keadaan yang aseptik atau bebas organisme. Menurut Zulkarnain (2009) kultur *in vitro* tanaman adalah istilah umum yang mengacu pada semua bentuk kultur aseptik jaringan tanaman yang ditujukan terhadap berbagai tanaman yang meliputi organ, sel, kalus, protoplasma, dan embrio.

Perkembangan kultur *in vitro* berkaitan dengan teori totipotensi (Total Genetic Potential) yang disampaikan oleh Scelheiden dan Schwan pada tahun

1838. Teori tersebut menyatakan bahwa sel tumbuhan berisi material genetik dan pada hakikatnya mampu menjadi tumbuhan lengkap apabila ditumbuhkan pada lingkungan tumbuh yang sesuai. Pada umumnya sifat totipotensi dimiliki oleh tumbuhan yang masih juvenil, muda, dan pada bagian-bagian yang aktif membelah (meristematik). Oleh karena itu bahan tanam atau eksplan yang sering digunakan adalah bagian-bagian dari tumbuhan yang masih aktif membelah seperti pucuk, daun muda, ujung akar, biji, anther, kepala sari, dan sebagainya (Nasution, 2013).

Manfaat utama kultur jaringan tanaman adalah perbanyakan klon atau perbanyakan masal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Selain itu, teknik kultur jaringan juga bermanfaat dalam beberapa perihal khusus antara lain: perbanyakan klon secara cepat, keseragaman genetik, kondisi aseptik, seleksi tanaman, stok tanaman mikro, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nutfah, penghasilan tanaman sepanjang tahun dan perbanyakan tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional (Zulkarnain, 2011).

2.2.3 Faktor yang Mempengaruhi Kultur Jaringan Tumbuhan

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan yaitu jenis media, jenis bahan tanaman dan lingkungan yang sesuai (Abbas, 2011). Sedangkan menurut Alitalia (2008) faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* adalah eksplan, media tanaman, kondisi fisik media, zat pengatur tumbuh (ZPT) dan lingkungan tumbuh:

1. Eksplan

Eksplan merupakan bahan atau bagian tanaman yang dikulturkan. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan mencakup ujung pucuk, irisan batang,

daun, daun bunga, daun keping biji, akar, buah, embrio, meristem pucuk apikal (yang benar-benar merupakan titik tumbuh) dan jaringan nuselar (Harjadi, 1993). Nurtjahjaningsih (2009) menambahkan bahwa bahan tanaman yang digunakan biasanya merupakan bagian tanaman yang meristematik.

Menurut Yelnititis dan Komar (2011) bahwa kondisi bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan harus sehat dan kuat. Untari dan Puspitaningtyas (2006), menyatakan bahwa kondisi fisiologi tumbuhan memberikan respon yang berbeda terhadap perlakuan yang diberikan. Selanjutnya Zulkarnain (2009) menambahkan bahwa jaringan yang kurang aktif sering menginginkan variasi jenis dan takaran zat pengatur tumbuh selama proses pengkulturan dan semakin tua organ eksplan yang digunakan, maka proses pembelahan dan regenerasi sel cenderung semakin menurun.

2. Media

Media kultur *in vitro* mengandung garam-garam anorganik yang dibutuhkan eksplan yang sama dengan kebutuhan tanaman akan garam-garam organik yang diperoleh tanaman pada lingkungan alamnya. Media yang paling sering digunakan adalah media Murashige dan Skoog (media MS) karena mengandung jumlah garam-garam anorganik yang lebih tinggi dari pada media lainnya. Selain itu pada umumnya media MS juga mendukung pertumbuhan berbagai tanaman (Nasution, 2013).

Menurut Acquaah (2004) media kultur jaringan mengandung komponen yang dapat dikategorikan menjadi empat kelompok yaitu: unsur mineral, senyawa organik, zat pengatur tumbuh dan sistem penyokong: (1) Unsur mineral terdiri dari unsur makronutrien dan unsur mikronutrien. Adapun unsur-unsur yang

terdapat pada unsur makronutrien terdiri dari nitrogen- NO_3 , NH_4 , fosfor-P, potassium-K. Sedangkan unsur mikronutrien terdiri dari Ca, Mg, Cl, Fe, S, Na, B, Mn, Zn, Cu, Mo, Co, I. (2) Senyawa organik menyediakan sumber karbon dan faktor-faktor lain untuk mendukung pertumbuhan. Pada umumnya, senyawa organik terdiri dari gula, vitamin, dan myo-inositol. (3) Zat pengatur tumbuh pada tanaman sama dengan hormon pertumbuhan pada hewan. Zat pengatur tumbuh ini digunakan atau dicampurkan ke dalam media.

Adapun contoh senyawa zat pengatur tumbuh yang sering digunakan yaitu auksin, sitokinin, dan giberelin. Auksin berfungsi untuk mendukung terjadinya pertumbuhan akar. Contoh dari auksin alami yang umum digunakan yaitu *indole-3-acetic-acid* (IAA), *indole-3-butyric-acid* (IBA), dan contoh auksin sintetik yaitu *naphtalene acetic acid* (NAA), *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D). Sitokinin berfungsi untuk mendukung terjadinya pertumbuhan tunas, contohnya yaitu zeatin (alami), benzyladenine (BA) dan kinetin (sintetik). Sedangkan giberelin berfungsi untuk mendukung pertumbuhan batang dan pembungaan, contohnya GA3 dan GA4+7. (4) Sistem penyokong dalam kultur jaringan yakni media kultur jaringan (Acquaah, 2004).

Berdasarkan hasil dari penelitian sebelumnya selama bulan Maret - Juli 2003 dengan perlakuan NAA dan IBA pada media campuran pasir dan arang sekam diperoleh jumlah stek yang hidup sampai dengan akhir pengamatan berjumlah 107 dari 260 ulangan dengan persentase stek yang hidup adalah 41.15% (Ponganan, 2004).

Pemberian auksin dapat mendukung pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Yunita (2011) menyatakan bahwa pemberian

sitokinin dapat meningkatkan pembelahan sel, mengatur pertumbuhan tanaman, meningkatkan perkecambahan, dan proliferasi pucuk. Dalam menginduksi pembentukan jumlah tunas biasanya konsentrasi auksin lebih rendah dibandingkan dengan sitokinin. Pemberian zat pengatur tumbuh BAP 3 mg/L dan NAA 0.03 mg/L menghasilkan respon pembentukan jumlah tunas yang baik pada tanaman sengon (Herawan dan Ismail, 2009). Hal yang tersebut juga disampaikan oleh Lestari (2011) yang mengatakan bahwa pada umumnya tanaman berkayu memerlukan zat pengatur tumbuh sitokinin dalam konsentrasi yang lebih besar berkisar 5 – 10 mg/L untuk meningkatkan proliferasi tunas dan terkadang perlu ditambahkan auksin dalam jumlah yang relatif rendah antara 0,1 – 0,3 mg/L.

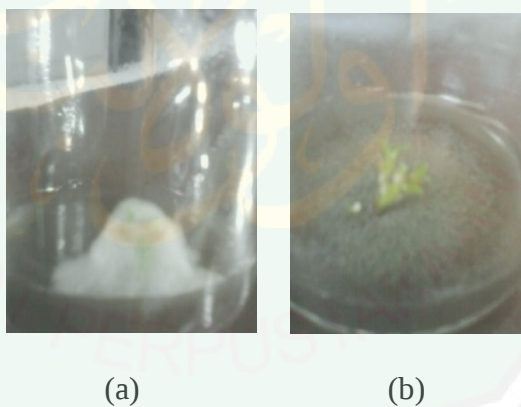
2.2.4 Kontaminasi

Menurut Gunawan (2007) untuk mengurangi kontaminasi yang berhubungan dengan media maka sebaiknya menggunakan media $\frac{1}{2}$ MS. Kontaminasi sangat beragam mulai dari jenis kontaminannya (bakteri, jamur, virus, yeast, kapang), waktu terjadinya kontaminasi (cepat, dalam hitungan jam; sedang, dalam hitungan hari; lambat, dalam hitungan minggu dan bulan), dan apa yang terkontaminasi (media atau eksplan). Jenis kontaminasi ada dua yaitu kontaminasi eksternal dan kontaminasi internal. Kontaminasi eksternal dapat disebabkan oleh jamur dan bakteri, sedangkan kontaminasi internal umumnya disebabkan oleh bahan eksplan itu sendiri.

Wudianto (2002) diacu dalam Gunawan (2007) menyatakan bahwa jamur atau cendawan pada umumnya berbentuk seperti benang halus yang tidak bisa dilihat dengan mata telanjang. Akan tetapi, kumpulan dari benang halus yang

disebut miselium ini dapat dilihat dengan jelas. Shonhaji (2014) juga menambahkan bahwa jika terkontaminasi oleh cendawan, tanaman akan lebih kering dan akan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan biasanya dapat dicirikan dengan adanya garis-garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu-abu.

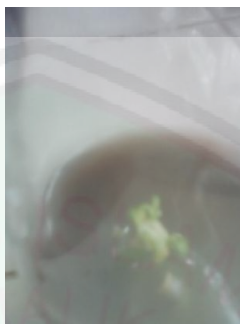
Kematian eksplan akibat kontaminasi jamur umumnya terjadi karena pertumbuhan cendawan yang lebih cepat daripada pertumbuhan eksplan sendiri. Hal ini menyebabkan cendawan dapat mendominasi permukaan media dan dapat menginvasi (menutupi) eksplan. Adanya dominasi cendawan dalam botol kultur menyebabkan eksplan yang ditanam tidak memiliki ruang tumbuh yang cukup sehingga pertumbuhannya menjadi terhenti dan akhirnya berujung pada kematian eksplan (Wudianto, 2002).



Gambar 2.2 Contoh kontaminasi jamur; (a) jamur miselium warna putih, (b) jamur miselium warna hitam (Probowati, 2011)

Darmono (2003) menyatakan bahwa kontaminasi bakteri yang menyerang eksplan pada umumnya ditandai dengan keluarnya cairan berwarna putih keruh seperti susu dan berbau busuk. Probowati (2011) juga menambahkan melalui penelitiannya bahwa hasil pengamatan visual menunjukkan bahwa eksplan yang mengalami kontaminasi bakteri memperlihatkan adanya cairan putih yang keluar

seperti lendir dari eksplan dan menyebar pada media yang berada di sekitar eksplan. Terjadinya kontaminasi yang berasal dari bakteri sebagian besar menyebabkan kematian maupun pencoklatan (*browning*) pada eksplan.



Gambar 2.3 Eksplan terkontaminasi bakteri

Menurut Denish (2007) untuk mencegah terjadinya kontaminasi internal dapat digunakan HgCl_2 karena dapat menurunkan laju kontaminasi bakteri internal tanpa merusak jaringan. Selain itu juga dapat dilakukan dengan penggunaan fungisida, HgCl_2 dan klorin karena dengan penggunaan kombinasi bahan sterilan tersebut merupakan upaya sterilisasi berlapis untuk mereduksi resiko kontaminasi baik yang berasal dari cendawan, bakteri maupun kotoran-kotoran lain yang menempel pada permukaan eksplan. Sedangkan untuk pencegahan kontaminasi eksternal dapat dilakukan dengan sterilisasi kontak (Gunawan 2007).

Gunawan (1987) diacu dalam Gunawan (2007) menyatakan bahwa setiap bahan tumbuhan memiliki tingkat kontaminasi permukaan yang berbeda tergantung dari jenis tumbuhannya, bagian tumbuhan yang dipergunakan, morfologi permukaan (misalnya berbulu atau tidak), lingkungan tumbuhnya (di *green house* atau di lapang), musim waktu pengambilan (musim penghujan atau musim kemarau), umur tumbuhan (seedling atau tumbuhan dewasa), dan kondisi

tumbuhannya (sehat atau sakit). Menurut Sandra (2010) beberapa hal yang dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi yaitu proses sterilisasi yang kurang sempurna, lingkungan kerja dan pelaksanaan atau cara kerja saat penan aman, eksplan, molekul-molekul atau benda-benda asing berukuran kecil yang jatuh atau masuk ke dalam botol kultur jaringan setelah penanaman dan ketika diletakkan di ruang kultur.

2.3 Antibiotik

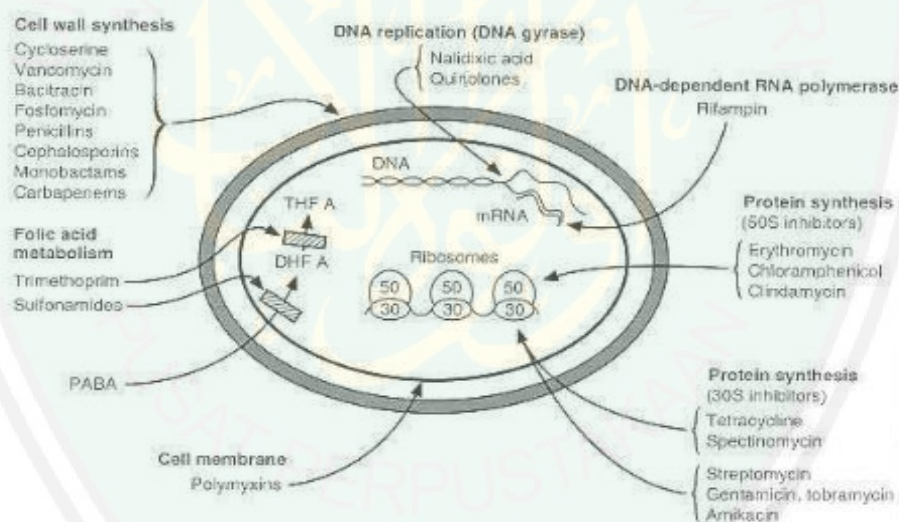
2.3.1 Pengertian antibiotik

Antibiotika adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup, struktur analognya yang dibuat sintetik yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu atau lebih mikroorganisme (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Bezoen (2001) juga menambahkan bahwa antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme mikroba seperti bakteri dan jamur, yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Biasanya bahan ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghentikan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Beberapa antibiotik bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) sedangkan antibiotik lain bersifat lebih spesifik terhadap spesies bakteri tertentu (berspektrum sempit) (Bezoen, 2001).

Antibiotik mempunyai peran penting pada pengobatan penyakit infeksi pada abad ke-20 yaitu sejak ditemukannya Penisilin pada era tahun 1920an. Selanjutnya ratusan antibiotik telah diproduksi dan disintesis untuk penggunaan klinik. Banyaknya jumlah dan variasi antibiotik yang ada sekarang ini memberi kesempatan yang lebih luas kepada para klinisi di dalam penggunaannya. Namun

perkembangan ini juga membuat para klinisi sulit untuk menentukan pengobatan penyakit infeksi. Untuk mengatasi hal ini terlebih dahulu perlu diketahui mekanisme kerja obat-obat antimikroba terhadap sel bakteri penyebab infeksi (Brooks, 1998).

