

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK *Carica pubescens* Lenne & K. Koch
MENGUNAKAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID (2,4-D) DAN
BAP (6- BENZYLAMINOPURIN) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

ANATUR ROFIQOH

NIM. 14620029



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2018

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK *Carica pubescens* Lenne & K. Koch
MENGUNAKAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID (2,4-D) DAN
BAP (6- BENZYLAMINOPURIN) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

P'ANATUR ROFIQOH

NIM. 14620029

diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK *Carica pubescens* Lenne & K. Koch
MENGUNAKAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID (2,4-D) DAN
BAP (6- BENZYLAMINOPURIN) SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh:

P'ANATUR ROFIQOH

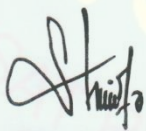
NIM. 14620029

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

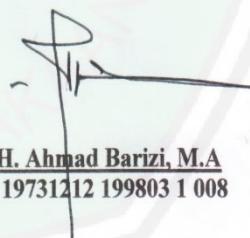
Tanggal: 26 Oktober 2018

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



Shinta, M.Si
NIDT. 19880110 20160801 2 064



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi,


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

HALAMAN PENGESAHAN

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK *Carica pubescens* Lenne & K. Koch
MENGUNAKAN 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID (2,4-D) DAN
BAP (6- BENZYLAMINOPURIN) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

P'ANATUR ROFIQOH

NIM. 14620029

Telah dipertahankan

di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si)

Tanggal: 26 Oktober 2018

Penguji Utama : Suyono, M.P
NIP. 19710622 200312 1 002
Ketua Penguji : Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIDT. 201402012423
Sekretaris Penguji : Shinta, M.Si
NIDT. 19880110 20160801 2 064
Anggota Penguji : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008

(Suyono)
(Ruri Siti Resmisari)
(Shinta)
(Dr. H. Ahmad Barizi)



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi,

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fanatur Rofiqoh

NIM : 14620029

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6- Benzylaminopurin) secara *In Vitro*

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

Malang, 01 Oktober 2018

Yang membuat pernyataan,



Fanatur Rofiqoh
NIM. 14620019

MOTTO

Per caya lah!!!

وَهُوَ مَعَكُمْ أَيْنَ مَا كُنْتُمْ ۗ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ بَصِيرٌ ﴿١٠٠﴾

He (Allah) is with You (by his knowledge) where so ever You may be. and Allâh is the All-Seer of what You do.

Halaman Persembahan

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan nikmat, anugerah, kesehatan, kesempatan, rezeki, dan keberkahan yang tiada henti.

Terima kasih sebesar-besarnya kepada Ibu Suaiyaroh (Emakku) tercinta yang selalu mengiringi setiap langkahku dengan do'a kasih sayang serta tanpa lelah untuk menasehati dan mendukungku hingga sampai pada titik ini dan semoga Allah melimpahi Ibu dengan cinta dan kasih sayang, bapak Ahmad Mundzir(Alm) (Bapakku), yang meskipun saya tidak sempat merasakan kasih sayangnya secara langsung saya yakin beliau mencintai saya dan selalu menyertakan do'a di setiap perjalanan saya, skripsi ini saya persembahkan untuknya sebagai salah satu bukti cinta saya kepadanya, dan semoga Allah memberikan tempat terbaik untuk Bapak. Untuk kakak kandungku (Mbak Sun Fatayatin) dan kakak iparku (Cak Edi) yang selalu mendoakan dan mendukung semua apa yang aku pilih dan yang aku jalani, tak lupa untuk keponakanku (Airyn, Arziki) yang selalu memberikan canda tawa, kelucuan dan kegenitanya untuk menghibur saya. Tak lupa terimakasih sebesar besarnya kepada keluarga besar saya Bani Muklatim yang selalu mendo'akan dan melimpahi saya dengan kasih sayang.

Terima kasih kepada Ibu dan Bapak Dosen Biologi khususnya Ibu Shinta, Bapak Barizi, Bu ruri, dan Bapak suyono yang selalu sabar membimbing dan memberi masukan dalam setiap langkah menempuh pendidikan sarjana.

Terimakasih kepada Bapak dan Ibu Laboran KJT, Fistum, Fiswan, Mikro, Genetik yang telah mengizinkan saya untuk menggunakan fasilitas lab selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.

Terima kasih kepada Guru-guru TK, MI, MTs, MA AL - Karimi serta ustadz ustadzah atas semua do'a dan dukungannya

Terimakasih untuk grup ciwi ciwi (mbak lilik, ida gendut, dan fitri) yang selalu memberi semangat dan kegembiraan.

Terimakasih untuk teman - teman skripsi jadi (Mumun, Muhim, Ida, Fitri) yang selalu memberi semangat , menemani, dan bersama - sama dalam berjuang menyelesaikan skripsi.

Terimakasih untuk teman - teman srikandi (Tante Herlina, Anita, Mbak diah, Mbak Ummi) yang selalu menemani dan selalu mendukung satu sama lain selama empat tahun ini.

Terimakasih untuk Biologi B angkatan 14 atas pengalaman yang tak terlupakan dan kehangatan kekeluargaan ditempat perantauan.

Terimakasih untuk Biologi angkatan 14 atas kenangan, kebersamaan, kekeluargaan, dan pelajaran selama perjalanan menuntut ilmu bersama.

Terima kasih untuk tim KJT (Luha, Miftah, Monik, Masalahah, Endah dan Emil) yang selalu menemani disaat susah, bingung dan bahagia selama penelitian

Terima kasih untuk adek - adek mikrotech (Safira, Alfi, Anas, Riska, Andini, Adela, Bibah, Alifah, Lila, Farid, Septian dan adek - adek yang lain yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu) yang sangat membantu dan selalu menemani serta mendukung selama masa penelitian.

Terima kasih untuk teman kamar (Mbak Diah) yang telah menjadi teman berdiskusi dan teman belajar.

Terimakasih untuk teman teman sablenk malang yang selalu mengingatkan saya untuk mengerjakan skripsi dan menjadi teman ngopi saat saya suntuk dan stress mengerjakan skripsi.

Terimakasih untuk teman teman malang's_student (Bikha, Mbak Zima, Iil, Iim, Uul, Isma, Fikri dll) yang bersama sama berjuang di Kota perantauan.

Terimakasih untuk warga kos catalonia yang selalu memberikan warna dan mendo'akan kelancaran skripsi saya.

Terimakasih untuk mantan abang yang kini jadi mas, yang membuat saya galau selama semester akhir sehingga saya termotivasi untuk segera menyelesaikan skripsi.

Serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada kita semua.



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikm Wr. Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan **judul “Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6- Benzylaminopurin) secara *In Vitro*”**. Sholawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rosulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya bagi peradapan, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

Penulis juga mengucapkan terima kasih seriring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya 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. Shinta, M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A, Selaku dosen pembimbing bidang biologi dan dosen bidang integrasi sains Islam, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasihat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi

5. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasihat
6. Segenap dosen dan civitas akademik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
7. Kepada orang tua penulis Bapak Ahmad Mundzir dan Ibu Suaiyaroh serta kakak Sun Fatayatin dan kakak ipar Edi Setiawan yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini
8. Laboran dan staf administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
9. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2014 (TELOMER) terima kasih atas kerja sama, motivasi serta bantuannya
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan setu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat sehingga 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 Wr. Wb.

Malang, 01 Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
ملخص	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.4 Hipotesis Penelitian	11
1.5 Manfaat Penelitian	11
1.6 Batasan Masalah	12
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	14
2.1.1 Tanaman <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch dalam Perspektif Islam	14
2.1.2 Klasifikasi	17
2.1.3 Nama Daerah	18
2.1.4 Deskripsi	19
2.1.5 Morfologi.....	19
2.1.6 Manfaat <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch.....	22
2.1.7 Kandungan Kimia <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	23
2.1.8 Daerah Persebaran	25
2.1.9 Budidaya Tanaman	25
2.2 Kultur In Vitro.	26
2.2.1 Pengertian Kultur In Vitro.....	26
2.2.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur <i>In Vitro</i> Tumbuhan	28
2.3 Kultur Kalus.....	32
2.3.1 Tekstur Kalus.....	33
2.3.2 Warna Kalus	34
2.4 Media MS (Murashige and Skoog)	36

2.5	Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	38
2.5.1	2,4- <i>Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D)	38
2.5.2	BAP (6- <i>Benzylaminopurin</i>)	39
2.5.3	Interaksi 2,4-D dan BAP	40
2.6	Induksi Kalus Embriogenik	41

BAB III METODE PENELITIAN

3.1	Rancangan Penelitian	43
3.2	Variabel Penelitian	43
3.3	Waktu dan Tempat	44
3.4	Alat dan Bahan	44
3.4.1	Alat	44
3.4.2	Bahan	44
3.5	Prosedur Penelitian	45
3.5.1	Sterilisasi Alat	45
3.5.2	Pembuatan Media	45
3.5.3	Sterilisasi Media	46
3.5.4	Sterilisasi Ruang Tanam	46
3.5.5	Sterilisasi Eksplan	46
3.5.6	Tahap Inisiasi	47
3.5.6.1	Penanaman Eksplan Induksi Kalus Embriogenik	47
3.5.6.2	Tahap Pemeliharaan	47
3.5.7	Parameter Pengamatan	47
3.5.7.1	Hari Munculnya Kalus	47
3.5.7.2	Berat Basah Kalus	47
3.5.7.3	Persentase Luasan Kalus pada Eksplan	48
3.5.7.4	Warna dan Tekstur Kalus	48
3.5.7.5	Pengamatan Anatomi Kalus	48
3.6	Analisis Data	48
3.7	Skema Kerja Penelitian	49

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Pengaruh 2,4- <i>Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch secara <i>In Vitro</i>	50
4.2	Pengaruh BAP (6- <i>Benzylaminopurin</i>) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch secara <i>In Vitro</i>	57
4.3	Pengaruh Interaksi 2,4- <i>Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D) dan BAP (6- <i>Benzylaminopurin</i>) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch secara <i>In Vitro</i>	63
4.3.1	Pengamatan secara Kuantitatif Pengaruh Interaksi 2,4- <i>Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D) dan BAP (6- <i>Benzylaminopurin</i>) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch secara <i>In Vitro</i>	63
4.3.2	Pengamatan secara Kualitatif Pengaruh Interaksi 2,4- <i>Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D) dan BAP	

(6-Benzylaminopurin) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch secara <i>In Vitro</i>	69
4.4 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam.....	74

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	79
5.2 Saran	79

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Perlakuan Interaksi 2,4-D dan BAP	43
Tabel 4.1 Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch.....	50
Tabel 4.2 Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	51
Tabel 4.3 Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch.....	57
Tabel 4.4 Pengaruh BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	58
Tabel 4.5 Hasil Analisis Variasi (ANOVA) Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	63
Tabel 4.6 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	64
Tabel 4.7 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch.....	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	18
Gambar 2.2 Tekstur Kalus	34
Gambar 2.3 Warna Kalus.	36
Gambar 2.4 Struktur Kimia 2,4-D	38
Gambar 2.5 Struktur Kimia BAP.....	39
Gambar 2.6 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin	41
Gambar 3.1 Desain Penelitian.....	49
Gambar 4.1 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Hari Muncul Kalus	54
Gambar 4.2 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Berat Basah Kalus	54
Gambar 4.3 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D Terhadap Persen Luasan Kalus Pada Eksplan.....	55
Gambar 4.4 Kurva Regresi Pengaruh BAP Terhadap Hari Muncul Kalus	60
Gambar 4.5 Kurva Regresi Pengaruh BAP Terhadap Berat Basah Kalus	60
Gambar 4.6 Kurva Regresi Pengaruh BAP Terhadap Persen Eksplan Berkalus...61	61
Gambar 4.7 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Hari Muncul Kalus	66
Gambar 4.8 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Berat Basah Kalus.....	66
Gambar 4.9 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Persen Luasan Kalus Pada Eksplan	67
Gambar 4.10 Warna Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch....67	67
Gambar 4.11 Tekstur Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch ..72	72
Gambar 4.12 Hasil Pengamatan Anatomi Kalus Embriogenik <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch	73

**Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch
Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6-
Benzylaminopurin) Secara *In Vitro***

I'anatur Rofiqoh, Shinta dan H. Ahmad Barizi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D, BAP dan interaksi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 25 perlakuan dan 5 ulangan. Terdapat dua faktor dalam penelitian yaitu konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L, 7,5 mg/L, dan 10 mg/L dan konsentrasi BAP meliputi 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L dan 1 mg/L. Analisis dengan uji ANAVA *Two Way* $\alpha = 5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5%. Hasil penelitian menunjukkan ada pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP. Konsentrasi 2,4-D yang paling efektif adalah 7,5 mg/L menginduksi kalus dengan hari muncul kalus 24,2 HST, berat basah kalus 0,96 g, persen luasan kalus pada eksplan 93,4%. Konsentrasi BAP yang paling efektif adalah konsentrasi 0,5 mg/L menginduksi kalus dengan hari muncul kalus 23,5 HST, berat basah kalus 0,96 g dan persen luasan kalus pada eksplan 95%. Interaksi 2,4-D dan BAP yang paling efektif adalah 7,5 mg/L 2,4-D dan 0,5 mg/L BAP dengan hari muncul kalus 19 HST, berat basah kalus 1,09 g dan persen luasan kalus pada eksplan 99%. Pengamatan morfologi dan anatomi menunjukkan ciri-ciri kalus embriogenik yang dibuktikan dengan kalus yang berwarna kekuningan dan bertekstur remah serta memiliki inti besar, mengandung butir pati, dan plastida.

