

**INDUKSI KALUS KOMPAK CIPLUKAN *Physalis angulata* DENGAN  
PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH *Diclophenoxycetic acid* (2,4-D)  
DAN *6-Benzyl aminopurine* (BAP) SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**OLEH:  
MONIKHATUL QUDRIYYAH  
NIM. 14620089**



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

**INDUKSI KALUS KOMPAK CIPLUKAN *Physalis angulata* DENGAN  
PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH Diclophenoxycetic acid (2,4-  
D) DAN 6-Benzyl aminopurine (BAP) 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:**

**MONIKHATUL QUDRIYYAH**

**NIM. 14620089**

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

**2018**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**INDUKSI KALUS KOMPAK CIPLUKAN *Physalis angulata* DENGAN  
PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH *DICLOROPHENOXY ACETIC  
ACID (2,4-D)* DAN *BENZYLAMINO PURIN (BAP)* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**OLEH:  
MONIKHATUL QUDRIYYAH  
NIM. 14620089**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 17 September 2018

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I  
NIPT. 2014201 1409

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi



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

**HALAMAN PENGESAHAN**

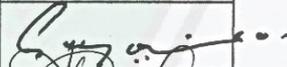
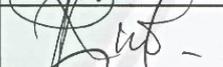
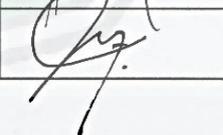
**INDUKSI KALUS KOMPAK CIPLUKAN *Physalis angulata* DENGAN  
PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH *DICLOROPHENOXY ACETIC  
ACID (2,4-D)* DAN *BENZYLAMINO PURIN (BAP)* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**OLEH:  
MONIKHATUL QUDRIYYAH  
NIM. 14620089**

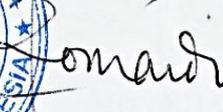
Telah dipertahankan di Depan Penguji Skripsi  
dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 17 September 2018

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



Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi

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

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Monikhatul qudriyyah

NIM : 14620089

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Induksi Kalus Kompak Ciplukan *Physalis Angulata* Dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Dan BAP Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang 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, 17 September 2018

Yang membuat pernyataan,



MONIKHATUL QUDRIYYAH

NIM. 14620089

## MOTTO

**Kita Harus Terbiasa Dengan Penolakan,  
Manusia Hanya Bisa Berfikir Tapi Allah  
Yang Berkehendak**

**Pada hakikatnya kehidupan kita sementara, dan kita terbiasa  
bermain didunia ini dengan hal yang sia-sia maka dari itu  
setidaknya dengan kita hamblum minal alam maka kita  
dipandang ibadah di mata Allah.**

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

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

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

Kedua orang tua ku, Buya Fauzi Dan Umi Nurlaila Dan Mama Salamah, ayah fauzi, holi Ali, Tante Nia, Tante Ani, Tante risa dan Tante Saqin yang selalu memberikan dukungan finansial, motivasi, semangat, nasihat dan do'a yang tiada henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta Adikku, M.Iqbal, Jafnin Najah, Amira Khoirina Dan Ri'at Salim yang menjadi salah satu motivasiku dan yang selalu cinta kepadaku.

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada sahabatku, maslahatul ummah, kholidatul maslukhah, miftahur rohmah, endah, ana dan emilia yang telah menjadi keluarga kecilku. Terima kasih telah mendengar setiap keluh kesahku dan selalu memberi nasihat, motivasi dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

Buat teman-teman seperjuanganku Biologi 14 khususnya ilmi firdaus, dan teman teman kelas D squad biologi 14 terima kasih sudah memberi motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung.

Tak lupa kepada pengasuh pondok dan makhad PPTQ "Nurul Huda" dan Baith Tahfid Alquran, kyai Dr.. H. Isyroqun Najah M.Ag Dan Ibu Nyai Hj. Ismatud Dinia Miftah terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di pondok. Tak lupa pula kepada teman-teman pondok dan BTQ khususnya kak qorry, mbk anni, firda, masalahah, lala, shona, suci, vina, achida, pratiwi dan semua anggota BTQ 15-18 dan semua keluarga pondok pesantren Nurul Huda joyosuko yang selalu membuat suasana ceria dengan canda tawa yang terkadang menghibur lara hatiku : D

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

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum, Wr.Wb.*

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul “Induksi Kalus Kompak Ciplukan *Physalis angulata* Dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Dan BAP Secara In Vitro”.

Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

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

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

6. Segenap Dosen dan Civitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua penulis Buya Fauzi Dan Umik Nurlaila, Mama Salamah Ayah Fauzi Serta Holi Dan Tante Tanteku juga Adik-Adik tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
9. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2014 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

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

*Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh*

Malang, 17 September 2018

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACK .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ملخص.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian .....	9
1.4 Manfaat Penelitian .....	10
1.5 Hipotesis .....	10
1.6 Batasan Masalah .....	11
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>12</b>
2.1 Ciplukan ( <i>Physalis angulata</i> ) .....	13
2.1.1 Ciplukan Dalam Perspektif Islam .....	13
2.1.2 Klasifikasi.....	16
2.1.3 Deskripsi Tanaman.....	17
2.1.4 Kandungan Dan Manfaat Ciplukan.....	18
2.2 Kultur Jaringan Invitro.....	20
2.2.1 Definisi Kultur Invitro.....	20
2.2.2 Media Kultur .....	21

2.2.3 Eksplan .....	22
2.2.4 Sterilisasi .....	23
2.3 Kultur Kalus .....	24
2.3.1 Tesktur Kalus .....	26
2.3.2 Warna Kalus .....	27
2.3.3 Berat Kalus .....	29
2.4 Zat Pengatur Tumbuh .....	28
2.4.1 2,4-D .....	29
2.4.2 BAP .....	29
2.4.3 Perbandingan Auksin Dan Sitokinin.....	30
2.5 Anattomi Kalus Sekunder .....	31
2.6 Perbandingan Kombinasi 2,4-D Dan BAP .....	32
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>33</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	33
3.2 Variabel Penelitian .....	34
3.3 Waktu Dan Tempat.....	34
3.4 Alat Dan Bahan .....	35
3.4.1 Alat.....	35
3.4.2 Bahan .....	35
3.5 Prosedur Penelitian .....	36
3.5.1 Tahapan Persiapan .....	36
3.5.1.1 Sterilisasi Alat.....	36
3.5.1.2 Pembuatan Stock Hormon .....	36
3.5.1.3 Pembuatan Media Perkecambahan dan Kalus .....	36
3.5.2 Sterilisasi Ruang .....	37
3.5.2.1 Sterilisasi Biji Ciplukan.....	38
3.5.2.2 Induksi Kalus dan ciplukan .....	38
3.6 Teknik Mengolah Data .....	38
3.7 Analisis Data .....	40
3.8 Desaign Penelitian .....	41
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
4.1 Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Metabolit Ciplukan ..	42
4.2 Pengaruh BAP Terhadap Induksi Kalus Metabolit Ciplukan....	49
4.3 Pengaruh Kombinasi 2,4-D& BAP Terhadap Induksi Kalus Metabolit Ciplukan.....	55
4.4 Pengaruh 2,4-D & BAP Terhadap Warna Dan Tekstur .....	59
4.5 Pengaruh 2,4-D & BAP Terhadap Histologi Kalus.....	63
4.6 Hasil Kultur Kalus Dalam Islam .....	65
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>72</b>
5.1 Kesimpulan.....	72
5.2 Saran .....	73

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>74</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>80</b>



## DAFTAR GAMBAR

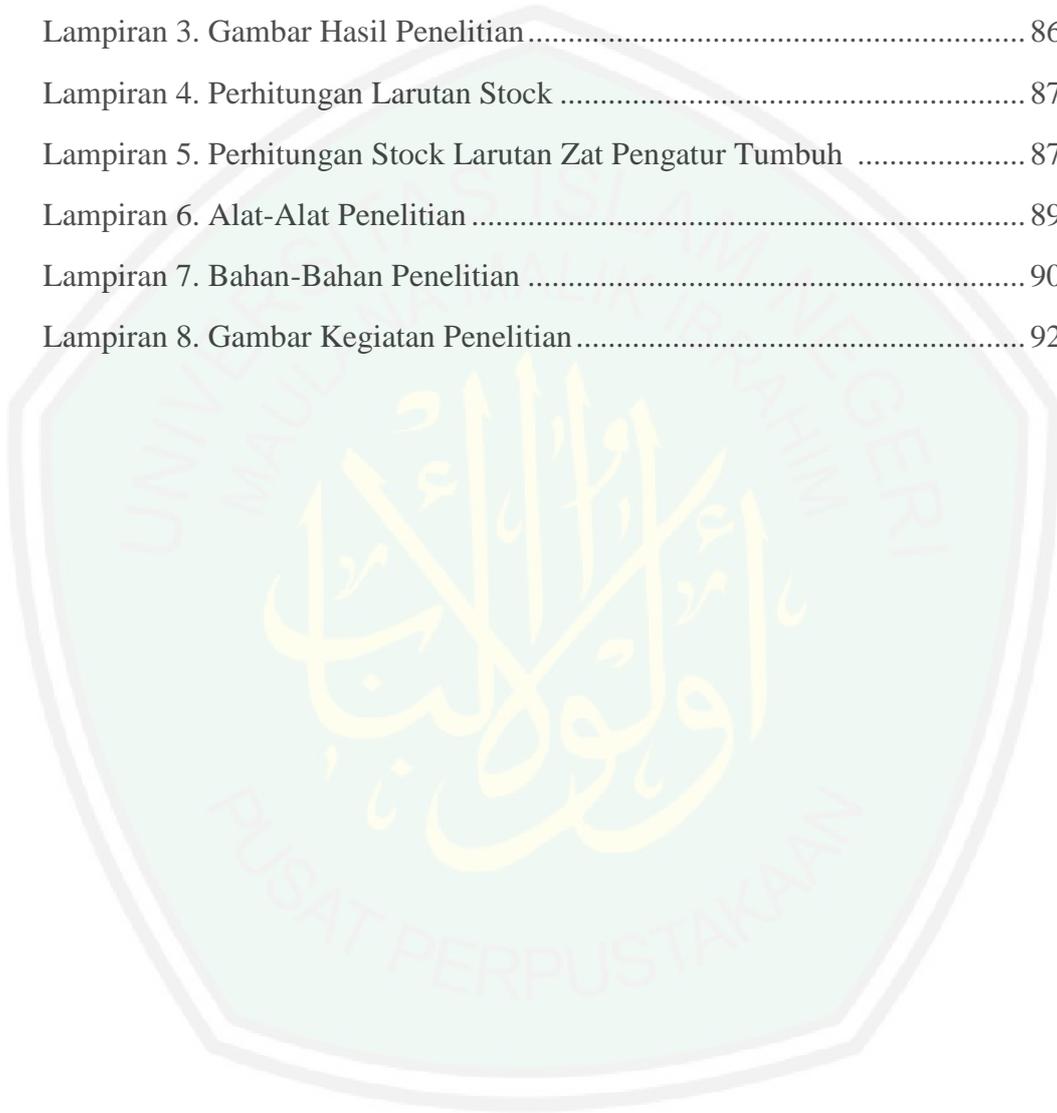
Gambar 2.1 Tanaman Ciplukan .....	17
Gambar 2.2 Tekstur Kalus Stevia (A) Kalus Kompak (B) Kalus Intermediet (B1 = Kalus Kompak, B2 = Kalus Remah) (C) Kalus Remah.....	26
Gambar 2.3 Warna Kalus Kopi Liberka Tungkal Jambi ( <i>Coffea Liberica</i> Var. <i>Liberica</i> Cv. Tungkal Jambi) Yang Berumur 12 Minggu Setelah Kultur .....	27
Gambar 2.4 Keseimbangan Auksin Dan Sitokinin .....	31
Gambar 3.1 Desain Penelitian .....	41
Gambar 4.1 Regresi 2,4-D Terhadap Hari Muncul Kalus .....	46
Gambar 4.2 Regresi 2,4-D Terhadap Persentase Kalus .....	47
Gambar 4.3 Regresi 2,4-D Terhadap Berat Kalus .....	48
Gambar 4.4 Regresi BAP Terhadap Hari Muncul Kalus .....	51
Gambar 4.5 Regresi BAP Terhadap Persentase Kalus.....	52
Gambar 4.6 Regresi Kombinasi Terhadap Hari Muncul Kalus .....	53

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Hasil Analisis Ragam 2,4-D .....	42
Tabel 4.2 Hasil DMRT 5% 2,4-D .....	43
Tabel 4.3 Hasil Analisis Ragam BAP .....	49
Tabel 4.4 Hasil DMRT 5% BAP .....	50
Tabel 4.5 Hasil Analisis Ragam Kombinasi 2,4-D & BAP .....	53
Tabel 4.6 Hasil DMRT 5% Kombinasi 2,4-D & BAP .....	53
Tabel 4.7 Hasil Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D & BAP Terhadap Warna Dan Tekstur Kalus .....	59
Tabel 4.8 Hasil Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D & BAP Terhadap Histologi Kalus .....	63

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan.....	80
Lampiran 2. Tabel Data Hasil Analisis Varian ANAVA Dan DMRT 5% .....	82
Lampiran 3. Gambar Hasil Penelitian.....	86
Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stock .....	87
Lampiran 5. Perhitungan Stock Larutan Zat Pengatur Tumbuh .....	87
Lampiran 6. Alat-Alat Penelitian .....	89
Lampiran 7. Bahan-Bahan Penelitian .....	90
Lampiran 8. Gambar Kegiatan Penelitian.....	92



## **Induksi Kalus Kompak Ciplukan *Physalis angulata* Dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh *Diclorophenoxyacetic Acid (2,4-D)* dan *6-Benzylaminopurin (BAP)* Secara *In Vitro***

Monikhatul Qudriyyah, Ruri Siti Resmisari M.si, Mukhlis Fakhrudin M.SI

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus metabolit sekunder ciplukan *Physalis angulata*. Bahan yang digunakan yaitu media MS, zat pengatur tumbuh, perkecambahan dari ciplukan yang diambil organ daun sebagai eksplan kalus. Kalus tersebut digunakan untuk memperbanyak metabolit sekunder ciplukan yaitu *physalin* yang digunakan sebagai antikanker dan dipercaya oleh masyarakat sebagai obat darah tinggi. Peningkatan kandungan metabolit sekunder ini diperoleh melalui kultur kalus kompak dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP sehingga produksinya meningkat. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 25 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua faktor yaitu konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, 2 mg/L dan konsentrasi BAP 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,75 mg/L dan 1 mg/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% serta uji regresi kolerasi. Hasil dari penelitian kalus kompak menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus metabolit ciplukan *Physalis angulata* yang paling optimal pada kombinasi 0,5 mg/L 2,4-D dan 0,25 mg/L BAP hari muncul kalus hari ke-8 HST. Persentase 100% pada konsnetrasi 1 mg/L BAP dan berat kalus pada konsentrasi 1,5 mg/L 2,4-D dan 0,75 mg/L BAP berat kalus 0,5110 g.

Kata kunci: *Kalus Kompak (Metabolit) Ciplukan Physalis angulata, 2,4-D, BAP*

**Compact Callus Induction of Ciplukan *Physalis angulata* by Giving Growing Regulatory Substances *Diclorophenoxyacetic Acid (2,4-D)* and *6-Benzylaminopurin (BAP)* on a *In Vitro***

Monikhatul Qudriyyah, Ruri Siti Resmisari M.si, Mukhlis Fakhruddin M.SI

**ABSTRACT**

This research is aimed at acknowledging the influence of growing regulatory substance 2,4-D and BAP towards the induction of *ciplukan Physalis angulata* secondary metabolism callus. The used media is MS, the growing regulatory substance, germination from *ciplukan* which is taken from the leaf organ as callus explant. This callus is used to multiply *ciplukan*'s secondary metabolism which is physalin used as anti cancer and believed by the society as high blood pressure medicine. The improvement of secondary metabolism substance is gotten through compact callus culture with the addition of growing regulatory substance 2,4-D and BAP thus the production is improving. This research is the kind of experimental, using the complete random design (RAL) with the 25 treatment and 3 repetition. The treatment in this research, there are two factors which is concentration 2,4-D covering 0 mg/L, 1 mg/L, 1.5 mg/L, 2 mg/L and concentration BAP 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,75 mg/L dan 1 mg/L. The data is analysed by ANAVA *Two Way*  $\alpha= 5\%$ . If there is significance difference thus followed by Duncan Multiple Range Test (DMRT) with the significant 5% also the regression correlation. The result of compact callus research shows that there is concentration influence 2,4-D and BAP tpwards callus induction metabolit *ciplukan Physalis angulate* which is most optimum for the combination 0,5 mg/L 2,4-D and 0,25 mg/L BAP days for callus in the days 8 HST. Percentage 100% for the concentration 1 mg/L BAP and the callus weight in the concentration 1.5 mg/L 2,4-D and 0,75 mg/L BAP callus weight 0,5110 g.

Key Words: *Compact Callus (Metabolit), Ciplukan Physalis angulata, 2,4-D, BAP*

الحث الكالس المدجة سييلوكان موقعة أنجولاتا من خلال إعطاء المواد منظم النمو

## ***Diclophenoxyacetic (D-2,4)* و 6-**

### ***Benzylaminopurin (BAP)* في المختبر**

مونيكنتول قدرية، روري سيتي ريسميساري، الماجستير، مخلص فخرالدين، الماجستير

#### الملخص

يهدف هذا البحث إلى تحديد تأثير منظم النمو D-2,4 و BAP على المستقلب الثانوي للحث الكالس سييلوكان موقعة أنجولاتا. المواد المستخدمة كانت وسائل MS، وكلاء تنظيم النمو، الإنبات من سبي لوكان مأخوذة من أعضاء ورقة كما يزرع الكالس. يتم استخدام الكالس لزيادة المستقلب الثانوي للسييلوكان وهو الفيزالين والذي يستخدم كمضاد للسرطان ويثق به المجتمع كدواء لارتفاع ضغط الدم. تم الحصول على هذه الزيادة في محتوى الأيض الثانوي من خلال زراعة الكالس المدجة مع إضافة منظم نمو D-2,4 و BAP بحيث يزداد الإنتاج. هذا البحث تجريبي، باستخدام تصميم عشوائي بالكامل (RAL) مع 25 علاج و 3 مكررات. كان العلاج في هذا البحث هناك عاملين: تركيز D 2,4 بما في ذلك 0 ملغ/لتر، 0,5 ملغ/لتر، 1 ملغ/لتر، 1,5 ملغ/لتر، 2 ملغ/لتر وتركيز BAP 0 ملغ/لتر و 0.25 ملغ/لتر و 0.75 ملغ/لتر و 1 ملغ/لتر. تم تحليل البيانات بواسطة ANOVA Two Way  $\alpha = 5\%$ . إذا كانت هناك فروق ذات دلالة إحصائية في اختبار استمرار دنكان المدى اختبار متعددة (DMRT) مع مستوى الدلالة 5% وكذلك علاقة الانحدار. نتائج البحث الكالس مدمج يظهر تأثير تركيز D-2,4 و BAP على الحث الكالس المستقلب فوقعة سييلوكان أنجولاتا مزيج المثلى من 0.5 ملغ/لتر D-2,4 و 0.25 ملغ/لتر BAP يوم ظهر الكالس اليوم الثامن HST. نسبة 100% في التركيز 1 ملغ/لتر BAP وثقل الكالس بتركيز 1.5 ملغ/لتر D-2,4 و 0.75 ملغ/لتر BAP ثقل الكالس 0.5110 غرام.

الكلمات الرئيسية: الكالس المدجة (المستقلب) سييلوكان موقعة أنجولاتا، D-2,4،

BAP

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Tanaman obat merupakan tumbuhan yang dapat tumbuh baik di Indonesia. Tanaman obat adalah tanaman yang mengandung bahan yang dapat digunakan sebagai bahan obat sintetik. Setiap tumbuhan pasti memiliki berbagai senyawa yang dapat diambil manfaatnya oleh manusia baik metabolit primer maupun sekunder.

Metabolit sekunder salah satunya seperti alkaloid, terpenoid, fenol dan flavonoid sangat diperlukan untuk hidup suatu tumbuhan. Kebutuhan tersebut dapat diperoleh melalui jaringan tumbuhan seperti daun, akar rizhoma, batang, bunga dan buah, menurut Mulyaningsih (2014) dari segala macam metabolit tersebut berperan dalam suatu mekanisme pertahanan dalam bakteri, virus dan jamur. Hal ini juga telah disebutkan dalam Al-quran surat As-Syu'ara ayat 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Berdasarkan ayat yang telah di firmankan, maka ayat ini telah menjelaskan bahwa Allah SWT telah banyak menciptakan makhluk hidup yang sangat baik seperti tanaman yang dapat berguna untuk manusia. Menurut Shihab (2002) kata *Ila* pada awal ayat "Awalam Yaraa Ilal Ardh, "Apakah mereka tidak memperhatikan bumi yang mengandung makna batas akhir. Artinya bahwa makna ini menjelaskan agar manusia senantiasa terus mengingat akan ciptaan Allah SWT

yang berada di bumi ini, misalnya aneka tanah, tumbuhan, dan aneka keajaiban seperti tanaman-tanamannya. Menurut Al-Muraghi (1993) sesungguhnya pada tanaman benar-benar terbukti agar manusia yang berakal memikirkan kekuasaan penciptaanya.