Secara umum mekanisme kerja antibiotik pada sel bakteri dapat terjadi melalui beberapa cara yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat fungsi membran plasma, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat sintesis protein melalui penghambatan pada tahap translasi dan transkripsi material genetik, dan menghambat metabolisme folat (Sudigdoadi, 2002).



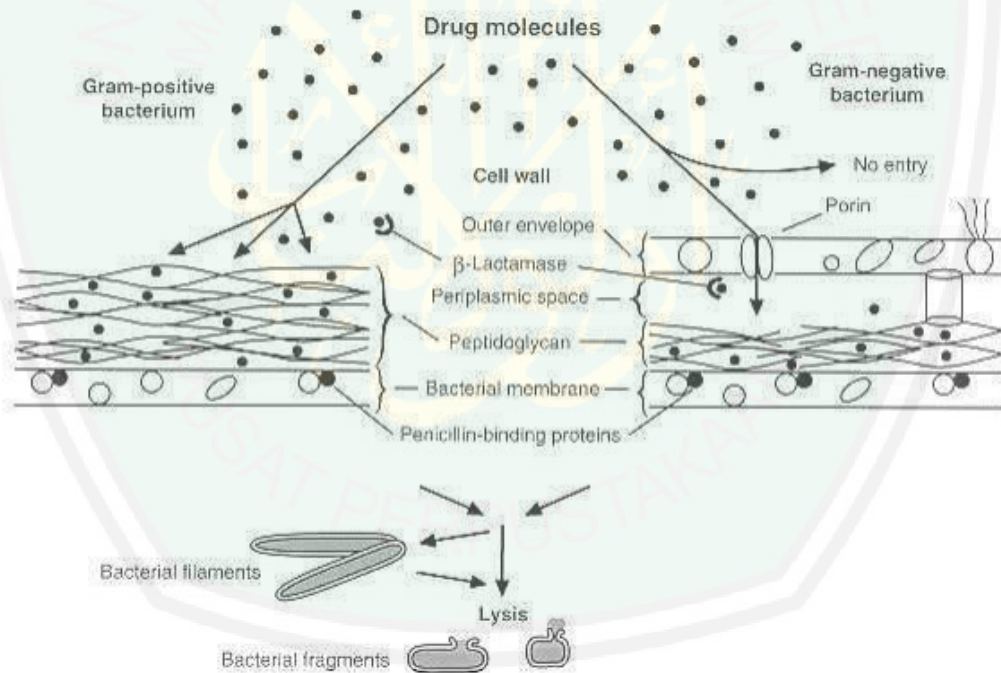
Gambar 2.4 Mekanisme kerja antibiotik pada bakteri (Neu dan Gootz, 2001)

a. Penghambatan pada sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai dinding sel yang merupakan lapisan luar dan kaku untuk mempertahankan bentuk sel dan mengatur tekanan osmotik di dalam sel. Dinding sel bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang berbeda dengan bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung

peptidoglikan dan teikhoat atau asam teikuronat dengan atau tanpa envelop yang terdiri dari protein dan polisakarida, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan, lipopolisakarida, lipoprotein, fosfolipid dan protein (Sudigdoadi, 2002).

Tempat kerja antibiotik pada dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Lapisan ini sangat penting dalam mempertahankan kehidupan bakteri dari lingkungan yang hipotonik, sehingga kerusakan atau hilangnya lapisan ini akan menyebabkan hilangnya kekakuan dinding sel dan akan mengakibatkan kematian (Neu dan Gootz, 2001).



Gambar 2.5 Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif dan masuknya antibiotik melalui porin pada dinding bakteri Gram negatif (Neu dan Gootz, 2001)

Semua antibiotik golongan β -laktam bersifat inhibitor selektif terhadap sintesis dinding sel bakteri dengan demikian aktif pada bakteri yang dalam fase pertumbuhan. Tahap awal pada kerja antibiotik ini dimulai dari pengikatan obat

pada reseptor sel bakteri yaitu pada protein pengikat penisilin (PBPs = *Penicillin-binding proteins*). Setelah obat melekat pada satu atau lebih reseptor maka reaksi transpeptidasi akan dihambat dan selanjutnya sintesis peptidoglikan akan dihambat. Tahap berikutnya adalah inaktivasi serta hilangnya inhibitor enzim-enzim autolitik pada dinding sel. Akibatnya adalah aktivasi enzim-enzim litik yang akan menyebabkan lisis bakteri (Sudigdoadi, 2002).

b. Penghambatan pada fungsi membran plasma

Sitoplasma pada sel-sel hidup berikatan dengan membran sitoplasma yang berperan di dalam barier permeabilitas selektif, berfungsi di dalam transport aktif dan mengontrol komposisi internal dari sel. Bila fungsi integritas membran sel ini terganggu maka ion dan makromolekul akan keluar dari sel dan akan menghasilkan kerusakan dan kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan jamur mempunyai struktur yang berbeda dengan sel-sel hewan dan dapat lebih mudah dirusak oleh beberapa bahan kimia atau obat. Sebagai contoh adalah polimiksin B yang bekerja pada bakteri gram negatif yang mengandung lipid bermuatan positif pada permukaannya (Sudigdoadi, 2002).

Polimiksin mempunyai aktivitas antagonis Mg^{2+} dan Ca^{2+} yang secara kompetisi menggantikan Mg^{2+} atau Ca^{2+} dari gugus fosfat yang bermuatan negatif pada lipid membran. Polimiksin ini menyebabkan disorganisasi permeabilitas membran sehingga asam nukleat dan kation-kation akan pecah dan sel akan mengalami kematian. Biasanya polimiksin tidak digunakan untuk pemakaian sistemik karena dapat berikatan dengan berbagai ligand pada jaringan tubuh dan juga bersifat toksik terhadap ginjal dan sistem saraf. Contoh antimikroba yang

bekerja melalui mekanisme ini adalah amfoterisin B, kolistin, imidazol, polien dan polimiksin (Sudigdoadi, 2002).

c. Penghambatan melalui sintesis asam nukleat

Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengikatan pada DNA dependent RNA polymerase. Rantai polipeptida dari enzim polimerase melekat pada faktor yang menunjukkan spesifisitas di dalam pengenalan letak promoter dalam proses transkripsi DNA. Rifampin berikatan secara nonkovalen dan kuat pada subunit RNA polimerase dan mempengaruhi proses inisiasi secara spesifik sehingga mengakibatkan hambatan pada sintesis RNA bakteri. Resistensi terhadap rifampin terjadi karena perubahan pada RNA polimerase akibat mutasi kromosomal (Sudigdoadi, 2002).

d. Penghambatan pada sintesis protein

Mekanisme kerja antibiotik golongan ini belum diketahui secara jelas. Bakteri memiliki ribosom 70 S sedangkan mamalia memiliki ribosom 80 S. Subunit dari masing-masing tipe ribosom, komposisi kimiawi dan spesifisitas fungsionalnya jelas berbeda sehingga dapat dijelaskan mengapa obat-obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menimbulkan efek pada ribosom mamalia. Pada sintesis protein mikroba secara normal, pesan pada mRNA secara simultan dibaca oleh beberapa ribosom yang ada di sepanjang untai RNA yang disebut sebagai polisom (Sudigdoadi, 2002).

e. Penghambatan pada metabolisme folat.

Trimetoprim dan sulfonamid mempengaruhi metabolisme folat melalui penghambatan kompetitif biosintesis tetrahidrofolat yang bekerja sebagai

pembawa satu fragmen karbon yang diperlukan untuk sintesis DNA, RNA dan protein dinding sel (Sudigdoadi, 2002).

Berdasarkan spektrum aktivitasnya antibiotika dapat digolongkan menjadi enam, yaitu: antibiotika dengan spektrum luas, yang efektif baik terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri Gram-positif, antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri Gram-negatif, antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap *Mycobacteriae* (antituberkulosis), antibiotika yang aktif terhadap jamur (anti jamur), dan antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (antikanker) (Probowati, 2011).

Antibiotik mempunyai peran vital pada pengobatan penyakit infeksi pada abad ke-20 yaitu sejak ditemukannya Penisilin pada era tahun 1920-an. Selanjutnya ratusan antibiotik telah diproduksi dan disintesis untuk penggunaan klinik. Banyaknya jumlah serta variasi antibiotik yang ada pada saat ini memberi kesempatan yang lebih luas kepada para klinisi di dalam pemakaiannya. Namun perkembangan ini juga membuat para klinisi sulit untuk menentukan pengobatan penyakit infeksi. Untuk mengatasi hal ini terlebih dahulu perlu diketahui mekanisme kerja obat-obat antimikroba terhadap sel bakteri penyebab infeksi (Brooks, 1998).

Siswandono dan Soekardjo (1995) mengelompokkan antibiotik berdasarkan struktur kimianya, menjadi sepuluh yaitu antibiotika β -laktam (turunan penisilin, sefalosporin dan β -laktam nonklasik), turunan amfenikol, turunan tetrasiklin, aminoglikosida, antibiotika makrolida, antibiotika polipeptida, linkosamida, antibiotika polien, turunan ansamisin dan turunan antrasiklin. Gale

(1963) diacu dalam Gale (1972) menyatakan bahwa berdasarkan reaksi biokimia umum, antibiotika dikelompokkan menjadi lima kelompok yakni: (1) reaksi dalam metabolisme energi, (2) reaksi dalam fungsi membran bakteri, (3) reaksi dalam sintesis protein, (4) reaksi dalam metabolisme asam nukleat, dan (5) reaksi dalam sintesis peptidoglycan. Menurut Probowati (2011) bahwa Salah satu contoh antibiotika alami yaitu propolis dan contoh antibiotika sintetis yaitu *Plant Preservative Mixture* (PPM). PPM merupakan antibiotika sintetis yang memiliki spektrum luas sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif. Sedangkan propolis merupakan antibiotika alami yang juga memiliki spektrum luas dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan positif. Selain itu terdapat kandungan zat antibakteri, di dalam propolis juga terdapat kandungan zat antifungi dan antiviral.

Berdasarkan tempat kerjanya antibiotik dapat digolongkan menjadi empat yaitu sebagai berikut:

Tabel 2.1 Jenis Antibiotik Berdasarkan Tempat Kerjanya

Tempat Kerja	Proses yang dihambat	Antibiotika	Tipe aktivitas
Dinding sel	Biosintesis peptidoglikan	- Penisilin - Sefalosporin - Basitrasin - Vankomisin - Sikloserin	Bakterisid Bakterisid Bakterisid Bakterisid Bakterisid
Membran sel	Fungsi integritas membran sel dan	- Nistatin - Amfoterisin - Polimiksin B	Fungisid Fungisid Bakterisid
Asam nukleat	- Biosintesis ADN - Biosintesis mARN - Biosintesis ADN dan mARN	- Mitomisin C - Rifampicin - Griseofulvin	Fansidal (antikanker) Bakterisid Fungisid
Ribosom			

- Sub unit 30 S prokariotik	- Biosintesis protein	- Aminosiklitol - Tetrasiklin	Bakterisid Bakteriostatik
- Sub unit 50 S prokariotik	- Biosintesis protein	- Amfenikol - Makrolida - Linkosamida	Bakteriostatik Bakteriostatik Bakteriostatik
- Sub unit 60 S eukariotik	- Biosintesis protein	- Glutarimid - Asam fusidat	Fungisid Bakterisid

Sumber : Doerge RF (1982) diacu dalam Siswandono dan Soekardjo (1995)

2.3.2 PPM (*Plant Preservative Mixture*)

Plant Preservative Mixture (PPM) merupakan *preservative* atau biosida spektrum luas yang sangat efektif untuk mencegah atau menurunkan tingkat kontaminasi mikroba pada kultur jaringan. Penggunaan PPM dengan dosis yang optimum sangat efektif dan tidak mempengaruhi *vitro germination*, proliferasi kalus dan regenerasi kalus. Kandungan zat aktif yang terkandung dalam PPM terdiri dari 5-Chloro-2 methyl-3-(CH)-isothiazolone 0,1350 % dan 2-methyl-3(H)-isothiazolone 0,0412% dan komposisi lain 99,82338% (Syatria, 2010).

Pada umumnya rentang dosis PPM yang disarankan yaitu 0,05% - 0,2% untuk kontaminasi endogen sedangkan untuk proliferasi kalus, organogenesis dan embriogenesis yaitu 0,5% - 0,75%. Selain itu, penggunaan dosis PPM yang sering digunakan yaitu 0,5 ml/liter atau menurut rekomendasi dari pabrik dengan dosis 1 ml sampai 2 ml/liter media. Cara pemakaian PPM yaitu dengan menambahkan langsung pada saat pembuatan media ketika media sudah ditambahkan dengan agar dan dimasak hingga mendidih lalu ditambahkan hormon yang dikehendaki selanjutnya ditambahkan dengan PPM lalu diukur pH media dan dimasukan kedalam botol-botol (Syatria, 2010).

Pembuatan PPM ini dirancang untuk menghambat kontaminasi yang berasal dari udara, air, dan yang melalui kontak dengan manusia serta kontaminasi yang berasal dari dalam tumbuhan itu sendiri. Bahan aktif yang terdapat dalam PPM ini pun dapat menghambat pertumbuhan jamur atau menembus dinding sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim dalam siklus metabolisme utama seperti siklus asam sitrat dan transpor elektron. Selain itu juga dapat menghambat proses pengangkutan monosakarida dan asam amino dari media kultur ke dalam sel bakteri atau jamur. Adapun kelebihan penggunaan PPM daripada antibiotika lain yaitu: PPM dapat digunakan secara luas dan efektif untuk menghambat tumbuhnya jamur, PPM lebih murah dibandingkan dengan antibiotika sehingga lebih terjangkau jika akan digunakan dalam jumlah yang besar dan rutin, sasaran PPM yaitu menghambat beberapa jenis enzim, akan tetapi untuk pembentukan mutan resisten tidak efektif, dan PPM memiliki sifat tahan panas yang stabil dan dapat diautoklaf dengan media (Probowati, 2011).

Syatria (2010) menyatakan bahwa bahan aktif yang ada dalam PPM dapat menghambat tumbuhnya jamur atau menembus dinding sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim kunci dalam siklus metabolisme sentral seperti siklus asam sitrat dan transpor elektron. Selain itu juga dapat menghambat proses pengangkutan monosakarida dan asam amino dari medium ke dalam sel bakteri. Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Probowati (2011) yaitu pada perlakuan A1B0 dan A2B0 mendapatkan hasil yang baik dengan persentase keberhasilan yang cukup tinggi (70%). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan antibiotika PPM dengan konsentrasi 1 ml/L dan 2 ml/L pada media mampu memberikan

respon yang positif terhadap adanya kontaminasi pada eksplan dan pertumbuhan eksplan sendiri.