Kata Kunci : Kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch, 2,4-D, BAP

Induction of Embryogenic Callus *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Using 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) and BAP (6-Benzylaminopurin) In Vitro

I'anatur Rofiqoh, Shinta and H. Ahmad Barizi

ABSTRACT

This research aims to determine the effect of 2,4-D growth regulators, 2,4-D and BAP interactions on the induction of embryogenic callus *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. This research is experimental, using a completely randomized design (CRD) with 25 treatments and 5 replications. There are two factors in research namely 2,4-D concentrations including 0 mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L, 7,5 mg/L, and 10 mg/L and BAP concentrations include 0 mg/L, 0,25 mg/L, 0,5 mg/L, 0,75 mg/L and 1 mg/L. Analysis by testing ANAVA *Two Way* $\alpha = 5\%$. If there are significant differences then followed by *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) with a significance level of 5%. Results of research shows that there is an influence of giving 2,4-D and BAP growth regulator. The most effective 2,4-D concentration is 7,5 mg/L inducing callus with days callus appeared 24,2 HST, callus wet weight 0,96 g, percent callus area in explants 93,4%. The most effective BAP concentration is the concentration of 0,5 mg/L induces callus with days of callus appearing 23,5 HST, callus wet weight 0.96 g and percent callus area at explants 95%. The most effective interactions of 2,4-D and BAP were 7,5 mg / L 2,4-D and 0,5 mg / L BAP with callus day 19 HST, callus wet weight 1,09 g and percent area callus in explants 99%. Morphological and anatomical observations show the characteristics of callus embryogenic as evidenced by yellowish and textured callus friable and have a large core, containing starch grains, and plastids.

Keywords: Embryogenic callus *Carica pubescens* Lenne & K. Koch, 2,4-D, BAP

تحريض كالوس الاجنة لكاريكا فويسجين *Carica pubescens* Lenne & K. Koch باستخدام 2،4-
Dichlorophenoxy Acetic Acid (2،4-د) و *BAP* (6-Benzylaminopurin) خلال في المختبر
 (In Vitro)

إعانة الرفيقة، صينتا، وأحمد بارزي

الملخص

يهدف هذا البحث لان يحدد تأثير مادة المنظم النمو 2،4-د، *BAP* التفاعلات 2،4-د و *BAP* على تحريض كالوس الاجنة *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. هذا البحث هو تجريبي، باستخدام تصميم عشوائي بالكامل (CRD) مع 25 علاجات و 5 مكررات. هناك عاملان في البحث، هما تركيز 2،4-د يشمل 0 ملغم/لتر، 2.5 ملغم/لتر، 5 ملغم/لتر، و 7.5 ملغم/لتر، و 10 ملغم/لتر. وتركيز *BAP* يشمل 0 ملغم/لتر 0.25 ملغم / لتر، 0.5 ملغم/لتر، 0.75 ملغم/لتر و 1 ملغم/لتر. التحليل هو باختبار *ANOVA Two Way* $\alpha=5\%$. إذا كان هناك فرق معنوي فيستمر باختبار المدى المتعدد لدنكان (DMRT) مع مستوى كبير أي 5%. دلت النتائج البحث أن هناك تأثيرا لاعطاء مادة المنظم النمو 2،4-د و *BAP* التركيز 2،4-د الافعال هو 7.5 ملغم/لتر لتحريض الكالس مع يوم الكالس 24.2 اليوم بعد الزرع (HST)، الوزن الرطب الكالس هو 0.96 غرام، نسبة الكالس في المستكشفات هي 93.4%. تركيز *BAP* الافعال هو تركيز الكالس 0.5 ملغم/لتر لتحريض الكالس مع يوم الكالس 23.5 اليوم بعد الزرع، الوزن الرطب الكالس هو 0.96 غرام ونسبة الكالس في المستكشفات هي 95%. التفاعلات 2،4-د و *BAP* الافعال هي 7.5 ملغم/لتر 2،4-د و 0.5 ملغم/لتر *BAP* مع يوم ظهور الكالس 19 اليوم بعد الزرع، الوزن الرطب الكالس هو 0.29 غرام ونسبة الكالس في المستكشفات هي 99%. ظهرت الملاحظات المورفولوجية والتشريحية الخصائص الكالس الاجنة التي تدل مع الكالس المصفر والنسيج الكسرة ولها نواة كبيرة تحتوي على حبيبات النشا، والبلاستيدات.

الكلمات الرئيسية: كالوس الاجنة *Carica pubescens* Lenne & K. Koch باستخدام 2،4-د، و *BAP*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan alam yang berlimpah, dan merupakan suatu anugerah yang diberikan Allah SWT kepada manusia dan wajib untuk disyukuri. Salah satunya adalah kekayaan jenis tumbuhan. Allah SWT berfirman dalam surat As-Syu'ara ayat 7-8 sebagai berikut.

أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً ۖ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ۘ

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah dan kebanyakan mereka tidak beriman”* (QS. As-Syua'ara/ 26: 7-8).

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), *أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* (dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi) maksudnya memikirkan tentang bumi, *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* (berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu) jumlah yang banyak, *مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* (dari berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik) dengan berbagai macam jenis. Lafadz *زوج كريم* artinya jenis yang baik, lafadz *كريم* yang artinya baik maupun mulia berasal dari *al karam* bahasa Arabnya adalah *الفضل* (keutamaan) yang digunakan untuk sesuatu yang baik, unggul, maupun mulia (Al-Qurthubi, 2009). Ayat tersebut menunjukkan bahwa, sesungguhnya Allah SWT memiliki kekuasaan dalam menciptakan berbagai macam jenis tumbuhan baik di bumi yang tidak sia-sia, tetapi banyak mengandung manfaat yang berguna bagi kehidupan manusia. Menurut

Tafsir Ibnu Katsir (2007) Allah SWT menunjukkan akan kebesaran kekuasaanNya dan keagunganNya dalam menciptakan bumi dan menumbuhkan tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan hewan. “*Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda*”, yaitu tanda atas kekuasaan penciptaanNya. Menurut Kementrian Agama Republik Indonesia (2016) bahwa, Allah SWT mengajak umatnya untuk belajar dari alam semesta dengan diciptakanNya tumbuh-tumbuhan yang baik dan memiliki manfaat, agar umat manusia mengetahui akan kebesaran penciptaanNya yang Maha Kuasa. Tanda-tanda kebesaran Allah SWT mampu menghidupkan tanah gersang, menciptakan berbagai macam tanaman dan manfaat yang terkandung di dalamnya. Hal tersebut hanya diketahui oleh orang-orang yang beriman dan berakal sehingga selalu bertafakkur terhadap kekuasaan Allah SWT.

Salah satu diantara tanaman yang baik dan memiliki kemuliaan dari Allah SWT adalah *C. pubescens*. Tanaman ini merupakan tanaman asli dari Amerika Selatan dan telah tersebar luas secara geografis hingga Andas. Genus *Carica* dari Famili *Caricaceae* memiliki kurang lebih 40 spesies, dan hanya terdapat tujuh spesies tanaman yang dapat dikonsumsi (Budiyanti *et al.*, 2005). Di Indonesia, salah satu spesies yang dapat dikonsumsi tersebut adalah *C. pubescens* yang dapat dijumpai di kawasan Bromo, Cangar Jawa Timur, dan Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah (Minarno, 2015).

Tanaman *C. pubescens* memiliki manfaat yang banyak dalam kehidupan sehari-hari. *C. pubescens* memiliki potensi sebagai tanaman obat. Daun *C. pubescens* dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan

penyakit malaria, sariawan, beri-beri, sembelit, dan disentri amuba (Hidayat, 2001). Hasil penelitian Minarno (2016) menunjukkan bahwa, sumber saponin triterpen memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai obat komersial yang dapat diperoleh dari tangkai daun *C. pubescens*. Biji *C. pubescens* dapat digunakan sebagai ekstrak untuk antibakteri terhadap *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) penyebab diare pada mencit jantan (*Mus musculus*) (Wijayanti dan Febrinasari, 2017). Suwarmi dan Suprijono (2014) menyatakan bahwa, ekstrak buah *C. pubescens* dapat digunakan sebagai *Sun Protection Factor (SPF)* karena buahnya memiliki kandungan vitamin C tinggi. Menurut Distan Kabupaten Wonosobo (2008) menyatakan bahwa, *C. pubescens* memiliki kandungan senyawa yang baik untuk tubuh, yaitu kandungan karotit, vitamin C dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai zat anti kanker. Kandungan enzim papain berfungsi memecah serat makanan sisa dan memudahkan buang air besar. Kandungan enzim *C. pubescens* ksatin dan violaksantin mampu menghambat pembentukan batu empedu (bersifat asam). Kandungan enzim khimopapain, *glycopeptidase* B dan lisosim mampu mengatasi sakit nyeri punggung. Mengandung kalium dan magnesium sebagai mineral yang sangat dibutuhkan tubuh.

Karakteristik buah *C. pubescens* membuat hanya enak dimakan setelah diolah lebih lanjut. Hal ini disebabkan jika dikonsumsi secara langsung buah *C. pubescens* memiliki rasa asam dan sedikit pahit, meskipun sudah matang. Selain itu, daging buahnya mengandung banyak getah yang menyebabkan gatal apabila mengenai bibir, mulut, dan kulit (Ngumriana, 2015). *C. pubescens* termasuk dalam komoditi pertanian yang tidak tahan lama atau sangat cepat mengalami kerusakan

bila disimpan dalam keadaan segar. Oleh karena itu, *C. pubescens* diolah menjadi produk yang dihasilkan oleh industri sebagai makanan khas unggulan daerah Wonosobo (Distan Kabupaten Wonosobo, 2008). Berdasarkan data Distan Kabupaten Wonosobo (2008) bahwa, total produksi *C. pubescens* sebanyak 1342,28 ton. Sedangkan kapasitas produksi rata-rata industri kecil olahan Carica di Wonosobo berkisar antara 1,5 ton sampai 18 ton per bulan. Sehingga kapasitas produksi tersebut belum mampu memenuhi seluruh permintaan konsumen. Hal ini dikarenakan sumber bahan baku berupa buah *C. pubescens* kurang tersedia yang diakibatkan oleh sifat tanaman *C. pubescens* yang merupakan tanaman musiman, sehingga ketersediaannya seringkali langka pada musim-musim tertentu (Dewi, 2009).

Perbanyakan tanaman *C. pubescens* di Indonesia masih dilakukan secara tradisional atau konvensional. Menurut Azmin *et al.*, (2015) menyatakan bahwa, pengembangan dan konservasi tanaman *C. pubescens* dilakukan dengan cara transplantasi (pemindahan penanaman tanaman dari suatu tempat ke tempat yang lain dengan berbagai pertimbangan) untuk meningkatkan penyebarannya. Hasil penelitian Rastono *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa, untuk mengembangkan keberhasilan dalam transplantasi tanaman *C. pubescens* dilakukan dengan cara penanaman secara tumpangsari, sehingga diperoleh hasil yang optimal. Perbanyakan tanaman *C. pubescens* yang dilakukan oleh masyarakat secara konvensional dengan menggunakan biji.

Perkecambahan biji *C. pubescens* sulit dilakukan secara konvensional akibat dari jenis biji, faktor genetik, dan faktor lingkungan yang kurang

mendukung. Selain itu, perkecambahan biji secara konvensional membutuhkan waktu tumbuh kecambah yang relatif lama sehingga menyebabkan lamanya pematangan dormansi biji. Hal ini disebabkan karena adanya pulp yang melekat pada biji *C. pubescens* mengandung asam absisat yang merupakan zat penghambat perkecambahan dan pertumbuhan biji. Menurut Purba *et al.*, (2018) menyatakan bahwa, pulp yang masih melekat pada biji menghambat proses tumbuhnya plumula. Hal ini mengakibatkan pertumbuhan bibit *C. pubescens* lebih lama dibandingkan dengan tanaman lain. Selain itu, Perbanyakan yang dilakukan menggunakan biji menghasilkan tanaman dengan keturunan yang tidak sama dengan induk aslinya (Sari *et al.*, 2014). Sedangkan perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro* menghasilkan tanaman yang memiliki sifat sama seperti induknya. Suryowinoto (1996) menyatakan bahwa, perbanyakan dengan cara kultur *in vitro* merupakan perbanyakan secara vegetatif yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan memiliki sifat yang sama seperti induknya, dengan proses pembibitan yang tidak tergantung musim.

Upaya dalam perbanyakan tanaman *C. pubescens* dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat masih belum banyak dilakukan. Untuk mengatasi hal tersebut, dapat dilakukan melalui perbanyakan tanaman secara kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* telah terbukti dapat menyediakan berbagai tanaman yang akan dieksploitasi secara luas. Perbanyakan dengan menggunakan kultur *in vitro* pada tanaman dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan dan keinginan, karena faktor perbanyakannya yang tinggi, menghasilkan bibit dalam jumlah yang

banyak dalam waktu singkat, bebas dari penyakit dan tidak membutuhkan induk yang banyak (Purnamaningsih, 2002 dan Sari *et al.*, 2014).

Teknik *in vitro* merupakan teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, protoplasma sel, organ, atau serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan aseptik yang kaya nutrisi dengan tujuan untuk memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1995).