Tafsiran di atas mengingatkan kepada semua manusia agar dapat mengagungkan atas kekuasaan Allah SWT, dimana memberikan peringatan agar kita selalu merenung dan menghayati ciptaan Allah SWT khususnya ciptaan sesama makhluknya seperti tanaman yang berada di bumi ini. Menurut Al-Qurthubi (2009) tanaman baik adalah tanaman yang tampak dari visual kita yang dapat dipandang warnanya, bentuk dan penampakannya. Sehingga kita dapat merenungi akan keindahan ciptaannya dan dapat mengambil manfaat dari tanaman tersebut dengan menjadikannya sebagai sumber kehidupan seperti obat. Salah satu tanaman yang dapat dikatakan sebagai tanaman baik adalah ciplukan (*Physalis angulata*).

Ciplukan adalah tanaman obat dan umumnya dikenal sebagai *Cape Gooseberry* atau *Golden Berry* yang masuk dalam family *Solanaceae*, dimana genusnya *Physalis* sekitar 100 spesies yang membentuk buah-buahan di kelopak yang membesar (Legge, 1974). Ciplukan berasal dari dataran tinggi Andes Amerika selatan. Setelah *Christopher Colombus* berada di tanjung, *Goosbery* ini diperkenalkan di Afrika dan India

Menurut Pietro *et al.*, (2000) buah tanaman ini adalah buah halus berbentuk bulat, berwarna kuning tomat dan benihnya berwarna kuning terang sampai orange dan buahnya manis jika matang, dengan ciri khas sedikit asam

sehingga ideal jika dibuat selai. Ciplukan diproduksi secara komersial di Ekuador, Afrika selatan, Kenya, Zimbabwe, Australia, Hawaii, India dan China. Banyak peneliti yang menunjukkan bahwa ciplukan ini banyak diproduksi untuk obat dan menyembuhkan beberapa penyakit.

Sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau bahan obat merupakan metabolit sekunder, seperti pada tanaman ciplukan ini, senyawa metabolit *physalin* digunakan sebagai ramuan obat tradisional untuk diabetes (Santoso dan Nursandi, 2004). Menurut Widiyasuti (2008) sampai saat ini bahan tanaman ciplukan sebagian besar masih diambil dari tanaman yang tidak dibudidayakan secara intensif.

Ciplukan dipanen dari tanaman yang tumbuh di pekarangan rumah, sawah atau di kebun-kebun yang kosong. Dengan demikian dipastikan bahwa kualitasnya tidak terjamin. Menurut Nasrudin (2013) ketergantungan petani terhadap lahan menjadikan kendala bagi keberlangsungan usaha tani yang memproduksi tanaman obat maupun pangan, sedangkan keberadaan lahan semakin lama semakin berkurang akibat konservasi lahan, menyebabkan luasan lahan usaha petani yang didapatkan juga semakin sempit.

Tanaman ciplukan ini mulai banyak dicari khususnya pada daerah perkotaan, akan tetapi sebaliknya pada daerah pedesaan masyarakat tidak peduli terhadap budidaya tanaman ini karna tanaman ini liar tumbuh di pekarangan maupun sawah. Menurut Rini (2009) laju permintaan produk berbasis tanaman obat terkait erat dengan tingkat penggunaan oleh masyarakat. Sehingga dengan

memperbanyak senyawa metabolit sekunder dari tanaman ciplukan ini dapat dilakukan dengan memperbanyak kalus metabolit.

Tumbuhan ciplukan ini mengandung beberapa senyawa aktif, salah satunya yang terdapat pada daunnya. Menurut Latifah *et al.*, (2014) menyatakan bahwa pada daun ciplukan mengandung glikosida flavonoid (*physalin*). Senyawa *physalin* memiliki banyak senyawa diantaranya sebagai antioksidan, antidiabetes, antialergi, antivirus, dan antibakteri (Lutimax, 2001).

Menurut fitria (2012) Ciplukan merupakan salah satu tanaman yang sudah banyak diteliti mempunyai efek sitotoksik dan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Pada daun ciplukan memiliki kandungan glikosida flavonoid yang berkhasiat untuk obat diabetes. Menurut Baedowi (1992) beberapa penelitian farmakologi membuktikan bahwa ekstrak daun ciplukan berpengaruh terhadap sel beta insulin pankreatis dan dapat menyebabkan adanya penimbunan glikogen dalam hepatosit. Dan penelitian Rudiah (1993) memberikan informasi bahwa herba ciplukan dapat digunakan untuk menurunkan kadar gula darah dan untuk hepatoprotektor pada hewan coba. Sedangkan menurut Hutapea (1993) tanaman ciplukan ini dilaporkan mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin.

Menurut Ramar (2014) menyatakan bahwa budidaya memainkan peran pada tanaman obat dapat dilihat dari perbanyakannya secara cepat, konservasi dan peningkatan produksi metabolit sekunder. Teknik kultur *in vitro* tanaman menawarkan kesempatan yang sangat baik untuk konservasi tanaman penting ini dan meningkatkan produksi metabolit sekundernya.

Metabolit sekunder bisa didapatkan melalui Teknik *kultur in vitro* menggunakan kalus. Menurut Sitorus *et al.*, (2011) metabolit sekunder yang didapatkan melalui kultur kalus memiliki kadar metabolit lebih banyak dan tinggi, karena pada suatu media menunjukkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder lebih tinggi dan lebih besar. Salah satu caranya untuk menghasilkan peningkatan kadar metabolit adalah dengan menambahkan suatu zat di dalam media. Menurut heryanto (2014) pada penelitiannya tentang kultur *in vitro* stevia kemudian setelah tumbuh kalus di uji menggunakan KLT dan uji (*TLC scanner*), terbukti bahwa bahwa kandungan metabolit pada kalus stevia meningkat 2 kali lipat dari bahan alami sebelumnya.

Parameter karakteristik kalus yang menghasilkan metabolit sekunder berdasarkan tekstur kompak, menurut Hendaryono (1994) kalus yang menghasilkan metabolit sekunder berdasarkan tekstur dan komposisi sel, kalus dibagi menjadi dua perbedaan yaitu kalus kompak dan kalus meremah. Kalus kompak dapat dikenali dengan mengembangnya vakuola dimana kandungan metabolitnya sangat banyak. Metabolit yang diperoleh dari kalus terbukti lebih banyak metabolitnya, seringkali timbul zat-zat alkaloid atau senyawa lain yang sangat berperan dan berguna dalam pengobatan.

Tekstur kompak dapat diketahui dengan adanya pengamatan anatomi pada kalus. Menurut Manuhara (2001) kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air. Kalus kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti kecil dan mengandung pati.

Teknik *kultur in vitro* dilakukan dalam keadaan aseptik Menurut Yusnita (2008) menyatakan bahwa sel-sel yang dipelihara dalam media buatan harus dalam keadaan aseptik. Eksplan yang digunakan pada *kultur in vitro* mencakup bagian biji, potongan batang, tunas, potongan akar, potongan daun, potongan umbi, bagian bunga dan potongan batang satu buku.

Eksplan yang sering digunakan pada penelitian adalah daun, karena sudah secara umum digunakan untuk menumbuhkan kalus. Akan tetapi pada *kultur in vitro* segala macam jaringan tanaman dapat digunakan sebagai tanaman baru misalnya eksplan dari daun, batang, akar maupun biji. Dari sini penelitian yang digunakan untuk eksplan kalus ciplukan adalah daun.

Pemilihan media dan zat pengatur tumbuh dalam penelitian *kultur in vitro* adalah salah satu kunci keberhasilan. Modifikasi media adalah satu teknik penelitian ini, karna media memberikan respon berbeda terhadap tanaman. Menurut Elismani (2010) menyatakan keberhasilan *kultur in vitro* di pengaruhi oleh media dan macam tanaman. Media mempunyai 2 fungsi utama, yaitu untuk memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. Menurut Andaryani (2010) pembentukan kalus ditentukan oleh sumber eksplan, komposisi nutrisi pada media dan zat pengatur tumbuh.

Zat pengatur tumbuh tersebut sangat berperan dalam merangsang dan meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah auksin dan sitokinin. Auksin yang paling banyak digunakan dalam *kultur in vitro*

adalah *indole-3-acetic acid* (IAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), *α-naphthalenacetic acid* (NAA) (Zulkarnain,2014).

Golongan auksin yang paling sering digunakan pada media *kultur in vitro* adalah 2,4-D dan IAA. Dibandingkan dengan IAA, auksin jenis 2,4-D memiliki sifat stabil karena memiliki sifat tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh tanaman ataupun pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono dan Wijayanti (1994).

Menurut Mahadi *et al.*, (2016) salah satu hormon yang sangat sering digunakan dan efektif adalah 2,4-D, yaitu auksin dapat merangsang pembentukan sel-sel konsentrasi yang rendah. Penelitian Shebaa (2013) pemberian zat pengatur tumbuh 2 mg/l 2,4-D pada medium MS *Physalis minima* menghasilkan kalus yang berat dan kompak dengan rata-rata berat kalus 150,10 mg. Akan tetapi pada penelitian ini juga dikombinasikan dengan sitokinin Kinetin, pada perlakuan 1,5 mg/L IAA+ 0,5 mg/L kinetin menghasilkan kalus kompak dengan rata-rata berat kalus 208,03 mg.

Pemberian sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel, sehingga dapat mempermudah perkembangan. Seperti penelitian lahsin (2016) untuk menginduksi kalus dengan menggunakan zat pengatur tumbuh BAP (*6-Benzylamino purine*) termasuk dalam kelompok sitokinin.

Menurut Ramar (2014) menggunakan zat pengatur tumbuh *6-Benzilamino purine* (BAP) dapat memicu pembentukan tunas dan aktivitas pembelahan sel. Menurut Noogle dalam Andaryani (2010) menyatakan bahwa zat pengatur BAP

memiliki kemiripan dengan struktur kinetin dan juga aktif dalam pertumbuhan dan proliferasi kalus, sehingga pada penelitian kalus BAP ditambahkan dalam kelompok sitokinin yang paling aktif.

Konsentrasi pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya Pada penelitian Sheba (2013) bahwasanya pada konsentrasi 2,0 mg/L NAA+ 0,5 BAP terjadi penurunan pada berat kalus *Physalis minima* sebesar 57,45 mg dibandingkan pada konsentrasi 1,0 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP.

Penelitian sebelumnya dapat diketahui konsentrasi tinggi semakin menurunkan aktivitas kalus ciplukan, sehingga konsentrasi kombinasi pada penelitian ini diambil pada konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L, 1,0 mg/L, 1,5 mg/L, dan 2,0 mg/L. Konsentrasi BAP diambil pada konsentrasi 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L dan 1,0 mg/L. pada konsentrasi sitokinin diambil dengan konsentrasi kecil dikarenakan pada hormon endogen tanaman ciplukan diketahui lebih banyak dari pada auksin.

Penelitian sebelumnya diketahui bahwa dengan modifikasi media yang salah satunya menggunakan zat pengatur tumbuh berupa 2,4-D dan BAP mampu menginduksi kalus dengan waktu yang cepat. Penelitian Royani (2015) pada kalus *Arachis hypogea* dengan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP merupakan kombinasi yang efektif terhadap pertumbuhan kalus kompak pada konsentrasi 2 mg/L BAP + (0-4) mg/L 2,4-D.

Penelitian Rosyida *et al.*, (2014) 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap waktu induksi kalus daun melati (*Jasminum sambac*) secara *in vitro*, kombinasi konsentrasi 1 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L BAP menghasilkan pertumbuhan kalus

yang optimal pada hari ke-6 HST dan rerata kalus saat muncul kalus 1,330 gram. Pada penelitian Indah dan Dini (2013) kombinasi zat pengatur tumbuh paling optimal untuk warna dan tekstur kalus pada daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) adalah konsentrasi 2,4-D 1,5 mg/L dan BAP 1-3 mg/L.

Untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus metabolit sekunder *Physalis angulata* dengan membandingkan kombinasi IAA dan Kinetin pada kalus *Physalis minima* maka dilakukan penelitian ini.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*?
4. Bagaimana pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap kualitas (warna, tekstur, dan anatomi) kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
4. Mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap kualitas (warna, tekstur, dan anatomi) kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.

### 1.4 Hipotesis

1. Ada pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
2. Ada pengaruh berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
3. Ada pengaruh berbagai konsentrasi kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.

4. Ada pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap kualitas (warna, tekstur, dan anatomi) kalus ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.

### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadikan dasar penelitian lebih lanjut tentang pengaruh beberapa zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus metabolit sekunder pada tanaman ciplukan (*Physalis angulata*) melalui teknik kultur *in vitro*.
2. Penelitian dapat digunakan sebagai upaya memproduksi metabolit sekunder yang lebih tinggi sehingga bermanfaat untuk industri farmasi.
3. Penelitian ini dapat ditunjukkan kepada masyarakat yang belum mengetahui banyak tentang khasiat tanaman ciplukan.
4. Penelitian ini dapat memberikan saran untuk tetap menggunakan obat dengan bahan alami seperti pada tanaman ciplukan dan tidak bergantung pada obat-obatan kimia.

### 1.6 Batasan Masalah

1. Jenis tanaman yang digunakan adalah *Physalis angulata*
2. Eksplan daun diambil pada perkecambahan yang berumur 14 HST
3. Eksplan dipotong dengan ukuran 1 cm x 1 cm
4. Penelitian ini terbatas pada pengaruh induksi kalus kompak tumbuhan ciplukan
5. Media dasar yang digunakan untuk perkecambahan adalah MS (*Murashige dan Skoog*)

6. Media dasar yang digunakan untuk pertumbuhan kalus yaitu media MS (*Murashige and Skoog*) dan penambahan zat pengatur tumbuh.
7. Zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk menginduksi kalus 2,4-D dan BAP
8. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP terdiri dari 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L dan 1 mg/L. Dan pada zat pengatur tumbuh 2,4-D terdiri dari 0,5 mg/L, 1mg/L, 1,5 mg/L, 2,0 mg/L
9. Parameter kuantitas kalus *Physalis angulata* yang diamati yaitu hari munculnya kalus, berat kalus, dan persentase eksplan berkalus
10. Parameter kualitas kalus *Physalis angulata* yang diamati yaitu warna kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus.

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

##### 2.1.1 Ciplukan Dalam Perspektif Islam

Tanaman merupakan salah satu makhluk hidup yang di ciptakan oleh Allah SWT untuk diambil manfaatnya. Misalnya digunakan untuk dikonsumsi, digunakan sebagai obat, dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sebagai bahan industri dan dapat digunakan untuk menunjang kehidupan sehari hari. Tumbuhan obat merupakan salah satu tumbuhan yang dapat tumbuh baik di Indonesia.

Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan salah satu tanaman baik yang berkhasiat obat yang sering di temukan di sekitar lingkungan pedesaan karna hidupnya liar seperti di kebun, tegalan, tepi jalan, semak, hutan ringan, maupun tepi hutan (Latifah *et al.*, 2014). Allah menumbuhkan tumbuhan seperti ciplukan ini, seperti yang tertera dalam Q.S. Asy-Syu'ara' (26) 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Penjelasan ayat diatas ditafsirkan oleh shihab (2002) bahwa kata “*Ilal*” pada firmanya di awal ayat As-syuara' ayat 7, merupakan kata yang dapat diartikan sebagai makna *batas akhir*. Pada ayat tersebut manusia telah diperingatkan untuk tetap mempertahankan dari kekufuran dan kedustaan serta selalu merenungi dan mengamati sebagian ciptaan Allah SWT. Menurut Shihab

(2008) sebenarnya manusia apabila bersedia merenungi dan mengamati ciptaan Allah, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk, Allah SWT telah berfirman bahwa tumbuh-tumbuhan yang telah dikeluarkan dari bumi ini adalah bermanfaat bagi manusia, dan semua itu hanya dapat dilakukan oleh Allah SWT.

Integrasi diatas juga menyambung dari ayat setelahnya, bahwa Allah mengingatkan atas kebesaran keagungannya, kekuasaan dan kedudukan atas orang yang berani menentang utusannya dan mendustakan kitabnya. Allah SWT Maha perkasa, Maha besar lagi Maha kuasa, Allah lah yang telah menciptakan bumi dan juga menumbuhkan tumbuhan yang baik, pepohonan yang berbuah dan hewan yang baik (Tafsir Ibnu Katsir, 2013).

Menurut sufyan As-Sauri telah meriwayatkan dari seseorang lelaki, dari Asy-Sya'bi, bahwa manusia adalah yang dimaksud dari kata tetumbuhan di bumi (ini). Menurut majlis Tafaqquh Fiddin telah menafsirkan dari surat Asy-Syuara' ayat 2-8 bahwasanya nabi Muhammad amat sedih karena kaumnya tidak beriman. Allah maha kuasa bisa saja menurunkan mukjizat sehingga mereka beriman, akan tetapi manusia tetap berpaling dari setiap ayat Alqur'an yang telah diturunkan. Allah SWT menumbuhkan setiap tanaman itu berpasangan. Maksud dari berpasangan ini adalah bahwa pada tumbuhan memiliki alat kelamin jantan dan betina.

Lafadz lain dapat dilihat dari kalimat "tanaman baik" bahwasanya tanaman baik adalah tumbuhan yang dapat dilihat secara visual seperti bentuk dan warna. Salah satu tanaman yang baik dan juga diambil manfaatnya adalah tanaman ciplukan (*Physalis angulata*). Tanaman ciplukan ini termasuk dalam

famili *solanaceae* yang diketahui banyak manfaatnya sejak zaman dahulu, karena khasiatnya dapat menyembuhkan berbagai penyakit dan digunakan sebagai antiseptik. Berdasarkan hal tersebut, banyak penyakit yang telah disembuhkan melalui tanaman ciplukan ini. Hal ini dapat dipadukan dalam firman Allah SWT dalam surat As-Syuara' ayat 80 :

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

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

Pada lafadz “Maridhtu” dengan arti sakit, lafadz itu telah tertuju kepada manusia dan pada lafadz “Yasfi” yang artinya kesembuhan telah disandarkan kepada yang telah memberikan sakit dan kesembuhan yaitu Allah SWT. (Halim, 2013). Tafsir Ibnu Katsir (2013) menyatakan bahwa kata sakit, tiada seseorang yang dapat menyembuhkannya melainkan berbagai penyakit kecuali dengan usaha dan pengobatan dari makhluk lain Allah seperti tumbuhan yang dipakai sebagai obat tradisional.

Berdasarkan tafsir tersebut Allah telah memberikan sinyal dengan berbagai sarana pengobatan salah satunya dengan menggunakan makhluknya yaitu tumbuhan obat. Obat tersebut adalah tanaman ciplukan yang berfungsi untuk meminimalisir penyakit diabetes, darah tinggi, antikanker, diuretik, dan antiseptik. Berdasarkan ayat diatas tanaman ciplukan dikatakan sebagai tanaman komersial dikarenakan tanaman ciplukan merupakan bahan baku dalam pembuatan obat tradisional.

Kandungan tanaman ciplukan merupakan senyawa yang digunakan sebagai bahan campuran dalam industri obat-obatan (farmasi). Berdasarkan

tafsiran diatas, bahwa tanaman ciplukan memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Hal ini telah dikemukakan dalam surat Yunus ayat 24 yang berbunyi:

إِنَّمَا مَثَلُ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَاءٍ أَنْزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْأَنْعَامُ حَتَّى إِذَا أَخَذَتِ الْأَرْضُ زُخْرُفَهَا وَازَّيَّنَتْ وَظَنَّ أَهْلُهَا أَنَّهُمْ قَادِرُونَ عَلَيْهَا أَتَاهَا أَمْرُنَا لَيْلًا أَوْ نَهَارًا فَجَعَلْنَاهَا حَصِيدًا كَأَنْ لَمْ تَغْنَبِ بِالْأَمْسِ كَذَلِكَ نُفَصِّلُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (٢٤)

Artinya: “lalu kami jadikan (tanam-tanaman) laksana tanam-tanaman yang sudah disabit, seakan akan belum pernah tumbuh kemarin, demikianlah kami menjelaskan tanda-tanda kekuasaan (kami) kepada orang-orang berfikir”.

Ayat ini menjelaskan bahwa tanaman obat seperti ciplukan dapat diambil manfaat bagi manusia sebagai sarana pengobatan dan bentuk rasa tafakkur terhadap makhluk Allah dan juga mensyukuri atas kekuasaan dan ciptaan Allah SWT, sehingga dapat mendatangkan kemaslahatan dan terciptanya kedamaian manusia baik yang awam maupun tidak.

### 2.1.2 Klasifikasi

Ciplukan yang bernama latin *Physalis angulata* Linn, merupakan anggota famili dari tumbuhan *Solanaceae*. Beberapa daerah yang menyebutnya ceplokan, keceplokan, ciciplukan, kopok-kopokan (bali), cecendet, cecenet (sunda), nyornyoran (madura), leletokan (minahasa), kenampok (sasak), dan lapunonat (tanimbar,seram). (Plantamor, 2012). Berdasarkan ciri ciri khas yang dimilikinya, maka tumbuhan ini dapat dengan mudah diklasifikasi.