2.3.3 Propolis

Propolis berasal dari bahasa Yunani, yaitu *pro* berarti pertahanan dan *polis* berarti kota, sehingga propolis dapat diartikan sebagai pertahanan kota (Ghisalberti, 1979; Santos, dkk., 2002). Propolis merupakan produk yang dihasilkan oleh serangga (lebah madu). Lebah menghasilkan beberapa produk seperti madu, royal jeli, polen dan propolis. Propolis merupakan bahan resin yang melekat pada bunga, pucuk dan kulit kayu. Sifatnya pekat, bergetah, berwarna coklat kehitaman mempunyai bau yang khas, dan rasa pahit. Lebah *Trigona sp.* menggunakan bahan propolis untuk pertahanan sarang, mengkilatkan bagian dalam sarang dan menjaga suhu lingkungan. Bahan-bahan yang terkandung dalam propolis sangat kompleks, dan lebih dari 200 komponen telah teridentifikasi (Kaihena, 2013). Pada temperatur di bawah 15°C, propolis keras dan rapuh, tapi kembali lebih lengket pada temperatur yang lebih tinggi (25- 45°C). Propolis umumnya meleleh pada temperatur 60-69°C dan beberapa sampel mempunyai titik leleh di atas 100°C (Woo, 2004).

Menurut Abidin (2010) meskipun propolis memiliki manfaat kesehatan sebagai antibakteri, namun propolis pada konsentrasi tertentu memiliki peranan simbiotik terhadap beberapa spesies bakteri probiotik. Senyawa aktif yang memberikan efek antibakteri adalah pinochembrin, galangin, asam kafeat, dan asam ferulat. Senyawa antifunginya adalah pinochembrin, pinobanksin, asam kafeat, benzil ester, sakuranetin, dan pterostilbene. Zat aktif yang diketahui bersifat antibiotik adalah asam ferulat. Zat ini efektif terhadap bakteri gram positif

dan negatif (Winingsih, 2004). Berdasarkan hasil penelitian Abidin (2010) diketahui bahwa pada konsentrasi 0,6% propolis mampu menstimulasi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* subsp. Rhamnosus dan aktivitas bakteri *Streptococcus thermophilus* yaitu dengan menstimulasi produksi asam laktat.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya oleh Probowati (2011) pada perlakuan penambahan propolis dapat diketahui bahwa perlakuan penambahan propolis 1 ml/L merupakan salah satu perlakuan yang menghasilkan persentase keberhasilan tumbuh yang tertinggi. Sedangkan penambahan propolis 2 ml/L merupakan perlakuan dengan persentase keberhasilan tumbuh yang terendah. Winingsih (2004) yang diacu dalam Saputra (2009) menyatakan bahwa kelebihan propolis sebagai antibiotika alami dibandingkan dengan bahan sintetik yaitu lebih aman serta dengan efek samping yang relatif kecil. Hal ini karena propolis memiliki daya selektivitas yang tinggi sebagai antibiotika sehingga cara kerja propolis yaitu melawan bakteri berbahaya tanpa membinasakan bakteri yang dibutuhkan.

Mekanisme kerja ekstrak propolis belum dapat diketahui pasti dengan penelitian yang dilakukan. Akan tetapi, sifat antimikroba yang dimiliki propolis diduga berhubungan dengan efek sinergi dari senyawa-senyawa yang ada dalam propolis. Menurut Bayanova *et al.* (2005) propolis dapat merusak membran sitoplasma, menghambat motilitas bakteri dan aktivitas enzim. Flavonoid dalam propolis mempunyai kemampuan mengikat protein ekstraseluler dan protein integral yang bergabung dengan dinding sel bakteri, dan mengganggu permeabilitas dinding sel (Murphy, 1999).

Kandungan triterpenoid yang ada dalam propolis juga berperan dalam efek sinergis antibakteri yang dimiliki propolis. Senyawa tanin dalam ekstrak propolis diduga memiliki sifat antimikrob karena kemampuannya dalam inaktivasi protein enzim, dan lapisan protein transpor (Murphy, 1999). Senyawa saponin membentuk busa sabun dalam air dan merupakan bahan aktif permukaan saponin, sehingga dapat mengurangi permeabilitas dinding sel, mempermudah bahan aktif lain untuk merusak dinding sel, dan melisis sel (Harborne 1987; Murphy 1999).

Menurut Probowati (2011) hasil pengamatan visual pada eksplan yang berhasil steril, ditemukan bahwa eksplan yang ditanam tidak mengalami pertumbuhan maupun perkembangan sehingga tunas yang tumbuh dari eksplan tersebut pun tidak mengalami perubahan. Fenomena tersebut dapat dikatakan bahwa eksplan yang ditanam mengalami stagnasi. Santoso dan Nursandi (2003) mengatakan bahwa stagnasi pertumbuhan dapat disebabkan oleh penggunaan bahan yang tidak merismatik atau potensial merismatik. Selain itu dapat disebabkan oleh tindakan sterilisasi yang berlebihan, media yang tidak cocok atau lingkungan yang tidak mendukung.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai November 2017 yang bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang terdiri dari dua faktor, faktor pertama adalah jenis antibiotik yang terdiri dari: *Plant Preservative Mixture* (PPM) dan propolis. Faktor yang kedua yaitu konsentrasi antibiotik yang terdiri dari lima taraf yaitu 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L, dan 2 ml/L. Dengan demikian terdapat 25 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 5 ulangan sehingga seluruhnya terdapat 125 satuan percobaan. Setiap satuan botol terdiri dari satu botol yang berisi dua eksplan.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan PPM dan Propolis

PPM (ml/L)(A)	Propolis (ml/L)(B)				
	0 (B0)	0,5 (B1)	1 (B2)	1,5 (B3)	2 (B4)
0 (A0)	A0B0	A0B1	A0B2	A0B3	A0B4
0,5 (A1)	A1B0	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4
1 (A2)	A2B0	A2B1	A2B2	A2B3	A2B4
1,5 (A3)	A3B0	A3B1	A3B2	A3B3	A3B4
2 (A4)	A4B0	A4B1	A4B2	A4B3	A4B4

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat, 3) variabel kontrol. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis dan konsentrasi antibiotik. Variabel terikat yaitu variabel yang dapat diukur, yaitu: jumlah eksplan bertunas (buah), persentase *browning* (%), dan persentase kontaminasi (%). Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu suhu, hormon, cahaya, medium MS dan pH.

3.4 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam persiapan media yaitu meliputi: timbangan analitik, gelas ukur, pipet, labu erlenmeyer, pengaduk, botol kultur, *hotplate*, dan *autoclave*. Sedangkan untuk kegiatan penanaman alat-alat yang digunakan antara lain *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *handsprayer*, lampu bunsen, pinset, pisau, scalpel, tissue, dan cawan petri.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam pembuatan media antara lain agar-agar, gula pasir, air steril, bubuk media MS, BAP, propolis, dan PPM. Sedangkan untuk kegiatan sterilisasi dan penanaman bahan-bahan yang digunakan yaitu deterjen, fungisida, bakterisida, clorox 10%, air steril, alkohol 70%, alkohol 96% dan eksplan sirsak bagian titik tumbuh. Bahan eksplan sirsak berasal dari UPT Materia Medica Batu Jawa Timur.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sterilisasi

3.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur

Alat-alat yang akan digunakan dalam kegiatan kultur jaringan seperti botol kultur, pinset, scalpel, cawan petri, pipet, pengaduk, labu takar dicuci bersih

menggunakan detergen. Kemudian, alat-alat yang digunakan dalam penanaman disterilisasi dengan membungkus cawan petri menggunakan kertas tebal dan alat-alat seperti spatula, pinset, scalpel menggunakan alumunium foil dan dibungkus plastik. Kemudian semua alat-alat tersebut diautoklaf pada suhu 121°C - 126°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sedangkan untuk media yang telah dimasukan ke dalam botol kultur lalu dimasukan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C - 126°C dan tekanan 1 atm selama 60 menit.

3.5.1.2 Sterilisasi Lingkungan Kerja

Sterilisasi lingkungan kerja dilakukan dengan membersihkan laboratorium secara berkala dengan mengepel dan menyemprot rak kultur. Dilakukan pula penyeleksian botol kultur yang terkontaminasi. Pembersihan tempat kerja LAFC dilakukan dengan mengelap permukaan atau meja LAFC menggunakan kapas atau tisu yang telah disemprot alkohol 70%. Kemudian dinyalakan sinar UV selama 1 jam, sebelum dan selama pemakaian, blower atau peniup udara dalam *laminar air flow cabinet* dinyalakan untuk menghindari adanya kontaminan yang masuk ke dalam botol kultur selama proses penanaman. Kemudian sebelum melakukan pekerjaan dilakukan penyemprotan dengan alkohol 70% terhadap kedua telapak tangan, botol kultur, ataupun alat-alat yang akan digunakan dalam penanaman.

3.5.1.3 Sterilisasi Bahan Eksplan

Sirsak yang diambil sebagai eksplan diberi perlakuan sterilisasi yang meliputi sterilisasi eksplan di luar LAFC dan sterilisasi eksplan di dalam LAFC. Adapun tahapan sterilisasi di luar LAFC yaitu eksplan dari bahan indukan dicuci dengan air bersih direndam kedalam larutan deterjen dan dibilas dengan air bersih selama

1 jam. Eksplan yang telah bersih direndam dalam fungisida 300 mg/L selama 10 menit. Selanjutnya direndam dalam bakterisida 300 mg/L selama 5 menit dan dibilas dengan air mengalir selama 1 jam. Sedangkan tahapan sterilisasi eksplan di dalam LAFC menggunakan air steril selama $\pm$ 5 menit, clorox bertahap 20%, 10%, dan 5% selama $\pm$ 3 menit, selanjutnya dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Pembuatan media Murashige Skoog (MS) dengan Larutan BAP

Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan media 1 MS yaitu larutan media dengan volume akhir 1 liter. Pelaksanaan pembuatan media dimulai dengan menyiapkan 1 liter akuades dalam *beaker glass*. Selanjutnya ditimbang gula sebanyak 30 gr, bubuk MS sebanyak 4,43 gr, dan agar-agar sebanyak 10 gr. Dalam penelitian ini terdapat 25 perlakuan yang berbeda sehingga penimbangan agar-agar 10 gr dibagi 25 menjadi 0,40 gr per perlakuan.

Selanjutnya dimasukkan bahan-bahan seperti gula, 1,5 ml hormon (BAP) dan bubuk MS ke dalam *beaker glass* yang berisi 1 liter akuades kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Dilakukan pengukuran pH yaitu antara 5,7-6,0 dengan penambahan HCl dan NaOH.

3.5.2.2 Pembuatan media perlakuan

Pembuatan media perlakuan dimulai dengan proses yang sama ketika membuat media kontrol (MS 0 + BAP 1,5). Tetapi untuk membuat media perlakuan pada larutan (MS 0 + BAP 1,5) ditambahkan antibiotika berupa PPM dan/atau propolis dengan konsentrasi yang sesuai dengan perlakuan yang sudah ditentukan yakni sebesar 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, dan 1,5 ml/L. sebelum

ditambahkan antibiotika, larutan media kontrol 1 liter tersebut dibagi ke dalam 25 botol. Kemudian dapat ditambahkan antibiotik sesuai perlakuan. Setelah larutan media perlakuan selesai dibuat, kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan pH meter. Pada umumnya pH media yang digunakan yakni 5,7-6,0, jika larutan tersebut dihasilkan pH >6,0 maka dilakukan penambahan HCl dan jika dihasilkan pH <5,6 maka dilakukan penambahan NaOH.

Selanjutnya larutan media ditambahkan dengan agar-agar sebanyak 0,4 gr per perlakuan dan dimasak hingga mendidih. Kemudian larutan dituangkan ke dalam botol-botol kultur sebanyak 10 ml. Ditutup botol-botol tersebut dengan rapat setelah mulai dingin dan diberi label. Langkah selanjutnya yaitu melakukan sterilisasi media tersebut dalam *autoclave* pada suhu 121⁰C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.5.3 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan sirsak dilakukan di dalam LAFC yang sudah disterilisasi sebelumnya. Setelah dilakukan sterilisasi pada eksplan, kemudian eksplan dimasukkan ke dalam cawan petri untuk dipotong dengan ukuran 1,5 cm dalam satu nodus. Kemudian ditanam ke dalam media kultur dengan posisi tegak. Botol-botol yang sudah ditanami diberi label kemudian diletakkan di dalam rak kultur di ruang inkubasi.

3.5.4 Pemeliharaan Kultur

Botol-botol yang berisi eksplan diletakkan ke dalam rak kultur dan disemprot dengan alkohol 70% setiap 3 hari sekali. Kondisi lingkungan pemeliharaan menggunakan suhu 20-25⁰C dan menggunakan pencahayaan 2000 LUX.

3.5.5 Pengamatan

Pengamatan kontaminasi dilakukan ± 2 minggu setelah tanam dan pertumbuhan tunas dilakukan ± 4 minggu setelah tanam dan pengambilan data dilakukan setiap hari. Parameter yang diamati yaitu:

1. Jumlah eksplan yang hidup dilihat dari hari berapa tunas terbentuk pada eksplan, dihitung dari hari setelah tanam (HST) yang ditandai dengan jumlah eksplan yang berwarna kehijauan dan munculnya tunas pada nodus batang.
2. Jumlah eksplan yang mati dilihat dari hari berapa eksplan mulai tidak tumbuh, dihitung dari hari setelah tanam (HST) yang ditandai dengan jumlah eksplan yang mengalami *browning* (pencoklatan) atau berwarna merah dan tidak muncul tunas.
3. Jumlah eksplan yang mengalami kontaminasi dilihat dari hari berapa eksplan mulai terlihat adanya titik kontaminasi, dihitung dari hari setelah tanam (HST) yang ditandai dengan adanya jamur (muncul hifa seperti benang yang berwarna putih sampai abu-abu) dan bakteri (adanya lendir).

Pengaruh pemberian antibiotik pada pertumbuhan eksplan sirsak diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap warna eksplan, kondisi tunas eksplan, dan jumlah daun yang tumbuh.