Perbanyakan tanaman secara massal dan dalam waktu yang singkat dapat dilakukan dengan kultur kalus embriogenik. Kalus embriogenik berpotensi menjadi tanaman melalui organogenesis dan embriogenesis (Subarnas, 2011). Kelebihan dari kultur secara embriogenesis somatik adalah dapat menghasilkan embrio somatik yang memiliki sifat bipolar, yaitu terdapat ujung-ujung akar dan pucuk yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tanaman. Selain itu, dapat menghasilkan embrio dalam jumlah yang banyak dengan tempat yang terbatas (Zulkarnain, 2009). Regenerasi embriogenesis somatik mempunyai kelebihan daripada regenerasi tunas (organogenesis) yaitu kecepatan multiplikasi embriogenesis somatik lebih tinggi dan proses embriogenesis somatik dapat bertahan dalam waktu lama tanpa bergantung pada sumber eksplan (Neliyati, 2013). Menurut Rusdianto dan Indrianto (2012) bahwa, kalus embriogenik mempunyai ciri-ciri kalus yang berwarna putih kekuningan, berwarna krem atau putih susu, dan memiliki tekstur remah, serta terdapat inti besar jika diamati secara mikroskopis. Sedangkan menurut pendapat Quiroz *et al.*, (2002) menyatakan bahwa kalus embriogenik jika diamati secara mikroskopis terdapat inti sel yang besar, memiliki jarak antar sel,

dalam sitoplasma mengandung butir pati, plastida, dan memiliki vakuola yang berukuran kecil.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* dapat berupa eksplan tanaman yang digunakan dan media tanam. Menurut Wattimena *et al.*, (1992) menyatakan bahwa, kultur kalus embriogenik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang aktif membelah (meristem). Masing-masing eksplan tanaman memiliki kebutuhan media tanam yang berbeda, karena media tanam mengandung unsur hara yang berbeda untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kandungan yang terdapat pada media tanam tidak hanya unsur hara (makro dan mikro), tetapi terdapat kandungan karbohidrat (gula) yang digunakan untuk menggantikan karbondioksida yang diperoleh dari alam melalui proses fotosintesis. Selain itu, kandungan asam amino, vitamin dan zat pengatur tumbuh dibutuhkan dalam media (Gunawan, 1998). Media Murashige dan Skoog (MS) memiliki komposisi yang lebih lengkap daripada media dasar yang lainnya (Indria, 2017). Formula media MS yang digunakan dalam kultur *in vitro* dapat diformulasikan menjadi 1 formula dan ½ formula.

Interaksi antara media tanam dan zat pengatur tumbuh yang sesuai akan mempengaruhi pertumbuhan kalus, meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis (Fithrotin, 2017 dan Lestari, 2011). Golongan auksin dan sitokinin termasuk jenis zat pengatur tumbuh yang biasanya digunakan dalam kultur *in vitro*. Auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar (Pierik, 1987 dalam Lestari (2011).

Dalam memacu pembentukan kalus embriogenesis seringkali dibutuhkan jenis auksin dalam konsentrasi yang relatif tinggi (Zulkarnain, 2009).

Zat pengatur tumbuh *2,4-Dichlorophenoxy acetic acid* merupakan jenis auksin yang memiliki sifat lebih stabil dibandingkan jenis auksin sintetik lainnya. 2,4-D mampu merangsang pembentukan embrio somatik secara langsung melalui permukaan titik tumbuh embrio zigotik (Indria, 2017). Senyawa yang terkandung dalam 2,4-D berperan dalam memacu hipermethylasi pada DNA, sehingga pembelahan sel selalu dalam fase mitosis dan pembentukan kalus menjadi optimal (Fithrotin, 2017).

Indria (2017) menyatakan bahwa, pemberian konsentrasi 2,4-D yang lebih tinggi berpengaruh terhadap pembentukan kalus yang lebih banyak dibandingkan pemberian konsentrasi 2,4-D yang rendah. Hasil penelitian Damayanti *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa, media $\frac{1}{2}$ MS + 2,4-D 10 mg/L dapat menghasilkan kalus embriogenik *Carica papaya* tertinggi yaitu 80%. Hasil penelitian Sari *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa kultur kalus *C. pubescens* dengan perlakuan 2,4-D 3 mg/L dan media $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan berat basah kalus yang tinggi yaitu 0,82 g. Hasil penelitian Bhattacharya dan Khuspe (2000) menunjukkan bahwa, perlakuan media MS + 3 mg/L 2,4-D dapat menghasilkan kalus embriogenik *Carica papaya* L. dengan berat basah kalus 63 mg dan persentase kalus 91%. Menurut Kabir (2016) menyatakan bahwa, media MS dan konsentrasi 5 mg/L 2,4-D dapat menginduksi kalus embriogenik *Carica papaya* L. dengan persentase kalus 70%. Hasil penelitian Vilasini *et al.*, (2000) menunjukkan bahwa, kultur kalus embriogenik *Carica*

papaya pada perlakuan $\frac{1}{2}$ MS + 10 mg/L 2,4-D menghasilkan persentase kalus 78%.

Menurut Lestari (2011) menyatakan bahwa, penambahan sitokinin dalam kultur kalus berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus. Salah satu golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BAP (*6-Benzylaminopurin*), hal ini dikarenakan sifat BAP yang stabil, mudah diperoleh dan lebih aktif. Hasil penelitian Mondal *et al.*, (1994) menunjukkan bahwa , perlakuan 0,5 mg/L BAP dan media MS mampu menginduksi kalus *Carica papaya* (Var. Honey Dew) dengan berat basah kalus 3,5 g. Seyyedyousefi *et al.*, (2013) menyatakan bahwa, media $\frac{1}{2}$ MS dan 0,5 mg/L BAP mampu menginduksi kalus *Alstromeria* yaitu 35,58%.

Penggunaan ZPT jenis auksin dan sitokinin juga telah dilakukan pada beberapa kultur kalus embriogenik. Hasil penelitian Haensch (2007) menjelaskan bahwa, kultur kalus embriogenik *Pelargonium x domesticum* pada media MS dengan konsentrasi 4 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dapat menginduksi kalus dengan berat basah kalus 9,4 mg. Mahadi (2012) menyatakan bahwa, kultur kalus Kenerek (*Goniothalamus umbrosus*) dengan konsentrasi 5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dan media MS mampu menginduksi kalus dengan persentase kalus 88%.

Perbandingan konsentrasi 2,4-D dan BAP yang cukup dan seimbang menentukan bentuk dan struktur kalus. Pada kultur kalus, pemberian ZPT baik 2,4-D dan BAP sangat diharapkan dapat menginduksi dan meningkatkan pertumbuhan kalus sehingga didapatkan biomassa yang besar. Berdasarkan uraian yang telah

dipaparkan diatas, maka penelitian dengan judul “ Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6- Benzylaminopurin) secara *In Vitro*” ini penting dilakukan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro* ?
2. Bagaimana pengaruh BAP (6- Benzylaminopurin) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro* ?
3. Bagaimana pengaruh interaksi 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6- Benzylaminopurin) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro* ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.
2. Mengetahui pengaruh BAP (6- Benzylaminopurin) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

3. Mengetahui pengaruh interaksi *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D) dan BAP (6- *Benzylaminopurin*) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.
2. Terdapat pengaruh BAP (6- *Benzylaminopurin*) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.
3. Terdapat pengaruh interaksi *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D) dan BAP (6- *Benzylaminopurin*) terhadap induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai induksi kalus embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch menggunakan *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* (2,4-D) dan BAP (6- *Benzylaminopurin*) melalui teknik kultur *In Vitro*.
2. Sebagai alternatif perbanyakan vegetatif tanaman *Carica pubescens* Lenne & K. Koch.
3. Dapat menghasilkan bibit secara masal dan kualitas terbaik untuk budidaya.

4. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh penelitian selanjutnya.

1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Biji tanaman *Carica pubescens* Lenne & K. Koch berasal dari perkebunan warga di daerah Cangar Batu Malang pada ketinggian 1.650 mdpl.
2. Bagian tanaman yang dijadikan eksplan adalah embrio muda dari *Carica pubescens* Lenne & K. Koch.
3. Penelitian menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) sebagai media tanam.
4. ZPT yang digunakan untuk induksi kalus embriogenik yaitu 2,4-D (0 mg/L, 2.5 mg/L, 5mg/L, 7.5 mg/L, 10 mg/L) dan BAP (0 mg/L, 0.25 mg/L, 0.5 mg/L, 0.75 mg/L, 1 mg/L).
5. Pengamatan pada induksi kalus embriogenik sampai 45 hari.
6. Inkubasi kalus embriogenik pada suhu 23-25°C di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Parameter yang diamati pada induksi kalus embriogenik meliputi hari muncul kalus, berat basah kalus, persen luasan kalus pada eksplan, warna kalus, tekstur kalus, dan anatomi kalus.
8. Kalus yang diinginkan adalah kalus embriogenik dengan dicirikan kalus yang berwarna kekuningan, putih kekuningan, sel berukuran kecil, vakuola

yang berukuran kecil, mengandung butir pati, memiliki inti besar, dan teksturnya remah.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

2.1.1. Tanaman *Carica pubescens* Lenne & K. Koch dalam Perspektif Islam

Al-Qur'an merupakan wahyu Allah SWT yang diturunkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai petunjuk umat manusia yang ada di bumi. Isi Al-Qur'an menjelaskan keseluruhan alam semesta yang merupakan ciptaan Allah SWT. Al-Qur'an sebagai pedoman bagi umat manusia yang bertaqwa maupun bagi umat manusia yang berakal dengan menggunakan akal pikirannya dalam mempelajari segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah SWT. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat Ali-'Imran ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۚ ۱۹۰ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ
 قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا
 خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata) : “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, maha suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”* (Qs. Ali-'Imran/ 3: 190-191).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) menjelaskan bahwa “*yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring*

dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi dengan sia-sia”. Artinya, Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang tidak sia-sia, akan tetapi dengan kebenaran yang haqiqi, sehingga Allah SWT akan membalas segala amal perbuatan yang dilakukan oleh manusia, baik amal yang buruk maupun amal yang baik dengan balasan yang sesuai dengan kadarnya.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa, Allah SWT telah menciptakan langit dan bumi beserta isinya, yang didalamnya terdapat manfaat bagi kehidupan. Hal tersebut dapat diperoleh melalui penelitian, observasi dan mempelajari ciptaanNya. Sehingga mereka dapat mengetahui kekuasaan dan keagungan yang diciptakan oleh Allah SWT yang ada di langit dan di bumi.

Berdasarkan surat Ali-‘Imran ayat 190-191 tersebut bahwa, Allah SWT menunjukkan salah satu jenis ciptaanNya yang memiliki manfaat bagi kehidupan manusia. Salah satu contoh ciptaan Allah SWT yang ada di bumi adalah tumbuh-tumbuhan. Allah menciptakan tumbuhan dengan berbagai macam bentuk, jenis, warna, ukuran, dan manfaat yang berbeda. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat Thaha ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً

فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan Kami turunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Qs. Thaha/ 20: 53).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) menjelaskan bahwa, Allah SWT telah menumbuhkan tumbuhan yang bermacam-macam dengan berbagai jenis tumbuhan dan buah-buahan, baik yang memiliki rasa manis, pahit maupun asam dan yang lainnya. Dengan berbagai macam bentuk, ukuran dan warna pada tumbuhan.

Ayat tersebut telah menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan keanekaragaman jenis ciptaanNya yaitu tumbuh-tumbuhan. Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan berbagai macam sifat yang berbeda-beda meliputi warna, jenis, bentuk dan ukuran yang dapat dimanfaatkan. Sebagaimana juga telah dijelaskan dalam Firman Allah SWT dalam surat Luqman ayat 10 sebagai berikut:

وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً ۖ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ ۖ كَرِيمٍ ۝ ١٠

Artinya: *“Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”* (Qs. Luqman/ 31: 10).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) Allah SWT telah menjelaskan akan kekuasaan dalam menciptakan alam beserta segala isinya. *“Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik,”* yaitu menumbuhkan tumbuhan yang indah dipandang dan memiliki manfaat. Menurut Kementerian Republik Indonesia (2016) tanda bukti keesaan dan kekuasaan Allah SWT dengan adanya langit dan bumi, gunung-gunung sebagai penyangga bumi, dan menciptakan jenis makhluk yang bernyawa, baik yang hidup di darat, dilaut maupun di udara. Allah juga menumbuhkan segala macam tumbuhan yang baik, indah dipandang dan bermanfaat. Tumbuhan yang baik, indah dipandang, dan bermacam-macam tersebut memiliki manfaat dan keistimewaan yang berbeda.

Obat yang digunakan untuk menyembuhkan segala macam penyakit salah satunya dapat dihasilkan dari tumbuhan. sebagaimana hadits riwayat Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah bahwa Nabi Muhammas SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya. Maka bila obat itu mengenai penyakitnya akan sembuh dengan seizin Allah Azza wa Jalla” (HR. Muslim).

Berdasarkan hadits tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan suatu penyakit kepada makhluknya dan juga menciptakan obat bagi penyakit tersebut. Allah SWT yang memberikan rasa sakit pada manusia dan Allah juga yang akan memberikan kesembuhan bagi orang-orang yang sakit jika Allah menghendaki. Salah satu obat yang dapat menyembuhkan segala macam penyakit dapat diperoleh dari jenis tumbuhan yang diciptakanNya. Sehingga manusia dapat memanfaatkan tanaman yang digunakan dalam bidang pengobatan.

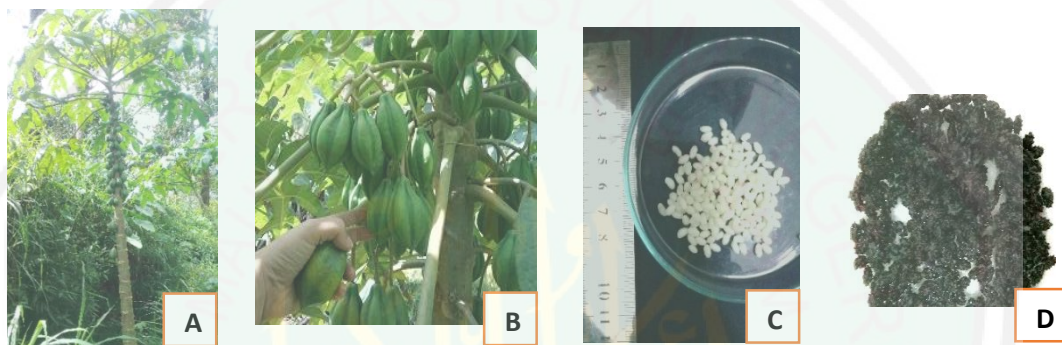
2.1.2. Klasifikasi

Klasifikasi *Carica* berdasarkan smith, A.C. (1981) menurut Hidayat (2001) adalah sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Dillenidae
 Ordo : Violales
 Familia : Caricaceae
 Genus : Carica

Spesies : *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

Sinonim dari *C. pubescens* adalah *Carica cundinamarcensis* Linden, nom. Nud, *Vasconcella cundimarcensis* V. M Badillo, *Vasconcella cestriflora* A. DC., *Carica pubescens* (A. DC.) Solms-Laub., *Carica cestriflora* (A. DC.) Solms, dan *Carica candamarcensis* Hook. F.