Klasifikasi ciplukan (*Physalis angulata* Linn) menurut ITIS (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Tracheophyte
Class	: Magnoliopsida
Superordo	: Asteranae
Ordo	: Solanes
Famili	: Solanaceae
Genus	: Physalis
Spesies	: <i>Physalis angulata</i> Linn.

### 2.1.3 Deskripsi Tanaman

*Physalis angulata* L. merupakan tanaman anual (tahunan) dengan tinggi 0,1-1m. daunnya tunggal, bertangkai, bagian bawah tersebar, diatas berpasangan, helaian berbentuk bulat telur-bulat memanjang-lanset dengan ujung runcing, ujung tidak sama (runcing-tumpul-membulat-meruncing). Tepi daun rata dan bergelombang- bergigi dengan ukuran daun 5-15 x 2,5-10,5 cm (Latifah et al., 2014). Bentuk morfologi daun ciplukan dapat dilihat pada gambar 2.1 dibawah ini.



Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan ciplukan: a. Bunga b. Buah c. Daun d. Tangkai Daun (sumber: ziska, 2010)

Ciplukan adalah tanaman obat dan umumnya dikenal sebagai *Cape Gooseberry* atau golden berry yang masuk dalam family *Solanaceae*, dimana genusnya *physalis* mencakup sekitar 100 spesies yang membentuk buah buahan di kelopak yang membesar (legge,1974).

Ciplukan berasal dari dataran tinggi Andes Amerika Selatan. Setelah *Christopher Columbus* di Tanjung, *Goosbery* ini diperkenalkan di Afrika dan India, menurut Pietro *et al.*, (2002) buah tanaman ini adalah buah halus berbentuk bulat, berwarna kuning tomat dan benihnya berwarna kuning terang sampai orange dan buahnya manis jika matang, dengan ciri khas sedikit asam sehingga ideal jika dibuat selai. Ciplukan diproduksi secara komersial di Ekuador, Afrika selatan, Kenya, Zimbabwe, Australia, Hawaii, India dan China. Banyak peneliti yang menunjukkan bahwa ciplukan ini banyak diproduksi untuk obat dan menyembuhkan beberapa penyakit.

Tanaman ini mudah dijumpai tumbuh di halaman rumah, pinggir jalan, di perkebunan dan tersebar mulai dari ketinggian 0-1500 m diatas permukaan laut. Tanah yang sesuai untuk pertumbuhannya adalah jenis lempung berpasir yang berpengairan baik dan mengandung cukup banyak bahan organik (subur). Buahnya pada waktu muda beracun tapi waktu masak berasa manis dan umumnya dikonsumsi sebagai buah (Verheiji, 1997).

#### **2.1.4 Kandungan dan Manfaat Ciplukan**

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ciplukan antara lain saponin, flavonoid, polifenol, dan fisalin. Latifah *et al.*, (2014) mengemukakan bahwa komposisi detail pada beberapa bagian tanaman antara lain: Biji: 12-25%

Protein, 15-40% Minyak lemak dengan komponen utama asam palmitat dan asam stearate, Akar: alkaloid, Daun: glikosida flavonoid (*luteolin*), Tunas: flavonoid dan saponin

Kandungan senyawa yang terdapat dalam daun ciplukan (*Physalis angulata*) ialah glikosida flavonoid (*luteolin*). Glikosida flavonoid merupakan senyawa jenis glikosida flavon yang hanya ditemukan di bahan pangan tertentu.

*Luteolin* merupakan salah satu flavon yang umum di jumpai. *Luteolin* (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>) mempunyai berat molekul 286,23. Nama lainnya adalah 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4-Chromenone, *Digitoflavone*, *Luteolol*, *Flacitran*, dan *Sianideon*. *Luteolin* merupakan serbuk berwarna kuning yang larut dalam air (sedikit larut dalam air panas dengan cara Infusa dan Dekokta), Dietil eter, Etil asetat, dan Etanol. Jenis senyawa ini tidak larut dalam Heksan, Petroleum Eter, dan Kloroform. *Luteolin* mempunyai titik leleh 254-256 celcius (Lazaro, 2009).

Menurut *lutimax* (2008) Senyawa *luteolin* memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antikanker seperti pada penelitian fitria (2012) Ciplukan merupakan salah satu tanaman yang sudah banyak diteliti mempunyai efek sitotoksik dan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Kemudian sebagai antidiabetes pada penelitian Permana (2013) bahwa herba ciplukan digunakan sebagai aktivitas antidiabetes yang diinduksi pada tikus model diabetes melitus tipe-2. Dan juga dapat menurunkan kadar gula darah.

Penelitian Rudiah (1993) memberikan informasi bahwa herba ciplukan dapat digunakan untuk menurunkan kadar gula darah dan untuk hepatoprotektor

pada hewan coba. dan juga senyawa *luteolin* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, pada penelitian Xie (2010) *luteolin* dapat mempengaruhi permeabilitas membrane bakteri, tetapi tidak merusak integritas membrane langsung. Hasil penelitian berbagai ahli menunjukkan bahwa *luteolin* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## 2.2 Kultur In Vitro

### 2.2.1 Definisi Kultur In Vitro

*kultur in vitro* telah dikenal sejak tahun 1940 dalam skala kecil *laboratorium* dan penelitian. Pada tahun 1970 mulai di agendakan penelitian pada tanaman pangan utama, tanaman hias populer dan skala produksi besar. Sebagian besar tanaman telah banyak di kultur secara *in vitro* sekitar 50-75% diantaranya merupakan bunga dan tanaman hias (Altman dan loberant, 1998).

*Kultur in vitro* adalah salah satu Teknik yang sudah mulai banyak diminati *baik* dalam industri maupun bisnis, menurut Mardiana (2009) *kultur in vitro* adalah teknik untuk mengisolasi sel, protoplasma, jaringan, dan organ. Setelah itu eksplan tersebut ditanamkan pada media yang berisi nutrisi dan karbohidrat serta dtambahkan zat pengatur tumbuh untuk menghasilkan tanaman yang lebih terjamin.

Eksplan atau bagian tanaman dapat dikulturkan dapat dilakukan hanya pada bagian tertentu sesuai tanaman yang akan ditanam, Menurut Nugroho dan Sugito (2004) menyatakan bagian eksplan tanaman yang akan dikultur meliputi mata tunas, anther, batang, daun, dan akar yang masi muda dan terdiri dari sel-

sel meristematik. Meristematik adalah sel yang masih aktif membelah dimana jika sel itu ditumbuhkan akan berkembang biak menjadi banyak.

Selain faktor dalam yang dapat mempengaruhi, keberhasilan kultur *in vitro* juga dipengaruhi oleh faktor luar seperti yang dikatakan Widiastuti dan Purbadi (2003) kultur *in vitro* dikatakan berhasil apabila pertumbuhan sel, jaringan dan organ dapat berpengaruh dan terjadi timbal balik antara tanaman dan faktor lingkungan seperti kondisi cahaya, PH media, kelembapan, dan banyaknya oksigen. Selain itu ketekunan dan pengalaman pada peneliti sangat diperlukan karna sebagai indikator keberhasilan pada Teknik kultur *in vitro*.

Dasar dari kultur *in vitro* adalah pertumbuhan melalaui suatu sistem pada sel-sel yang belum berdiferensiasi, sehingga pada tanaman tersebut dapat menumbuhkan tanaman baru, Menurut Wels (1991) menyatakan bahwa proses awal sebelum tumbuhan itu tumbuh biasanya dimulai dari tahap kalus. Kalus dapat ditemukan pada bagian daun yang lebih sering, batang, dan akar. Kalus yang dapat digunakan adalah kalus yang dalam kondisinya dapat bertotipotensi yang artinya kalus tersebut memiliki banyak informasi genetik yang lengkap dan mempunyai kemampuan untuk regenerasi tanaman melalui organ-organ yang telah ditentukan. Kalus ini ditanam dalam media yang berbeda, pada media kalus terdapat kombinasi zat pengatur tumbuh, tetapi tergantung dari jenis tanamannya.

### **2.2.2 Media Kultur**

Media kultur *in vitro* menurut Mariska (2003) adalah media yang sangat steril dan didalamnya memiliki nutrisi yang dapat menumbuhkan tanaman yang akan menjadi bibit baru. Keberhasilan dalam kultur *in vitro* sangat bergantung

pada media yang digunakan. Media dalam *kultur in vitro* tidak hanya menyediakan unsur-unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk mengganti karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis (Gunawan, 2007).

Komponen dasar dalam media *kultur in vitro* ialah air, gula, sebagai sumber karbon, garam inorganik, hara mikro dan makro, vitamin, dan hormon pertumbuhan. Saat ini sudah banyak dipakai media sintetik sebagai sumber nutrisi bagi tanaman (Altman dan Ibrant, 1998).

Media yang sering digunakan dalam *kultur in vitro* dalam perbanyakan tanaman menurut Mariska & Sukmadjaja (2003) *Gamborg's* (B5) dan *Murashige-Skoog* (MS) yang digunakan sebagai media perkecambahan. Pada pembuatan media dimudahkan dengan menggunakan stock. Unsur unsur hara mikro dan makro dalam larutan dibuat dalam konsentrasi 100 kali, vitamin dan zat pengatur tumbuh dibuat dalam 1000 kali. Setelah pembuatan stock larutan stock dimasukkan kedalam almari es dengan suhu 10°.

### 2.2.3 Eksplan

Bagian eksplan tanaman adalah bagian tanaman tertentu yang akan dikulturkan, menurut Mariska (2003) eksplan berasal dari tunas, batang, meristem, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizoma, akar atau bagian lain. Biasanya ukuran eksplan yang digunakan pada penelitian sangat bervariasi dari ukuran mikroskopik biasanya 0,1 mm-5 cm.

Eksplan yang diambil dari lapangan mengandung debu, kotoran-kotoran dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya. Sterilisasi bahan tanaman

mutlak dilakukan (Gunawan, 2007). Menurut Mariska dan Sukmadjadja (2003) sterilisasi eksplan merupakan bagian yang sulit dalam proses produksi bibit melalui *kultur in vitro*. Sterilisasi biasanya dilakukan dalam beberapa tahap. Menurut Gunawan (2007) sterilisasi dimulai dengan pencucian dan pembuangan bagian-bagian yang kotor dan mati dengan air steril, kemudian dilakukan dengan perendaman secara aseptik.

#### 2.2.4 Sterilisasi

Inisiasi yang bebas dari kontaminan merupakan langkah yang sangat penting. Bagian eksplan yang diambil dari lapangan mengandung debu, kotoran, kotoran dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya. Menurut Gunawan (2007) Ancaman bagi peneliti kultur *in vitro* adalah kontaminan, kontaminan tersebut dapat berupa internal dan eksternal. Kontaminan internal berupa cendawan, bakteri. Kontaminan eksternal berupa jamur, serangga dan telur. Kontaminan tersebut harus segera dihilangkan, sehingga pada media tidak mengandung kontaminan tersebut. Bila kontaminan ini tidak dihilangkan, maka pada media yang mengandung gula, vitamin, dan mineral, kontaminan terutama cendawan dan bakteri akan cepat tumbuh secara cepat.

Menurut Indrianto (2002) kontaminan akan memenuhi seluruh botol kultur dalam beberapa hari sehingga eksplan akan tertutup dan mati. Kontaminan tersebut dapat ditanggulangi dengan sterilisasi ruang kerja (dengan LAF), sterilisasi media dan alat-alat, serta sterilisasi eksplan.

### 2.3 Kultur Kalus

Kalus tersusun atas sel-sel parenkim (George dan Sherington, 1984; Pierik, 1987 dalam Darwati, 2007). Kalus merupakan sel yang belum berdiferensiasi, biasanya kalus ini terbentuk pada bagian yang terluka, Menurut Hendaryono (1994) kalus dapat tumbuh baik jika irisan sel terluka sehingga eksplan dapat tumbuh cepat dan banyak kalus terbentuk sehingga irisan eksplan semakin luas. Menurut Gunawan (2007) Kalus akan terbentuk apabila bagian eksplan terjadi otolisis sel, dan sel rusak tersebut akan menghasilkan senyawa-senyawa yang akan merangsang pembelahan sel pada lapisan berikutnya.

Perubahan ukuran sel pada tahap kalus dapat dibagi menjadi tiga tahap, menurut Alitalia (2008) tahap pembentukan eksplan menjadi kalus meliputi induksi membelah dan diferensiasi. Pada metabolisme sel akan aktif membelah dan ukuran sel akan tetap konstan. Pembelahan sel meristematik akan menurunkan ukuran pada sel pada saat itu juga terjadi pembelahan. Akhir fase ini dapat dilihat dengan ciri-ciri adanya peningkatan diferensiasi dan akan terjadi pembesaran sel, dan pada bagian vakuola akan mengembang, dimana inilah yang membedakan kalus metabolit dan kalus embrionik.

Kalus dapat digambarkan dengan pertumbuhan menggunakan kurva sigmoid, biasanya terdiri dari lima fase (1) fase lag (2) periode pertumbuhan eksponensial (3) periode pertumbuhan linear (4) periode penurunan kecepatan tumbuh (5) stasioner (Smith, 2000).

Tahap kalus kompak (metabolit sekunder) biasanya terjadi pada tahap stasioner, menurut Darwati (2007) peningkatan metabolit sekunder pada tahap

stasioner, pada bagian vakuola tersimpan makanan sel dan akan terjadi peningkatan didalamnya. Pada tahap ini akan terjadi kematian pada pertumbuhan pada sel. Hal ini dikarenakan pada nutrisi yang berada dalam media telah terakumulasi dan terbentuk senyawa-senyawa toksik yang akan dikeluarkan pada kalus dalam media. Pada fase ini lebih baik dilakukan Teknik subkultur untuk menyelamatkan kalus agar tetap hidup

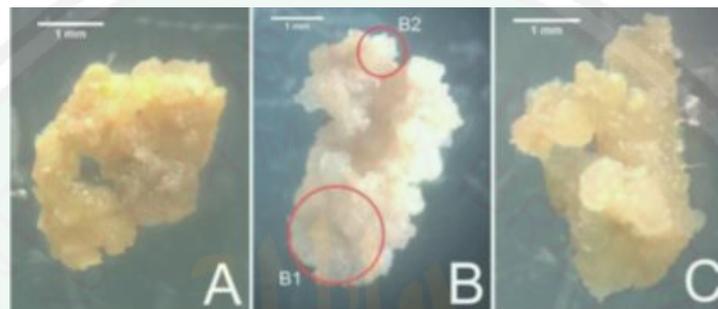
Pertumbuhan kalus dapat dilihat secara visual, menurut Ariati (2015) kalus dapat dilihat dan dinilai pada tekstur, warna dan berat kalus. Parameter ini yang sudah umum dilakukan oleh para peneliti *kultur in vitro*. Berikut adalah penjelasan dari parameter penelitian *kultur in vitro*:

### **2.3.1 Tesktur Kalus**

Kalus ditandai dengan penilaian kualitas kalus. Pada parameter ini adalah tesktur kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu kompak (*Non-friable*), intermediet dan remah (*friable*) (Andaryani, 2010). Kalus yang harus didapatkan pada penelitian ini adalah kompak untuk mendapatkan senyawa metabolit lebih banyak, Menurut Sugiyarto (2010) bahwa kalus kompak dapat dilihat dari tekstur dengan tanda kalusnya keras dan mengembang dan bentuknya besar, pada penelitiannya pada daun binahong tekstur kalus binahong tampak kompak dan besar untuk menghasilkan kalus metabolit.

Kalus remah biasanya lebih banyak dipakai sebagai perbanyakan jaringan, menurut Sitorus (2011) Apabila pada penelitian *kultur in vitro* membutuhkan kalus remah maka dilakukan dengan menggunakan Teknik subkultur berulang-ulang, karna pada kalus remah ini adalah kalus terpisah-pisah

dan menjadi bagian kecil-kecil dan gampang lepas, dan didalamnya terdapat banyak air. Menurut Rahayu (2003) menyatakan bahwa dengan menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D biasanya banyak menghasilkan kalus dengan tekstur remah. Dibawah ini contoh dari tekstur kalus.

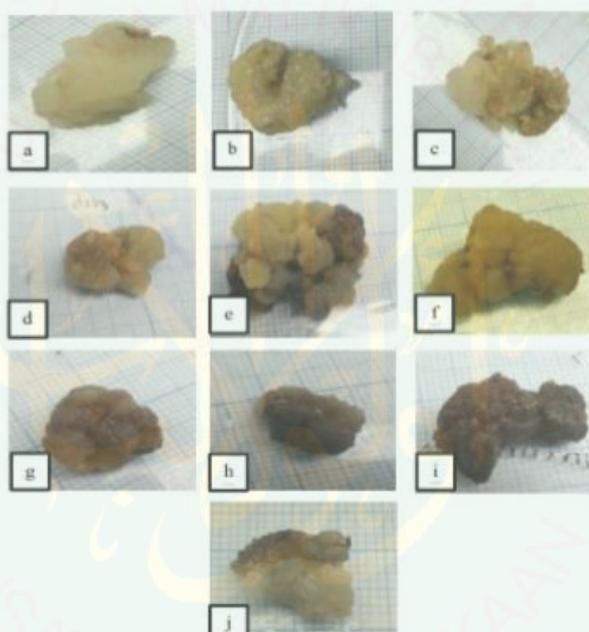


Gambar 2.2 Tesktur kalus stevia (A) kalus kompak, (B) kalus intermediet (B1= kalus kompak, B2 = kalus remah) (C) kalus remah (Putri,2015).

### 2.3.2 Warna Kalus

Parameter selanjutnya yang tampak dari visual adalah warna dari kalus, warna yang baik untuk kalus metabolit adalah warna yang gelap atau putih dimana kalus tersebut dalam keadaan membelah. Menurut penelitian Wahyuni (2016) bahwa warna kalus metabolit dari kalus gandarusa adalah berwarna hijau pekat dan putih dan akhirnya menjadi coklat. Menurut Dwi (2012) pada kalus yang berwarna hijau bahwasanya kalus tersebut memiliki klorofil pada jaringannya, maka apabila kalus tersebut semakin hijau maka kalus tersebut semakin menandakan banyaknya klorofil didalamnya. Pada proses ini sitokinin yang berperan, menurut Wardani (2004) sitokin bisa bersifat antagonis pada kalus, karna pada media kalus sitokinin dapat menghambat butir-butir klorofil. Pada proses ini sitokinin dapat mengaktifkan metabolisme pada sintesis protein.

Banyak hal yang dapat mempengaruhi warna dari kalus, menurut Mariska (2003) menyatakan hal-hal yang mempengaruhi warna kalus terdiri dari pigmentasi pada kalus, atau pengaruh cahaya yang tertuju pada bagian eksplan. Ciri-ciri kalus yang berregenerasi adalah kalus membentuk tunas dan akan merubah warna menjadi gelap kecoklatan atau putih kekuningan selanjutnya menjadi hijau. Pada perubahan warna ini bisa dikatakan terjadi morfogenesis.



Gambar 2.3 Warna kalus kopi liberika tunggal jambi (*Coffea liberica* var. *Liberica* Cv. tunggal jambi) yang berumur 12 minggu setelah kultur, a) kalus warna putih (2 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), b) kalus warna putih kekuningan (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), c) kalus warna putih kecoklatan (3 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), d) kalus warna kehitaman (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), e) kalus warna kuning kehitaman (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), f) kalus warna kuning (4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), g) kalus warna coklat (2 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin), h) kalus warna hitam kecoklatan (4 ppm 2,4-D + 1,5 ppm kinetin), i) kalus warna hitam (2 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin), j) kalus warna putih kehitaman (3 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin) (Azizah, 2017).

### 2.3.3 Berat Kalus

Parameter pertumbuhan kalus pada berat kalus juga dikatakan sebagai indikator utama (Yokota *et al.*, 1999). Berat kalus ditandai adanya karbohidrat

dan air didalamnya, semakin berat kalus maka akan semakin banyak kandungan air dan karbohidrat di dalamnya. Ruswaningsih (2007) mengatakan bahwa berat kalus dapat diukur dari berat basah kalus dan berat kering kalus.

Berat basah dapat diperoleh dari kecepatan sel-sel untuk membelah diri dan memperbanyak diri, kemudian kalus berubah menjadi besar. Pada berat kering penilaian dilakukan secara global dengan melihat peristiwa yang pernah dialaminya. Berat kering dapat dilakukan menggunakan alat yang mudah yaitu pengering dengan maksud untuk menghilangkan kadar air yang dapat memutuskan aktivitas metabolisme.

#### **2.4 Zat Pengatur Tumbuh**

Penelitian dalam *kultur in vitro* memiliki faktor lain. Zat pengatur menjadi penelitian yang paling banyak diminati para ilmuwan *kultur in vitro* khususnya pada tanaman. Zat pengatur tumbuh ini sangat dibutuhkan untuk proses pertumbuhan dan diferensiasi. Beberapa tanaman tidak memberikan respon media apabila pada media tidak diberikan zat pengatur tumbuh di dalamnya.