3.6 Analisis Data

Perhitungan parameter kualitatif meliputi presentase kontaminasi oleh jamur dan bakteri, *browning* (pencoklatan), dan kematian pada eksplan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Tingkat kontaminasi} = \frac{\sum \text{eksplan yang terkontaminasi}}{N} \times 100\%$$

$$\% \text{ Tingkat kematian} = \frac{\sum \text{eksplan yang mengalami kematian}}{N} \times 100\%$$

$$\% \text{ Tingkat hidup} = \frac{\sum \text{eksplan yang bertunas}}{N} \times 100\%$$

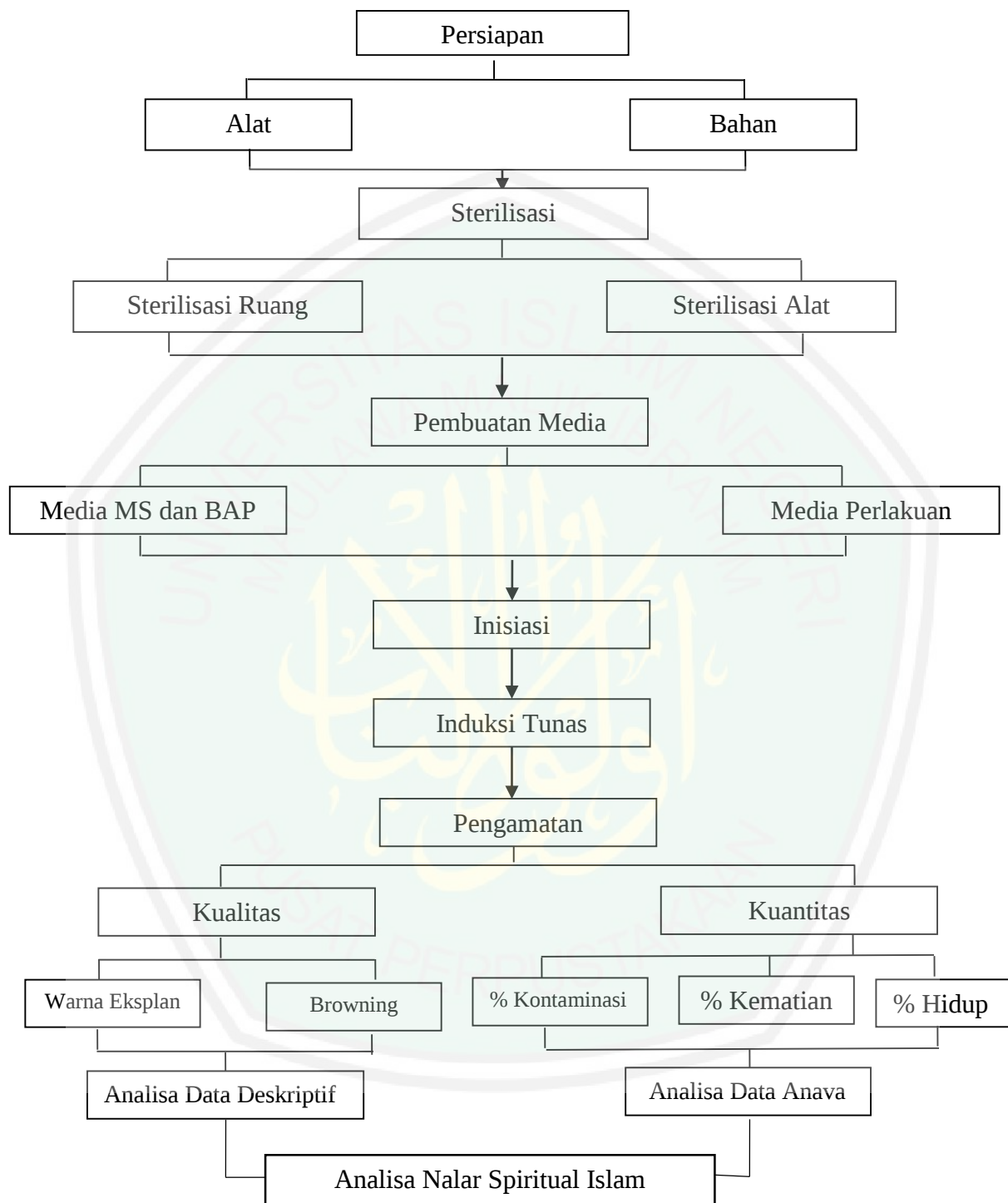
Keterangan :

N = jumlah total eksplan yang tersedia pada setiap perlakuan

Data pengamatan berupa data kuantitatif. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan (data kuantitatif) dilakukan analisis ANOVA *two way* menggunakan SPSS 16.0, bila terdapat perbedaan nyata maka dilakukan uji lanjut DMRT 5% untuk mengetahui konsentrasi pengaruh antibiotika yang efektif. Kemudian dilakukan analisis Regresi untuk mengetahui konsentrasi yang optimum.

Hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan analisis integrasi Sains dan Islam yaitu dengan nalar mengenai temuan penelitian yang bersifat ilmiah dihubungkan dengan nilai-nilai keislaman yang diambil dari al-Qur'an dan Hadits dengan tafsirnya, serta pemikiran tokoh-tokoh Islam. Sehingga akan diperoleh kesimpulan bahwa manusia diciptakan dengan tujuan sebagai khalifah di bumi dan ditugaskan untuk menjaga, merawat, dan memanfaatkan alam dengan semestinya dan tidak merusak alam tersebut.

3.7 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Desain Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh PPM (*Plant Preservative Mixture*) terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak

Salah satu permasalahan utama dalam kultur *in vitro* adalah terjadinya kontaminasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa antibiotika PPM memberikan pengaruh yang nyata terhadap tingkat kontaminasi dan pertumbuhan tunas pada kultur *in vitro* sirsak. Berikut ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Antibiotika PPM terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak (*Annona muricata* L.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%	Sig.
Hari muncul tunas	6,659	2,74	0,000
Persentase hidup	5,742	2,74	0,000
Kontaminasi jamur	1,056	2,74	0,383
Kontaminasi bakteri	5,205	2,74	0,000
Browning	2,744	2,74	0,033

Berdasarkan hasil ANOVA menunjukkan bahwa pemberian antibiotika PPM berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan pada kultur *in vitro* sirsak yaitu hari muncul tunas, persentase hidup, kontaminasi bakteri, dan browning. Hal ini dikarenakan nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel 5%, dan nilai signifikansi $<0,05$, sedangkan pada variabel kontaminasi jamur nilai signifikansi $>0,05$ dan pada variabel browning nilai F hitung lebih besar dari F tabel 5%

sehingga tidak terdapat pengaruh terhadap keduanya dan tidak perlu dilakukan uji lanjut. Berikut hasil uji DMRT 5% disajikan dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Antibiotika PPM terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak (*Annona muricata* L.)

Konsentrasi PPM (ml/L)	Hari muncul tunas (HST)	Persentase hidup (%)	Kontaminasi bakteri (%)	Browning (%)
0	28,72b	8a	40b	16a
0,5	28,16b	12a	44b	20a
1	22,56a	48b	8a	24ab
1,5	28,44b	12a	8a	48b
2	28,76b	8a	8a	40ab

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

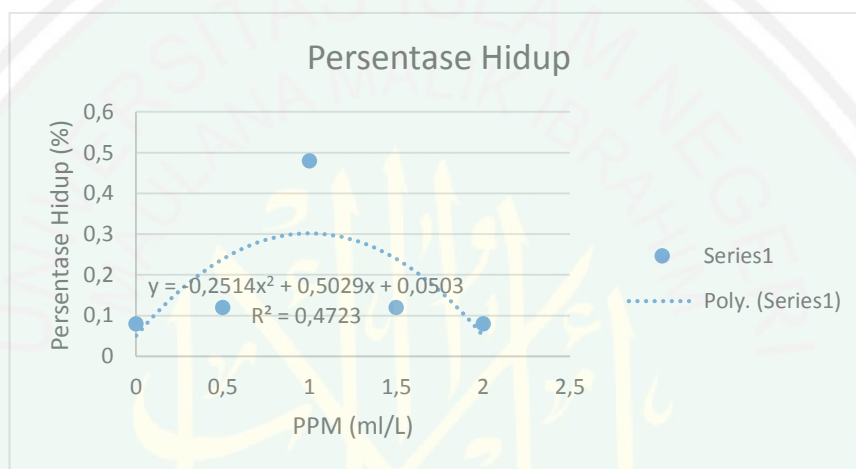
Berdasarkan hasil uji DMRT 5% di atas diketahui bahwa hari munculnya tunas dan persentase hidup menunjukkan bahwa perlakuan pemberian PPM 1 ml/L sangat berbeda nyata terhadap semua perlakuan pemberian PPM. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa dengan penambahan antibiotika PPM hari munculnya tunas rata-rata yaitu pada hari ke-22 setelah tanam. Persentase hidup eksplan paling tinggi yaitu 48% pada konsentrasi PPM 1 ml/L, sedangkan persentase kontaminasi bakteri yang paling rendah yaitu 8% pada konsentrasi 1 ml/L, 1,5 ml/L, dan 2 ml/L. Hal ini dapat menunjukkan bahwa hanya dengan penambahan antibiotika PPM konsentrasi 1 ml/L pada media mampu memberikan respon positif terhadap tingkat kontaminasi pada eksplan dan pertumbuhan eksplan itu sendiri. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Mahmoud (2016) bahwa penggunaan 0,5 ml/L dan 1 ml/L PPM yang ditambahkan ke medium kultur ditemukan sebagai konsentrasi yang optimal untuk mengendalikan kontaminasi tanpa menyebabkan pengurangan dalam

efektivitas sistem kultur, sehingga tidak berpengaruh buruk terhadap pertumbuhan eksplan.

Tumbuhnya tunas pada eksplan sirsak ini ditandai dengan eksplan yang berwarna hijau dan terdapat kuncup daun di bagian nodus. Menurut Najati (2016) tunas lateral merupakan akibat dari adanya aktivitas sel-sel meristematik yang mengalami pembelahan sel dan berdiferensiasi menjadi tunas lateral. Hal ini disebabkan adanya ketepatan pemberian zat pengatur tumbuh dalam media MS dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan sirsak. Berdasarkan nilai angka persentase hidup atau persentase munculnya tunas lateral sirsak menunjukkan pada perlakuan A2B0 (1 ml/L PPM + 0 ml/L propolis) namun pada uji lanjut DMRT 5% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan (Tabel 4.2).

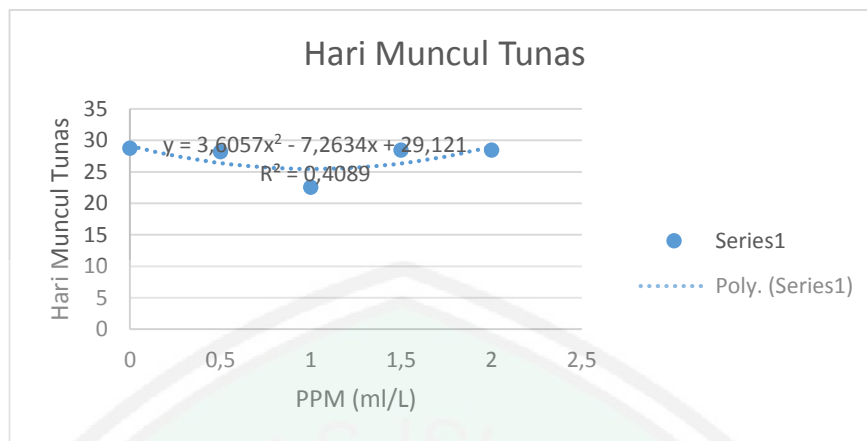
Perbedaan hasil dari masing-masing konsentrasi dapat disebabkan karena pengaruh PPM terhadap pertumbuhan tunas. PPM dapat berpengaruh baik terhadap eksplan ketika konsentrasinya sesuai dengan kebutuhan eksplan itu sendiri. Menurut Chompton (2000) dalam penelitiannya terhadap tanaman melon, petunia, dan tembakau bahwa respon jaringan eksplan terhadap PPM bervariasi tergantung dari spesies tanaman dan konsentrasi PPM yang diberikan dalam media kultur. Pemberian berbagai konsentrasi PPM juga berpengaruh nyata terhadap kontaminasi bakteri dan browning. Menurut hasil pengamatan tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar konsentrasi PPM. Menurut Kusumaningsih (2015) *Plant Preservative Mixture* merupakan biosida berspektrum luas yang digunakan sebagai bahan *preservative* di kultur jaringan tanaman. Bahan aktif PPM adalah *5-chloro-2-methyl-3 (2H)-isothiazolone* dan *2-*

methyl-3 (2H)-isothiazolone. Niedz (1998) juga menambahkan bahwa biosida PPM dapat membunuh sel bakteri dan cendawan, mencegah pertumbuhan spora dan pada konsentrasi tinggi atau berlebihan dapat mengurangi kontaminasi oleh mikroba endogen pada eksplan serta bersifat toksik dan tajam terhadap eksplan. Berikut disajikan kurva persentase hidup tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM.



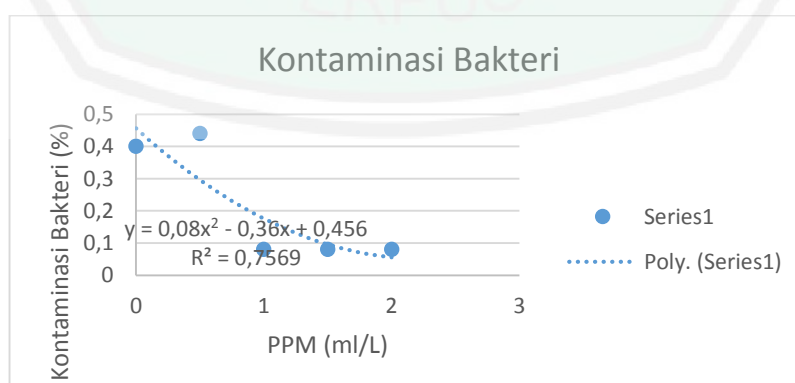
Gambar 4.1 Kurva Persentase Hidup Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.1 dapat diketahui bahwa kurva persentase hidup dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM (ml/L) menghasilkan persamaan $y = -0,2514x^2 + 0,5029x + 0,0503$ dengan nilai determinasi $R = 0,4723$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi PPM terhadap persentase hidup dengan nilai kepercayaan sebesar 47%. Berdasarkan kurva tersebut diketahui bahwa pada konsentrasi 0,8 ml/L dapat mempengaruhi persentase hidup sebanyak 47%. Berikut disajikan kurva hari muncul tunas tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM.



Gambar 4.2 Kurva Hari Muncul Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa kurva hari muncul tunas dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM (ml/L) menghasilkan persamaan $y = 3,6057x^2 - 7,2634x + 29,121$ dengan nilai determinasi $R = 0,4089$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi PPM terhadap pertumbuhan tunas dengan nilai kepercayaan sebesar 40%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa pada perlakuan PPM hari munculnya tunas pada konsentrasi 1 ml/L induksi tunas tanaman sirsak lebih cepat jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Berikut disajikan kurva kontaminasi bakteri tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM.



Gambar 4.3 Kurva Kontaminasi Bakteri Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi PPM (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.3 dapat diketahui bahwa kurva kontaminasi bakteri dengan pemberian berbagai konsentrasi PPM (ml/L) menghasilkan persamaan $y = 0,08x^2 - 0,36x + 0,456$ dengan nilai determinasi $R = 0,7569$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi PPM terhadap kontaminasi bakteri dengan nilai kepercayaan sebesar 75%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa pada konsentrasi PPM 0,051 ml/L yang diberikan dapat mengurangi terjadinya kontaminasi bakteri sebanyak 75%.