Gambar 2.1 Morfologi a) tanaman *Carica pubescens* Lenne & K. Koch, b) buah, c) biji muda, d) biji tua (Dokumentasi pribadi, 2018)

2.1.3. Nama Daerah

Di Indonesia, pepaya gunung atau pepaya mini disebut sebagai nama lain dari *C. pubescens* (Hidayat, 2001). Terdapat tiga nama yang dikenal dalam menyebut tanaman *C. pubescens* di Dataran Tinggi Dieng, yaitu gandul, kates dan karika. Kates dan gandul dalam bahasa jawa mempunyai arti yang sama yaitu pepaya (*Carica pubescens*). Di Colombia, Bolivia dan Peru *C. pubescens* dikenal dengan *mountain paw paw*. Di Santiago, Chile, *C. pubescens* disebut *Chilean papaya* atau *mountain papaya*, di Perancis dikenal dengan nama *papayer de montagne*, sebutan *mountain papaya* dikenal di wilayah Inggris, di Jerman mengenalnya dengan sebutan *bergpapaya*, dan di Spanyol disebut *chamburu chamburu chiluachan, papaya de tierra fria* (Natural Resources Conservation Service, 2010).

2.1.4. Deskripsi

Kata “pubescens” berarti bulu (Pusat Perlindungan Varietas Tanaman Departemen Pertanian Republik Indonesia, 2006). Morfologi *C. pubescens* mempunyai kesamaan dengan *Carica papaya* yang memiliki percabangan yang lebih banyak dan ukuran bagian tanamannya lebih kecil, termasuk jenis pohon yang kecil atau perdu yang tidak berkayu. Memiliki tinggi 1-2 meter (Hidayat, 2001). Ketinggian tanaman bervariasi, umumnya di dataran yang lebih rendah tanaman dijumpai dalam ukuran tinggi hingga 3 meter. Getah termasuk ciri yang dimiliki oleh tanaman *C. pubescens*. Getah yang dikeluarkan berwarna putih dan tidak kental. Getah memberikan rasa gatal apabila mengenai kulit (Laily, 2011). Terdapat bulu-bulu pada beberapa organ tubuh tanaman, diantaranya pada permukaan luar daun, yaitu pada permukaan luar daun bagian bawah (abaksial) dan tangkai daun, serta pada permukaan luar bunga, baik bunga jantan (*masculus*) maupun bunga betina (*feminimus*). Karakteristik pembeda dari Genus *Carica* yang dimiliki oleh *C. pubescens* adalah terdapat bulu. *C. pubescens* memiliki bulu berwarna putih halus dengan panjang \pm 1-2 mm. Pada bunga, bulu menyelimuti permukaan kuncup bunga jantan maupun bunga betina secara menyeluruh (Laily, 2011).

2.1.5. Morfologi

a. Batang

C. pubescens memiliki batang basah dan berwarna hijau kecoklatan tertutup oleh lapisan berwarna putih. Permukaan luar batang *C. pubescens* memiliki

tekstur yang kasar dan berbintil. Dilihat dari bentuk penampang melintangnya berbentuk bulat (Laily, 2011).

b. Daun

C. pubescens mempunyai daun tunggal yang terdapat pada ujung batang dan ujung cabang (Nurhayati, 2012). Daun *C. pubescens* tampak tebal, berbentuk dasar ovoid yang melebar. Ujung helaian daun meruncing berbentuk jantung pada pangkal. Tulang daun menjari lima. Pada helaian daun, tulang daun nampak menonjol pada permukaan abaksial, urat-urat daun nampak jelas dan tebal. Helaian daun beserta tulang daun memiliki warna dasar hijau. Warna pada helaian daun dewasa adalah hijau kekuningan sampai dengan hijau tua. Tangkai daun berwarna serupa tulang dan urat daun, dengan ukuran panjang 25-65 cm. Penampang melintang tangkai daun berbentuk bulat silindris, dan berongga (Laily, 2011).

c. Bunga

Bunga pada *C. pubescens* merupakan bunga majemuk, yang terdapat tiga macam bunga pada satu individu yaitu bunga jantan (*masculus*) yang memiliki kelopak bunga berukuran kecil, mahkota berbentuk terompet berwarna putih kehijauan muda dan hanya mempunyai benang sari. Bunga betina (*feminimus*) tersebar di ujung batang maupun cabang, berwarna kuning kehijauan dan hanya terdapat putik (Laily, 2011). Adanya benang sari dan kepala putik merupakan ciri dari bunga hermaprodit (Hidayat, 2001).

d. Buah

Buah sejati tunggal merupakan ciri dari buah *C. pubescens*. Buah sejati yang tersusun atas bunga dengan satu bakal buah merupakan buah sejati tunggal.

Buah carica termasuk buah buni (*bacca*). Buah yang memiliki dua lapisan, yaitu lapisan luar yang tipis dan lapisan dalam yang tebal adalah buah buni (Laily, 2011). Buah *C. pubescens* mempunyai daging buah yang keras, berwarna kuning jingga, dengan rasa yang asam, tetapi memiliki bau yang harum dengan ukuran panjang buah sekitar 7-10 cm dan diameter 4-9 cm. Terdapat rongga pada bagian dalam buah carica yang berisi biji berwarna putih ketika muda, dan biji berwarna hitam ketika tua, yang terbungkus oleh selaput biji yang berwarna putih dan bijinya berbentuk bulat telur (Hidayat, 2001). Satu tanaman dewasa dapat memproduksi \pm 30 buah. Buah mengandung getah, semakin tua buah maka semakin sedikit getah yang dihasilkan oleh buah (Laily, 2011). Pusat Perlindungan Tanaman Departemen Pertanian Republik Indonesia (2006) mengelompokkan buah *Carica papaya* ke dalam beberapa karakter. Buah *C. pubescens* dalam hal ini termasuk buah dengan bentuk dominan rongga tengah 'star' atau serupa bintang (segilima) dan bentuk buah pada ujung tangkai melingkar atau 'rounded'.

e. Biji

Biji yang sudah tua berwarna hitam dan biji yang muda berwarna putih dengan jumlah banyak dan tersusun secara padat. Biji dibungkus dengan sarkotesta, yaitu selaput berwarna putih yang berisi cairan dengan aroma yang khas. Biji yang telah dikeringkan dan dibersihkan dari selaput pembungkusnya memiliki warna kulit luar kecoklatan, berukuran rata-rata 0,7 cm. Permukaan luar kulit biji penuh dengan ukiran bulat berhimpitan. Kulit pembungkus biji *C. pubescens* mudah dipecah untuk mendapatkan embrio beserta endosperma di dalamnya yang berbentuk oval dan halus (Laily, 2011).

2.1.6. Manfaat *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

C. pubescens memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Penyakit demam malaria, beri-beri, sariawan, sembelit, disentri amuba dan penyakit yang disebabkan oleh cacing kremi dapat disembuhkan dengan daun *C. pubescens* (Hidayat, 2001). Hasil penelitian Novalina *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa, daun *C. pubescens* mempunyai kemampuan dalam mengobati penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri dalam bentuk antibakteri. Hasil penelitian Minarno (2016) menunjukkan bahwa, sumber saponin triterpen memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai obat komersial yang dapat diperoleh dari tangkai daun *C. pubescens*.

Buah *C. pubescens* dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh proses pencernaan yang tidak terserap dengan maksimal, menurunkan tekanan darah tinggi, mempercepat proses pencernaan karbohidrat dan lemak, kencing manis, epilepsi, memperlancar proses buang air besar, dan menyembuhkan radang sendi (Hidayat, 2001).

Penyakit yang disebabkan oleh cacing gelang, menyebabkan *abortivum*, mengobati penyakit kulit, dan gangguan pencernaan dapat di obati menggunakan biji *C. pubescens*. Akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing kremi, luka akibat gigitan ular berbisa, obat encok, obat batu ginjal, dan obat sakit kandung kemih. Getahnya digunakan sebagai eksem, obat jerawat, obat luka bakar, dan kutil (Hidayat, 2001). Suwarni dan Suprijono (2014) menyatakan bahwa, ekstrak buah

C. pubescens dapat digunakan sebagai *Sun Protection Factor (SPF)* karena buahnya memiliki kandungan vitamin C tinggi.

2.1.7. Kandungan Kimia *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

C. pubescens mengandung senyawa-senyawa kimia. Simirgiotis *et al.*, (2009) menyatakan bahwa, buah yang tumbuh di Chili teridentifikasi mengandung 19 senyawa fenol. Buah tanaman ini mampu menangkap radikal bebas karena mengandung zat antioksidan dan menyeimbangkan enzim-alami pada tubuh, mengurangi *stress* pada pencernaan, menjaga kestabilan pH, menjaga kesehatan usus, meningkatkan daya kerja alat pencernaan karena mengandung enzim pencernaan (Rock, 2009). *C. pubescens* memiliki kandungan serat, vitamin C, dan enzim papain yang tinggi seperti pada *Carica papaya* yang bermanfaat untuk lambung, usus besar dan dapat membantu proses pencernaan, (Hochman, 2007).

Kandungan sumber vitamin A dan C, kalsium dan gula dapat diperoleh dari buah *C. pubescens* (Hidayat, 2001). Kandungan flavonoid pada buah *C. pubescens* terbukti dengan adanya vitamin C dan terdapat aktivitas antioksidan (Fatchurrozak *et al.*, 2013 dan Laily *et al.*, 2012). Selain itu, buahnya juga mengandung serat kasar 0,3%, gula reduksi 0,74%, dan karbohidrat total sebesar 5,58%. Perbedaan tingkat kematangan pada buah dan ketinggian tempat tumbuh menentukan tinggi rendahnya kandungan serat kasar, gula reduksi dan karbohidrat (Fitrianingrum *et al.*, 2013).

Menurut Distan Kabupaten Wonosobo (2008) menyatakan bahwa, *C. pubescens* memiliki kandungan senyawa yang baik untuk tubuh, yaitu kandungan karotit, vitamin C dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai zat anti kanker.

Kandungan enzim papain berfungsi memecah serat makanan sisa dan memudahkan buang air besar. Kandungan enzim *C. pubescens* ksatin dan violaksantin mampu menghambat pembentukan batu empedu (bersifat asam). Kandungan enzim khimopapain, *glicopeptidase B* dan lisosim mampu mengatasi sakit nyeri punggung. Mengandung kalium dan magnesium sebagai mineral yang sangat dibutuhkan tubuh.

Minyak atsiri merupakan turunan dari asam lemak yang banyak terdapat pada *C. pubescens*. Kandungan senyawa 3-hidroksiester juga terdapat pada tanaman tropika selain tanaman *C. pubescens* seperti mangga, *gooseberry*, tamarillo, sawo, dan nanas. Antibakteri dan antijamur dapat di temukan pada beberapa jenis tanaman yang mengandung minyak atsiri. Ada dua golongan pada komponen minyak atsiri yaitu golongan hidrokarbon dan golongan hidrokarbon teroksigenasi. Daya antibakteri yang tinggi dimiliki oleh senyawa turunan hidrokarbon teroksigenasi (fenol). *C. pubescens* memiliki getah yang mengandung papain dan bersifat proteolitik (Khotimah, 2016).

Hasil penelitian Khotimah (2016) menunjukkan bahwa, kandungan alkaloid carpaine dengan berat molekul 479 dalton terdapat pada daun *C. pubescens*. Pada beberapa bagian tanaman papaya dapat di temukan kandungan alkaloid carpaine. Senyawa flavonoid pada *C. pubescens* berfungsi untuk melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh, mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah, mengurangi kandungan kolesterol, mengurangi penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah, berfungsi sebagai antioksidan, mengurangi

resiko penyakit jantung koroner, mengandung anti-inflamasi (anti-radang), serta membantu mengurangi rasa sakit jika terjadi perdarahan atau pembengkakan.

2.1.8. Daerah Persebaran

Distribusi penyebaran *C. pubescens* diawali pada masa menjelang Perang Dunia II oleh pemerintah kolonial Hindia Belanda menuju Indonesia, dan mampu dikembangkan di Dataran Tinggi Dieng. Tanaman *C. pubescens* berasal dari Amerika tropika yang bertepatan pada dataran tinggi Andes, Amerika Selatan. Wilayah persebaran *C. pubescens* meliputi wilayah Peru, Ekuador, Colombia, Panama, Venezuela, dan Bolivia (*Nature Resources Conservation Service*, 2010).

2.1.9. Budidaya Tanaman

Tanaman *C. pubescens* hanya dapat berbuah dengan baik pada daerah dengan ketinggian antara 1400-2400 mdpl dan curah hujan yang tinggi, yaitu 2000-3000 mm per tahun. Tanaman ini memerlukan suhu yang dingin yaitu 10-20°C. Pada daerah yang lebih tinggi dan lebih dingin, buah *C. pubescens* yang dihasilkan juga akan lebih besar dan lebih tebal daging buahnya (Distan Kabupaten Wonosobo, 2008). Budidaya tanaman *C. pubescens* dapat dilakukan dengan cara generatif (biji). Perbanyakan melalui generatif merupakan cara budidaya yang umumnya dilakukan di daerah Dataran Tinggi Dieng. Tanaman dengan perbanyakan melalui generatif umumnya memiliki produktifitas yang sama dengan induknya atau relatif cepat berbuah tetapi tidak dapat diperoleh bibit dalam skala yang besar. Pemanenan tanaman *C. pubescens* dilakukan pada umur 1 tahun dan akan terus berbuah setiap 15 hari sampai tanaman berumur 15 tahun. Rata-rata

panen untuk tanaman yang masih muda berkisar antara 1-2 kg per pohon dan tanaman yang sudah tua berkisar antara 4-8 kg per pohon (Rahmawati, 2013).