Zat pengatur tumbuh ini dapat ditambahkan kedalam media khususnya pada media kalus. Menurut Hendaryono (1994) auksin sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media tersebut. Pada golongan sitokinin yang paling sering digunakan adalah BAP dan kinentin, dan zeatin. Pada golongan yang sering ditambahkan dalam medium adalah 2,4-D, *indol Asam Asetat (IAA)*, *Naftalen Asam Asetat (NAA)*, *Indol Butirik Asetat (IBA)* (Hendaryono dan wijaya,1994)

#### **2.4.1 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)**

Auksin yang ditambahkan pada penelitian ini adalah asam 2,4-D. peran asam ini untuk merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terjadi pada pucuk tanaman. Tetapi pada asam 2,4-D ini lebih cenderung menghasilkan kalus, menurut Hendaryono (1994) asam 2,4-D ini digunakan untuk menumbuhkan kalus dari eksplan dan juga akan menghambat regenerasi pucuk tanaman.

Konsentrasi yang digunakan pada asam 2,4-D ini sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus. Pada konsentrasi asam 2,4-D biasanya memakai takaran kecil, karena pada konsentrasi kecil sangat berpengaruh dalam kecepatan tumbuhnya dan singkat. Menurut Suryowinoto (1996) pada asam 2,4-D ini pada konsentrasi tertentu dapat mengakibatkan mutasi-mutasi pada gennya.

#### **2.4.2 6-Benzilaminopurin (BAP)**

Golongan sitokinin adalah turunan dari adenine. Golongan ini sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis (Gunawan, 1992). Sitokinin digunakan untuk merangsang terbentuknya tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel serta aktivitas utamanya adalah mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Karjadi dan Buchory, 2008).

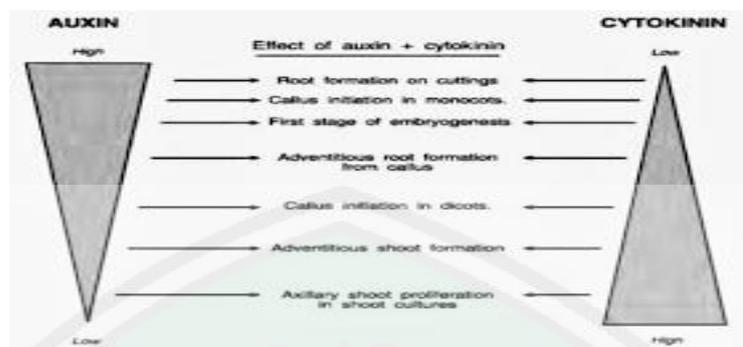
Zulkarnain (2009) menambahkan mekanisme sitokinin dalam mengatur pembelahan sel yaitu dengan meningkatkan ekspresi *D-type cyclin gene CycD3* yaitu gen yang mengatur proses transisi G1 menuju fase M dalam siklus sel.

Salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel.

Penelitian ini menggunakan sitokinin golongan BAP (*Benzilaminopurin*). Pada penelitian ini BAP sangat diperlukan dalam pertumbuhan kalus yang akan dikombinasikan menggunakan auksin. Menurut Pranata (2004) fungsi dari sitokinin ini untuk memacu pembesaran kotiledon, dan daun dikotil, dan juga berfungsi sebagai pertumbuhan sel meristem dan dapat mempengaruhi perkembangan kuncup, batang dan daun. Menurut Hosen (1996) apabila BAP ditingkatkan konsentrasinya maka akan berakibat apabila pada tunas akan beruas pendek-pendek.

### **2.4.3 Perbandingan Auksin Dan Sitokinin**

Auksin adalah sekelompok senyawa yang fungsinya merangsang pemanjangan sel-sel pucuk yang spektrum aktivitasnya menyerupai IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Sitokinin sendiri merupakan senyawa sintesis yang berperan dalam pembelahan sel, menurut Zulkarnain (2009) sitokinin juga dapat mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman sama halnya dengan kinetin. Menurut Abidin (1993) peranan auksin dan sitokini berbeda sesuai konsentrasi yang diinginkan. Apabila sitokinin lebih tinggi dan auksin rendah maka akan memicu pertumbuhan tunas dan daun. Apabila kebalikannya akan memberikan stimulasi pada akar, dan apabila sitokinin sedang dan auksin rendah akan memicu pertumbuhan kalus.



Gambar 2.4 kesimbangan auksin dan sitokinin (George dan sherrinton (1989).

## 2.5. Anatomi Kalus Metabolit Sekunder

Penelitian kultur jaringan yang terkait tentang kultur kalus dapat dikuatkan dengan pengamatan anatomi pada kalus, dengan pengamatan ini dapat diambil kesimpulan kalus tersebut masuk dalam kategori kalus embriogenik atau kalus metabolit sekunder. Menurut Alcantara, *et al.*, (2014) menyatakan pada penelitiannya bahwa kalus tebu non embriogenik (NE) yang memiliki ciri ukuran sel tampak besar, dengan nukleus yang umumnya tidak tampak.

kalus tebu embriogenik mengandung pro-embrio (PE) dan memiliki ciri-ciri sitoplasma rapat, nukleolus tampak jelas, mengandung rasio nukleus dan sitoplasma yang tinggi yang mengindikasikan adanya zona meristematik yang dapat mengarahkan kepada pembentukan somatik embrio. Kalus yang terbentuk dari jalur somatik embryogenesis selanjutnya akan membentuk unit yang menyerupai embrio (embryoid) yang memiliki dua calon meristem (bipolar) yang kemudian akan melewati tahap pendewasaan dan perkecambahan (Iayyinah, 2015).

## 2.6. Penelitian Kultur Kalus Metabolit Perbandingan Hormon 2,4-D Dan BAP

Penelitian sebelumnya telah menganalisis perbandingan hormon 2,4-D dan BAP dengan berbagai macam tanaman salah satunya pada tanaman jarak pagar (*Jatropha Curcas*) pada konsentrasi 2 mg/L BAP dan 0,25 mg/L 2,4-D paling optimal untuk menginduksi kalus. Kalus rata-rata berwarna hijau kekuningan. Dan 2 mg/L BAP dan 0,5 mg/L 2,4-D mampu menghasilkan berat 2,56 gram (Andaryani, 2010).

Penelitian sebelumnya pada genus yang sama *Physalis minima* Linn pada perlakuan 2,4-D pada konsentrasi 2,0 mg/L menghasilkan kalus dengan tekstur kompak dengan berat kalus 150,10 mg. akan tetapi pada kombinasi auksin dan sitokinin IAA+ Kinetin pada konsentrasi 1,5 mg/L+ 0,5 mg/L menghasilkan kalus kompak dengan berat kalus 208,03 mg.

Selanjutnya pada penelitian kalus kacang tanah (*Arachis hypogea*) dimana kalus terbaik pada medium MS yang ditambahkan 4 mg/L 2,4-D. Diameter kalus terbesar diperoleh pada medium MS 3 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP (Royani, 2015) Penelitian selanjutnya pada tanaman nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) dengan kombinasi 2,4-D dan BAP konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D + 2 mg/L yang paling optimal untuk kandungan berat kalus dengan rata-rata 197,8 mg, dan untuk hari muncul kalus yaitu pada hari ke-13 HST dan pada tekstur kompak dan warna coklat dengan kombinasi 1 mg/L BAP dan 0,5 mg/L. (Indah, 2013).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan Acak Lengkap dengan dua factorial, yaitu faktor auksin, sitokinin dengan konsentrasinya. Masing-masing perlakuan dengan 5 kali ulangan. Konsentrasinya pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah Auksin dengan jenis 2,4-dikloropenoxyacetic acid yang terdiri dari:

- 0 mg/l (D0)
- 0,5 mg/l (D1)
- 1,0 mg/l (D2)
- 1,5 mg/L (D3)
- 2,0 mg/l (D4)

Konsentrasi kedua yang digunakan pada penelitian ini adalah sitokinin jenis BAP (*6-Benzylamino Purien*) yang terdiri dari:

- 0 mg/l (B0)
- 0,25 mg/l (B1)
- 0,5 mg/l (B2)
- 0,75 mg/l (B3)
- 1,0 mg/L (B4)

Kombinasi perlakuan akan disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan 2,4-D Dan BAP

ZPT		BAP				
		0 mg/l	0.25 mg/l	0.5 mg/l	0.75 mg/l	1 mg/l
2,4-D	0 mg/l	D0B0	D0B1	D0B2	D0B3	D0B4
	0.5 mg/l	D1B0	D1B1	D1B2	D1B3	D1B4
	1 mg/l	D2B0	D2B1	D2B2	D2B3	D2B4
	1.5 mg/l	D3B0	D3B1	D3B2	D3B3	D3B4
	2 mg/l	D4B0	D4B1	D4B2	D4B3	D4B4

### 3.2. Variabel Penelitian

Variable yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Variabel bebas: variable bebas pada penelitian ini adalah penambahan konsentrasi sitokinin BAP dan auksin 2,4-D yang berbeda dan sesuai
- 2) Variabel terikat: variable terikat pada penelitian ini adalah warna kalus, tekstur kalus, anatomi kalus, hari muncul kalus, Persentase eksplan berkalus dan berat kalus pada tanaman ciplukan
- 3) Variabel terkontrol: variable terkontrol pada penelitian ini adalah konsentrasi hormone BAP dan 2,4-D, suhu, cahaya, media MS, PH, dan kelembapan

### 3.3. Waktu Dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga Juli 2018 di laboratorium kultur jaringan tumbuhan (KJT) Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.4. Alat Dan Bahan**

#### **3.4.1. Alat**

Alat- alat yang digunakan pada penelitian ini adalah erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, botol kultur, pengaduk batang, alat-alat diseksi (scapel, pinset, gunting), LAF (*laminar air flow*), timbangan analitik, PH ukur, pipet, oven, autoklaf, lemari pendingin, rak kultur, AC (*Air conditioner*), lampu *fluorescence*, oven kertas label, plastik karet, *hotplate* and *magnetic stirrer*, ketas tissue, aluminium foil dan alat wrap plastik.

#### **3.4.2. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji buah ciplukan untuk perkecambahan dan daun ciplukan (*Physalis Angulata*) sebagai induksi kalus, bahan yang digunakan untuk sterilisasi adalah Aquades, Alkohol 70%, Alkohol 96%, Air steril, dan Clorox. Bahan media yang digunakan adalah MS (*Murashige and Skoog*), Auksin (2,4-D) dan Sitokinin (BAP), agar agar dan gula/sukrosa.

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Tahap Persiapan**

##### **3.5.1.1. Sterilisasi Alat**

Alat- alat dissecting set (scapel, pinset dan gunting), alat-alat gelas dan logam dicuci menggunakan Tween atau detergen dan dibilas dengan air bersih beberapa kali dan kemudian dikeringkan. Alat-alat logam ditutup menggunakan aluminium foil, sedangkan alat-alat gelas dimasukkan ke dalam oven, setelah itu dibungkus kertas dan dimasukkan ke dalam

autoclave dalam suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit. Kemudian alat-alat dissecting (scapel, pinset dan gunting) di sterilisasi dengan alcohol 96% dan dibakar dengan nyala api spiritus setiap kali akan digunakan LAF.

### 3.5.1.2. Pembuatan Stock Hormon

Pembuatan hormon stock bertujuan agar dapat mempermudah proses pembuatan media, konsentrasi yang digunakan adalah 100 mg/l dalam 100 ml aquades. Langkah utama yaitu dengan menimbang sitokinin BAP sebanyak 0,1gram kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml dalam gelas ukur yang berbeda. Selanjutnya larutan di homogenkan hingga tercampur rata dan dimasukkan kedalam botol masing-masing dan diberi label.

### 3.5.1.3. Pembuatan Media Perkecambahan dan Kalus

Media yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 2 jenis yaitu media perkecambahan dan media induksi kalus kompak ciplukan. Media perkecambahan terdiri dari bahan MS dengan berat 3,34 gr, gula 15 gr dan agar-agar 4 gr.

Bahan tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berukuran 1 liter, kemudian di homogenkan menggunakan *hotplate* dan *stirrer*, kemudian setelah homogen dilanjutkan dengan mengukur PH media menggunakan PH meter dengan batas PH 5,8-6,0. Apabila media terlalu basa, maka ditambahkan HCL hingga mencapai batas PH media, apabila media terlalu asam, maka ditambahkan dengan NaOH hingga mencapai batas PH media. Selanjutnya media dimasak dan dimasukkan agar-agar seberat 4 gr dan

diaduk hingga rata sampai mendidih. Kemudian media yang telah matang dituangkan ke dalam botol sedang dan ditutup menggunakan plastik dan diikat menggunakan karet.

Sedangkan pada media induksi kalus yaitu sama seperti media perkecambahan menggunakan bahan MS seberat 3,34 gr, gula 30 gr, dan agar-agar 8 gr. Kemudian bahan tersebut MS dan gula di homogenkan menggunakan *hotplate* dan *stirrer*. Selanjutnya dimasukkan zat pengatur tumbuh kedalam media sesuai konsentrasi yang telah ditentukan menggunakan pipet. Selanjutnya mengukur PH media menggunakan PH meter dengan batas PH 5,8-6,0. Apabila media terlalu basa, maka ditambahkan HCL hingga mencapai batas PH media, apabila media terlalu asam, maka ditambahkan dengan NaOH hingga mencapai batas ph media. Kemudian media di masak dan dimasukkan agar-agar 8 gr yang telah dibagi sesuai konsentrasi. Kemudian dituangkan ke dalam botol dan ditutup dengan plastic dan di ikat menggunakan karet. Masuk tahap sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 Atm selama 15-30 menit.

### **3.5.2. Sterilisasi Ruangan**

Disiapkan alat-alat dissecting set (scapel, pinset, dan gunting) petridish dan Bunsen. Dibersihkan meja LAF menggunakan Alcohol 70% disemprotkan. Kemudian ditutup pintu LAF dan di sterilkan menggunakan sinar UV selama 45-60 menit.

### **3.5.2.1. Sterilisasi Biji Ciplukan**

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun ciplukan. Daun ciplukan didapatkan dari perkecambahan biji buah ciplukan yang ditanam dari media MS. Biji buah ciplukan di sterilisasi di dalam LAF menggunakan Clorox 30% selama 5 menit, selanjutnya dibilas air steril selama 5 menit, kemudian dilanjutkan menggunakan alkohol 70% selama 5 menit, dan setelah itu dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 botol.

Biji ciplukan yang sudah tumbuh di induksikan ke dalam media yang terdapat zat pengatur tumbuh, maka tidak perlu menggunakan proses sterilisasi.

### **3.5.2.2. Induksi Kalus Daun Ciplukan**

Daun ciplukan yang telah berkecambah pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh berumur 14 HST, kemudian diambil bagian eksplan daun dan di induksi kedalam media perlakuan MS untuk induksi kalus yang telah ditambahkan hormone 2,4-D dan BAP dengan total perlakuan 25 kombinasi. Masing-masing perlakuan di ulang sebanyak 5 kali ulangan. Hal ini dilakukan di dalam LAF (*laminar air flow*) dan setiap langkah yang dilakukan selama inisiasi harus didekatkan dengan api Bunsen. Setelah selesai penanaman eksplan kemudian botol ditutup dengan plastik dan karet gelang dengan rapat. Kemudian eksplan diinduksi selama 4 minggu/30 hari.

## **3.6. Teknik Pengambilan Data**

Pengamatan dilakukan dengan 2 tahapan:

1. Pengamatan dilakukan setiap hari sekali untuk melihat respon, hari pertama munculnya kalus, dan ada tidaknya kontaminasi pada eksplan.
2. Pengamatan akhir yang dilakukan setelah (30 HST) 4 minggu penanaman terdiri dari:

- a. Pengamatan kuantitas kalus

Parameter yang diamati untuk menunjukkan kualitas kalus meliputi:

- Hari munculnya kalus yaitu dengan diamati perubahan eksplan membentuk kalus setiap hari sekali setelah inisiasi.
- Persentase eksplan berkalus diamati pada hari terakhir dengan menghitung luasan eksplan yang berkalus dengan rumus:

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

- Berat kalus ditimbang dari berat basah kalus yang didapat dari setiap perlakuan pada pengamatan terakhir.

- b. Pengamatan kualitas kalus

- Parameter yang diamati untuk menunjukkan kualitas kalus meliputi  
Warna kalus diamati melalui perubahan warna yang terjadi setiap perubahan kalusnya.
- Tekstur kalus diamati secara visual pada penampakan kalus yaitu kalus remah, kalus kompak, dan kalus intermediet. Dan pengamatan histologi diamati adanya dinding sel, vakuola atau dicirikan tidak adanya inti sel.

- Anatomi kalus diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400X dipotong secara melintang pada hari ke-30 HST.

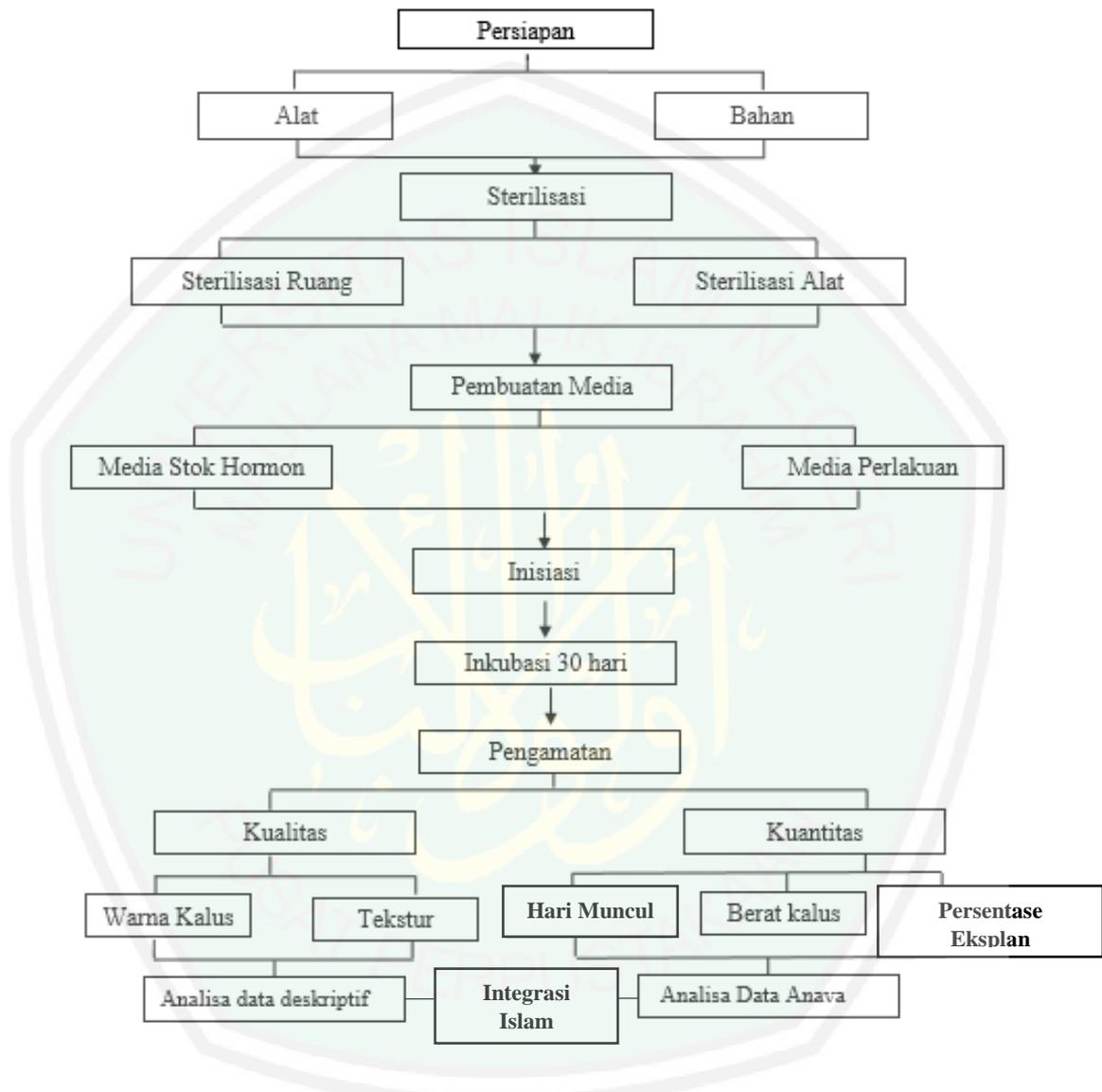
### 3.7. Analisis Data

Data pengamatan berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif berupa hari munculnya kalus, berat kalus, dan persentase eksplan berkalus. Sedangkan data kualitatif berupa pengamatan visual meliputi: tekstur kalus dan warna kalus dan anatomi kalus.

Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis variasi (ANAVA) untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D pada media MS terhadap induksi kalus daun ciplukan, apabila terdapat perbedaan yang nyata maka uji dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan *Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5%. Sedangkan data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara deskriptif.