4.2 Pengaruh Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa antibiotika propolis memberikan pengaruh yang nyata terhadap variabel pengamatan pada kultur *in vitro* sirsak (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Pengaruh Pemberian Antibiotika Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak (*Annona muricata* L.)

Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%	Sig.
Hari muncul tunas	6,723	2,74	0,000
Persentase hidup	4,452	2,74	0,002
Kontaminasi jamur	0,870	2,74	0,485
Kontaminasi bakteri	2,513	2,74	0,025
Browning	5,884	2,74	0,000

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa pemberian antibiotika propolis berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan pada kultur *in vitro* sirsak yaitu pada hari muncul tunas, persentase hidup, kontaminasi bakteri, dan

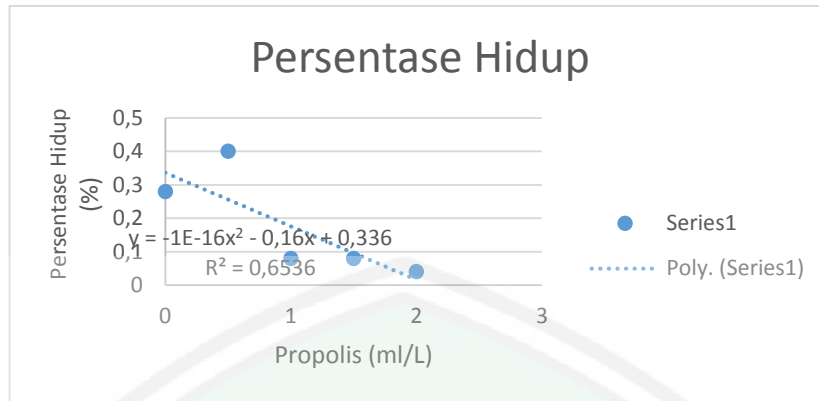
browning. Hal ini terlihat dari nilai F hitung yang lebih besar dari F tabel 5% dan nilai signifikansi kurang dari 0,05 sehingga perlu dilakukan uji lanjut DMRT 5%. Berikut hasil uji lanjut DMRT 5% disajikan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian Antibiotika Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak (*Annona muricata* L.)

Konsentrasi propolis (ml/L)	Hari muncul tunas (HST)	Persentase hidup (%)	Browning (%)	Kontaminasi Bakteri (%)
0	25,56a	28bc	8a	20a
0,5	23,44a	40c	12a	12a
1	29,12b	8ab	48b	20a
1,5	29,20b	8ab	52b	12a
2	29,32b	4a	28ab	44b

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

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% keempat variabel pengamatan tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata. Hasil pengamatan visual persentase tumbuh tunas terlihat bahwa perlakuan propolis dengan konsentrasi 0,5 ml/L menunjukkan hasil 40%. Hal ini menunjukkan adanya respon yang positif terhadap pertumbuhan eksplan. Berikut disajikan kurva persentase hidup tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis.



Gambar 4.4 Kurva Persentase Hidup Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi Propolis (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.6 dapat diketahui bahwa kurva persentase hidup dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis (ml/L) menghasilkan persamaan $y = -1E-16x^2 - 0,16x + 0,336$ dengan nilai determinasi $R = 0,6536$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi propolis terhadap pertumbuhan tunas tanaman sirsak dengan nilai kepercayaan sebesar 65%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa dengan pemberian konsentrasi propolis 0,48 ml/L dapat mempengaruhi induksi tunas sirsak sebanyak 65%. Ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan tunas, pertambahan tinggi tunas dan jumlah daun yang tumbuh memiliki kondisi yang baik.

Pemberian antibiotika propolis tidak menunjukkan hasil yang signifikan terhadap tingkat kontaminasi kultur *in vitro* sirsak. Hal ini terlihat dari hasil pengamatan visual persentase kontaminasi bakteri dan jamur masing-masing menunjukkan nilai sedikitnya 20% dari semua perlakuan propolis. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa tingkat kontaminasi tertinggi terdapat pada perlakuan propolis 1 ml/L dan 1,5 ml/L yang menunjukkan tingkat kontaminasi bakteri dan jamur sebesar 60%. Hal ini menunjukkan bahwa sifat antimikroba

pada propolis dapat mengurangi tingkat kontaminasi pada kultur jaringan meskipun hanya 40%.

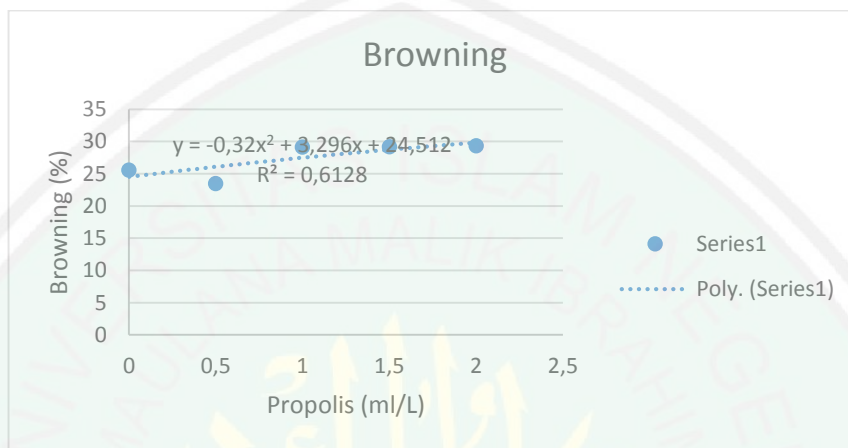
Tingginya tingkat kontaminasi pada perlakuan propolis tersebut diduga karena propolis merupakan bahan antibiotika alami yang bersifat tidak membunuh bakteri dan jamur, namun hanya bersifat pengendalian atau menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Agustrina (2011) menyatakan bahwa senyawa aktif propolis yang memberikan efek antibakteri adalah pinochembrin, galangin, asam kafeat, dan asam ferulat. Senyawa antifunginya adalah pinochembrin, pinobanksin, asam kafeat, benzil ester, sakuranetin, dan pterostilbene. Abidin (2010) menyatakan bahwa propolis pada konsentrasi tertentu memiliki peranan simbiotik terhadap beberapa spesies bakteri probiotik.

Hasil pengamatan persentase browning pada perlakuan propolis tidak menunjukkan pengaruh yang nyata. Pada beberapa konsentrasi hanya menunjukkan persentase browning sebanyak 20% dibandingkan perlakuan lain yang tidak mengalami browning yaitu pada konsentrasi 0,5 ml/L. Pemberian antibiotika propolis dengan konsentrasi yang cukup tinggi diduga mampu membuat eksplan mengalami stress. Collin dan Edward (1998) diacu dalam Denish (2007) menyatakan bahwa terjadinya stress yang terjadi pada eksplan (tanaman) dapat membuat eksplan memproduksi senyawa fenolik yang akhirnya dapat mengakibatkan terjadinya pencoklatan (*browning*) pada eksplan.

Menurut Pujirahayu (2014) bahwa propolis mengandung sangat tinggi senyawa yang bersifat antioksidan, antibakteri, antijamur, antivirus dan anti-inflamasi. Penelitian lain melaporkan bahwa propolis menghambat pembelahan sel bakteri dan juga menghancurkan dinding sel bakteri dan sitoplasma, seperti

halnya cara kerja antibiotik yang dijual pasaran (Qiao, 1991 dalam Takaishi, 1994).

Berikut disajikan kurva browning tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis.

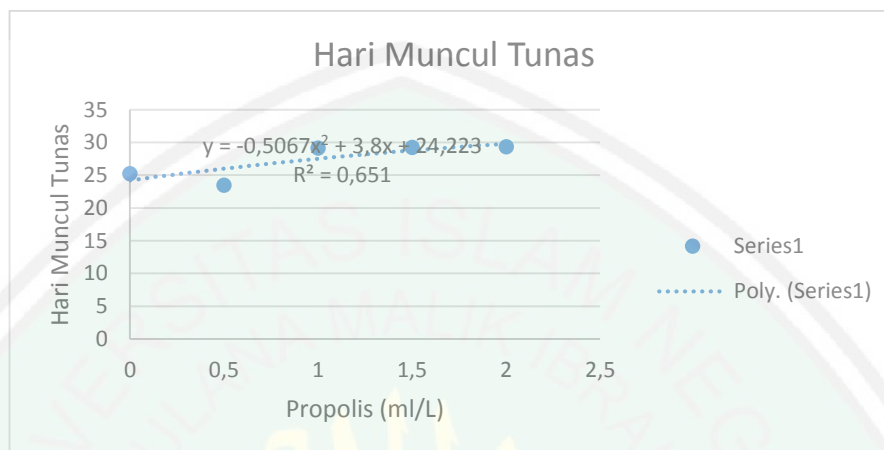


Gambar 4.5 Kurva Browning Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi Propolis (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.10 dapat diketahui bahwa kurva browning dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis (ml/L) menghasilkan persamaan $y = -0,32x^2 + 3,296x + 24,512$ dengan nilai determinasi $R = 0,6128$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi propolis terhadap tingkat browning tanaman sirsak dengan nilai kepercayaan sebesar 61%. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa dengan pemberian konsentrasi propolis 0,8 ml/L dapat menimbulkan browning kultur sirsak sebanyak 61%, sehingga semakin tinggi konsentrasi propolis yang diberikan maka semakin tinggi pula tingkat browning pada kultur tanamn sirsak.

Menurut Halim et al. (2012), komponen bioaktif utama dalam propolis adalah α -Amyrin, cyclolanost, turunan fenol (termasuk senyawa resorsinol), senyawa eudesmane, senyawa ethyl acridine, senyawa lupeol, senyawa friedooleanan, dan senyawa pirimidin. Adanya kandungan fenol

dalam propolis dapat menyebabkan kematian eksplan. Berikut disajikan kurva hari muncul tunas tanaman sirsak dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis.



Gambar 4.6 Kurva Hari Muncul Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Konsentrasi Propolis (ml/L).

Berdasarkan gambar 4.11 dapat diketahui bahwa kurva browning dengan pemberian berbagai konsentrasi propolis (ml/L) menghasilkan persamaan $y = -0,5067x^2 + 3,8x + 24,223$ dengan nilai determinasi $R = 0,651$ artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi propolis terhadap hari muncul tunas tanaman sirsak dengan nilai kepercayaan sebesar 65%. Berdasarkan kurva tersebut perlakuan PPM hari munculnya tunas pada konsentrasi 0,5 ml/L induksi tunas tanaman sirsak lebih cepat jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

4.3 Pengaruh Interaksi Antibiotika (*Plant Preservative Mixture* dan Propolis) terhadap Tingkat Keberhasilan Kultur *In Vitro* Sirsak

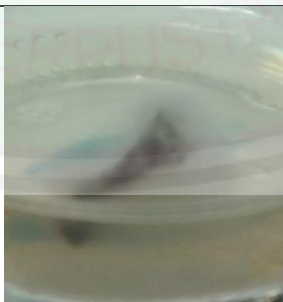
Plant Preservative Mixture yang merupakan antibiotika sintetis dan propolis antibiotika alami dikombinasikan untuk mengurangi tingkat kontaminasi pada kultur *in vitro* sirsak. Berikut ringkasan hasil analisis variansi disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Variansi (ANAVA) Pengaruh Interaksi Antibiotika PPM dan Propolis terhadap Tingkat Kontaminasi dan Pertumbuhan Tunas Kultur *In Vitro* Sirsak (*Annona muricata* L.)

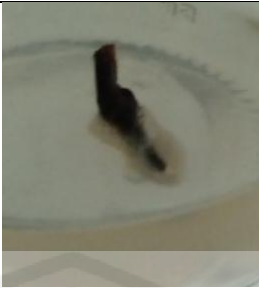
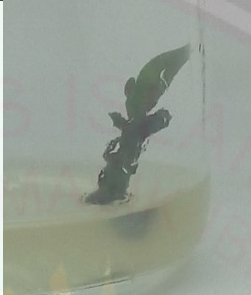
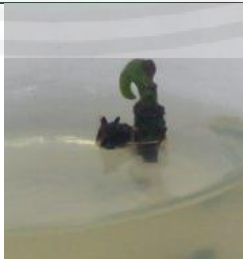
Variabel Pengamatan	F Hitung	F Tabel 5%	Sig.
Hari muncul tunas	0,725	2,74	0,763 ^{tn}
Persentase hidup	0,661	2,74	0,825 ^{tn}
Kontaminasi jamur	1,032	2,74	0,430 ^{tn}
Kontaminasi bakteri	0,526	2,74	0,955 ^{tn}
Browning	1,058	2,74	0,405 ^{tn}

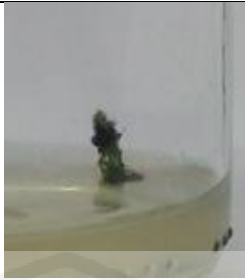
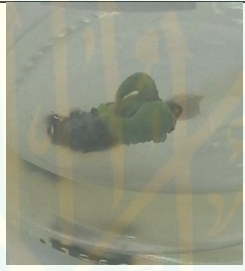
Berdasarkan hasil Anava menunjukkan bahwa pemberian kombinasi antibiotika PPM dan propolis tidak memberikan pengaruh nyata pada variabel pengamatan kultur *in vitro* sirsak. Hal ini terlihat pada nilai F Hitung yang lebih kecil dari F Tabel 5%, sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut (Lampiran 2). Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya interaksi antara PPM dan Propolis diduga karena beberapa perbedaan mekanisme kedua antibiotika tersebut menyebabkan bertambahnya daya resistensi bakteri dan jamur penyebab kontaminasi (Jones, 1996). Dapat diketahui bahwa Propolis dan PPM hanya dapat bekerja sendiri-sendiri tanpa adanya kombinasi. Keefektifan antibiotika juga tergantung pada lokasi infeksi dan kemampuan antibiotika mencapai lokasi tersebut. Propolis dan PPM merupakan antibiotika yang tidak memiliki efek samping, namun jika diberikan dengan konsentrasi yang berlebihan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan eksplan.