2.2. Kultur *In Vitro*

2.2.1. Pengertian Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan merupakan perbanyakan jaringan mikro tanaman secara *in vitro* dengan metode perbanyakan tanaman, sehingga dihasilkan tanaman yang sempurna dan jumlahnya banyak (Yuliarti, 2010). Kultur *in vitro* merupakan metode yang digunakan untuk memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang sempurna dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti mata tunas, daun yang ditumbuhkan pada media steril dengan kandungan nutrisi dan zat pengatur tumbuh yang tinggi kadarnya. Perbanyakan tanaman menggunakan bagian vegetatif tanaman yang ditumbuhkan pada media steril merupakan prinsip utama dalam teknik kultur *in vitro* (Zulkarnain, 2009).

Teknik mengisolasi potongan pada jaringan tanaman dari kondisi alami pada media nutrisi dalam kondisi aseptik, sehingga membentuk tanaman yang utuh merupakan teknik kultur jaringan (Azriati *et al.*, 2010). Sebagaimana firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 95 yang berbunyi:

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

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

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

Surat Al-An’am (ayat 95) pada kalimat “*Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan*”. Mujahid berkata, yang dimaksud dengan (alfalaq) adalah proses pembelahan yang terjadi pada butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan” (Al-Qurtubi, 2009). Kemudian pada lafadh yang artinya “*Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati*”. Hal ini tanaman yang dipotong atau tanaman yang kering, tanaman itu disebut “*mati*”.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa, Allah SWT menumbuhkan segala macam bentuk tanaman. Ada tanaman yang berbiji dan ada tanaman yang tidak berbiji. Masing-masing jenis tanaman memiliki fungsi dan manfaat yang berbeda. Biji atau potongan tanaman yang diambil dari tanaman mampu mengalami pembelahan sel, perpanjangan (pembesaran sel) sehingga membentuk shootler (tunas), rootlet (akar), atau planlet (tanaman lengkap) (Azriati *et al.*, 2010). Totipotensi sel merupakan sifat yang ada pada tanaman yang berfungsi menumbuhkan organ tanaman untuk menjadi tanaman yang sempurna (Yuliarti, 2010). Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan dapat memanfaatkan sifat totipotensi sel.

Menurut Gunawan (1995) menyatakan bahwa, teknik *in vitro* merupakan teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, protoplasma sel, organ, atau serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan aseptik yang kaya nutris dengan tujuan untuk memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Menurut Yuwono (2008) juga menyatakan bahwa, teknik kultur

in vitro merupakan alternatif perbanyakan tanaman pada medium buatan di dalam tabung dan bukan pada media tanah. Saat ini, penggunaan teknik kultur jaringan sudah berkembang luas sehingga bagian tanaman yang digunakan bahan eksplan tidak hanya dari jaringan, tetapi dari bentuk sel yang di sebut sebagai kultur sel.

Keuntungan perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* yaitu membersihkan bahan tanaman/bibit dari virus yang terdapat pada induknya, pewarna untuk industri makanan dan kosmetik didalam kultur sel, membantu proses konservasi dan preservasi plasma nutfah tanaman, membantu program pemuliaan tanaman untuk menghasilkan tanaman yang lebih baik, dan membantu perbanyakan vegetatif tanaman dalam rangka penyediaan bibit dari induk superior, serta produksi senyawa kimia yang dibutuhkan dalam bidang farmasi (Gunawan, 1995). Surachman (2011) menyatakan bahwa, keuntungan perbanyakan tanaman dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* lebih hemat waktu dan tempat, bebas hama dan penyakit, jumlah benih yang dihasilkan banyak dan tidak terbatas, eksplan yang digunakan dalam jumlah sedikit, genotip sama dengan induknya. Tanaman yang sulit untuk dikembangbiakan secara generatif dapat diperbanyak melalui metode kultur *in vitro* (George dan Sherington, 1984).

2.2.2. Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur *In Vitro* Tumbuhan

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* adalah eksplan, media tumbuh, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan lingkungan tumbuh:

1. Eksplan

Bagian tanaman yang digunakan sebagai sumber utama dalam perbanyakan tanaman di sebut sebagai eksplan (Yuliarti, 2010). Eksplan merupakan bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan inokulum yang akan ditanam pada media, sehingga terjadi pertumbuhan dan perkembangan tertentu (Gunawan, 1995). Menurut Harjadi (2009) menyatakan bahwa, bagian tanaman yang terdiri dari bunga, akar, buah, jaringan nuselar, embrio, ujung pucuk, daun, daun keping biji, meristem pucuk apikal (yang merupakan titik tumbuh) dan irisan-irisan batang dapat digunakan sebagai sumber eksplan. Zat pengatur tumbuh, genotipe, umur eksplan, sumber eksplan, letak pada cabang, dan komposisi media, serta lingkungan tumbuh merupakan penentu arah pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Sumber eksplan dapat diperoleh pada setiap bagian tanaman yang belum mengalami perubahan bentuk dan diferensiasi fungsi (Gunawan, 1992).

Keberhasilan kultur *in vitro* dapat ditentukan dari jenis ukuran eksplan. Ukuran eksplan yang kecil (<20 mm) lebih mudah terhindar dari kontaminasi daripada eksplan yang berukuran besar (>20 mm) (George dan Sherington, 1984). Ukuran eksplan yang terlalu terlalu besar akan sulit mendapatkan eksplan yang steril, sedangkan ukuran yang terlalu kecil akan berkurang daya tahannya apabila dikulturkan (Gunawan, 1992).

Alat yang bersih dan tajam dibutuhkan untuk pembuatan eksplan yang berasal dari bahan induk. Eksplan yang telah siap untuk di tanam kemudian di sterilisasi dalam laboratorium. Setiap jenis eksplan memiliki bahan sterilisasi, durasi sterilisasi, dan tahapan sterilisasi yang berbeda, tetapi secara umum sterilisasi eksplan dilakukan dengan cara mencuci eksplan menggunakan air bersih

secara mengalir, kemudian merendamnya dalam larutan fungisida, dan di rendam dalam larutan sublimat ($HgCl_2$), dilakukan sterilisasi bertingkat menggunakan larutan *Clorox* (pemutih pakaian, bayclin), serta pembilasan dengan aquades steril (Nugrahani, 2011).

2. Media Tumbuh

Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Jaringan yang tumbuh pada media dapat memperoleh nutrisi yang memacu dalam kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang dibutuhkan jaringan dalam perkembangan dan memperbanyak diri (Nugrahani, 2011). Garam anorganik, zat pengatur tumbuh, bentuk fisik media, dan komposisi media merupakan faktor penentu pada media tumbuh (Gunawan, 1995). Media merupakan faktor keberhasilan dalam teknik kultur *in vitro*. Kandungan yang terdapat pada media tanam tidak hanya unsur hara (makro dan mikro), tetapi terdapat kandungan karbohidrat (gula) yang digunakan untuk menggantikan karbondioksida yang diperoleh dari alam melalui proses fotosintesis. Selain itu, kandungan asam amino, vitamin dan zat pengatur tumbuh dibutuhkan dalam media (Gunawan, 1998).

Ada dua jenis media yang digunakan dalam kultur *in vitro* yaitu media padat dan media cair. Media yang berfungsi untuk menumbuhkan PLB sampai membentuk planlet (tanaman kecil) merupakan fungsi dari media padat. Media yang digunakan untuk pembentukan PLB (*Protocorm Like Body*) yaitu eksplan yang akan tumbuh jaringan seperti kalus berwarna putih menggunakan jenis media

cair (Nugrahani, 2011). Media Murashige dan Skoog (MS) merupakan salah satu jenis media dasar yang sering digunakan pada kultur *in vitro* (Yuliarti, 2010). Kandungan senyawa N dalam NH_4^- dan NO_3^- serta jumlah garam mineral tinggi dimiliki oleh media MS (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

3. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) dikenal sebagai senyawa yang mempunyai karakteristik seperti hormon, tetapi diproduksi secara eksogen (Zulkarnain, 2009). Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik yang aktif dalam jumlah kecil (10^{-6} – 10^{-5} mM) yang disintesis dari bagian tertentu tanaman dan dapat menimbulkan tanggapan atau respon biokimia, fisiologis dan morfologis pada bagian lain tanaman (Wattimena *et al.*, 1992). Sitokinin, auksin, asam absisat, giberelin, dan etilen termasuk dalam lima kelompok zat pengatur tumbuh. Upaya untuk memperbanyak tanaman di perlukan adanya zat pengatur tumbuh (ZPT), karena berpengaruh nyata dan sulit untuk menerapkannya tanpa adanya zat pengatur tumbuh melalui kultur *in vitro* (Zulkarnain, 2009).

4. Lingkungan Tumbuh

Tanaman tumbuh pada lingkungan dengan suhu yang berbeda-beda. Untuk proses pertumbuhan yang cepat dan morfogenesis pada eksplan dibutuhkan suhu yang lebih tinggi daripada suhu *in vivo*. Suhu pada laboratorium biasanya konstan, yaitu 25°C (kisaran suhu 17–32°C). Suhu yang optimum akan berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Jika suhu ruangan di atas suhu optimum yang dibutuhkan tanaman maka akan menghambat proses pertumbuhannya. Jika tanaman

ditumbuhkan pada kondisi suhu di bawah suhu optimum maka proses pertumbuhannya lambat (Basri, 2016).

Kelembapan udara dalam botol kultur berpengaruh dalam pertumbuhan eksplan tanaman. Kelembapan relatif ruang kultur biasanya adalah 70%. Kelembapan relatif dalam botol kultur berkisar 80 – 99%. Botol kultur yang berisi media akan terjadi penguapan secara cepat apabila kelembapan relatif pada ruangan kultur di bawah 70 %, sehingga eksplan dan planlet dalam botol kultur kehabisan media. Eksplan tanaman dalam botol kultur akan tumbuh tidak normal jika kelembapan dalam botol tinggi (Basri, 2016).

Cahaya juga penting dalam perkembangan eksplan tanaman dalam kultur *in vitro*. Tanaman yang tumbuh dalam kondisi normal membutuhkan intensitas cahaya yang tinggi daripada tanaman yang ditumbuhkan pada ruang kultur (Basri, 2016). Intensitas cahaya 0-1000 lux (inisiasi), 1000-10000 lux (multiplikasi), 10000-30000 lux (pengakaran), dan <30000 lux untuk aklimatisasi termasuk dalam intensitas cahaya yang optimum digunakan pada kultur (Santoso dan Nursandi, 2004).

2.3. Kultur Kalus

Kalus adalah kumpulan dari sel-sel yang tidak terbentuk (tidak terdiferensiasi) dan mengalami pembelahan secara terus-menerus (tidak terkendali) (Toharah *et al.*, 2015). Kumpulan sel (massa sel) akan terbentuk semakin luas, cepat dan banyak pada permukaan irisan eksplan (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

Kultur kalus dapat diperoleh dari eksplan jaringan yang masih muda. Contohnya biji, bunga, daun, tunas muda, dan ujung akar

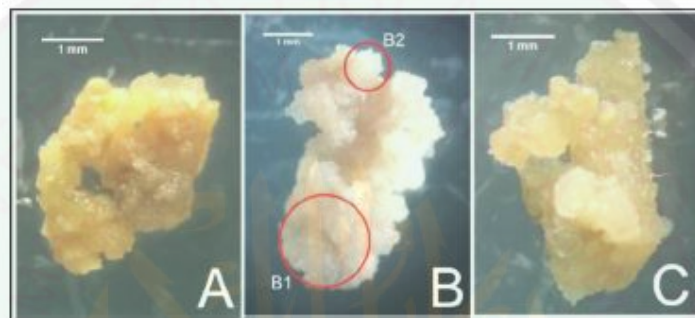
Ada tiga tahapan dalam pembentukan kultur kalus yaitu induksi, pembelahan, dan diferensiasi. Diferensiasi pada proses pembentukan kalus terjadi karena adanya pembelahan sel, pemanjangan sel dan penambahan volume sel yang diakibatkan oleh tekanan turgor sel sehingga sel menjadi besar (Siregar, 2006). Faktor yang menentukan terbentuknya kalus adalah sumber eksplan, komposisi nutrisi media tumbuh, dan faktor lingkungan (Yuwono, 2008). Ada lima fase dalam kurva sigmoid yang menggambarkan tahapan pertumbuhan kalus yang terdiri dari lima fase yaitu (1) fase lag (2) fase eksponensial (3) fase pertumbuhan linear (4) fase penurunan kecepatan tumbuh (5) fase stasioner (Smith, 2000).

2.3.1. Tekstur Kalus

Penanda dalam menilai kualitas kalus di sebut sebagai tekstur kalus. Ada tiga macam tekstur kalus yaitu, kompak (*non friable*), remah (*friable*) dan intermediet (Mahadi *et al.*, 2016). Metabolit sekunder dapat di hasilkan dalam jumlah yang lebih banyak pada kalus kompak (Indah dan Dini, 2013). Menurut Wahyuni *et al.*, (2014) bahwa, kalus kompak mempunyai tekstur kalus yang padat, tidak mudah lepas, dan berpotensi tumbuh menjadi organ (organogenesis) seperti akar atau tunas. Potensial air dalam sel dipengaruhi oleh adanya hormon auksin dan sitokinin endogen, sehingga menyebabkan tekstur kalus yang kompak (Nisak *et al.*, 2012).

Produksi hormon auksin secara internal dalam eksplan yang membentuk kalus akan menghasilkan tekstur kalus yang remah (Lizawati, 2012). Kandungan

air yang banyak, mudah lepas dan tumbuh terpisah menjadi bagian yang kecil termasuk dalam ciri kalus remah (Sitorus *et al.*, 2011). Kalus remah mudah dipisahkan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi. Tekstur kalus yang remah mempunyai kemampuan berkembang menjadi embrio somatik (Kasi dan Sumaryono, 2008). Menurut Zulkarnain dan Lizawati (2011) bahwa, tekstur kalus



remah mengindikasikan sifat-sifat embriogenik yang akan berkembang menjadi embrio somatik. Pembelahan pada tekstur kalus remah lebih cepat daripada tekstur kalus kompak, karena pada tekstur kalus kompak mengalami pembentukan lignifikasi (Mahadi *et al.*, 2016). Sedangkan kalus intermediet merupakan kalus campuran antara kalus kompak dan remah. Kalus intermediet memiliki tekstur yang padat dan terdapat granul (mudah terpisah) (Putri, 2015).