Data hasil pengamatan selain analisis dengan menggunakan analisis variasi, juga dianalisis menggunakan integrasi sains dan islam dengan menggunakan pendekatan spiritual nilai-nilai islam. Analisis ini dikaitkan dengan sumber ayat-ayat dan sunnah sebagai pedoman bagi umat muslim yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran dalam pandangan islam. Analisis ini dapat diambil oleh masyarakat sebagai petunjuk arah fungsi kebenaran atas kekuasaan Allah SWT yang ada di bumi ini melalui penelitian ilmuwan islam dan sebagai khalifah di muka bumi yang berakal.

### 3.8. Desain Penelitian



Gambar 3.1. Desain Penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Metabolit Sekunder Ciplukan (*Physalis angulata*)

Berdasarkan hasil penelitian dengan masa pengamatan selama 30 hari setelah tanam, hasil tersebut didapatkan data kuantitatif dengan tiga variabel, variabel itu terdiri dari hari muncul kalus, berat kalus dan persentase eksplan berkalus. Hari muncul kalus, berat kalus, dan persentase eksplan berkalus merupakan indikator adanya pertumbuhan kalus dalam kultur *in vitro*. Variabel ini diperoleh dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh zat pengatur tumbuh yang diinduksikan. Salah satu dari zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,4-D. 2,4-D ini digunakan dalam pertumbuhan kalus kompak ciplukan (*Physalis angulata*). Hasil dari analisis varian ANOVA tersaji dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Analisis ragam pengaruh 2,4-D dalam menginduksikan kalus ciplukan (*Physalis angulata*).

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (hari)	<b>45,917*</b>	3,112249848
Persentase eksplan berkalus (%)	<b>14,526*</b>	3,112249848
Berat kalus (g)	<b>7,205*</b>	3,112249848

Keterangan: (\*) menunjukkan 2,4-D memberikan pengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Hasil ragam ANOVA menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D memberi pengaruh nyata terhadap 3 variabel yaitu hari muncul kalus, persentase eksplan berkalus dan berat kalus. Hal ini ditunjukkan bahwa F

hitung lebih besar dari F tabel Sehingga perlu diuji lanjut dengan menggunakan uji Duncan *Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil dari uji DMRT 5% pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Ciplukan (*Physalis ngulata*).

Konsentrasi 2,4-D	HMK (Hari)	Berat Kalus (g)	Persentase Ekspansi Berkalus (%)
0	15,4667b	0,1094a	66,562a
0,5	<b>9,4667a</b>	0,191ab	76,6667b
1	10,600a	0,2497b	<b>93,000c</b>
1,5	10,5333a	0,2567bc	93,000c
2	14,667b	<b>0,2590d</b>	93,000c

Keterangan: Angka Yang Diikuti Huruf Yang Sama Menunjukkan Tidak Berbeda Nyata Berdasarkan Uji DMRT 5%

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% terhadap indikator hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 0,5 mg/L paling efektif terhadap hari muncul kalus, dengan rata-rata muncul kalus pada hari ke-9 HST.

Menurut Bekti (2003) menyatakan bahwa pemberian hormon 2,4-D menginduksi kalus lebih cepat, karna auksin berperan penting dalam pembentukan kalus. Menurut Zulkarnain (2009) 2,4-D pada konsentrasi 0,5 mg/L tanpa sitokinin sangat efektif untuk induksi proliferasi kalus pada kebanyakan kultur. Senyawa tersebut akan menekan organogenesis dan sebaiknya tidak digunakan pada kultur yang melibatkan inisiasi pucuk dan akar.

Kalus dapat muncul ditandai dengan adanya pembesaran pada eksplan atau membengkak tepat eksplan yang dilukai pada daun ciplukan. Munculnya kalus juga ditandai dengan daun menggulung. Sitorus *et al* (2011) menyatakan bahwa pembentukan kalus terjadi akibat perlukaan yang diberikan pada eksplan, sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak tersebut. Sedangkan

kalus muncul pada tulang daun karna tulang daun mengandung jaringan pengangkut.

Pendapat ini serasi dengan pernyataan Intias (2012) bahwa pada tulang daun akan mengakibatkan pertumbuhan kalus semakin cepat disebabkan tulang daun mengandung nutrient lebih banyak bila di banding dengan jaringan daun yang tidak mempunyai jaringan pengangkut. Selain itu hormon endogen dan eksogen juga menjadi faktor utama munculnya kalus.

Ulfa (2011) menyatakan bahwa 2,4-D berjalan sesuai mekanisme dalam pembentukan kalus dengan berdifusi ke dalam jaringan yang dilukai. 2,4-D yang diberikan akan merangsang auksin yang terkadang di dalam jaringan eksplan menstimulasi pembelahan sel terutama sel-sel yang berada di sekitar luka. Widiastuti (2009) menambahkan bahwa auksin ini juga menginisiasi pemanjangan sel dengan cara mempengaruhi fleksibilitas dinding sel dan memacu protein tertentu yang ada di membran plasma untuk menompa ion  $H^+$  ke dinding sel. ion  $H^+$  ini mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Sehingga sel berkembang akibat air yang masuk secara osmosis. Sel terus tumbuh dengan mensintesis kembali mineral dinding sel dan sitoplasma.

Hasil DMRT 5% persentase eksplan berkalus menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1 mg/L paling efektif terhadap persentase kalus dengan rata-rata persentase eksplan berkalus 93%. Hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka akan semakin naik persentase besar kalus. Penelitian

Sugiarto (2012) konsentrasi 1 mg/L 2,4-D memiliki rata-rata persentase kalus 100% pada daun binahong.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa faktor lain yang mendukung persentase pertumbuhan kalus adalah dengan adanya penggunaan media MS. Ardiana (2009) menyatakan bahwa pemberian hormon dengan konsentrasi berbeda pada media MS memberikan persentase tumbuh eksplan yang baik, karena pada media mengandung vitamin, unsur hara makro dan mikro, serta besi dan sukrosa sehingga cukup untuk memacu pertumbuhan eksplan dalam pembentukan kalus.

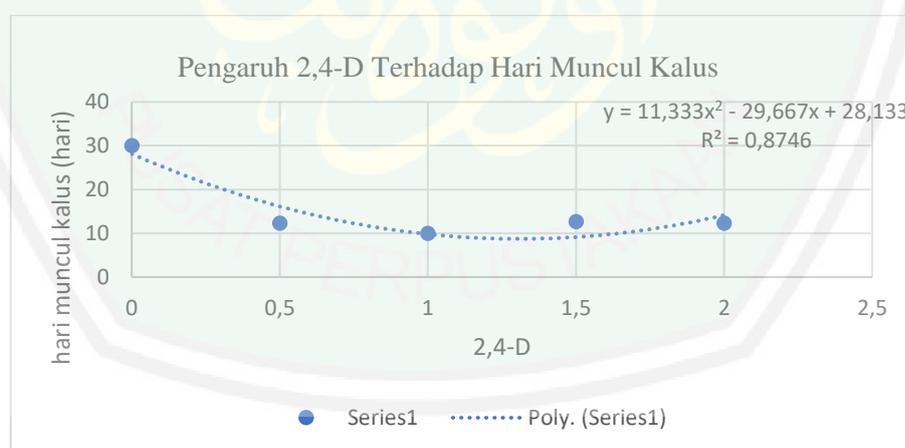
Pengamatan selanjutnya yaitu berat kalus ciplukan. Pengamatan dilakukan dengan menimbang bagian yang berkalus tanpa eksplan yang tidak berkalus. Pengamatan ini menggunakan alat neraca analitik pada hari ke-30 HST.

Hasil DMRT 5% pada indikator berat kalus basah ciplukan menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi 2 mg/L 2,4-D paling efektif dengan rata-rata berat kalus 0,2590 g, hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi 2,4-D maka akan semakin cepat pembentukan kalus dan semakin besar berat kalus. Penelitian sebelumnya Sheeba (2013) pada *Physalis peruviana* pada perlakuan yang sama menunjukkan berat kalus basah dengan rata-rata 0,1501 g.

Berat kalus menjadi indikasi adanya pembelahan sel yang sangat cepat. Penambahan 2,4-D dapat memicu dan mempercepat pembelahan sel. Rahayu *et al* (2003) menyatakan bahwa pada indikator berat kalus basah yang besar, menunjukkan adanya kandungan air tinggi, selain itu berat kalus yang didapatkan juga bergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. 2,4-D yang

diserap oleh eksplan akan menstimulasi pembelahan sel dan membentuk massa sel yang disebut kalus. Berikut adalah hasil lanjutan dengan menggunakan regresi, hal ini diperlukan untuk mengetahui titik optimum pada setiap perlakuan induksi kalus kompak ciplukan.

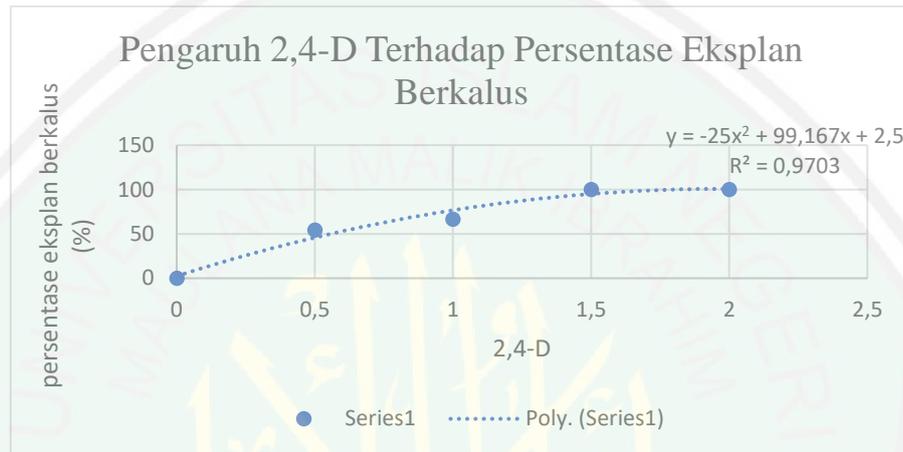
Proses pembesaran sel terjadi karena adanya pengaruh dari hormon auksin. Auksin ini berperan dalam memicu pelunakkan dinding sel dengan cara mengaktifasi pompa protein (Ion  $H^+$ ) yang terletak pada membran plasma, sehingga mengakibatkan pembesaran sel dan mengaktifasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mengdegradasi bermacam-macam protein atau polisakarida yang menyebabkan dinding sel lunak dan lentur sehingga pembesaran sel terjadi. (Aslamsyah, 2002). Berikut hasil regresi dari 3 indikator yang berpengaruh.



Gambar 4.1. Hasil Analisis Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Hari Muncul Kalus Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap hari muncul

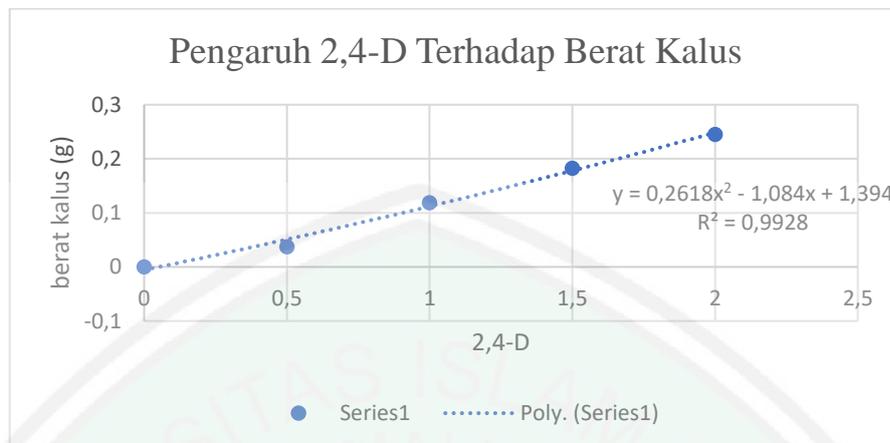
kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 11,333x^2 - 29,667x + 29,667$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,8746$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan hari muncul kalus memiliki tingkat

kepercayaan 87,46%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (1,3; 8,7) yang artinya hari muncul kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian 2,4-D sebesar 1,3 mg/L dengan cepat tumbuh kalus 8,7 HST.



Gambar 4.2. Hasil Analisis Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Persentase Eksplan Berkalus

Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap persentase kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 25x^2 - 99,167x + 2,5$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9703$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan persentase kalus memiliki tingkat kepercayaan 97,03%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (1,9; 100) yang artinya persentase kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian 2,4-D sebesar 1,9 mg/L dengan persentase kalus sebesar 100%.



Gambar 4.3. Hasil Analisis Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Berat Kalus

Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh 2,4-D terhadap berat kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 0,2618x^2 - 1,084x + 1,394$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9928$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan berat kalus memiliki tingkat kepercayaan 99,28%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (2,0: 0,266) yang artinya berat kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian 2,4-D sebesar 2,07 mg/L berat kalus sebesar 0,266 g.

Hasil regresi pada berat kalus menunjukkan bahwa pada perlakuan 2,4-D perlu dilakukan uji lanjut pada konsentrasi yang lebih tinggi, dikarenakan pada hormon 2,4-D dapat mempercepat pertumbuhan kalus pada kalus ciplukan, sehingga dapat diketahui titik optimum pada hormon 2,4-D pada berat kalus ciplukan.

#### 4.2. Pengaruh Pemberian Konsentrasi BAP Terhadap Induksi Kalus Metabolit Sekunder Ciplukan (*Physalis angulata*)

Berdasarkan hasil penelitian dengan masa pengamatan selama 30 HST, Variabel ini diperoleh dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh zat pengatur tumbuh yang diinduksikan. Salah satu dari zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAP. BAP ini digunakan dalam menginduksi kalus kompak ciplukan (*Physalis angulata*). Hasil dari analisis varian ANOVA tersaji dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Analisis ragam pengaruh BAP dalam menginduksikan kalus ciplukan (*Physalis angulata*).

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (Hari)	<b>60,378*</b>	3,112249848
Persentase Eksplan Kalus (%)	<b>45,038*</b>	3,112249848
Berat Kalus (g)	3,075	3,112249848

Keterangan: (\*) menunjukkan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Hasil ragam ANOVA menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh BAP memberi pengaruh nyata terhadap 2 variabel yaitu pada hari muncul kalus dan persentase eksplan berkalus. Pada Zat pengatur tumbuh BAP berat kalus tidak berpengaruh dikarenakan F tabel lebih besar dari pada F hitung, maka tidak di uji Duncan. Pada indikator hari muncul kalus dan persentase eksplan berkalus, Diuji lanjut dengan menggunakan uji Duncan *Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil dari uji DMRT 5% pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Ciplukan (*Physalis Angulata*).

Konsentrasi BAP	HMK (Hari)	Persentase Eksplan Berkalus (%)
0	17,6667b	49,062a
0,25	<b>10,4667a</b>	91,000b
0,5	10,9333a	<b>94,667c</b>
0,75	11,4000a	94,667c
1	10,2667a	96,000c

Keterangan: Angka Yang Diikuti Huruf Yang Sama Menunjukkan Tidak Berbeda Nyata Berdasarkan Uji DMRT 5%

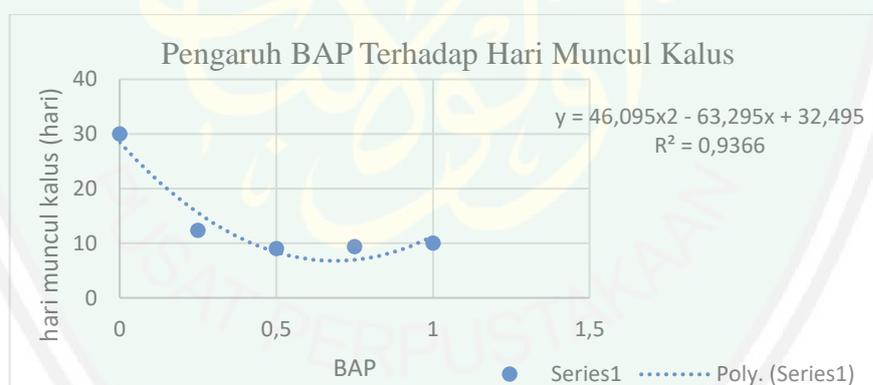
Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa BAP paling efektif terhadap hari muncul kalus dari pada Konsentrasi 0,25 mg/L mempunyai nilai rata-rata hari ke-10 HST. Cepat muncul kalus ditunjukkan karna adanya faktor hormon eksogen pada ciplukan dan juga ditambahkan faktor hormon endogen yang berada pada ciplukan, menurut Wattimena *et al* (1992) sitokinin BAP berfungsi dalam pembelahan sel dan poliferasi kalus. Sitokinin terutama berperan dalam hal pembetulan benang gelendong metaphase. BAP berperan untuk menunda penuaan dengan jalan mempertahankan membrane protoplas dan mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh pada membran yang dapat merusak membran.

Penelitian sebelumnya zuraida (2016) menyatakan bahwa hari muncul kalus pada daun sirih hitam dengan pemberian hormon BAP 2,0 mg/L menginduksi hari muncul kalus dengan rata-rata hari ke-11-12 setelah tanam

Selanjutnya hasil uji DMRT 5% menunjukkan bahwa BAP yang paling efektif terhadap persentase eksplan berkalus adalah pada konsentrasi 0,5 mg/L dengan rata-rata persentase kalus 94,66%. Sitokinin ini berperan dalam memicu pembelahan dalam jaringan meristematic. Peran sitokinin ini secara berlangsung

dalam tahap interfase. Proses translasi RNA dalam proses sintesis protein. (Aslamsyah, 2002). Proses tersebut berlangsung dalam tahap interfase. Proses translasi RNA dilanjutkan dengan pemetukan asam-asam amino yang merupakan komponen dasar protein. Protein yang terbentuk berupa enzim-enzim yang akan menyebabkan proses pembelahan sel berlangsung secara efektif.

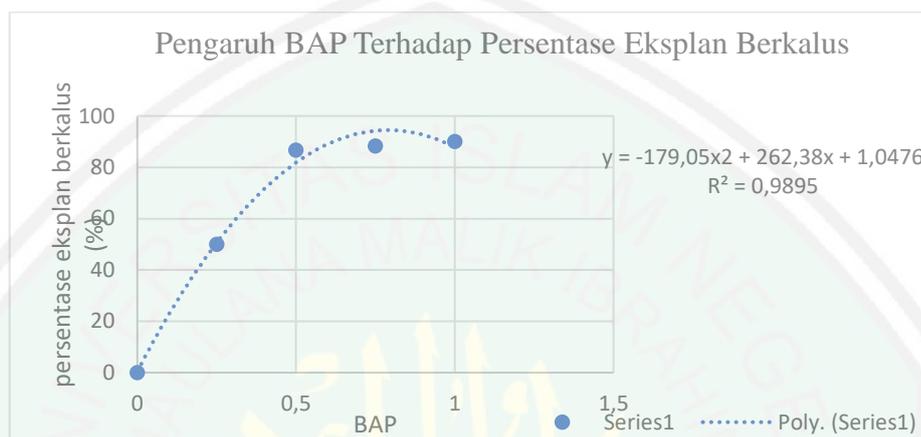
Pemetukan kalus diawali dengan pembekakan eksplan yang terluka, pada penelitian ini BAP pada kalus ciplukan cenderung dalam menghasilkan pucuk, sehingga mendorong pada bagian atas kemudian kalus terbentuk. Pada hormon endogen juga, ciplukan cenderung lebih banyak hormon sitokinin dari pada hormon auksin, maka dari itu pada penelitian ini cukup ditambahkan sedikit hormon eksogen sitokinin berupa BAP, bisa memunculkan kalus lebih lebih cepat.



Gambar 4.4. Hasil Analisis Regresi Pengaruh BAP Terhadap Hari Muncul Kalus Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh BAP terhadap hari muncul

kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 46,095x^2 - 63,295x + 32,495$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9366$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dengan hari muncul kalus memiliki tingkat kepercayaan 93,66%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui

pada koordinat (0,6; 11,11) yang artinya hari muncul kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian BAP sebesar 0,6 mg/l dengan cepat tumbuh kalus 11,11 HST.



Gambar 4.5. Hasil Analisis Regresi Pengaruh BAP Terhadap Persentase Eksplan Berkalus

Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh BAP terhadap persentase kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 179,05x^2 - 262,38x + 1,0476$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9895$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dengan persentase kalus memiliki tingkat kepercayaan 98,95%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (0,7; 94,88) yang artinya hari muncul kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian BAP sebesar 0,7 mg/l dengan persentase kalus 94,88%.

#### 4.3. Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BAP Terhadap Induks Kalus Metabolit Sekunder Ciplukan (*Physalis angulata*)

Penelitian ini menggunakan kombinasi antara auksin dan sitokinin yang berupa 2,4-D dan sitokinin BAP dengan berbagai konsentrasi. Diharapkan dari

konsentrasi tersebut dapat memicu tumbuhnya kalus kompak ciplukan. Berdasarkan penelitian selama 30 hari setelah tanam, pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus ciplukan. Hasil dari analisis varian (ANOVA) tersaji dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5. Hasil Analisis ragam pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP dalam menginduksikan kalus ciplukan (*Physalis angulata*).