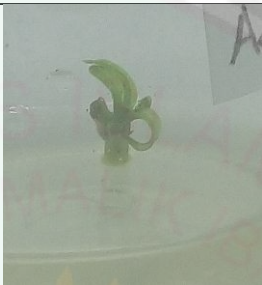
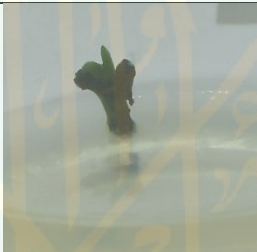
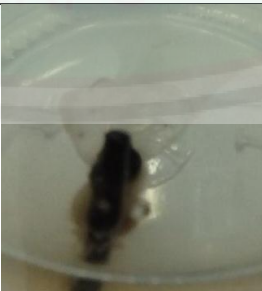
Tabel 4.6 Gambar Hasil Penelitian pada Pengamatan 30 HST

No.	Perlakuan	Gambar		Keterangan
1	A0B0 (PPM 0 ml/L + propolis 0 ml/L)			Kontaminasi jamur
2	A0B1 (PPM 0 ml/L + propolis 0,5 ml/L)			Tumbuh tunas
3	A0B2 (PPM 0 ml/L + propolis 1 ml/L)			Kontaminasi jamur
4	A0B3 (PPM 0 ml/L + propolis 1,5 ml/L)			Kontaminasi jamur

5	A0B4 (PPM 0 ml/L + propolis 2 ml/L)		Kontaminasi bakteri
6	A1B0 (PPM 0,5 ml/L + propolis 0 ml/L)		Tumbuh tunas Browning
7	A1B1 (PPM 0,5 ml/L + propolis 0,5 ml/L)		Tumbuh tunas
8	A1B2 (PPM 0,5 ml/L + propolis 1 ml/L)		Browning
9	A1B3 (PPM 0,5 ml/L + 1,5 ml/L)		Kontaminasi jamur

10	A1B4 (PPM 0,5 ml/L + propolis 2 ml/L)		Kontaminasi bakteri Browning
11	A2B0 (PPM 1 ml/L + propolis 0 ml/L)		Tumbuh tunas
12	A2B1 (PPM 1 ml/L + propolis 0,5 ml/L)		Tumbuh tunas
13	A2B2 (PPM 1 ml/L + propolis 1 ml/L)		Tumbuh tunas
14	A2B3 (PPM 1 ml/L + propolis 1,5 ml/L)		Tumbuh tunas

15	A2B4 (PPM 1 ml/L + propolis 2 ml/L)		Tumbuh tunas
16	A3B0 (PPM 1,5 ml/L + propolis 0 ml/L)		Tumbuh tunas
17	A3B1 (PPM 1,5 ml/L + propolis 0,5 ml/L)		Tumbuh tunas
18	A3B2 (PPM 1,5 ml/L + propolis 1 ml/L)		Tumbuh tunas
19	A3B3 (PPM 1,5 ml/L + propolis 1,5 ml/L)		Browning

20	A3B4 (PPM 1,5 ml/L + propolis 2 ml/L)		Kontaminasi jamur
21	A4B0 (PPM 2 ml/L + propolis 0 ml/L)		Tumbuh tunas
22	A4B1 (PPM 2 ml/L + propolis 0,5 ml/L)		Tumbuh tunas
23	A4B2 (PPM 2 ml/L + propolis 1 ml/L)		Kontaminasi bakteri
24	A4B3 (PPM 2 ml/L + propolis 1,5 ml/L)		Kontaminasi bakteri

25	A4B4 (PPM 2 ml/L + propolis 2 ml/L)		Browning
----	---	---	----------

4.4 Analisa Nalar Spiritual Islam

Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan di muka bumi ini dengan segala kesempurnaannya dari yang mati menjadi hidup dan yang hidup menjadi mati. Manusia hanya mempelajari bahwa penciptaan tumbuhan tersebut membutuhkan suatu proses atau tahap-tahap dalam pembentukannya, seperti halnya tumbuhan yang membutuhkan nutrisi dan unsur hara untuk proses pertumbuhannya sehingga dapat tumbuh dengan baik. Allah SWT berfirman dalam Surah Fushshilat/41:39.

وَمِنْ ءَايَاتِهِ أَنْتَ تَرَى الْأَرْضَ خَاشِعَةً فَإِذَا أَنْزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ إِنَّ الَّذِي أَحْيَاهَا لَمُحْيِ الْمَوْتِ إِنَّهُ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٣٩﴾

Artinya: “Dan di antara tanda-tanda-Nya (Ialah) bahwa kau lihat bumi kering dan gersang, maka apabila Kami turunkan air di atasnya, niscaya ia bergerak dan subur. Sesungguhnya Tuhan Yang menghidupkannya, Pastilah dapat menghidupkan yang mati. Sesungguhnya Dia Maha Kuasa atas segala sesuatu”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa bumi atau tanah merupakan bagian yang paling dasar dari penciptaan tumbuhan, karena tanah merupakan media bagi tumbuhan untuk hidup di atasnya. Hal ini diperkuat oleh pendapat Sasmitamihardja dan Siregar (1985) bahwa tanah merupakan sumber nutrisi dan tempat melekatkan diri dengan akar tumbuhan. Oleh karena itu, tanah yang mengandung banyak nutrisi dan unsur hara sangat dibutuhkan oleh tumbuhan.

Pada era ini, tanaman tidak hanya tumbuh di tanah, melainkan tumbuh di beberapa jenis media yang mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup, seperti halnya teknik kultur jaringan. Kultur jaringan sendiri adalah teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman dan menumbuhkannya dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh sehingga bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009).

Media dalam kultur jaringan memiliki pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan, karena media merupakan tanah yang harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman sehingga tanaman tersebut dapat tumbuh dengan baik. Menurut Alitalia (2008) faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* adalah eksplan, media tanam, kondisi fisik media, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan lingkungan tumbuh. Penelitian ini menggunakan kombinasi antibiotika alami dan sintetis untuk meminimalisir kontaminasi yang terjadi pada kultur *in vitro* sirsak. Antibiotika alami yang digunakan yaitu propolis dan antibiotika sintetis yang digunakan yaitu *Plant Preservative Mixture* (PPM).

Menurut Probawati (2011) PPM dan propolis merupakan antibiotika yang sama-sama memiliki spektrum luas sehingga mampu menghambat terjadinya pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Diduga adanya kombinasi dari antibiotika sintetis dan alami yang seimbang mampu memberikan respon positif terhadap adanya kontaminasi baik berasal dari bakteri maupun jamur yang terjadi pada kultur jaringan. Allah berfirman dalam surah Al-A'la: ayat 1-4:

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

Artinya: “*Sucikanlah nama Tuhanmu Yang Maha Tinggi. Yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya). Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk. Dan yang menumbuhkan rumput-rumputan.*”

Makna ayat ke-3 dari surah A-A’laa menurut Shihab (1996), Allah SWT telah memberi kadar atau ukuran atau batas tertentu dalam diri, sifat atau kemampuan maksimal makhluk-Nya. Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadar masing-masing, dan mengisyaratkan bahwa terdapat rahasia dibalik kata “kadar” yang harus dikaji dan dipelajari. Sehingga dalam penelitian ini dilakukan beberapa percobaan dengan berbagai konsentrasi PPM dan propolis untuk mengetahui pada kadar konsentrasi berapa PPM dan propolis dapat mengurangi tingkat kontaminasi eksplan sirsak (*Annona muricata* L.). kadar konsentrasi yang digunakan adalah PPM: 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L, dan 2 ml/L sedangkan propolis: 0 ml/L, 0,5 ml/L, 1 ml/L, 1,5 ml/L, dan 2 ml/L. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi yang optimum yaitu dengan penambahan PPM 1 ml/L + propolis 0,5 ml/L yang ditandai dengan tingginya persentase keberhasilan dan rendahnya persentase kematian.

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah SWT menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Seperti yang ditunjukkan oleh eksplan tanaman sirsak yang dapat tumbuh hingga membentuk tunas. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai manusia yang memiliki akal dan sebagai khalifah untuk semakin mendekatkan diri kepada Allah SWT. Manusia sebagai khalifah di bumi, tentunya memiliki tugas khusus dan tanggung jawab yang spesifik. Salah satu tugas manusia adalah

berusaha semaksimal mungkin untuk mengatur kehidupan yang seimbang menggunakan akal yang itu merupakan anugerah Allah SWT.

Ilmu pengetahuan diartikan sebagai segala data atau informasi yang diberikan Allah SWT untuk manusia, baik itu melalui ayat *qauliyah* maupun *kauniyah*-Nya. Adalah tugas manusia untuk melakukan pengamatan terhadap semua itu. Berbagai percobaan dan sejenisnya dilakukan untuk mencari ilmu-ilmu yang telah disediakan Allah, namun belum diketahui manusia. Sehingga setelah memperolehnya manusia mengaplikasikannya dalam kehidupan sehari-hari. Dalam hal ini adalah teknik kultur jaringan tumbuhan yang sebelumnya hanya diketahui siklus kehidupan tumbuhan seperti proses perkecambahan hingga menjadi biji kembali. Kemudian perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi menunjukkan teknik baru untuk mempercepat dan mempermudah siklus tumbuhan tersebut sehingga menjadi kultur jaringan tumbuhan.

Contoh pola seorang muslim terhadap ayat-ayat Allah SWT, *qauliyah* dan *kauniyah*, adalah mutlak benar dan tidak mungkin bertentangan karena keduanya berasal dari Allah SWT. Ilmu pengetahuan yang telah terbukti secara empirik selalu saja selaras dengan Al-Qur'an. Para peneliti seharusnya tidak berhenti pada level observasi, melainkan harus berusaha mencapai level orang yang berakal, *ulul-albab*, seperti yang dijelaskan dalam ayat berikut (Lajnah Pentashihan Al-Qur'an, Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI, 2011):

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٧١﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ
 اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطِيلًا
 سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٧٢﴾

Artinya: *“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (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.”* (Ali ‘Imran/3: 190-191)

Menurut Tafsir Ibnu Katsir “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring” maksudnya mereka tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun dengan lisan mereka. *“dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi”* maksudnya mereka memahami apa yang terdapat pada keduanya (langit dan bumi) dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah, kekuasaan-Nya, keluasan ilmu-Nya, hikmah-Nya. Pilihan-Nya, dan juga rahmat-Nya. Sungguh Allah mencela orang yang tidak mengambil pelajaran tentang makhluk-makhluk-Nya yang menunjukkan kepada Dzat-Nya, sifat-Nya, syari’at-Nya, kekuasaan-Nya, dan tanda-tanda (kekuasaan)-Nya. *“ Ya Tuhan kami, tiadalah engkau menciptakan ini dengan sia-sia”* artinya, Engkau tidak menciptakan semuanya ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa-apa yang telah mereka kerjakan dan juga memberikan balasan orang-orang yang beramal baik dengan balasan surga (Al-Jazairi, 2007).

Mereka menyucikan Allah dari perbuatan sia-sia dan penciptaan yang bathil seraya berkata *“Maha Suci Engkau”* yakni dari penciptaan sesuatu yang sia-sia. *“maka peliharalah kami dari siksa neraka”* maksudnya wahai wahai Rabb yang menciptakan makhluk ini dengan sungguh-sungguh dan adil. Wahai Dzat yang jauh dari kekurangan, aib, dan kesia-siaan, peliharalah kami dari adzab

neraka dengan dan kekuatan-Mu dan berikanlah taufik kepada kami dalam menjalankan amal shaleh yang dapat mengantarkan kami ke surga serta menyelamatkan kami dari adzab-Mu yang sangat pedih (al-Jazairi, 2007). Ayat di atas menjelaskan bahwa orang-orang yang senantiasa mengingat Allah SWT dalam keadaan duduk dan berbaring sambil berdo'a kepada Allah berarti mereka selalu mengingat Allah SWT dalam keadaan bagaimanapun. Mereka selalu menggunakan akal pikiran dalam mempelajari segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di langit dan di bumi.

Orang yang menggunakan akal pikiran dalam mempelajari ciptaan Allah SWT dapat mengetahui berbagai permasalahan mengenai ilmu yang dipelajarinya, sehingga dapat mengatasi permasalahan tersebut. Dalam hal ini seperti permasalahan budidaya sirsak yang sangat tinggi permintaan konsumen karena khasiatnya sedangkan jumlah persediaan yang terbatas. Sehingga perlu dilakukan budidaya menggunakan teknik kultur jaringan untuk memperoleh persediaan tanaman sirsak yang lebih banyak. Akan tetapi kultur jaringan ini pun juga memiliki masalah utama yaitu kontaminasi. Oleh karena itu manusia sebagai khalifah harus memiliki suatu tindakan sebagai wujud rasa syukur kepada Allah SWT dan sebagai wadah untuk mengembangkan ilmu pengetahuannya.

Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah menciptakan tanaman yang berkhasiat obat dalam hal ini yaitu tanaman sirsak sehingga dapat dimanfaatkan oleh manusia. Dalil tentang manfaat tumbuhan untuk kehidupan manusia sudah ada dalam Al-Qur'an, akan tetapi penelitian mengenai manfaat tersebut perlu diketahui sendiri oleh manusia sehingga dapat diambil pelajaran.

Secara akademis penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dasar mengenai pemberian jenis antibiotik (*Plant Preservative Mixture* dan Propolis) dan kombinasi konsentrasi yang baik untuk meningkatkan keberhasilan kultur *in vitro* sirsak (*Annona muricata* L.) sehingga dapat meningkatkan budidaya tanaman sirsak sebagai tanaman obat.

Bagi penulis sendiri penelitian ini diharapkan dapat menumbuhkan kesadaran dan intropeksi diri sebagai khalifah di bumi untuk dapat mengatur kehidupan yang seimbang. Manusia diharapkan dapat menjaga eksistensi keanekaragaman di bumi dan semua tingkat kehidupan, dalam sumber dayanya dan juga dalam keindahannya. Hal ini merupakan tanggung jawab manusia sebagai khalifah di bumi. Penelitian ini diharapkan dapat memahami masyarakat pentingnya sirsak sebagai tanaman berkhasiat obat sehingga budidaya sirsak dapat dikembangkan dan dapat mengingatkan masyarakat mengenai tugas manusia dalam menjaga alam ini sehingga dapat menambah keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh antibiotika *Plant Preservative Mixture* dan propolis terhadap keberhasilan kultur *in vitro* sirsak (*Annona muricata* L.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Antibiotika *Plant Preservative Mixture* memberikan berpengaruh terhadap semua variabel kecuali variabel kontaminasi jamur. Konsentrasi PPM 1 ml/L media efektif mempercepat hari muncul tunas, persentase hidup, dan kontaminasi bakteri.
2. Antibiotika Propolis berpengaruh nyata pada variabel hari muncul tunas, persentase hidup, dan browning. Pemberian Propolis dengan konsentrasi 0,5 ml/L ke dalam media efektif dalam meningkatkan persentase hidup dan menurunkan kontaminasi bakteri meskipun berpotensi meningkatkan browning.
3. Tidak ada interaksi antibiotika PPM dan Propolis terhadap tingkat keberhasilan dan pertumbuhan tunas kultur *in vitro* sirsak.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain:

1. Penggunaan eksplan untuk tunas harus benar-benar dalam kondisi yang sama baik bagian tunas, umur tunas dan lingkungan tunas.
2. Konsentrasi propolis sebaiknya menggunakan konsentrasi yang rendah maksimal 1,5 ml/L.