Gambar 2.2 Tekstur Kalus Stevia (A) kalus kompak, (B) kalus intermediet (B1= kalus kompak, B2= kalus remah), (C) kalus remah (Putri, 2015)

2.3.2. Warna Kalus

Warna kalus merupakan indikator visual yang digunakan untuk menentukan pertumbuhan kalus. Tingkat perkembangan pada fase pertumbuhan sel dapat dilihat dari warna kalus yang terbentuk (Fauzy *et al.*, 2016). Warna kalus menentukan adanya sel-sel yang masih aktif membelah atau mati (Lizawati, 2012). Adanya

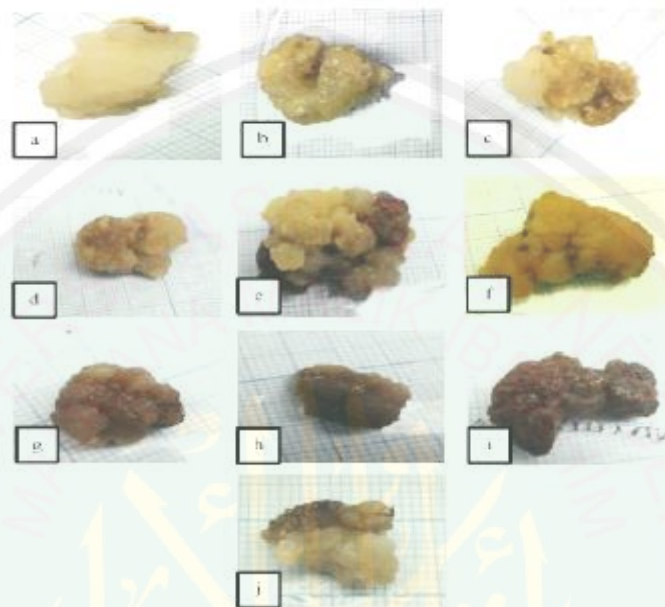
kandungan klorofil dalam jaringan ditandai dengan warna kalus yang semakin hijau, sehingga jumlah kandungan klorofil dalam kalus banyak (Fauzy *et al.*, 2016).

Menurut Lizawati (2012) menyatakan bahwa, warna kalus hijau merupakan tanda kualitas kalus yang baik. Kalus yang hijau terbentuk karena efek dari hormon sitokinin dalam pembentukan klorofil. Warna kalus putih kekuningan memiliki ciri sel kalus yang masih aktif membelah (Sorentina *et al.*, 2013). Warna kalus kecoklatan memiliki ciri adanya penuaan sel pada kalus (Trimulyono *et al.*, 2004). Semakin gelap (menjadi coklat) warna kalus mencirikan menurunnya pertumbuhan suatu kalus (Zulkarnain dan Lizawati, 2011). Warna kalus kecoklatan akan menghambat pertumbuhan dan kematian jaringan yang disebabkan oleh metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik (Yusnita, 2004 dalam Lizawati (2012).

Tanda bahwa kalus dapat diregenerasikan menjadi tunas dan terjadinya morfogenesis dapat diketahui dari perubahan warna kalus yang berubah dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan dan menjadi kehijauan (Lestari dan Mariska, 2003). Perbedaan warna kalus yang terbentuk menunjukkan adanya tingkat perkembangan kalus. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang terdapat pada media tanam mempengaruhi perubahan warna kalus (Lizawati, 2012).

Menurut penelitian Lizawati (2012) pada kultur kalus jarak pagar dengan perlakuan 1 ppm TDZ + 1 ppm 2,4-D menghasilkan warna kalus yang dominan hijau. Warna kalus dalam penelitian Azizah (2017) pada daun kopi liberika tunggal jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. *Tungkal Jambi*) memiliki warna kalus yang berbeda-beda. Warna yang terbentuk yaitu putih, putih kekuningan, putih

kecoklatan, kuning kecoklatan, kuning kehitaman, kuning coklat, coklat kehitaman, hitam dan putih kehitaman.



Gambar 2.3 Warna kalus Kopi liberika tunggal Jambi (*Coffea liberica* Var. Liberica Cv. Tungkal Jambi) 12 minggu setelah tanam. a) warna putih, b) warna putih kekuningan, c) warna putih kecoklatan, d) warna kuning kecoklatan, e) warna kuning kehitaman, f) warna kuning, g) warna coklat, h) warna coklat kehitaman, i) warna hitam, j) warna putih kehitaman (Azizah, 2017)

2.4. Media MS (Murashige and Skoog)

Media Murashige dan Skoog (MS) termasuk dalam media yang umum digunakan untuk kultur *in vitro* (Yuliarti, 2010). Media Skoog mengalami perubahan pada komposisi garam organik menjadi media MS. Media selain jenis media MS tidak memiliki kandungan N dalam bentuk nitrit yang tinggi (Gunawan, 1992). Wetter dan Constabel (1991) media Murashige dan Skoog (MS) memiliki kandungan nitrat, kalium dan amonium yang tinggi, sehingga media MS dapat digunakan untuk mencukupi kebutuhan nutrisi pada jenis sel tanaman dalam kultur. Kandungan unsur hara makronutrien dan unsur hara mikronutrien yang lengkap

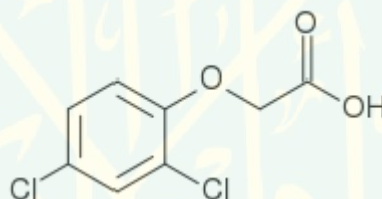
dengan diperkaya oleh vitamin dan hormon terdapat pada media MS. Menurut Gunawan (1995) menyatakan bahwa, komposisi media MS terdiri dari komponen makronutrien yaitu NH_4NO_3 1.650 mg/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 332,2 mg/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370 mg/l, KNO_3 1.900 mg/l, KH_2PO_4 170 mg/l. Komponen mikronutrien terdiri dari H_3BO_3 6,2 mg/l, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025 mg/l, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 16,9 mg/l, Na_2EDTA 37,3 mg/l, KI 0,83 mg/l, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25 mg/l, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,6 mg/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8 mg/l. Sedangkan komponen vitamin dan asam amino terdiri dari glisin 2,0 mg/l, asam nikotinat 0,5 mg/l, pridoksin HCL 0,5 mg/l, tiamin HCL 0,1 mg/l, mio inositol 100 mg/l. Ditambah dengan komponen yang lain yaitu sukrosa 30 mg/l, dan agar 7 g/l.

Pertumbuhan tanaman dalam kultur *in vitro* dipengaruhi oleh faktor tingkat keasaman (pH). Untuk menjaga fungsi membran sel dan sitoplasma tetap stabil membutuhkan tingkat keasaman yang sesuai (Gunawan, 1992). Untuk menjaga tingkat keasaman pada media tanam biasanya digunakan senyawa NaOH dan HCL. Larutan stok dan gula yang terhomogen secara sempurna akan ditambahkan NaOH dan HCL untuk mengetahui tingkat keasaman, kemudian penambahan agar-agar. Pertumbuhan dan perkembangan kultur abnormal dipengaruhi oleh pH media yang rendah (kurang dari 4,5) dan pH media yang tinggi (lebih dari 7) (Pierik, 1987).

2.5. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

2.5.1. 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D)

Zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid merupakan golongan auksin yang digunakan dalam induksi kalus embriogenik (Lestari dan Yunita, 2008). Hormon 2,4-D sangat efektif karena dapat merangsang pembentukan sel-sel (Mahadi *et al.*, 2014). Auksin yang berupa hormon 2,4-D dapat meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menaikkan tekanan osmotik, dinding sel menjadi berkembang, mengurangi tekanan pada dinding sel, plastisitas meningkat, dan sintesis protein dapat meningkat (Mahadi *et al.*, 2016).



Gambar 2.4 Struktur kimia 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) (Zulkarnain, 2009)

Aktivitas auksin ditentukan oleh rantai keasaman (*acid chain*), struktur pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, cincin yang tidak jenuh, dan pengaturan ruang antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mengalami pemisahan oleh karbon dan oksigen dari carboxyle group dapat memberikan aktivitas yang optimal. Contohnya IAA dan 2,4-D (Abidin, 1983).

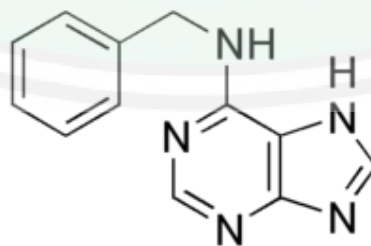
Menurut penelitian Mahadi *et al.*, (2016) pada induksi kalus jeruk katsuuri yang menggunakan hormon 2,4-D dan BAP menunjukkan bahwa kombinasi hormon tersebut berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus dan pertumbuhan kalus. Penelitian Riyadi dan Tirtoboma (2004) menunjukkan bahwa, induksi yang terbaik pada kalus embrio somatik kopi Arabika diperoleh dari media MS yang

diberi perlakuan 4 mg/l 2,4-D dan dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin. Hasil penelitian Rusdianto dan Indrianto (2012) menunjukkan bahwa, penambahan 2 mg/l 2,4-D pada media MS setelah lima minggu tanam dapat menginduksi kalus embriogenik pada hipokotil kecambah wortel.

Konsentrasi atau pemberian 2,4-D yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena melebihi batas konsentrasi optimal yang dibutuhkan dalam pertumbuhan eksplan. Pemberian 2,4-D yang berlebihan dapat merubah fungsi menjadi herbisida. Proses oksidasi akan menghasilkan brown polimers yang dapat mempengaruhi eksplan menjadi coklat. Hal ini dikarenakan pada organel vakuola terdapat senyawa flavons dan quinons yang berikatan dengan oksigen (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2.5.2. BAP (*6-Benzylaminopurin*)

Bentuk dasar dari sitokinin adalah “adenin” (6-amino purin). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktivitas sitokinin. Di dalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut, akan meningkatkan aktivitas zat pengatur tumbuh (Abidin, 1983).



Gambar 2.5 Struktur kimia BAP (*6-Benzylaminopurin*) (Zulkarnain, 2009).

Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa, sitokinin merupakan kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan

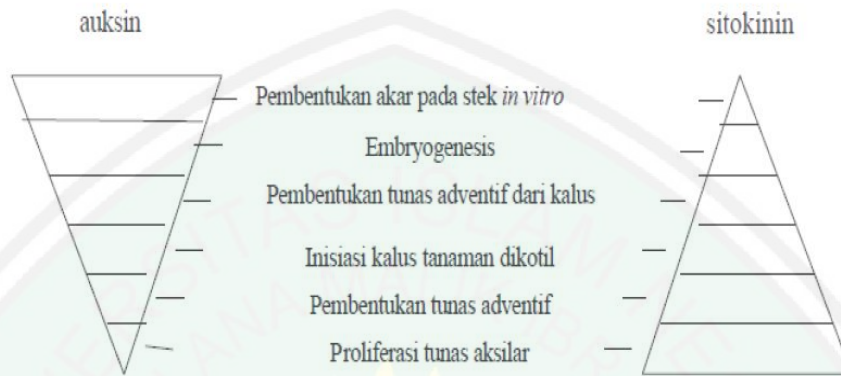
dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman terutama mendorong pembelahan sel (Wattimena *et al.*, 1992). Golongan sitokinin yang sering ditambahkan dalam kultur *in vitro* adalah BAP, kinetin, dan zeatin. Kinetin dan BAP bersifat tahan terhadap degradasi.

Penambahan BAP dalam kultur *in vitro* berfungsi untuk pembelahan sel dan pembentukan tunas (Suhartati dan Nursyamsi, 2007). Menurut Marli (2012) bahwa, penambahan BAP dapat menghambat perpanjangan dan perkembangan akar. Pertumbuhan yang dipacu oleh BAP mencakup pembelahan dan pembesaran sel yang lebih cepat (Marlin *et al.*, 2005). Mekanisme kerja BAP yang dalam media kultur *in vitro* yaitu BAP akan diserap oleh eksplan kemudian akan bergerak mencari jaringan target dan menuju ke dalam getah xilem (Campbell *et al.*, 2005). Hasil penelitian Sukmadjaja (2005) menyatakan bahwa, media dasar MS yang dikombinasikan dengan BAP menunjukkan respon yang baik dalam membentuk embrio somatik sebesar 71,4%.

2.5.3. Interaksi 2,4-D dan BAP

Penggunaan auksin dan sitokinin yang digunakan bersama-sama dalam satu media dapat menstimulus embriogenesis dan proliferasi tunas (Hartmann *et al.*, 1990). Interaksi antara zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP dapat mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Ratio auksin dan sitokinin dalam medium menentukan tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam (Zulkarnain, 2009). Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan merangsang pembentukan akar, sedangkan konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari

auksin akan merangsang pembentukan tunas, sementara konsentrasi yang seimbang dapat memacu induksi kalus (George dan Sherrington, 1984).



Gambar 2.6 Keseimbangan Auksin dan Sitokinin (George dan Sherrington, 1984).

Penambahan auksin dan sitokinin diperlukan secara eksogen ketika kondisi auksin dan sitokinin endogen dalam keadaan sub optimal, sehingga diperoleh keseimbangan auksin dan sitokinin yang optimal (Suyadi *et al.*, 2003). Menurut penelitian Guruchandran dan Sasikumar (2013) menunjukkan bahwa, kombinasi 1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dapat menginduksi kalus Stevia (*Stevia rebaudiana*) tertinggi yang dilakukan selama 30 hari.