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (Hari)	<b>25,914*</b>	1,923572148
Persentase Eksplan Berkalus (%)	<b>2,133*</b>	1,923572148
Berat Kalus (g)	<b>6.018*</b>	1,923572148

Keterangan: (\*) menunjukkan kombinasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Tabel 4.6 Hasil Uji DMRT 5% Pengaruh Pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Metabolit Ciplukan (*Physalis Angulata*).

2,4-D	BAP	HMK (Hari)	Persentase Kalus (%)	Berat Kalus (g)
0	0	30.000f	0,000a	0,0000a
	0,25	12,333cde	66,666c	0,0373a
	0,5	9.000ab	88,333defg	0,01187abc
	0,75	12,6667de	83,333def	0,2183bcde
	1	12,333cde	<b>1.0000g</b>	0,2450cde
0,5	0	12,3333cde	50,000b	0,0437a
	0,25	<b>8.0000a</b>	1.000g	0,2950ef
	0,5	9,6667abcd	76,667cde	0,1427abcd
	0,75	9,3333abc	76,666cde	0,1400abcd
	1	8,0000a	1.0000g	0,279def
1	0	9.0000ab	86,6667defg	0,0997abc
	0,25	11,6667bcde	96,666fg	0,4007fg
	0,5	8,6667ab	90,000efg	0,2160bcde
	0,75	13,6667e	90.0000ef	0,2063bcde
	1	10,0000abcd	1.0000g	0,3180ef
1,5	0	9,3333abc	1.0000g	0,0943ab
	0,25	10,6667abcde	1.0000g	0,3023ef

	0,5	13,6667e	1.0000g	0,0997abc
	0,75	9,6667abcd	1.0000g	<b>0,5110f</b>
	1	9,3333abc	1.0000g	0,4037fg
2	0	10,000abcd	75.000cd	0,0900ab
	0,25	9,6667abcd	98,333g	0,3457ef
	0,5	12,6667de	1.0000g	0,1210abc
	0,75	11,6667bcde	1.0000g	0,2110bcde
	1	11,6667bcde	1.0000g	0,0,3517ef

Keterangan: Angka Yang Diikuti Huruf Yang Sama Menunjukkan Tidak Berbeda Nyata Berdasarkan Uji DMRT 5%

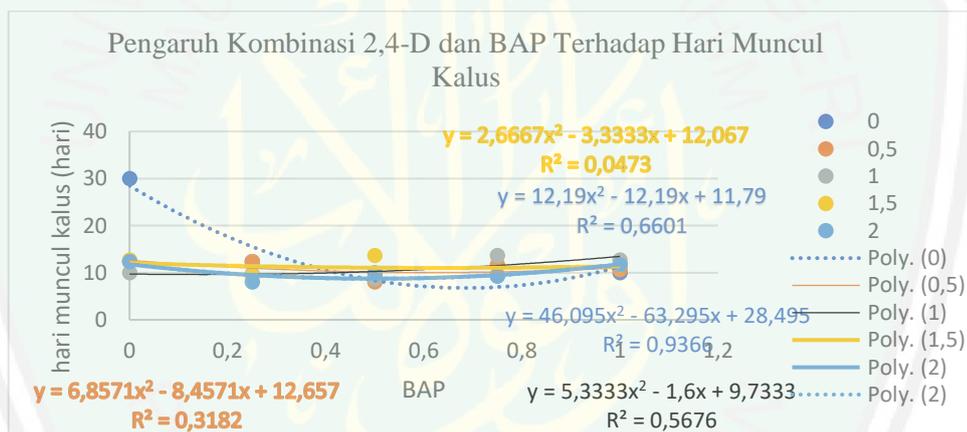
Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus metabolit berpengaruh kombinasi 0,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP adalah kombinasi yang paling efektif jika dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lain, karna pada kombinasi ini hari muncul kalus tercepat dengan rata-rata 8 HST. Menurut Winarto (2010) dengan pemberian kombinasi 0,5 mg/L 2,4-D paling sesuai untuk menginduksi kalus dan 0,25 mg/L BAP terhadap kalus Anther *Anthurium* akan menginduksi kalus pada hari ke-7 HST. Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dapat memacu pertumbuhan kalus di samping dengan hormon endogen yang terdapat pada tumbuhan. Kombinasi perlakuan zat pengatur tumbuh dilakukan untuk mendapat kalus kompak ciplukan. Menurut laslo dan Visco (2008) respon sel, jaringan, dan organ yang dikultur secara *in vitro* bervariasi bergantung pada komponen kondisi kultur, jenis eksplan, dan genotip tanaman. Seringkali kombinasi dari dua atau lebih komponen tersebut diaplikasikan secara simultan maupun parsial diperlukan untuk meningkatkan respons sel, jaringan, ataupun organ dalam kultur *in vitro*. Pertumbuhan dan morfogenesis eksplan tersebut dikendalikan oleh keseimbangan zat pengatur tumbuh.

Selanjutnya berdasarkan uji lanjut DMRT 5% bahwasanya persentase eksplan berkalus ciplukan berpengaruh. Terbukti dari banyaknya kombinasi 2,4-D dan BAP yang berpengaruh terhadap persentase kalus, salah satunya konsentrasi 0 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP dengan rata-rata persentase 100%. Kebanyakan persentase kalus terbaik didapat pada konsentrasi auksin yang tinggi, menurut Gati dan Mariska (1992) menyatakan bahwa 2,4-D efektif untuk merangsang pembedakan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus. Selain itu, studi tentang pengaruh asam 2,4-D terhadap pembedakan kalus dan pertumbuhan *Acalypha indica* L. menunjukkan bahwa kehadiran BAP pada media juga mendukung pembedakan kalus.

Beberapa kombinasi dari penelitian kalus ciplukan ini juga menghasilkan kalus berakar dan juga bertunas, hal ini disebabkan karena perbedaan konsentrasi yang tidak tepat untuk membentuk kalus kompak yang berisi metabolit. Menurut George (1993) eksplan yang di inisiasi pada media 2,4-D dan BAP selain untuk menghasilkan kalus juga dapat menginduksi akar. Tanpa adanya air kelapa maka memungkinkan ratio dari BAP tidak mampu bersinergis dengan auksin. Pada perlakuan ini, ratio auksin yang diberikan lebih tinggi dari pada BAP sehingga mampu menghasilkan akar. Dan juga apabila ratio auksin lebih rendah dari pada sitolinin maka organogenesis akan mengarah pada tunas, jika auksin dan sitokinin seimbang maka akan mengarah pada pembedakan kalus.

Selanjutnya uji lanjut DMRT 5% terhadap berat kalus ciplukan, Dari hasil menunjukkan berpengaruh. Pada berat kalus ini kombinasi 2,4-D dan BAP

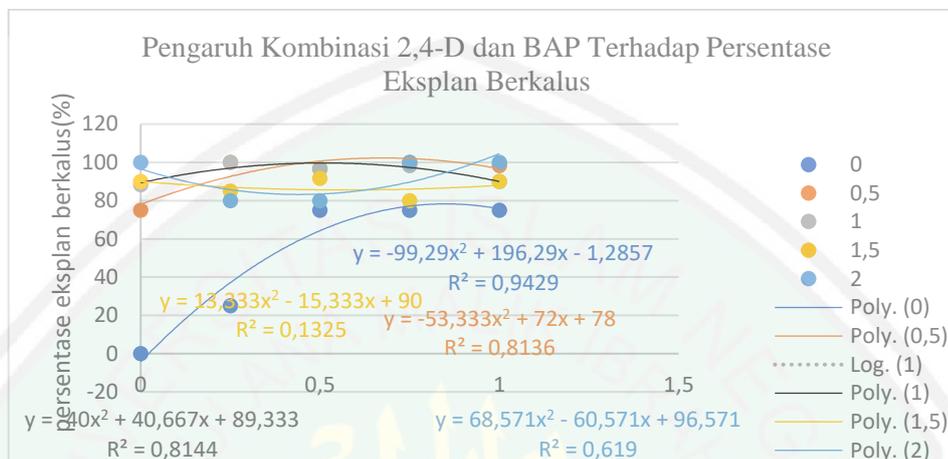
konsentrasi 1,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP yang lebih berpengaruh dan berat kalus tinggi dengan rata-rata berat kalus 0,5110 g. hal ini di sebabkan karna konsentrasi 2,4-D seimbang dan sitokinin seimbang sehingga berat kalus tinggi dikarenakan hormon 2,4-D. Menurut Sheeba (2013) pada physalis minima dengan konsentrasi 1,5 mg/L IAA+ 0,5 mg/L Kinetin menghasilkan berat kalus sebesar 0,208,03 g dimana kombinasi seimbang antara auksin dan sitokinin. Berikut hasil regresi dari kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap variabel pengamatan kalus ciplukan.



Gambar 4.6. Hasil Analisis Regresi Pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP Terhadap hari muncul kalus

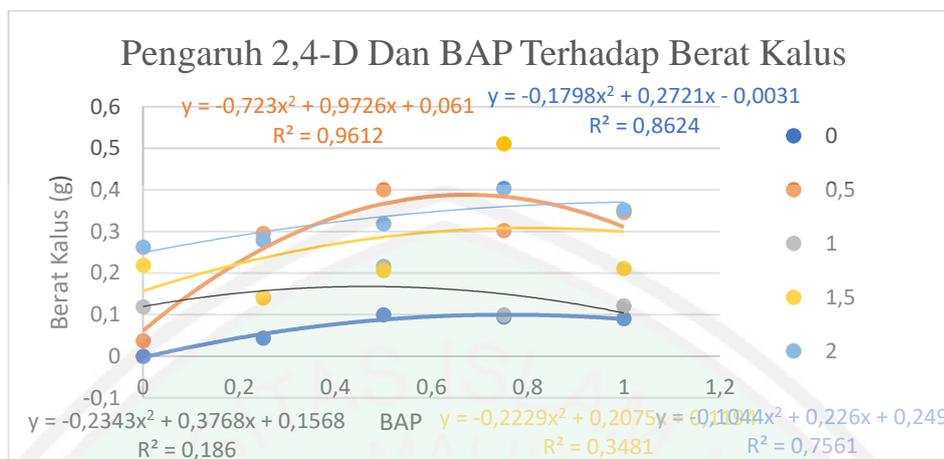
Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = 46,095x^2 - 63,295x + 32,495$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9366$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dengan hari muncul kalus memiliki tingkat kepercayaan 93,66%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (0,6; 11,11) yang artinya hari

muncul kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian kombinasi 0 mg/l 2,4-D + 0,6 mg/l BAP dengan cepat tumbuh kalus 11,11 HST.



Gambar 4.6. Hasil Analisis Regresi Pengaruh Kombinasi 2,4-D Dan BAP Terhadap Persentase Eksplan Berkalus.

Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap persentase eksplan berkalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = -99,29x^2 + 196,29x - 1,2857$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,9429$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan BAP dengan persentase kalus memiliki tingkat kepercayaan 94,29%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (0,9; 94,9) yang artinya hari muncul kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian kombinasi 0 mg/l 2,4-D + 0,9 mg/l BAP dengan persentase kalus 94,99%.



Gambar 4.6. Hasil Analisis Regresi Pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP Terhadap Berat kalus.

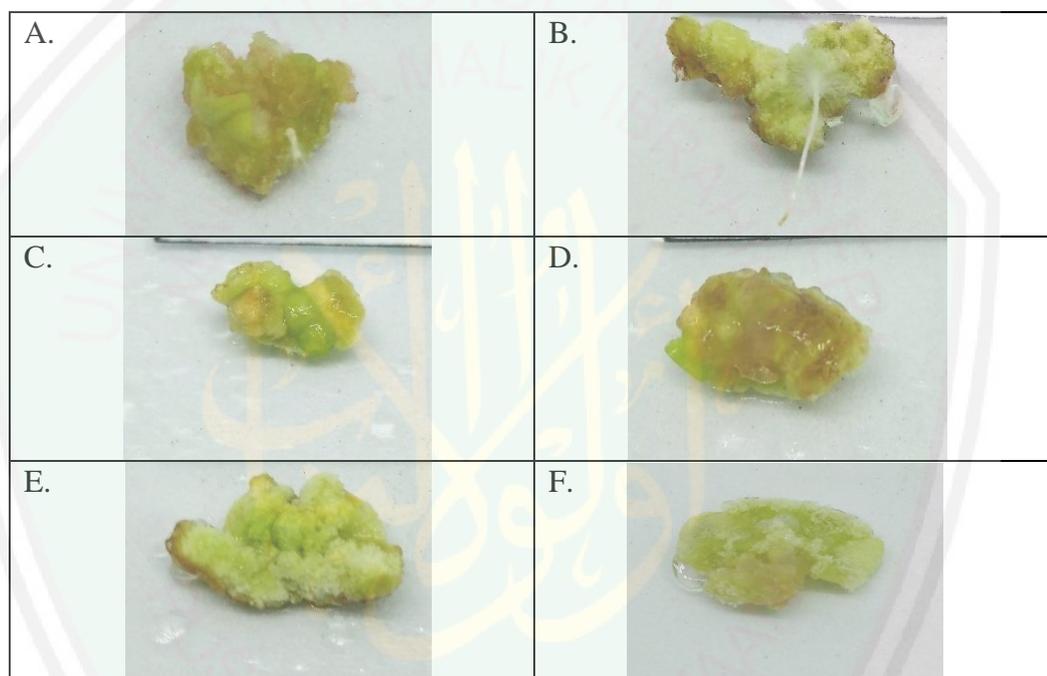
Berdasarkan hasil regresi zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap berat kalus, dengan membentuk garis kuadratik persamaan  $y = -0,723x^2 + 0,9726x + 0,061$  dengan nilai koefisien determinasi  $R = 0,8612$ . Koefisien determinasi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara pemberian perlakuan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan BAP dengan berat kalus memiliki tingkat kepercayaan 86,12%. Melalui persamaan tersebut titik puncak optimum diketahui pada koordinat (0,67; 0,3881) yang artinya berat kalus dapat dicapai pada konsentrasi optimum pemberian kombinasi 0,5 mg/l 2,4-D + 0,67 mg/l BAP dengan berat kalus sebesar 0,3881 g.

Perlakuan kombinasi diketahui menunjukkan adanya berpengaruh terhadap kombinasi 2,4-D dan BAP, akan tetapi pada satuan BAP menunjukkan adanya tidak berpengaruh terhadap berat kalus. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi BAP terlalu kecil dan hanya berpacu pada hormon endogen, dan juga kemungkinan terjadi kesalahan pada saat pembuatan media.

#### 4.4. Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D Dan BAP Terhadap Morfologi induksi Kalus Metabolit Sekunder Ciplukan (*Physalis angulata*)

Pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan BAP terhadap morfologi kalus ciplukan akan disajikan di tabel 4.7.

Tabel 4.7. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Dan BAP Terhadap Warna Dan Tekstur Kalus Metabolit Ciplukan (*Physalis Angulata*)



Keterangan: Warna dan tekstur kalus ciplukan (*Physalis angulata*) yang berumur 30 hari setelah kultur, a) kalus warna kuning kecoklatan tekstur kompak (0,5 mg/L 2,4-D+ 0,25 mg/L BAP), b) kalus warna hijau kecoklatan tekstur kompak (0,5 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP), c) kalus warna putih kecoklatan tekstur kompak (1 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP), d) kalus warna coklat tekstur kompak (2 mg/L 2,4-D+ 0,5 mg/L BAP), e) kalus warna putih kehijauan tekstur kompak (1,5 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP), f) kalus warna putih tekstur kompak (2 mg/L 2,4-D+ 1 mg/L BAP).

Warna kalus merupakan gambaran visual yang dijadikan sebagai indikator perkembangan eksplan pada budidaya *in vitro* sehingga dapat diketahui bahwa kultur kalus yang terbentuk sel-selnya masih aktif membelah atau mati. Pengamatan warna kalus merupakan indikator yang mudah dilakukan dengan menentukan kalus tersebut adalah tergolong kalus metabolit (kompak).

Pengamatan warna kalus dilakukan pada hari terakhir yaitu pada hari ke-30 setelah tanam. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, pada awal tumbuh kalus semua perlakuan yang diberikan berwarna putih, namun pada saat hari pengamatan hari ke-30 warna dari setiap perlakuan mulai berubah.

Perlakuan yang efektif untuk kalus metabolit adalah berwarna gelap. Pada ciplukan kalus metabolit bisa didapatkan pada warna keputihan, kehijauan sampai kekuningan. Menurut Lahsin (2016) kalus ciplukan diperoleh dari eksplan yang berwarna kehijauan berwarna kekuningan dan sangat lunak. Perlakuan yang efektif untuk kalus metabolit adalah kombinasi 0,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP, 0,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP, 1 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP, 1,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP, 2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP yaitu dengan rata-rata warna kalus putih, putih kehijauan, kuning kecoklatan dan coklat. Pada kalus yang berwarna kecoklatan juga dikatakan efektif karena pada kalus metabolit warna kecoklatan juga sebagai indikator kalus kompak.

Menurut Fatmawati (2010) kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi, dan kalus yang berwarna hijau mengandung klorofil yang merupakan tempat munculnya tunas. Akan tetapi Ibrahim (2010) menyatakan perbedaan kemampuan jaringan yang menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media dapat mengakibatkan kalus tidak embriogenik yang ditandai dengan tekstur kalus yang cenderung kompak.

Menurut Azizah (2017) kalus yang berwarna kecoklatan atau gelap merupakan kalus non-embriogenik, dimana kalus ini tidak memiliki kemampuan

untuk beregenerasi (tidak mengalami perkembangan fase embriogenik. Wijayani (1994) juga menyatakan bahwa warna kecoklatan juga disebabkan karena terdapat luka pada eksplan akibat pemotongan. Pada warna kuning menurut Evans (2003) dalam Hayati (2010) warna kuning dalam kalus diduga merupakan pigmen antosianin. Pigmen antosianin adalah senyawa fenol dari kelompok flavonoid.

Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Jaringan yang dihasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda. (Lutviana, 2012). Perbedaan warna kalus juga bisa disebabkan karna adanya pengaruh pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan dari berbagai tanaman yang berbeda. Penelitian sebelumnya Parnama (2015) pada kombinasi 0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP pada kalus daun tembakau menghasilkan warna kalus kuning kecoklatan, warna tersebut disesuaikan dengan eksplan tersebut.

Warna kalus biasanya mengikuti jenis sumber eksplan. Hal ini yang mempengaruhi morfologi dan pertumbuhan kalus diantaranya adalah sumber eksplan, komposisi media, zat pengatur tumbuh yang digunakan, kondisi pertumbuhan seperti suhu, cahaya, serta lamanya waktu pertumbuhan kalus (Mahadi *et al.*, 2014). Menurut Dian (2004) warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik.

Tekstur dapat digunakan sebagai penentuan kalus tersebut tergolong dalam kalus metabolit. Pengamatan kalus dilakukan pada hari ke-30 setelah tanam. Turhan (2004) menyatakan bahwa secara visual kalus dapat dibedakan menjadi 3

tipe kalus, yaitu kompak, intermediet, dan remah. Hasil pengamatan kalus dengan tekstur yang efektif pada semua perlakuan kecuali pada perlakuan kontrol dan perlakuan kombinasi 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP (D1B2). Pada indikator kalus metabolit kalus intermediet termasuk dalam golongan kalus metabolit.

Kalus yang diinduksi dengan penambahan sitokinin memiliki tekstur kompak dari pada kalus yang dihasilkan tanpa sitokinin. Tekstur kalus kompak merupakan efek sitokinin dan auksin mempengaruhi potensial air dalam sel. hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat, sehingga sel menjadi lebih kaku. Sehingga penggunaan sitokinin sangat bermanfaat dalam pembedakan kalus. (George, 1993).

Tekstur kompak ini dikatakan baik karna dianggap mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak. (Dod, 1993). Ramawat (1999) juga menambahkan bahwa kalus kompak menghasilkan senyawa metabolit pada saat sel-sel mengalami penurunan aktifitas pembelahan.

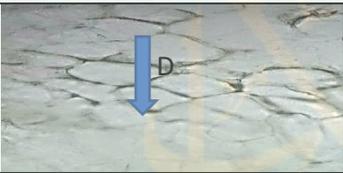
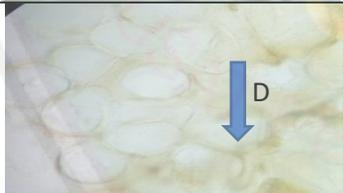
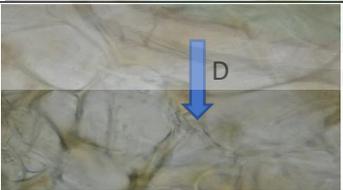
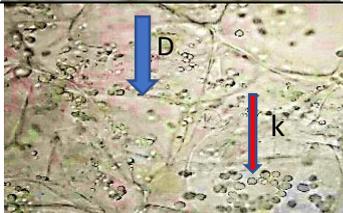
Purwaningsih (2007) menambahkan bahwa pada kalus dengan tekstur kompak merupakan efek dari sitokinin yang berperan dalam transport hara. Sistem transport sitokinin dari bagian basal ke apeks akan membawa air dan zat hara melalui pembuluh pengangkut dan mempengaruhi potensial osmotik dalam sel. penambahan sukrosa dalam medium akan mengalir melalui pembuluh floem dan menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut muncul akibat adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara (sukrosa) dari medium akan masuk ke dalam sel melalui cara osmosis. Hal ini akan membuat dinding-dinding sel semakin kaku, sehingga kalus akan menjadi kompak tekstur kalus tergantung pada

jaringan, umur kalus, dan kondisi pertumbuhan. Morfologi dan warna kalus biasanya tergantung dari jenis sumber eksplananya, dimana ada yang bertekstur remah (friable) dan padat (kompak).