3. Perlu dilakukan kajian lebih mendalam mengenai penggunaan antibiotika PPM dan propolis dengan meningkatkan jumlah ulangan untuk mendapatkan untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.
4. Pemakaian antibiotika dalam kultur jaringan tumbuhan seperti PPM dan Propolis tidak perlu dikombinasikan karena lebih efektif digunakan masing-masing.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. 2011. *Prinsip Dasar Kultur Jaringan*. Bandung: Alfabeta
- Abidin, S. 2010. Peran Propolis *Trigona sp.* Asal Pandeglang terhadap Tiga Bakteri Asam Laktat. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Acquaah, G. 2004. *Understanding Biotechnology*. New Jersey: Pearson Education, Inc
- Adewole, S., Ojewole, J. 2009. Protective Effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-treated Diabetic Rats. *Arf. J. Tradit. Complement Altern. Med.* 6, 30–41
- Al-Burusawi, I.H.. 1996. *Tafsir Ruh a-Bayan Jilid 6*. Diterjemahkan oleh Syihabuddin. Bandung: CV Diponegoro
- Al-Jazairi, S.A.B.J. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus sunnah Press
- Al-Qurthubi, S.I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 13*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Al-Sheikh, A. diterjemah oleh Ghoffar, M. 1994. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 7*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal
- Alali, F.Q., Liu, X.X., MscLaughlin, J.L. 1999. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *J. Nat. Prod.* 62 (3), 504–540
- Alawa, C.B.I., Adamu, A.M., Gefu, J.O., Ajanusi, O.J., Abdu, P.A., Chiezey, N.P., Alawa, J.M., Bowman, D.D. 2003. In vitro Screening of Nigerina Medicinal Plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for Anthelmintic Activity. *Veterinary Parasitology*. 113, 73–81
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Anggrainy, Y.D. 2015. Pengaruh Media Dasar dan Konsentrasi 2-iP pada Pertumbuhan Stek Mikro Tanaman Zaitun (*Olea europaea* L.). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Bento, E.B. 2016. Antiulcerogenic Activity of The Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Annona muricata* Linnaeus in Mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*. Xxx, xxx-xxx
- Bezoen, A., Haren, H.W., Hanekamp, J.C. 2001. *Antibiotics: Use and Resistance Mechanisms*. Nederland: Human Health and Antibiotic Growth Promoters (AGPs), Geidelberg Appeal.

- Boyom, FF., Kemgne, E.M., Tepongning, R., Ngouana, V., Mbacham, W.F., Tsamo, E., Zollo, P.H.A., Gut, J., Rosenthal, P.J. 2009. Antiplasmodial Activity of Extracts from Seven Medicinal Plants Used in Malaria Treatment in Cameroon. *J. Ethnopharmacol.* 123, 483–488
- Bridg, H. 2000. Micropropagation and Determination of the in Vitro Stability of *Annona cherimola* Mill. and *Annona muricata* L. *Dissertation*. Fakultät der Humboldt Universität zu Berlin, Germany
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A.. 1998. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed.* Prentice Hall International Inc. 145–176
- Burdock, G.A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol.* 36: 347-63
- Chen, Y., Xu, S.S., Chen, J.W., Wang, Y., Xu, H.Q., Fan, N.B., Li, X., 2012. Anti-tumor Activity of *Annona squamosa* Seeds Extract Containing Annonaceous Acetogenin Compounds. *J. Ethnopharmacol.* 142, 462–466
- Collin, H.A., Edwards, S. 1998. *Plant Cell Culture*. Singapore: Pte Ltd. Hlm 59-60
- Compton, M.E. dan Koch, J.M. 2001. Influence of Plant Preservative Mixture (PPM)TM on Adventitious Organogenesis in Melon, Petunia, and Tobacco. *In Vitro cell. Dev. Biol.-Plant* 37: 250-261
- Darmono, D.W. 2003. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Denish, A. 2007. Percobaan Perbanyak Vegetatif Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco) Melalui Kultur Jaringan. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Drago, L., Mombelli, B., DE Veechi, E., Fassina, MC., Tocalli, L., Gismondo, MR., 2000. *In vitro* Antimicrobial Activity of Propolis Dry Extract. *Journal of Chemother.* 12(1): 390-395
- Faizy, H.S., Al-Zubaydi, S.R., dan Nair, M. 2017. Effect of Plant Preservative Mixture PPMTM on the Shoot Regeneration of Watercress (*Nastrium officinale*). *Science Journal of University of Zakho*. Vol. 5, No. 2, pp. 187-192
- Fredika, E. 2002. Masalah potensi dan saran solusi pengembangan komoditi buah di Kabupaten Solok. *Jurnal Ilmu Pertanian Farmingl*: 18-21
- Fuller, M. dan T. Pizzey. 2001. Teaching Fast and Reliable Plant Tissue Culture Using PPM and Brassicas. *Acta horticulturae*: p. 567-570
- Gale, E.F., Cundliffe, E., Reynolds, P.E., Richmond, M.H., Waring, M.J. 1972. *The Molecular Basis of Antibiotic Action*. Inggris: John Wiley & Sons Ltd
- George, E.F., Sherrington, P.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England (GB): Eastern Pr.

- George, M.W., Tripepi, R.R. 2001. Plant Preservative Mixture™ can Affect Shoot Regeneration from Leaf Explants of Chrysanthemum, European birch, and Rodhodendron. *Hort Science* 36 (4) : 768–769
- Ghisalberti, E.L. 1979. *Propolis: a Review*. *Bee World*.; 60:59–84.
- Gunawan, L.W. 1987. *Pengendalian Teknik In Vitro*. Bogor. Laboratorium Kultur. Jaringan Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. hlm. 304
- Gunawan, I. 2007. Perlakuan Sterilisasi Eksplan Anggrek Kuping Gajah (*Bulbophyllum beccarii* Rchb.f). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Halim, E., Hardinsyah, S.N., Sulaeman, A., Artika, M., dan Harahap, Y. 2012. Kajian Bioaktif dan Zat Gizi Propolis Indonesia dan Brazil. *J Giz Pang*. 7(1): 1-6.
- Harbone H.B. 1987. *Metode Fitokimia I. Ed ke-2*, Penerjemah: Padmawinat K. Bandung: ITB. Terjemahan dari Phytochemical Methode
- Harjadi, S.S. 1993. *Pengantar Agronomi*. Jakarta: Gramedia
- Herawan, G., Ismail, B.. 2009. Penggunaan Kombinasi Auksin dan Sitokinin untuk Menginduksi Tunas pada Kultur Jaringan Sengon (*Falcataria moluccana*) Menggunakan Bagian Kotiledon. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3(1) :23-31.
- Hidayat, O. 2009. Kajian Penggunaan Hormon IBA, BAP, dan Kinetin terhadap Multiplikasi Tunas Tumbuhan Penghasil Gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke) secara *In Vitro* [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor
- Hutami, S. 2008. Ulasan Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen* 4(2) :83-88.
- Jones, RN. 1996. Impact of Changing Pathogens and Antimicrobial Susceptibility Patterns in the Treatment of Serious Infections in Hospitalized Patients. *Amer J. Medicine*. 100 (suppl 6A), 13S –12S
- Junqueira, N.T.V., Oliveira, M.A.S., Icuma, I.M., Ramos, V.H.V., 1999. Cultura da Graviola. In: Silva, J.M.M. (Ed.), Incentivo a`fruticultura no Distrito Federal: Manual de fruticultura, second ed. *OCDF. Brasí'lia*.
- Kaihena, M. 2013. Propolis sebagai Imunostimulor terhadap Infeksi *Micobacterium tuberculosis*. Prosiding FMIPA Universitas Pattimura, 69-80
- Kurz, W.G.W. dan Constabel, F. 1991. *Produksi dan Isolasi Metabolit Sekunder*. dalam L. R. Wetter dan Constabel F. *Metode Kultur Jaringan Tanaman* (diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto). Bandung: Penerbit ITB.
- Kusumaningsih, N.A. 2015. Pengaruh Media Dasar dan Konsentrasi BAP terhadap Pertumbuhan Stek Buku Tunggal *In vitro* Tanaman Zaitun (*Olea*

- europaea* L.). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, Badan Litbang, Diklat Kemenag RI, dan LIPI. 2011. *Tafsir Ilmi Tumbuhan dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen* 7(1) :63-68.
- Lima, L.A.R.S., Johann, S., Cisalpino, P.S., Pimenta, L.P.S., Boaventura, M.A.D. 2011. Antifungal Activity of 9-hydroxy-foliarin and Sucrose Octaacetate from the Seeds of *Annona cornifolia* A. St. -Hil. (Annonaceae). *Food Res. Int.* 44, 2283–2288
- Lima, M.D. 2007. Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência (Dissertação de Mestrado). *Universidade Federal de Alagoas, Maceió*, AL, p. 102
- Lofty, M. 2006. Biological Activity of Bee Propolis in Health and Disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. p 7
- Luna, J.S., Carvalho, J.M., Lima, M.R.F., Bieber, L.W., Bento, E.S., Franck, X., Santana, A.E.G. 2006. Acetogenins in *Annona muricata* L. (Annonaceae) leaves are potent molluscicides. *Nat. Prod. Res.* 20 (3), 253–257.
- Mahmoud, S.N., Dan, A.N.K. 2016. Effect of Different Sterilization Methods on Contamination and Viability of Nodal Segments of *Cestrum nocturnum* L. *International Journal of Research Studies in Biosciences*. Vol. 4 PP 4-9
- Moghadamtousi, S.Z., Rouhollahi, E., Karimian, H. 2014. Gastroprotective Activity of *Annona muricata* Leaves Against Ethanol-induced Gastric Injury in Rats Via Hsp70/Bax Involvement. *Drug Des. Devel. Ther.* 8, 2099–2110
- Muhammad, Al-Imam Jalaluddin. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba
- Najati, A. 2016. Induksi Tunas Lateral Keji Beling (*Strobilantes crispus*) Menggunakan Kombinasi IBA dan BAP pada Media MS secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang
- Nasir, M. 2001. *Pengantar Pemuliaan Tanaman*. Direktorat Jendral, Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta.
- Nasution, S.S. 2013. Pengaruh Teknik Sterilisasi terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan *Paulownia* (*Paulownia elongata* SY. Hu) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor
- Neu, H.C., Goots, T.D. 2001. *Antimicrobial Chemotherapy*. Medmicro.
- Ndjonka, D., Agyare, C., Lüersen, K., Djafsia, B., Achukwi, D., Nukenine, E.N., Hensel, A., Liebau, E., 2011. In vitro Activity of Cameroonian and Ghanaian Medicinal Plants on Parasitic (*Onchocerca ochengi*) and Free-

- living (*Caenorhabditis elegans*) Nematodes. *Journal of Helminthology*. 85, 304–312
- Niedz, R.P. 1998. Using Isothiazolone Biocides to Control Microbial and Fungal Contaminants in Plant Tissue Cultures. *Hort Technology*. 8(4): p. 598-601
- Nurtjahjaningsih. 2009. Pengaruh Media Dasar dan Zat Pengatur Tumbuh BAP pada Perbanyakan Mikro *Pinus merkusii*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 3(3):103-116.
- Parmar, N.S., Parmar, S. 1998. Anti-ulcer potential of flavonoids. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 42 (3), 343–351
- Plant Cell Technology. 2018. <https://www.plantcelltechnology.com/ppm-product-information/> (Jumat, 4 Januari 2019)
- Ponganan, A.V. 2004. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh NAA dan IBA terhadap Pertumbuhan Stek Mini Pule Pandak (*Rauwolfia serpentina* Benth.) Hasil Kultur *In Vitro*. *Skripsi*. Departemen Konservasi Sumberdaya Hutan. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor
- Probowati, D.W.N. 2011. Pengaruh Pemberian Antibiotika pada Kultur *in vitro* Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R.Br). *Skripsi*. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor
- Pujirahyu, N., Ritonga, H., Uslinawaty, Z. 2014. Properties and Flavonoids Content in Propolis of Some Extraction Method of Raw Propolis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 6, Issue 6.
- Reis, C.N. 2011. *Annona muricata*: análise química e biológica dos frutos de graviroleira (Dissertação (Mestrado)), *Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro*. p. 150
- Rondon, F.C., Bevilacqua, C.M.L., Accioly, M.P., Morais, S.M., Andrade-Junior, H.F., Machado, L.K., Cardoso, R.P., Almeida, C.A., Queiroz-Junior, E.M., Rodrigues, A.C. 2011. In vitro Effect of *Aloe vera*, *Coriandrum sativum* and *Ricinus communis* fractions on *Leishmania infantum* and on murine monocytic cells. *Vet. Parasitol.* 178, 23–240
- Sandra, E. 2010. Mencegah Kontaminasi dalam Kultur Jaringan. <http://eshafloa.blogspot.com/2010/08/kontaminasi-dalam-pengembangan-kultur.html> [Kamis, 1 Juni 2017]
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang (ID): UMM Press.
- Saputra, I. 2009. Aktivitas Antibakteri Mikrokapsulasi Propolis *Trigona* sp. Pandeglang setelah Terpapar Cairan Rumen Sapi. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Sari, P.M.P. 2017. Penggunaan Propolis sebagai Bahan Sterilisasi Eksplan dan Media dalam Kultur *In Vitro* Kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

- Shonhaji, A. 2014. Efektivitas Sterilisasi Eksplan Lpang *Acacia mangium* Willd dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Siswandono, Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sousa, O.V., Vieira, G.D.V., Pinho, De J.d.J.R., Yamamoto, C.H., M.S. Alves. 2010. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. *Int. J. Mol. Sci.* 11 2067-2078
- Souza, M.M., Bevilaqua, C.M., Morais, S.M., Costa, C.T., Silva, A.R., Braz-Filho, R. 2008. Anthelmintic Acetogenin from *Annona squamosa* L. Seeds. *Anais Academia Brasileira Ciências*. 80, 271–277.
- Sudigdoadi, Sunarjati. 2002. Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik pada Infeksi Bakteri. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran
- Sudjijo. 2011. Perbaikan Mutu Buah Sirsak Melalui Polinasi. *Badan Litbang Pertanian*. Solok
- Suratman, Pitoyo, A., Mulyani, S. 2013. Keefektifan Penggunaan Bahan Sterilisasi dalam Pengendalian Kontaminasi Eksplan pada Perbanyakan Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) secara *In Vitro*. Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta
- Suseno, D. 2009. Aktivitas Antibakteri Propolis *Trigona* sp. pada Dua Konsentrasi Berbeda terhadap Cairan Rumen Sapi. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Sunyoto, Rahmawati, F., Erdiana, M. 2013. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid pada Simplisia Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Soxhletasi dan Kromatografi Lapis Tipis. *Motorik*. Vol. 8 No. 17
- Syatria, N. 2010. *Plant Preservative Mixture* (PPM) Bahan Kimia Pengurang Kontaminasi Mikroba. <http://tissuecultureandorchidologi.blogspot.com/2010/04/plant-preservative-mixtur-ppm.html> [Kamis, 4 Mei 2017].
- Untari, R. dan Puspitaningtyas, D.M. 2006. Pengaruh Bahan Organik NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandulata* Lindl.) dalam Kultur *in Vitro*. *Jurnal Biodiversitas*, 7(3): 344-348.
- Va'squez, P.F., Mendonça, M.S., Noda, S.N., 2014. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas. Brasil. *Acta Amazônica* 44 (4), 457–472.
- Vila-Nova, Nadja S. 2013. Different Susceptibilities of *Leishmania* sp. Promastigotes to the *Annona muricata* Acetogenins Annonacinone and

Corossolone, and the *Platymiscium floribundum* Coumarin Scoparone. *Experimental Parasitology* 133. 334-338

Winingsih, W. 2004. Kediaman Lebah sebagai Antibiotik dan Antikanker. <http://www.pikiranrakyat.com/cetak/0904/16/cakrawala/lainnya6.htm> [14 Desember 2017]

Yunita, R., Endang, Lestari, G. 2011. Perbanyakan Tanaman Pulau Pandak (*Rauwolfia serpentina* L.) dengan Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal Natur Indoesia* 14(1):68-72.