2.6. Induksi Kalus Embriogenik

Embriogenesis somatik merupakan metode yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dalam waktu yang singkat. Kelebihan dari kultur secara embriogenesis somatik adalah dapat menghasilkan embrio somatik yang bersifat bipolar, yaitu terdapat ujung-ujung akar dan pucuk yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tanaman. Selain itu, dapat menghasilkan embrio dalam jumlah yang banyak dengan tempat yang terbatas (Zulkarnain, 2009). Menurut Taryono (2015)

menyatakan bahwa, embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan tanaman baru melalui beberapa tahapan dalam perkembangan embrio secara *in vitro* tanpa terjadi peleburan atau fusi pada gamet. Embrio somatik dapat berasal dari kumpulan beberapa sel maupun dari satu sel tunggal.

Pembentukan, pertumbuhan dan perkembangan embrio dari sel-sel soma atau dari sel-sel tubuh merupakan tahapan dalam perbanyakan tanaman secara kultur embriogenesis somatik. Tanaman berdinding lunak (herba) atau tanaman berkayu dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman melalui kultur secara embriogenesis somatik (Yelnititis, 2012).

Menurut Lizawati (2012) menyatakan bahwa, embriogenesis somatik merupakan proses perkembangan suatu sel somatik (bersifat haploid atau diploid) yang membentuk individu baru melalui beberapa tahapan tanpa adanya peleburan atau fusi gamet. Keberhasilan suatu perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik dapat berhasil apabila presentase kalus embriogenesis tinggi dari eksplan yang ditanam. Kultur *in vitro* melalui embriogenesis somatik dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain sumber eksplan, genotip tanaman, komposisi media, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan keadaan fisiologis sel. Hasil penelitian Purnamaningsih (2002) menyatakan bahwa, ada beberapa gen yang mengendalikan dalam proses embriogenesis somatik yaitu CHB3, CHB4, CHB5, dan CHB6. Ekspresi dari gen-gen tersebut yang menentukan terjadinya tahapan dari proses embriogenesis somatik sampai terbentuknya bibit somatik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan dengan 5 ulangan sehingga terdapat 125 satuan percobaan (botol kultur). Perlakuan yang digunakan yaitu perbedaan konsentrasi hormon 2,4-D dan BAP. Konsentrasi yang digunakan adalah sebagai berikut.

Tabel 3.1 Perlakuan Interaksi 2,4-D dan BAP

ZPT		BAP mg/L				
		B0	B0,25	B0,5	B0,75	B1
2,4-D mg/L	D0	D0B0	D0B0,25	D0B0,5	D0B0,75	D0B1
	D2,5	D2,5B0	D2,5B0,25	D2,5B0,5	D2,5B0,75	D2,5B1
	D5	D5B0	D5B0,25	D5B0,5	D5B0,75	D5B1
	D7,5	D7,5B0	D7,5B0,25	D7,5B0,5	D7,5B0,75	D7,5B1
	D10	D10B 0	D10B0,25	D10B0,5	D10B0,75	D10B1

Keterangan : Kontrol adalah perlakuan dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D 0 mg/L + BAP 0 mg/L (D0B0) yang didalamnya hanya terdapat media $\frac{1}{2}$ MS.

3.2. Variabel Penelitian

Variabel penelitian pada penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas : variabel bebas pada penelitian adalah penggunaan hormon 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi dan kombinasi yang berbeda.

2. Variabel terikat : variabel terikat pada penelitian ini adalah hari muncul kalus, berat basah kalus, persen luasan kalus pada eksplan, warna kalus, tekstur kalus, dan anatomi kalus.
3. Variabel kontrol : cahaya, suhu, eksplan embrio muda *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

3.3. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2018 sampai bulan Agustus 2018. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4. Alat dan Bahan

3.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah LAF (*Laminar Air Flow*), timbangan analitik, pengaduk kaca, botol kultur, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, oven, autoklaf, pH meter, bunsen, korek api, sprayer, alat diseksi (*scalpel*, pinset, *spatula*), mikroskop, lemari pendingin, AC (*Air Conditioner*), rak kultur, alumunium foil, plastik wrap, plastik, karet, kompor, panci, hot plate dan *stirrer*, tisu, dan kamera.

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tanaman *C. pubescens*, media MS (Murashige dan Skoog), vitamin MS, zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP, detergen, kertas saring, kertas, alkohol 70% dan 96%, aquades

steril, NaOH, HCL, kertas label, clorox, desinfektan, gula, agar, spirtus, *bayclin*, bakterisida, dan *fungisida*.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara mencuci alat gelas, botol kultur, dan alat diseksi (*scalpel*, pinset, *spatula*) dengan detergen dan dibilas dengan air bersih. Dikeringkan kedalam oven selama 3 jam dengan suhu $\pm 120^{\circ}\text{C}$. Setelah dikeluarkan dari oven, alat diseksi dibungkus dengan alumunium foil dan dimasukkan kedalam plastik yang tahan panas, alat gelas ditutup dengan plastik yang tahan panas, dan cawan petri dibungkus dengan kertas. Alat-alat yang telah dibungkus tersebut dimasukkan kedalam autoklaf untuk disterilkan dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2. Pembuatan Media

Penelitian terdiri atas dua jenis penelitian, sehingga ada dua jenis media yang dibutuhkan. Perlakuan pertama, pembuatan media untuk induksi kalus embriogenik yaitu diambil larutan stok media $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan 2,4-D dan BAP (sesuai dengan perlakuan masing-masing). Setelah semua larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditambahkan 30g gula. Selanjutnya diukur pH larutan media 5,7-5,8. Kemudian ditambahkan aquades steril dan dihomogen dengan *stirrer*. Setelah itu, larutan yang sudah homogen ditambahkan 10g agar. Dipanaskan dan diaduk hingga mendidih. Media dimasukkan ke dalam botol kultur sekitar 10 ml

tiap masing-masing botol. Botol kultur yang berisi media ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet.

3.5.3. Sterilisasi Media

Sterilisasi media dilakukan dengan cara disterilkan media kultur yang telah dibuat dalam botol kultur dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.4. Sterilisasi Ruang Tanam

Cara untuk sterilisasi ruang tanam yaitu lantai pada ruang tanam dipel menggunakan karbol yang dicampur dengan air. Laminar Air Flow (LAF) dibersihkan dengan cara disemprot menggunakan alkohol 70%, kemudian sinar UV dinyalakan selama 1 jam sebelum LAF digunakan. Ketika LAF digunakan maka sinar UV dimatikan, blower dan lampu neon dinyalakan.

3.5.5. Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan cara mengambil embrio muda dari biji *C. pubescens*. Embrio *C. pubescens* dibersihkan menggunakan tisu untuk menghilangkan lendir yang menempel, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit, eksplan direndam dengan detergen selama 15 menit, dibilas dengan air mengalir. Kemudian eksplan embrio direndam dengan larutan bakterisida selama 5 menit, dibilas dengan air mengalir. Kemudian direndam dalam larutan *fungisida* (benlate 0,5 mg/L), kemudian digojok selama 1 jam, dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, dipindahkan ke dalam LAF (*Laminar Air Flow*) untuk dilakukan perendaman embrio dengan menggunakan larutan clorox 30%

selama 15 menit. Kemudian dibilas menggunakan aquades steril 3 kali masing-masing selama 5 menit.

3.5.6. Tahap Inisiasi

3.5.6.1. Penanaman Eksplan Induksi Kalus Embriogenik

Eksplan Embrio zigotik (embrio muda) *C. pubescens* diambil dari hasil sterilisasi eksplan dan ditanam pada media induksi kalus embriogenik. Embrio muda ditanam pada media MS dengan taraf formula yaitu $\frac{1}{2}$ MS. Botol kultur yang telah ditanami eksplan diinkubasi dalam ruang penyimpanan kultur pada suhu 23-25°C dan diinkubasi selama 45 hari.

3.5.6.2. Tahap Pemeliharaan

Botol kultur yang berisi eksplan diletakkan pada rak kultur dan disemprot dengan menggunakan alkohol 70% setiap 3 hari sekali.

3.5.7. Parameter Pengamatan

3.5.7.1. Hari Munculnya Kalus

Pengamatan hari munculnya kalus diamati setiap hari setelah eksplan ditanam selama 45 hari. Terbentuknya kalus pada media merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Indikasi adanya kalus yaitu terjadi pembengkakan dan tumbuh granula pada embrio.

3.5.7.2. Berat Basah Kalus

Pengamatan berat basah kalus dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Pengamatan dengan cara menimbang massa kalus basah yang terbentuk pada bagian eksplan dengan menggunakan timbangan analitik dengan satuan gram

(g). Penimbangan dilakukan hanya pada kalus yaitu dengan memisahkan kalus dari embrio yang tidak terbentuk.

3.5.7.3. Persentase Luasan Kalus pada Eksplan

Perhitungan dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung luasan eksplan embrio yang membentuk kalus. Kemudian dihitung dari 0.5 cm luasan eksplan embrio yang membentuk kalus. Kedua eksplan pada botol, dihitung rata-rata jumlah eksplan berkalus dan dihitung rata-rata kelima ulangan setiap perlakuan.

3.5.7.4. Warna dan Tekstur Kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Pengamatan yang dilihat dari warna kalus yang terbentuk yaitu warna kekuningan (K), putih kekuningan (PK), putih kecoklatan (PC), dan kuning kecoklatan (KC). Sedangkan pengamatan tekstur kalus dilihat dari bentuk kalus yang terlihat, yaitu kalus remah (R), kalus kompak (K), dan kalus intermediet (I).

3.5.7.5. Pengamatan Anatomi Kalus

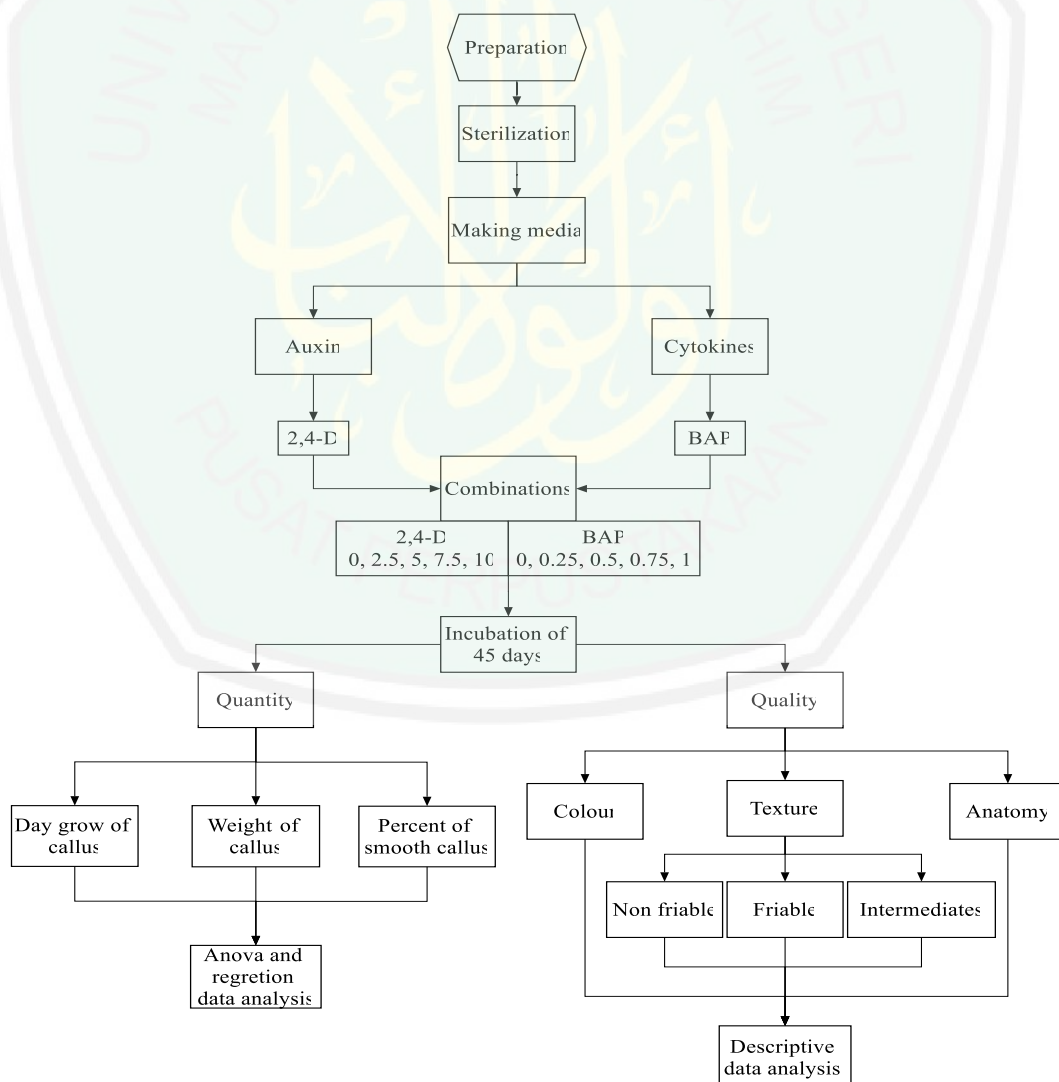
Pengamatan anatomi kalus dilakukan pada hari ke-45 setelah tanam (HST). Pengamatan dengan cara membuat preparat kalus menggunakan teknik *squash* dan diamati di bawah mikroskop.

3.6. Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatan secara visual meliputi morfologi kalus yaitu warna, tekstur dan pengamatan secara anatomi. Data kuantitatif berupa hari muncul kalus, berat basah

kalus, dan persen eksplan berkalus. Data kualitatif dianalisis menggunakan analisis secara deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji statistik *Analisis Varian (ANOVA) Two Way 5%*. Apabila terdapat perbedaan nyata dilakukan dengan uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* pada taraf 5%. Pengolahan data dibantu dengan menggunakan software IBM SPSS versi 22. Kemudian dilanjut dengan uji regresi dengan Ms. Excel 2013.