#### 4.5. Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D Dan BAP Terhadap Anatomi Kalus Metabolit Sekunder Ciplukan (*Physalis angulata*)

Pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan BAP terhadap anatomi kalus ciplukan akan disajikan di tabel 4.8.

Tabel 4.8. Hasil Pengamatan Histologi Kalus Metabolit Ciplukan (*Physalis angulata*) Dengan Menggunakan Mikroskop

Gambar	Keterangan
	0,5 mg/L 2,4-D+ 0,25 mg/L BAP Keterangan: terlihat dinding sel
	1,0 mg/L 2,4-D+ 0 mg/L BAP Keterangan: terlihat dinding sel
	1,5 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP Keterangan: terlihat dinding sel
	2 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP Keterangan: terlihat dinding sel
	0,5 mg/L 2,4-D+ 0,5 mg/L BAP Keterangan: terlihat dinding sel dan kloroplas

Pengamatan anatomi mikroskopis kalus kompak (metabolit) pada ciplukan *Phyalis angulata* yang dipotong secara melintang, cenderung terlihat dinding sel merapat dan mempunyai bentuk yang sama, dalam hal ini jika dinding sel merapat dan tidak ditemukan inti sel didalamnya maka pada kalus tersebut dapat dikatakan kalus metabolit. Manuhara (2001) menyatakan bahwa kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air. Kalus yang kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma pada padat, inti besar dan mengandung pati. Kalus yang baik digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu dengan tektur kompak.

Gambar diatas merupakan hasil mikroskop yang diambil dengan perbesaran 400x pada beberapa perlakuan. Gambar mikroskop diatas membuktikan bahwa pada kalus ciplukan ini termasuk dalam golongan kalus kompak. Pada pengamatan diatas pada konsentrasi kontrol terlihat klorofil yang berada di dalam kloroplas, akan tetapi semakin tinggi konsentrasi 2,4-D mengakibatkan klorofil mengalami penurunan. Menurut Rahayu (2003) bahwasanya semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan dalam media, maka akan mempengaruhi penurunan kandungan klorofil dan karoten.

Hasil pengamatan histologi Alcantara *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kalus tebu non-embriogenik (NE) yang memiliki ciri ukuran sel tampak besar, dengan nukleous yang umumnya tidak tampak tidak memiliki struktur nodular, berwarna putih susu, kompak, dan tidak transparan.

#### 4.6. Hasil Penelitian Kultur Kalus Menurut Islam

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D, BAP dan kombinasi menunjukkan berpengaruh nyata terhadap kalus kompak ciplukan (*Physalis angulata*). Perlakuan ini berpengaruh terhadap hari muncul kalus, persentase kalus, berat kalus, warna kalus, tekstur kalus dan histologi.

Waktu inisiasi Kalus tercepat pada semua perlakuan rata-rata pada hari ke-9 HST. Berat kalus tertinggi didapatkan rata-rata 0,6103 g. pada persentase kalus secara maksimal diperoleh pada semua perlakuan 2,4-D dengan persentase kalus 100%. Pada semua perlakuan tekstur kalus kompak dan berwarna putih kehijauan sampai coklat dan pada pengamatan histologi tidak ditemukan inti sel.

Uraian diatas merupakan tanda kebesaran Allah SWT, karna dengan bagaimanapun Allah yang telah mentakdirkan tanaman ciplukan ini menjadi kalus dengan berbagai perlakuan yang telah diberikan. Selain itu Allah menunjukkan pada manusia kesempurnaan, kekuasaan, keindahan, dan kebijakan Allah SWT. Firman Allah pada surat *Ar Ra'du Ayat 4*:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنْوَانٌ وَغَيْرُ  
صِنْوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِصِّلُ بَعْضَهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ  
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanam-tanaman itu diatas sebagian yang lain tentang rasanya, Sesungguhnya pada demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir”.

Ayat di atas ditafsirkan oleh Sayyid Quth (2012) bahwasanya apabila ingin membuktikan bahwa kekuasaan dan perbuatan Allah sangat luar biasa, dalam mengatur alam ini. Dengan itu pula manusia akan memandang bahwa alqur'an selalu baru, dan tidak pernah kalah oleh zaman, karena Alquran bersifat *Sholih Li Kulli Zaman Wa Makan*.

Sedangkan penjelasan Ahmad Musthafa Al Maraghi (1993) bahwasanya keindahan bumi yang didalamnya terdapat belahan-belahan tanah yang berdampingan, tanaman-tanaman yang bermacam-macam, serta dialiri air yang sama, tetapi menghasilkan produk yang berbeda baik itu yang produktif maupun yang tidak produktif seperti pada tanaman ciplukan ini.

Kalus ciplukan ini dapat digunakan untuk produksi metabolit sekunder, studi transformasi genetik dan mikropropagansi tidak langsung. Meskipun tanaman ini memiliki nilai obat yang sangat besar secara bertahap menurun dari alam karena eksploitasi berlebihan dan pencemaran lingkungan. Kegiatan pembersihan hutan yang cepat yang mengarah pada menipisnya sumber daya tanaman yang berharga, konservasi genotip berharga ini sangat penting, maka tanaman ciplukan ini perlu adanya konservasi yang mendesak agar tanaman ini tetap terpelihara. Karna kita sesama makhluk hidup dianjurkan untuk melindungi dan tidak merusak sesama makhluk hidup, seperti firman Allah pada Surat Al-Qashas ayat 77:

وَابْتَغِ فِيمَا آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ ۖ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا ۗ وَأَحْسِنَ كَمَا  
أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ ۖ وَلَا تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ ۖ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ

Artinya: “*Janganlah kamu berbuat kerusakan di muka bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan*”.

Pertumbuhan pada kalus ciplukan diawali dengan proses pembelahan dan pembesaran sel. pertumbuhan ini terbukti dengan perubahan secara kuantitatif berupa penambahan jumlah sel, ukuran sel, lebar serta berat dari kalus. Tumbuhan bertambah berat karena adanya perubahan volume serta berat basah atau kering yang merupakan perubahan secara kuantitatif. Parameter pertumbuhan sangat bervariasi dan bersifat kuantitatif.

Firman Allah SWT dalam Q.S Al-Insyiqaq ayat 19, yang berbunyi:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَنْ طَبَقٍ

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

Penjelasan dari ayat di atas bahwasanya tingkat demi tingkat ini adalah fase dari kehidupan tanaman yang di induksikan seperti pada ciplukan ini, kalus tersebut terbentuk dari eksplan yang berasal dari jaringan meristematik yang mengalami luka, karena adanya zat pengatur tumbuh auksin yang menyebabkan sel mengalami pemanjangan sel yang diikuti dengan pembelahan sel, dan akhirnya terbentuk sebuah kalus.

Pertumbuhan kalus dapat digambarkan dalam bentuk kurva signoid. Lima fase pertumbuhan kalus, yaitu: (1) fase lag, dimana sel sel mulai membelah, (2) fase eksponensial, dimana laju pertumbuhan sel berada pada puncaknya, (3) fase linier, pembelahan sel mengalami pertumbuhan perlambatan tetapi eksplansi sel meningkat, (4) fase deselerasi, laju pembelahan dan pemanjangan sel menurun, dan (5) fase stasioner, dimana laju jumlah dan ukuran sel tetap.

Pelajaran yang di dapat pada fase tumbuh kalus ini bahwasannya fase tersebut dapat diambil pelajaran bahwa perbuatan yang dilakukan seorang muslim cendekiawan yang pada hakikatnya hanya berupa sebuah hal yang mubah, yaitu bercocok tanam tetapi pelakunya dapat memperoleh pahala. Walaupun itu asalnya bukan suatu ibadah, tapi bisa bernilai ibadah dan akan mendapat pahala. Berbeda dengan orang kafir segala perbuatannya tidak bernilai di sisi Allah Subhanahu Wa Ta'ala, walaupun mereka mengklaim beribadah setiap bulan, setiap pekan, setiap hari bahkan setiap saat tidaklah dianggap.

Hadits yang di riwayatkan Imam Muslim Abu Abdillah, (1415) yang artinya: dari Jabir Bin Abdullah Rodhiyallohu'anhu dia bercerita bahwa Rasulullah Shallallahu 'Alaihi Wa Sallam bersabda:

مَا مِنْ مُسْلِمٍ يَغْرِسُ غَرْسًا إِلَّا كَانَ مَا أَكَلَ مِنْهُ لَهُ صَدَقَةٌ وَمَا سُرِقَ مِنْهُ لَهُ صَدَقَةٌ وَمَا أَكَلَ السَّبْعُ مِنْهُ فَهُوَ لَهُ صَدَقَةٌ وَلَا صَدَقَةٌ وَمَا أَكَلَتِ الطَّيْرُ يَرْزُقُهُ أَحَدٌ إِلَّا فَهُوَ لَهُ

Artinya: "Tidaklah seorang muslim menanam suatu pohon atau tanaman melainkan apa yang dimakan dari tanaman itu sebagai sedekah baginya, dan apa yang dicuri dari tanaman tersebut sebagai sedekah baginya dan tidaklah kepunyaan seorang dikurangi melainkan menjadi sedekah baginya." Dari Anas bin Malik Rodhiyallohu'anhu dia bercerita bahwa Rasulullah Shallallahu 'Alaihi Wa Sallam bersabda: "Tidaklah seorang muslim menanam pohon, tidak pula menanam tanaman kemudian pohon/tanaman tersebut dimakan oleh burung, manusia atau binatang melainkan menjadi sedekah baginya" (H.R. Imam Bukhari hadist no.2321)

Banyak manfaat yang didapat dari *kultur in vitro* pada pembetulan kalus metabolit, manfaat bersifat (*dunyawiyah*) dari bercocok tanam dan menghasilkan produksi seperti metabolit sekunder. Karna dalam bercocok tanam yang bisa mengambil manfaatnya adalah para petani itu dan juga masyarakat dan negerinya. Lihatlah setiap orang yang mengkonsumsi hasil-hasil pertanian baik sayuran dan

buah-buahan, biji-bijian maupun apalawija yang kesemuanya merupakan kebutuhan mereka. Sehingga hasil tanamannya menjadi manfaat untuk masyarakat dan dapat memperbanyak kebaikan-kebaikan lainnya. Hal ini berlaku pada metabolit sekunder, dimana hasil dari metabolit dapat dimanfaatkan bagi masyarakat sebagai obat dari segala penyakit.

Kedua manfaat yang bersifat agama (*diniyyah*) yaitu berupa pahala atau ganjaran. Sesungguhnya tanaman yang kita tanam apabila dimakan oleh manusia, binatang baik berupa burung ataupun yang lainnya meskipun satu biji saja, sesungguhnya itu adalah pahala dan sedekah bagi penanamnya, sama saja apakah dia dikehendaki ataupun tidak, bahkan seandainya ditakdirkan bahwa seseorang itu ketika menanamnya tidak memperdulikan perkara ini kemudian pada tanaman tersebut tetap memberi manfaat maka itu tetap merupakan sedekah baginya.

Selain untuk beribadah kepada Allah, manusia juga diciptakan sebagai khalifah dimuka bumi. Sebagai khalifah, manusia seharusnya memiliki tugas memanfaatkan, melestarikan, dan menjaga ciptaan Allah SWT. Allah telah menciptakan alam semesta untuk kepentingan dan kesejahteraan semua makhluknya khususnya manusia. Keserakahan dan perlakuan buruk sebagai manusia terhadap alam dapat menyengsarakan manusia itu sendiri. Tanah longsor, banjir, kekeringan, tata ruang daerah yang tidak karuan dan udara serta air yang tercemar adalah buah perlakuan manusia yang merugikan manusia lain dan juga makhluk lainnya.

Islam mengajarkan agar umat manusia senantiasa menjaga lingkungan. Hal ini sering kali tercermin dalam beberapa pelaksanaan haji. Dalam haji, umat

Islam dilarang menebang pohon-pohon dan membunuh binatang. Tentang orang tersebut melanggar syariat maka ia akan berdosa dan diharuskan membayar denda. Tentang memelihara dan melestarikan lingkungan hidup, maka penelitian ini memberikan peluang untuk tetap menyelamatkan tanaman-tanaman yang bernilai tinggi akan tetapi masih belum diketahui banyak masyarakat.

Kearifan masyarakat tentang tanaman ciplukan ini mengakibatkan mereka terus mencabuti dan merusak tanaman ini, sehingga tanaman ini mulai sulit ditemukan dan masyarakat lebih memilih mengonsumsi obat-obatan secara kimia. Allah telah melarang umat manusia berbuat kerusakan di muka bumi ini, karena Allah telah menjadikan manusia sebagai khalifah, larangan berbuat kerusakan ini telah dijelaskan pada ayat di atas surat Al-Qashas ayat-4.

Allah menciptakan langit dan bumi ini dengan sebenar-benarnya hanya untuk kepentingan manusia. Manusia diciptakan-nya untuk menjadi khalifah di muka bumi ini sehingga wajib untuk menjaga apa yang telah dikaruniakan Allah. Seperti Firman Allah Surat Al-Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً

Artinya: “Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman dan berkata kepada malaikat Sesungguhnya aku hendak menjadikan khalifah di muka bumi ini”.

Ayat tersebut di atas menjelaskan ketetapan Allah menjadikan manusia sebagai khalifah Allah di muka bumi. Yang dimaksud dengan khalifah ialah makhluk Allah yang mendapat kepercayaan untuk menjalankan kehendak Allah dan menerapkan ketetapan-ketetapan-Nya di muka bumi. Untuk menjalankan fungsi kekhalifahan itu Allah mengajarkan kepada manusia ilmu pengetahuan. Dengan ilmu pengetahuan manusia mempunyai kemampuan mengatur,

menundukkan, dan memanfaatkan benda-benda ciptaan Allah di muka bumi sesuai dengan maksud diciptakannya.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1. kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian hormon 2,4-D terhadap induksi kalus metabolit sekunder ciplukan (*Physalis angulata*) berpengaruh nyata terhadap semua variabel hari muncul kalus, persentase eksplan berkalus, dan berat kalus. Hari muncul kalus pada hari ke-9 HST konsentrasi 0,5 mg/L, Persentase eksplan berkalus dengan persentase 93% konsentrasi 1 mg/L, dan berat kalus dengan rata-rata 0,2590 mg konsentrasi 2 mg/L.
2. Pemberian hormon BAP terhadap induksi kalus metabolit sekunder ciplukan (*Physalis angulata*) berpengaruh nyata terhadap variabel hari muncul kalus, persentase eksplan berkalus, tanpa berat kalus. Hari muncul kalus pada hari ke-10 HST konsentrasi 0,25 mg/L, Persentase eksplan berkalus dengan persentase 95% konsentrasi 0,5 mg/L.
3. Pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus metabolit sekunder ciplukan (*Physalis angulata*) berpengaruh nyata terhadap semua variabel hari muncul kalus, persentase eksplan berkalus, dan berat kalus. Hari muncul kalus pada hari ke-8 HST konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D dan 0,25 mg/L BAP, Persentase eksplan berkalus dengan persentase 100% konsentrasi 0 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L BAP, dan berat kalus dengan rata-rata 0,4180 mg konsentrasi 1,5 mg/L 2,4-D dan 0 mg/l BAP.

4. Pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan BAP terhadap kualitas induksi kalus metabolit sekunder ciplukan (*Physalis angulata*) berpengaruh nyata terhadap warna kalus, tekstur kalus dan anatomi kals. Warna kalus kuning kecoklatan, putih kehijauan, putih, dan coklat dan semua tekstur kompak konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP, 0,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP, 1 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP, 1,5 mg/L 2,4-D+ 0,75 mg/L BAP, 2 mg/L 2,4-D+ 0,5 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP. Pada anatomi kalus terlihat dinding sel berbentuk rapat terlihat kloroplas dan vakuola.

#### 5.2. Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan untuk menggunakan konsentrasi sedetail mungkin zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP, karena perbedaan konsentrasi sedikit akan menimbulkan muncul tunas dan akar jika konsentrasi tidak sesuai pada tanaman ciplukan (*Physalis angulata*). Dan penelitian ini bisa dilanjutkan pada penelitian induksi kalus bertunas dengan menggunakan zat pengatur tumbuh yang sama dan waktu pengamatan ditambah sampai hari ke-45 HST, dan untuk pengamatan anatomi pada kalus ciplukan jika dilanjutkan pada penelitian selanjutnya dapat diuji histokimia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1985. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa
- Abu Abdillah Bin Ismail Al Bukhari. 1415. *Shahihul Bukhari Jilid 3*. Darul Fikr: Libanon.
- Alcantara. G.B, Dibax. 2014. Regeneration and Histological Study of The Somatic Embryogenesis Of Sugarcane (*Saccharum Spp.*). *Acta Sci. Agron.* 36(1): 63-72.
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) Secara In Vitro. *Skripsi*. Faperta Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Andri, R.F. 2012. Pengaruh 2,4-D Terhadap Pembentukan Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir Roxb*) dan Uji Responnya Terhadap PEG dalam Upaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Ariati, S.N. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao L.*) Pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science* 1(1): 78-84.
- Aslamyiah, S. 2002. *Peranan Hormon Tumbuh Dalam Memacu Pertumbuhan Algae*. Bogor: IPB.
- Azizah, R. 2017. Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea Liberica Var. Liberica* Cv. Tungkal Jambi) Dengan Kombinasi 2,4-D Dan Kinetin Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.
- Baedowi. 1992. Timbunan Glikogen Dalam Hepatosit Dan Kegiatan Sel Beta Insula Pancreatisi Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata*). *Skripsi*. Fakultas UGM. Yogyakarta
- Darwati, I. 2007. Kultur Kalus dan Kultur Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan Molk.*) Untuk Menghasilkan Metabolit Sekunder. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana ITB Bogor.
- Dian. Y.T. 2004. Uji Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Pertumbuhan Kalus Dari Eksplan Kotiledon Dan Hipokotil Kedelai (*Glycine Max*). Malang. *Skripsi*. Jurusan Biologi Universitas Islam Malang.

- Dodd, B. 1993. *Plant Tissue Culture for Horticulture*. Schol of Life Science. Queensland University of Technology.
- Dwi, Kusuma Wahtuni, Ratna F. 2016. Induksi Kalus Gandarusa Dengan Zat Pengatur Tumbuh NAA, IAA, Dan Kinetin. *Journal Prosiding Seminar Nasional*.
- Dwi, N.M. 2012. Pengaruh Pemberian Air Kelapa Dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur (*Vitis vinera L.*). *Jurnal Natural science* 1 (1) :53-62.
- Elismani, I.N. dan S.M. Zaidun. 2006. Inisiasi In Vitro Biji Muda Terong Belanda (*Solanum betaceum*) Berastagi Sumatra Utara Pada Komposisi Media Dan Zat Pengatur Tumbuh Yang Berbeda. *Jurnal Biologi Sumatra*.1(1):15-19.
- Fitria, M. Armandari, I. Septhea, D.B. Edy,M. Muthi,I. 2011. Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata*) Berefek Sitotoksik Dan Menginduksi Apoptosis Pada Sel Kanker Payudara MCF-7. *Journal Unpad*. 1(1): 1-15
- Gati, E Dan I. Mariska. 1992. Pengaruh Auksin Dan Sitokinin Terhadap Kalus Mentha Piperita Linn. *Buletin Littri* 3: 1-4.
- George, E. F and sherington, P.D. 2002. *Plant Propagatio By Tissue Culture*. Exegetis Limited: England.
- Gunawan, D, & Mulyani, S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Gunawan, L. W. 1998. Teknik Kultur Jaringan. Bogor: PAU IPB.
- Hayati, S.K., Nurchayati, Yulita., Dan Setiari, Nintya. 2010. Induksi Kalus Dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) Secara In Vitro Dengan Penambahan Benzyl Amino Purone (BAP) Dan A-Napthalene Acetid Acid (NAA). *BIOMA*. Vol. 12 No (1).
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani 1994. *Teknik Kultur Jaringan. Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Heryanto, A., Soegihardjo.C.J. 2010. Optimalisasi Produksi Dari Kalus Daun Stevia Rebaudiana Bertoni Dengan Variasi Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh. *Journal Univ.Atma Jaya*.1(1):1-8
- Hutapea, Johny R. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Depkes.