Zuanazzi, J.A.S., Montanha, J.A., 2004. Flavono'ides. In: Simo~es, C. M.O. et al. (Eds.), *Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora da UFRGS/Editora da UFSC*, Porto Alegre

Zuhud, E. 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Jakarta (ID): Agromedia Pustaka.

Zulkarnain. 2009. *Teknik Kultur Jaringan Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya*. Jakarta: PT Bumi Aksara.

Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Pertumbuhan Tunas

No	Perlakuan		Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	PP M	Propolis	1	2	3	4	5		
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,5		1	0	0	0	0	1	0,2
3	1		0	1	1	1	1	4	0,8
4	1,5		0	0	0	1	0	1	0,2
5	2		0	1	0	0	0	1	0,2
6	0	0,5	1	0	1	0	0	2	0,4
7	0,5		0	0	1	0	1	2	0,4
8	1		1	1	1	0	1	4	0,8
9	1,5		0	0	1	0	0	1	0,2
10	2		0	0	0	1	0	1	0,2
11	0	1	0	0	0	0	0	0	0
12	0,5		0	0	0	0	0	0	0
13	1		0	0	0	0	1	1	0,2
14	1,5		0	0	1	0	0	1	0,2
15	2		0	0	0	0	0	0	0
16	0	1,5	0	0	0	0	0	0	0
17	0,5		0	0	0	0	0	0	0
18	1		0	1	0	1	0	2	0,4
19	1,5		0	0	0	0	0	0	0
20	2		0	0	0	0	0	0	0
21	0	2	0	0	0	0	0	0	0
22	0,5		0	0	0	0	0	0	0
23	1		0	0	0	1	0	1	0,2
24	1,5		0	0	0	0	0	0	0
25	2		0	0	0	0	0	0	0

2. Data Pengamatan Hari Muncul Tunas

No.	Perlakuan		Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	PPM	Propolis	1	2	3	4	5		
1	0	0	30	30	30	30	30	150	30
2	0,5		15	30	30	30	30	135	27
3	1		30	14	13	14	15	86	21,5
4	1,5		30	30	30	14	30	134	26,8

5	2		30	14	30	30	30	134	26,8
6	0	0,5	15	30	13	30	30	118	23,6
7	0,5		30	15	30	30	14	119	23,8
8	1		13	14	10	30	15	82	16,4
9	1,5		30	30	12	30	30	132	26,4
10	2		30	30	30	15	30	135	27
11	0	1	30	30	30	30	30	150	30
12	0,5		30	30	30	30	30	150	30
13	1		30	30	30	30	13	133	26,6
14	1,5		30	30	25	30	30	145	29
15	2		30	30	30	30	30	150	30
16	0	1,5	30	30	30	30	30	150	30
17	0,5		30	30	30	30	30	150	30
18	1		30	18	30	22	30	130	26
19	1,5		30	30	30	30	30	150	30
20	2		30	30	30	30	30	150	30
21	0	2	30	30	30	30	30	150	30
22	0,5		30	30	30	30	30	150	30
23	1		30	30	30	13	30	133	26,6
24	1,5		30	30	30	30	30	150	30
25	2		30	30	30	30	30	150	30

3. Data Pengamatan Kontaminasi Bakteri

No	Perlakuan		Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	PPM	Propolis	1	2	3	4	5		
1	0	0	1	1	0	0	1	3	0,6
2	0,5		0	1	1	0	0	2	0,4
3	1		0	0	0	0	0	0	0
4	1,5		0	0	0	0	0	0	0
5	2		0	0	0	0	0	0	0
6	0	0,5	0	1	0	0	0	1	0,2
7	0,5		1	1	0	0	0	2	0,4
8	1		0	0	0	0	0	0	0
9	1,5		0	0	0	0	0	0	0
10	2		0	0	0	0	0	0	0
11	0	1	0	1	1	1	0	3	0,6
12	0,5		1	0	1	0	0	2	0,4
13	1		0	0	0	0	0	0	0
14	1,5		0	0	0	0	0	0	0
15	2		0	0	0	0	0	0	0
16	0	1,5	0	1	0	0	0	1	0,2

17	0,5		0	0	0	1	1	2	0,4
18	1		0	0	0	0	0	0	0
19	1,5		0	0	0	0	0	0	0
20	2		0	0	0	0	0	0	0
21	0	2	0	1	0	1	0	2	0,4
22	0,5		0	1	1	0	1	3	0,6
23	1		1	1	0	0	0	2	0,4
24	1,5		0	0	0	1	1	2	0,4
25	2		1	0	0	0	1	2	0,4
Jumlah			5	9	4	4	5	27	5,4

4. Data Pengamatan Kontaminasi Jamur

No	Perlakuan		Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	PPM	Propolis	1	2	3	4	5		
1	0	0	0	0	0	1	0	1	0,2
2	0,5		0	0	0	1	0	1	0,2
3	1		1	0	0	0	0	1	0,2
4	1,5		1	1	1	0	1	4	0,8
5	2		1	0	1	1	1	4	0,8
6	0	0,5	0	0	0	1	1	2	0,4
7	0,5		0	0	0	1	0	1	0,2
8	1		0	0	0	1	0	1	0,2
9	1,5		1	0	0	0	0	1	0,2
10	2		1	1	1	0	1	4	0,8
11	0	1	1	0	0	0	0	1	0,2
12	0,5		0	0	0	1	1	2	0,4
13	1		0	0	0	1	0	1	0,2
14	1,5		0	1	0	0	0	1	0,2
15	2		0	1	0	0	0	1	0,2
16	0	1,5	1	0	1	1	0	3	0,6
17	0,5		0	1	0	0	0	1	0,2
18	1		1	0	0	0	0	1	0,2
19	1,5		0	0	0	0	1	1	0,2
20	2		0	0	0	1	0	1	0,2
21	0	2	0	0	1	0	1	2	0,4
22	0,5		1	0	0	0	0	1	0,2
23	1		0	0	0	0	1	1	0,2
24	1,5		1	0	0	0	0	1	0,2
25	2		0	0	0	1	0	1	0,2
Jumlah			10	5	5	11	8	39	7,8

5. Data Pengamatan Browning

No.	Perlakuan		Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	PPM	Propolis	1	2	3	4	5		
1	0	0	0	0	1	0	0	1	0,2
2	0,5		0	0	0	0	1	1	0,2
3	1		0	0	0	0	0	0	0
4	1,5		0	0	0	0	0	0	0
5	2		0	0	0	0	0	0	0
6	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0
7	0,5		0	0	0	0	0	0	0
8	1		0	0	0	0	0	0	0
9	1,5		0	1	0	1	1	3	0,6
10	2		0	0	0	0	0	0	0
11	0	1	0	0	0	0	1	1	0,2
12	0,5		0	1	0	0	0	1	0,2
13	1		1	1	1	0	0	3	0,6
14	1,5		1	0	0	1	1	3	0,6
15	2		1	0	1	1	1	4	0,8
16	0	1,5	0	0	0	0	1	1	0,2
17	0,5		1	0	1	0	0	2	0,4
18	1		0	0	1	0	1	2	0,4
19	1,5		1	1	1	1	0	4	0,8
20	2		1	1	1	0	1	4	0,8
21	0	2	1	0	0	0	0	1	0,2
22	0,5		0	0	0	1	0	1	0,2
23	1		0	0	1	0	0	1	0,2
24	1,5		0	1	1	0	0	2	0,4
25	2		0	1	0	1	0	2	0,4
Jumlah			7	7	9	6	8	37	7,4

Lampiran 2. Hasil Analisis Variansi (ANAVA)

1. Hasil analisis variansi pertumbuhan tunas

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.368 ^a	24	.265	2.140	.005
Intercept	4.232	1	4.232	34.129	.000
ppm * propolis	1.312	16	.082	.661	.825
ppm	2.848	4	.712	5.742	.000
propolis	2.208	4	.552	4.452	.002
Error	12.400	100	.124		
Total	23.000	125			
Corrected Total	18.768	124			

a. R Squared = ,339 (Adjusted R Squared = ,181)

TT

Duncan

ppm	N	Subset	
		1	2
ppm 2 ml/l	25	.08	
ppm 0 ml/l	25	.08	
ppm 0,5 ml/l	25	.12	
ppm 1,5 ml/l	25	.12	
ppm 1 ml/l	25		.48
Sig.		.711	1.000

TT

Duncan

propolis	N	Subset		
		1	2	3
propolis 2 ml/l	25	.04		
propolis 1 ml/l	25	.08	.08	
propolis 1,5 ml/l	25	.08	.08	
propolis 0 ml/l	25		.28	.28

propolis 0,5 ml/l	25			.40
Sig.		.699	.051	.216

2. Hasil analisis variansi pada hari muncul tunas sirsak

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HMT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1706.352 ^a	24	71.098	2.644	.000
Intercept	93352.448	1	93352.448	3.471E3	.000
ppm	716.272	4	179.068	6.659	.000
propolis	723.152	4	180.788	6.723	.000
ppm * propolis	266.928	16	16.683	.620	.861
Error	2689.200	100	26.892		
Total	97748.000	125			
Corrected Total	4395.552	124			

HMT

Duncan

ppm	N	Subset	
		1	2
ppm 1 ml/l	25	22.56	
ppm 0,5 ml/l	25		28.16
ppm 1,5 ml/l	25		28.44
ppm 0 ml/l	25		28.72
ppm 2 ml/l	25		28.76
Sig.		1.000	.715

HMT

Duncan

propolis	N	Subset	
		1	2
propolis 0,5 ml/l	25	23.44	

propolis 0 ml/l	25	25.56	
propolis 1 ml/l	25		29.12
propolis 1,5 ml/l	25		29.20
propolis 2 ml/l	25		29.32
Sig.		.151	.899

3. Hasil analisis variansi kontaminasi bakteri

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kbakteri

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.368 ^a	24	.265	1.793	.024
Intercept	5.832	1	5.832	39.405	.000
ppm * propolis	1.152	16	.072	.486	.949
ppm	3.488	4	.872	5.892	.000
propolis	1.728	4	.432	2.919	.025
Error	14.800	100	.148		
Total	27.000	125			
Corrected Total	21.168	124			

Kbakteri

Duncan

ppm	N	Subset	
		1	2
ppm 2 ml/l	25	.08	
ppm 1 ml/l	25	.08	
ppm 1,5 ml/l	25	.08	
ppm 0 ml/l	25		.40
ppm 0,5 ml/l	25		.44
Sig.		1.000	.714

Tests of Between-Subjects Effects**Kbakteri**

Duncan

propolis	N	Subset	
		1	2
propolis 0,5 ml/l	25	.12	
propolis 1,5 ml/l	25	.12	
propolis 0 ml/l	25	.20	
propolis 1 ml/l	25	.20	
propolis 2 ml/l	25		.44
Sig.		.510	1.000

4. Hasil analisis variansi kontaminasi jamur

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:jamur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.400 ^a	24	.100	.490	.976
Intercept	7.200	1	7.200	35.294	.000
ppm * propolis	1.760	16	.110	.539	.920
ppm	.640	4	.160	.784	.538
propolis	.000	4	.000	.000	1.000
Error	20.400	100	.204		
Total	30.000	125			
Corrected Total	22.800	124			

5. Hasil analisis variansi browning

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:browning

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8.848 ^a	24	.369	2.143	.005
Intercept	10.952	1	10.952	63.674	.000
ppm * propolis	2.912	16	.182	1.058	.405
ppm	1.888	4	.472	2.744	.033

propolis	4.048	4	1.012	5.884	.000
Error	17.200	100	.172		
Total	37.000	125			
Corrected Total	26.048	124			

browning

Duncan

ppm	N	Subset	
		1	2
ppm 0 ml/l	25	.16	
ppm 0,5 ml/l	25	.20	
ppm 1 ml/l	25	.24	.24
ppm 2 ml/l	25	.40	.40
ppm 1,5 ml/l	25		.48
Sig.		.063	.055

browning

Duncan

propolis	N	Subset	
		1	2
propolis 0 ml/l	25	.08	
propolis 0,5 ml/l	25	.12	
propolis 2 ml/l	25	.28	.28
propolis 1 ml/l	25		.48
propolis 1,5 ml/l	25		.52
Sig.		.110	.055

Lampiran 3. Bahan-bahan Penelitian



Lampiran 4. Alat-alat Penelitian



Lampiran 5 Foto Kegiatan

1. Proses pembuatan media, sterilisasi dan inisiasi



2. Proses pemeliharaan dan pengamatan





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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Kamilia Nafiatul Faizah
NIM : 13620067
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ Genap TA 2018/2019
Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.Si dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Pengaruh Jenis Antibiotik *Plant Preservative Mixture* dan Propolis pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	10 April 2017	Konsultasi judul	
2	25 April 2017	Konsultasi BAB I	
3	16 Mei 2017	Revisi BAB I	
4	18 Mei 2017	Konsultasi BAB I dan BAB II	
5	22 Mei 2017	Revisi BAB II	
6	5 Juni 2017	Konsultasi BAB I dan BAB II Integrasi	
7	12 Juni 2017	Konsultasi BAB III	
8	5 Juli 2017	Revisi BAB I, II, III dan Integrasinya	
9	20 Juli 2017	ACC BAB I, II dan III dan ACC Integrasi	
10	4 Desember 2017	Konsultasi Data	
11	11 Desember 2017	Konsultasi BAB IV dan BAB V	
12	9 April 2018	Revisi BAB IV dan V	
13	16 April 2018	Revisi BAB IV dan V	
14	30 Juli 2018	ACC Keseluruhan	
15	31 Juli 2018	Konsultasi BAB IV Integrasi	
16	8 Agustus 2018	ACC Keseluruhan Integrasi	

Pembimbing Skripsi,

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

Malang, 10 Agustus 2018
Ketua Jurusan,



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