- Ibrahim, M.S.D., Oti, Rostiana., Dan Khumaida, Nuul. 2010. Pengaruh Umur Eksplan Terhadap Keberhasilan Pembentukan Kalus Embrionik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zingiber Officinale Rosc*). *Jurnal Litra* 16 (1): 3742.
- Indah, N., dan Ermavitalini, D. 2013 . Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum Linn*). Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6- Benzylaminopurine ( BAP ) dan 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid ( 2,4 – D ). Surabaya. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*.2(1): 2337 – 3520.
- Indrianto,A. 2002. *Bahan Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Intias, S. 2012. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D Dan BAP Terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella Pruatjan*) Secara In Vitro. *Skripsi*. Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- ITIS. 2013. *Physalis angulata* Cuetaaf Ground Cherry.<http://eol.org./pages/581062/verview>. (Diakses tanggal 25 maret 2014).
- Karjadi dan Buchory. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, Dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*. 18(1): 1-9.
- Lahsin, Islam.I. 2016. Evaluation Of Secondary Metabolite In Callus And Tissue Of *Physalis peruviana*.*International Journal Of Botany Modern*. 6(1) :10-17.
- Latifah, N, Hidayati, A.A. 2014. *Physalis Angulata L.* (Ciplukan ).[Http://Ccrc/Farmasi Ugm.Ac.Id./?Page-Id=193](http://Ccrc/Farmasi Ugm.Ac.Id./?Page-Id=193). (Diakses Tanggal 20 Oktober 2014).
- Legge, A.P, 1974. Notes on the hstory cultivation and uses of *Physalis peruviana*. *J.Royal Hort.Soc*. 99: 310-314.
- Lutimax. 2001. *A Natural Bioflavonoid Product Containing Luteolin*. Synorx.
- Lutviana, A., Y.S.W. Manuhara Dan E.S Wida. 2012. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Dan Nacl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus Annus L.*). *Skripsi*. Surabaya Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga.

- Mahadi, I. 2008. Produksi Penggandaan Pucuk (Multiple Shoots) Kenerak (*Goniothalamus Umbrosus* J. Sinclair) Dengan Menggunakan Hormon Kinetin Dan BAP Secara In Vitro. *Dinamika Pertanian* 23: 34-36.
- Mahadi, I. 2012. Induksi Kalus Kenerak Berdasarkan Jenis Eksplan Menggunakan Metode In Vitro. *Jurnal Agroteknologi Tropika*. 1(1): 18-22.
- Manuhara, Y.S. 2014. *Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan*. Airlangga University Press, Kampus C Universitas Airlangga Surabaya.
- Maraghi, A.M. 1993. *Tafsir Maraghi*. Penerjemah: Abubakar, B., Aly H.N., Sitanggal, A.U. Semarang: Toha putra.
- Mardiana, N. Tahardi; J.S. Sumaryono. 1997. Initiation and Maintenance Of Embryogenic Suspense On Culture Of Tea (*Camella Sintetsis*). *Menara Perkebunan*, (65) 1-8.
- Mariska, I., dan Sukmadjaja, D., 2003. *Perbanyak Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Mutasim, M.Khalafallah. 2010. Callus Formation And Organogenesis Of Potato (*Solanum Tuberosum*) Cultivar Almera. *Journal Of Phytology*.2(5):40-46.
- Nasrudin, hasymi. 2013. Sumbangan Aktivitas Usahatani Pekarangan Terhadap Pendapatan Rumah Tangga Petani Desa Sergading Kabupaten Bantul. *Jurnal Bumi Indonesia*. Vol.2 No.3.
- Nugroho, Adi. 2008. *Bussnies Plan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Parmana, Deni. 2015. Pengaruh Konsentrasi Hormone 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau Melalui Kultur Invitro. *Skripsi*. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
- Pietro, R. C., S. Kashima, D.N. Sato, A.H. Januario and Franca S. C. 2000. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine*, 7, 335-338.
- Purwaningsih, Widi, Kusdiati Dan Yuniarti Linda. 2007. Anatomi Kalus Yang Berasal Dari Eksplan Daun *Catharanthus Roseous* (L) (Tapak Dara). *Jurnal Seminar Nasional Bioteknologi*. 1(2) No: 1-16.
- Rahayu, S., Ika R., dan Nurliani Bermawie. 2016. The Effect Of Types And Concentration Of Auxin On Callus Induction Of *Centella asiatica*. *Nusantara Biosciences*.8(2): 283-287.

- Rahayu, B., Sholichatun, Anggarwulan E. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi*.1(1) :1-5.
- Ramar K., T. ArulPrakash and V. Ayyadurai. 2014. In Vitro Multiplication And Plant Reperation of *Physalis peruviana* an Important Medicinal Plant. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(3): 456-464.
- Royani. Ida. 2015. Induksi Kacang Tanah (*Arachis Hypogea*) Varietas Kelinci Dengan Perlakuan 2,4-D Dan BAP. *Journal Penelitian Pendidikan Ipa*.1(2):1-8
- Rudiah, Mutiara. 1993. Penapisan Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Alkohol Daun, Batang Dan Akar Cecendet (*Pyhsalis Minima*) Pada Tikus Diabetes Aloksan. *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Padjajaran.
- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. Pada kultur In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Salisbury, F. B. Dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan 3* Bandung: ITB.
- Sheeba, E.S.Palanivel. S.Parvathi. 2013. Effect Plant Growth Regulator On Callus Induction In *Physalis Minima* Linn. *Int.Journal Enginering.Sci*. 2(9):1-5
- Shihab, Quraish.2002. *Tafsir Al-Mishbah : Pesan, Kesan, dan Keserasian Al Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.)secra in vitro pada media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*, 13 (1).
- Sugiarto, Lili. 2014. Induksi Kalus Binahong (*Anredera Cordifolia* L.) Dalam Upaya Pengembangan Tanaman Obat Tradisonal. *Jurnal Sains Dasar*. 3(1).
- Turhan, H. 2004. Callus Induction in Growth Transgenic Potato Genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 3(8): 375-378.
- Ulfa, M. B. 2011. Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng*. Vol: IV (2): 137-147.
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi Dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor:

Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB – Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.

- Welsh, J. R. 1991. *Dasar-Dasar Genetika Dan Pemuliaan Tanaman*. Alih Bahasa J. P Moge Erlangga: Jakarta.
- Widiastuti, Y. 2002. *Budidaya Tanaman Obat*. Balai Penelitian Tanaman Obat: Surakarta.
- Widyastuti, N. Dan D. Tjokrokusumo. 2001. Peranan Beberapa Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Tanaman pada Kultur In Vitro. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia* 3(1):55-63.
- Winarto, B. 2010. Aplikasi 2,4-D Dan TDZ Dalam Pembentukan Dan Regenerasi Kalus Pada Kultur Anther *Anthurium*. *Jurnal Hort.* 1(1):1-9.
- Xie, Mingjie. 2010. Antibacterial activity and mechanism of luteolin on *Staphylococcus aureus*. *Acta mikrobiologia Sinica*. 50(9):1180-4.
- Yokota, T., Tutumi, N., and Takashi, K. 1999. Growth Rate Estimation of in Vitro Primarily Induced Carrot Callus by a Fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*. 3:231-234.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka: Jakarta
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Zuroida, Nabila. Induksi Eksplan Daun Sirih Hitam Dengan Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh IAA Dan BAP Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga.

### Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

#### 1. Data hasil pengamatan hari muncul kalus

NO	BAP	2,4-D	1	2	3	jumlah	Rata-rata
1	0	0	30	30	30	90	30
2	0,25	0	12	13	12	37	12,33333333
3	0,5	0	8	10	9	27	9
4	0,75	0	8	10	10	28	9,33333333
5	1	0	23	30	30	83	27,66666667
6	0	0,5	11	13	13	37	12,33333333
7	0,25	0,5	8	8	8	24	8
8	0,5	0,5	11	13	11	35	11,66666667
9	0,75	0,5	10	10	12	32	10,66666667
10	1	0,5	9	11	9	29	9,66666667
11	0	1	7	10	13	30	10
12	0,25	1	8	10	11	29	9,66666667
13	0,5	1	8	8	10	26	8,66666667
14	0,75	1	12	15	14	41	13,66666667
15	1	1	11	14	13	38	12,66666667
16	0	1,5	10	14	14	38	12,66666667
17	0,25	1,5	8	10	10	28	9,33333333
18	0,5	1,5	12	14	15	41	13,66666667
19	0,75	1,5	8	10	11	29	9,66666667
20	1	1,5	11	12	12	35	11,66666667
21	0	2	10	14	13	37	12,33333333
22	0,25	2	8	8	8	24	8
23	0,5	2	10	9	11	30	10
24	0,75	2	9	10	9	28	9,33333333
25	1	2	11	11	13	35	11,66666667

#### 2. Data hasil pengamatan persentase eksplan berkalus

BAP	2,4-D				Rata-rata
0	0	0	0	0	0
0,25	0	25	25	25	25
0,5	0	75	75	75	75
0,75	0	75	75	75	75
1	0	75	75	75	75
0	0,5	75	75	75	75
0,25	0,5	100	100	100	100
0,5	0,5	100	100	90	96,66666667
0,75	0,5	100	100	100	100
1	0,5	100	100	95	98,33333333

0	1	100	75	90	88,33333333
0,25	1	100	100	100	100
0,5	1	100	100	90	96,66666667
0,75	1	95	100	100	98,33333333
1	1	75	100	95	90
0	1,5	100	90	90	96,33333333
0,25	1,5	60	75	100	78,33333333
0,5	1,5	100	75	100	91,66666667
0,75	1,5	100	100	100	100
1	1,5	100	100	100	100
0	2	100	100	100	100
0,25	2	100	100	100	100
0,5	2	100	100	100	100
0,75	2	100	100	100	100
1	2	100	100	100	100

3. Data hasil pengamatan berat kalus

NO	BAP	2,4-D	1	2	3	JUMLAH	rata-rata
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,25	0	0,045	0,032	0,054	0,131	0,043666667
3	0,5	0	0,089	0,121	0,089	0,299	0,099666667
4	0,75	0	0,087	0,085	0,111	0,283	0,094333333
5	1	0	0,088	0,089	0,093	0,27	0,09
6	0	0,5	0,072	0,021	0,019	0,112	0,037333333
7	0,25	0,5	0,334	0,385	0,166	0,885	0,295
8	0,5	0,5	0,452	0,524	0,226	1,202	0,400666667
9	0,75	0,5	0,22	0,302	0,385	0,907	0,302333333
10	1	0,5	0,293	0,462	0,282	1,037	0,345666667
11	0	1	0,121	0,111	0,124	0,356	0,118666667
12	0,25	1	0,134	0,113	0,181	0,428	0,142666667
13	0,5	1	0,409	0,123	0,116	0,648	0,216
14	0,75	1	0,089	0,097	0,113	0,299	0,099666667
15	1	1	0,134	0,113	0,116	0,363	0,121
16	0	1,5	0,216	0,244	0,195	0,655	0,218333333
17	0,25	1,5	0,16	0,145	0,115	0,42	0,14
18	0,5	1,5	0,243	0,162	0,214	0,619	0,206333333
19	0,75	1,5	0,565	0,512	0,456	1,533	0,511
	1	1,5	0,203	0,217	0,213	0,633	0,211
21	0	2	0,216	0,254	0,265	0,735	0,262
22	0,25	2	0,221	0,394	0,222	0,837	0,279
23	0,5	2	0,267	0,302	0,385	0,954	0,318
24	0,75	2	0,257	0,516	0,438	1,211	0,403666667
25	1	2	0,278	0,265	0,512	1,055	0,351666667

## Lampiran 2. Hasil Uji Analisis Variansi ANAVA Dan Uji Lanjut DMRT 5%.

### 1. A. Analisis Variansi (Anava) Pada Hari Muncul Kalus

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hari Muncul Kalus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.656 <sup>a</sup>	24	.069	3.203	.000
Intercept	4.566	1	4.566	211.976	.000
D	.621	4	.155	45,917	.000
BAP	.265	4	.066	60,378	.024
D * BAP	.735	16	.046	25,914	.021
Error	1.099	51	.022		
Total	7.215	76			
Corrected Total	2.754	75			

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hari Muncul Kalus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.656 <sup>a</sup>	24	.069	3.203	.000
Intercept	4.566	1	4.566	211.976	.000
D	.621	4	.155	45,917	.000
BAP	.265	4	.066	60,378	.024
D * BAP	.735	16	.046	25,914	.021
Error	1.099	51	.022		
Total	7.215	76			

a. Squared = .601 (Adjusted R Squared = .413)

#### B. Uji Lanjut DMRT 5%

**HMK**

Duncan

BAP	N	Subset	
		1	2
1 PPM	15	10.2667	
0,25 PPM	15	10.4667	
0,5 PPM	15	10.9333	
0,75 PPM	15	11.4000	
0 PPM	16		18.4375
Sig.		.068	1.000

**HMK**

Duncan

D	N	Subset		
		1	2	3
0,5 PPM	15	9.4667		
1,5 PPM	15	10.5333		
1 PPM	15	10.6000		
2 PPM	15		14.6667	
0 PPM	16			16.3750
Sig.		.059	1.000	1.000

## 2. analisis variansi (ANAVA) Persentase Eksplan Berkalus

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:PERSEN\_KALUS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	43185.197 <sup>a</sup>	24	1799.383	32.199	.000
Intercept	571652.862	1	571652.862	1.023E4	.000
D	8033.333	4	2008.333	35.939	.000
BAP	17860.087	4	4465.022	79.900	.000
D * BAP	12113.016	16	757.063	13.547	.000
Error	2850.000	51	55.882		
Total	604525.000	76			
Corrected Total	46035.197	75			

## B. Hasil uji DMRT 5%

**PERSEN\_KALUS**

Duncan

BAP	N	Subset		
		1	2	3
0 PPM	16	49.0625		
0,25 PPM	15		91,000	
0,5 PPM	15			94.000
0,75 PPM	15			94.6667
1 PPM	15			96.000
Sig.		1.000	.251	.194

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 124.837.

**PERSEN\_KALUS**

Duncan

D	N	Subset		
		1	2	3
0 PPM	16	66.5625		
0,5 PPM	15		76.6667	
1,5 PPM	15			93.0000
2 PPM	15			93.3333
1 PPM	15			93.6667
Sig.		1.000	1.000	.878

## 3. A. Hasil uji analisis variansi (ANAVA) berat kalus

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: BERAT\_KALUS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.656 <sup>a</sup>	24	.069	3.203	.000
Intercept	4.566	1	4.566	211.976	.000
D	.621	4	.155	7.205	.000
BAP	.265	4	.066	3.075	.024
D * BAP	.735	16	.046	2.133	.021
Error	1.099	51	.022		
Total	7.215	76			
Corrected Total	2.754	75			

a. R Squared = .601 (Adjusted R Squared = .413)

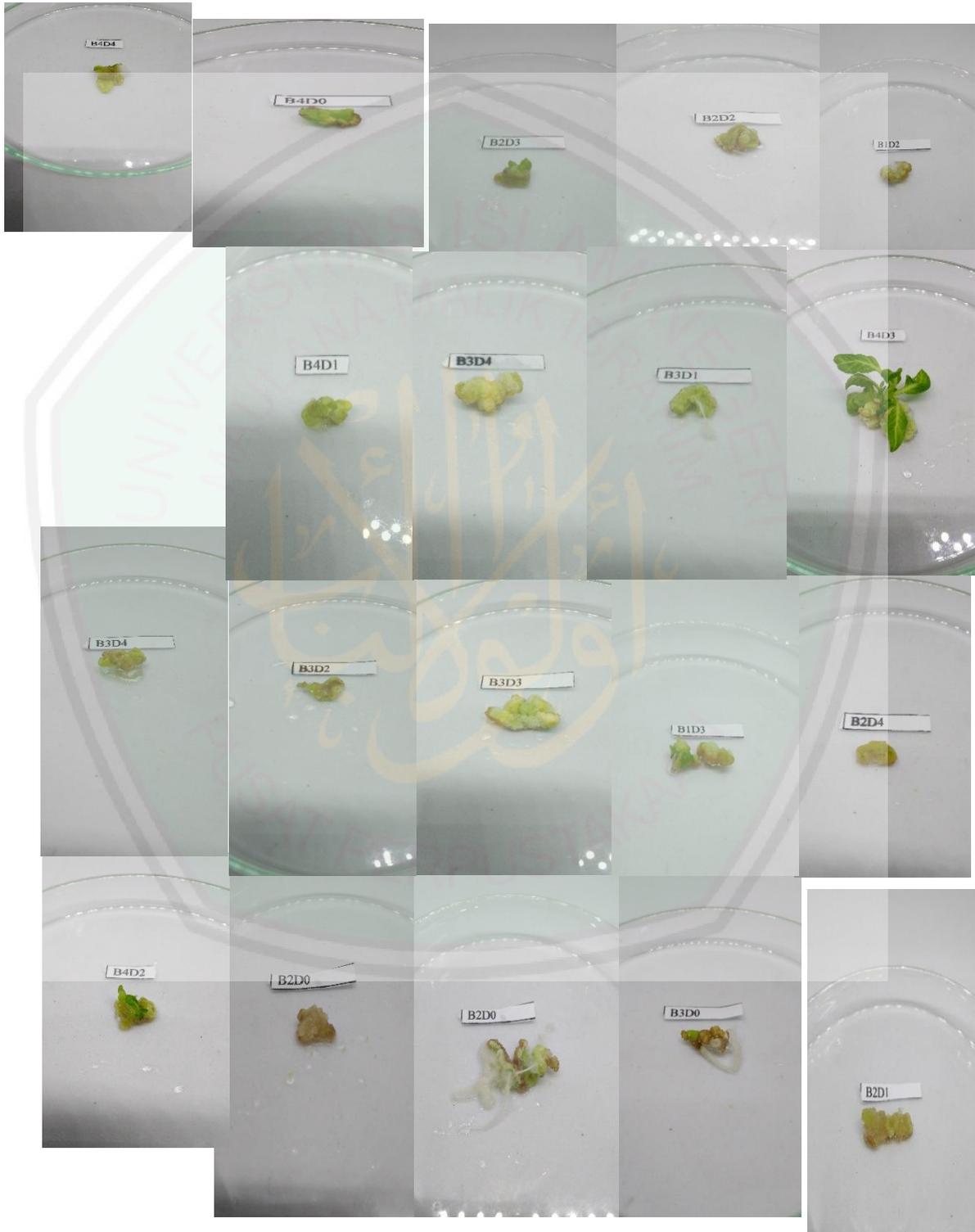
## B. Hasil uji lanjut DMRT 5%

**BERAT\_KALUS**

Duncan

D	N	Subset		
		1	2	3
0 PPM	16	.1094		
0,5 PPM	15	.1918	.1918	
1 PPM	15		.2497	
1,5 PPM	15		.2569	.2569
2 PPM	15			.2590
Sig.		.128	.108	.062

Lampiran 3. Gambar Hasil Penelitian



#### Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stok

Lampiran Stok Dibuat Dalam 100 ml Aquades Dengan Perhitungan

- a. Larutan stok 2,4-D 100 ppm =  $\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = 10 \text{ mg}$
- b. Larutan stok BAP 100 ppm =  $\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = 10 \text{ mg}$

#### Lampiran 5. Perhitungan Pengambilan Stok

1. Perlakuan Pemberian 2,4-D

- a. Konsentrasi 0,5 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 0,5 \times 40 \\ &= 100 \mu\text{l} \end{aligned}$$

- b. Konsentrasi 1,0 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 1,0 \times 40 \\ &= 400 \mu\text{l} \end{aligned}$$

- c. Konsentrasi 1,5 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 1,5 \times 40 \\ &= 600 \mu\text{l} \end{aligned}$$

- d. Konsentrasi 2,0 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 2,0 \times 40 \\ &= 800 \mu\text{l} \end{aligned}$$

2. Perlakuan Pemberian BAP

- a. Konsentrasi 0,25 ppm

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

$$\begin{aligned}100 \times V_1 &= 0,25 \times 40 \\ &= 100 \mu l\end{aligned}$$

b. Konsentrasi 0,5 ppm

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 0,5 \times 40 \\ &= 200 \mu l\end{aligned}$$

c. Konsentrasi 0,75 ppm

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 0,75 \times 40 \\ &= 600 \mu l\end{aligned}$$

d. Konsentrasi 1,0 ppm

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 1,0 \times 40 \\ &= 400 \mu l\end{aligned}$$

## Lampiran 6. Alat-Alat Penelitian



Autoklaf  
Flow



Oven



Laminar Air



Timbangan Analitik



Hot Plate



Kompore



Saringan, Botol Kultur,  
Cawan Petri, Scalpel,



Mikropipet Dan Tip



Ph Meter

## Lampiran 7. Bahan Penelitian



Biji Ciplukan



Perkecambahan / Daun Ciplukan



Alkohol 70%



Media MS  
2,4-D



ZPT BAP



ZPT



Gula



Plastik Dan Karet

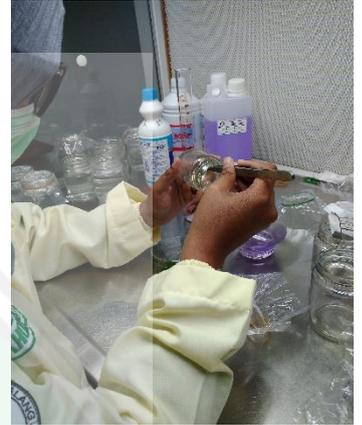


Agar-Agar



## Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian

### a. Inisiasi Biji Ciplukan Dan Induksi Daun Ciplukan



### Pengamatan & Pengambilan Data