3.7. Skema Kerja Penelitian



Gambar 3.1 Desain Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

Berdasarkan hasil penelitian dengan masa pengamatan selama 45 hari setelah tanam di peroleh data kuantitatif dengan tiga variabel pengamatan. Variabel pengamatan terdiri dari hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan. Variabel yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Analisis Varian (ANOVA) Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	712,886*	2,776289
Berat Basah Kalus	89,802*	2,776289
Persen Luasan Kalus Pada Eksplan	29,648*	2,776289

Keterangan : * kadar 2,4-D berbeda nyata terhadap variabel pengamatan

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa, F hitung variabel hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan lebih besar dari F tabel yang artinya zat pengatur tumbuh 2,4-D berbeda nyata terhadap variabel pengamatan pada induksi kalus embrio muda *C. pubescens*. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil dari uji DMRT 5% disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Konsentrasi 2,4-D mg/L	Pengamatan Hari Ke-45		
	Hari Muncul Kalus (Hari)	Berat Basah Kalus (g)	Persen Luasan Kalus Pada Eksplan (%)
0	27,44c	0,59a	82,20a
2,5	30,06d	0,72b	88,60b
5	26,34b	0,78c	90,20b
7,5	24,20a	0,96d	93,40c
10	31,52e	0,79c	84,00a

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

Berdasarkan hasil dari uji DMRT 5% terhadap variabel hari muncul kalus menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D 7,5 mg/L merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi kalus embriogenik *C. pubescens* yaitu dengan rata-rata 24,2 HST dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lama adalah perlakuan 2,4-D 10 mg/L yaitu pada 31,52 HST. Pengaruh 2,4-D pada berat basah kalus dengan konsentrasi 2,4-D 7,5 mg/L adalah konsentrasi yang berbeda nyata dari kontrol dengan rata-rata berat basah kalus 0,96 g. Sedangkan pengaruh 2,4-D terhadap persen luasan kalus pada eksplan yaitu perlakuan 7,5 mg/L dengan rata-rata 93,40% adalah konsentrasi yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanpa pemberian auksin eksogen (2,4-D) eksplan embrio muda *C. pubescens* sudah mampu menginduksi kalus sendiri. Hal ini dikarenakan adanya hormon endogen auksin dan sitokinin yang cukup terdapat pada eksplan *C. pubescens*, sehingga tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dapat menginduksi kalus. Selain itu, eksplan yang digunakan masih muda

dan mudah membelah. Selain itu, media tanam yang mengandung unsur hara, vitamin dan asam amino yang sesuai mendukung proses pertumbuhan kalus. Pratiwi dan Rahayu (2013) menjelaskan bahwa, eksplan yang muda sel-selnya bersifat meristematis sehingga aktif membelah.

Munculnya kalus pada eksplan embrio *C. pubescens* ditandai dengan pembengkakan eksplan yang dilukai yaitu pada embrio muda dengan menghilangkan kulit bijinya. Menurut Sitorus *et al.*, (2011) bahwa, pembentukan kalus terjadi karena adanya pelukaan yang terjadi pada eksplan, sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak tersebut. Menurut George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa, hormon endogen dan eksogen yang terdapat pada eksplan mendukung terjadinya respon jaringan untuk membentuk kalus. Selain itu, munculnya kalus dipengaruhi oleh kerja auksin dan sitokinin.

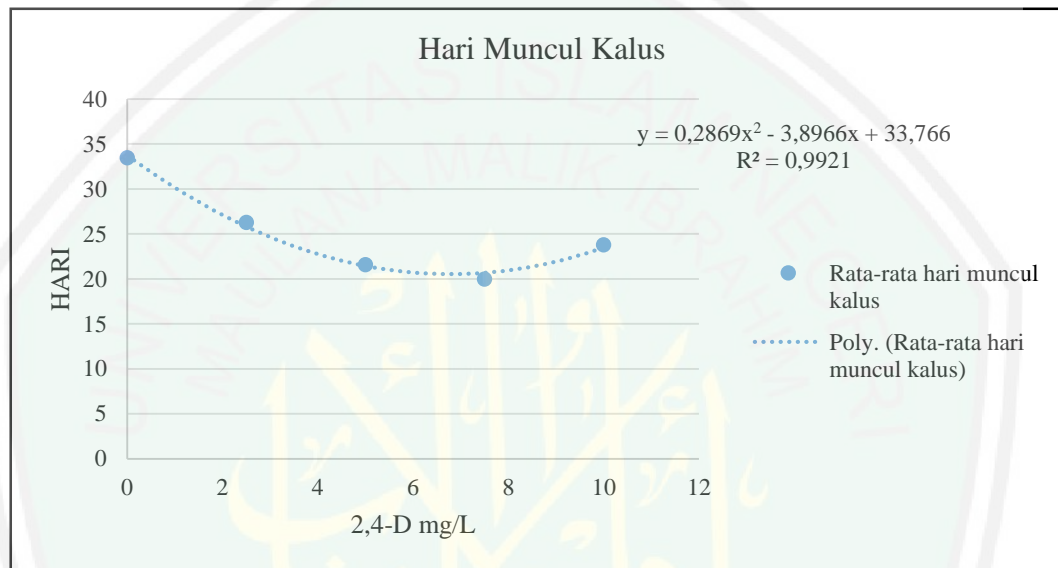
Penggunaan auksin 2,4-D dapat memacu pertumbuhan kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Robles *et al.*, (2016), bahwa auksin jenis 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan plastisitas, meningkatkan sintesis protein, dan pengembangan dinding sel. Terbentuknya kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D yang terlarut dalam media akan berdifusi masuk ke dalam sel-sel eksplan tanaman melalui luka-luka pada ujung-ujung eksplan. Zat pengatur tumbuh 2,4-D akan memacu pelunakkan dinding sel dengan cara mengaktivasi pompa proton (ion H^+) yang terletak pada membran plasma, sehingga menyebabkan derajat keasaman (pH) pada bagian dinding sel lebih rendah, yaitu mendekati pH pada membran plasma (sekitar pH 4,5). Aktifnya

pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan hydrogen diantara mikrofibril selulosa dinding embrio *C. pubescens*. Putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding sel hipokotil *C. pubescens* mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel akan menurun dan mengakibatkan pelenturan sel embrio *C. pubescens*. Derajat keasaman yang rendah juga dapat mengaktivasi enzim tertentu pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein atau polisakarida yang menyebar pada dinding sel yang lunak dan lentur, sehingga pembesaran sel embrio dapat terjadi (Hayati *et al.*, 2010).

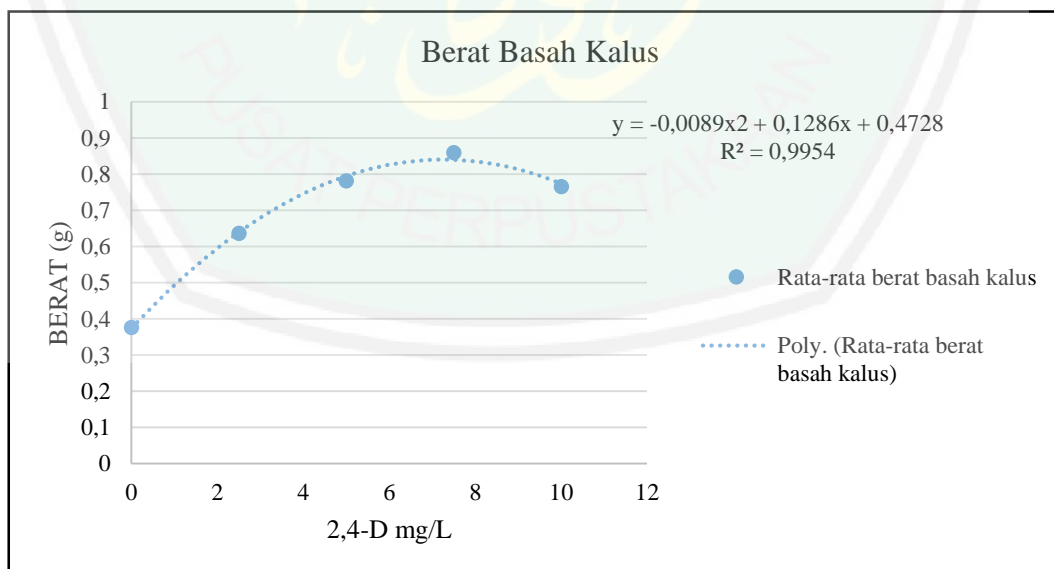
Hasil pengamatan berat basah kalus diketahui bahwa perlakuan kontrol dan pemberian 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata. Berat basah kalus menunjukkan indikasi terjadinya pembelahan sel yang besar. Menurut Dewita (2015) bahwa, peningkatan tersebut dipicu oleh daya aktifitas 2,4-D yang sangat tinggi, sehingga jaringan menjadi stres dan akan menyebabkan terjadi pembelahan sel secara terus-menerus di dalam jaringan yang akhirnya berpengaruh terhadap ukuran kalus. Menurut Sitorus *et al.*, (2011) menyatakan bahwa, pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal dan akan meningkatkan berat basah kalus. Hal ini juga akan mempengaruhi persen luasan kalus pada eksplan karena semakin tinggi berat basah kalus maka semakin tinggi persen luasan kalus pada eksplan.

Hasil yang serupa didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Damayanti *et al.*, (2007) bahwa, media $\frac{1}{2}$ MS + 2,4-D 10 mg/L dapat menghasilkan kalus embriogenik *Carica papaya* tertinggi yaitu 80%. Hasil penelitian Sari *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa, perlakuan 2,4-D 3 mg/L menghasilkan berat basah kalus yang

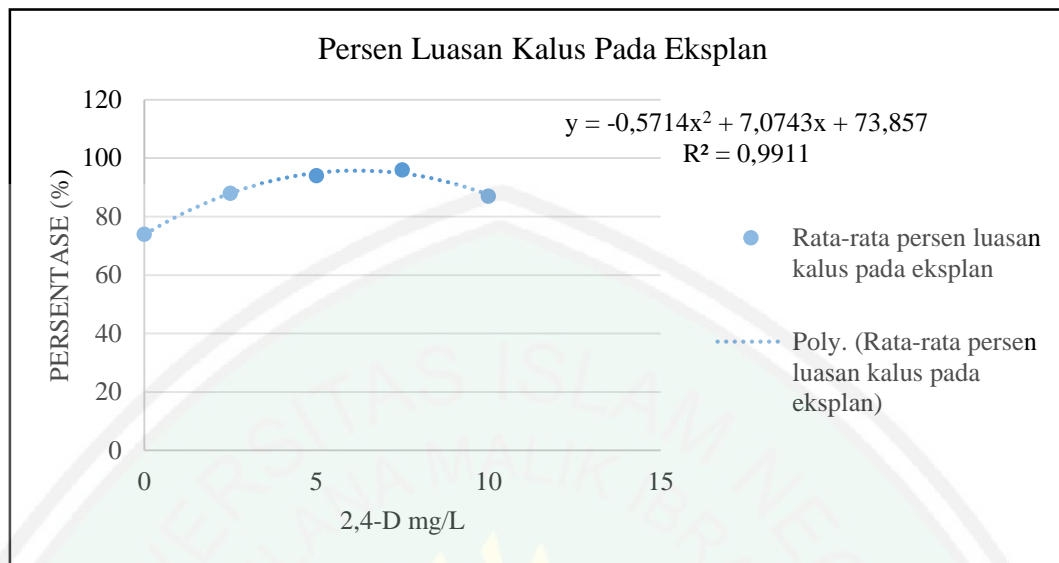
tinggi yaitu sebesar 0,82 g pada kultur kalus *C. pubescens*. Untuk mengetahui konsentrasi pemberian 2,4-D yang optimum terhadap induksi kalus embriogenik *C. pubescens* dapat dianalisis menggunakan analisis regresi. Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen eksplan berkalus.



Gambar 4.1 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D terhadap Hari Muncul Kalus.



Gambar 4.2 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D terhadap Berat Basah Kalus.



Gambar 4.3 Kurva Regresi Pengaruh 2,4-D terhadap Persen Luasan Kalus Pada Eksplan.

Berdasarkan Gambar 4.1 dapat diketahui bahwa kurva hari muncul kalus menghasilkan garis kuadratik dengan persamaan $y = 0,2869x^2 - 3,8966x + 33,766$ dengan nilai determinasi $R = 0,9921$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap hari muncul kalus dengan nilai kepercayaan 0,99%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = 0,2869x^2 - 3,8966x + 33,766$ bahwa perlakuan 2,4-D terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (6,79 ; 20,53) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah 6,79 mg/L dengan rata-rata hari muncul kalus 20,53 HST.

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,0089x^2 + 0,1286x + 0,4728$ dengan nilai determinasi $R = 0,9954$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap berat basah kalus dengan nilai kepercayaan 0,99%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -0,0089x^2 + 0,1286x + 0,4728$ bahwa

perlakuan 2,4-D terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (7,22 ; 0,9373) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk berat basah kalus adalah 7,22 mg/L dengan rata-rata berat basah kalus 0,9373 g.

Hasil analisis regresi untuk variabel persen luasan kalus pada eksplan didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,5714x^2 + 7,0743x + 73,857$ dengan nilai determinasi $R = 0,9911$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap persen luasan kalus pada eksplan dengan nilai kepercayaan 0,99%. Pada analisis deferensial dengan persamaan $y = -0,5714x^2 + 7,0743x + 73,857$ bahwa perlakuan 2,4-D terhadap persen luasan kalus pada eksplan mencapai titik optimum pada koordinat (6,19 ; 95,75) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk persen luasan kalus pada eksplan adalah 6,19 mg/L dengan rata-rata persen luasan kalus pada eksplan 95,75%.

Menurut hasil penelitian Kabir (2016) menjelaskan bahwa, perlakuan media MS dan konsentrasi 5 mg/L 2,4-D dapat menginduksi kalus embriogenik *Carica papaya* L. dengan persentase kalus 70%. Hasil penelitian Christine (2005) menunjukkan bahwa, kultur kalus embriogenik *Carica papaya* cv. Eksotika mampu diinduksi pada media MS dan konsentrasi 6-8 mg/L 2,4-D dengan persentase kalus 97,5%. Berdasarkan hasil analisis regresi pada Gambar 4.1; 4.2; 4.3 pertumbuhan kalus mengalami peningkatan dengan bertambahnya konsentrasi 2,4-D (6,19 – 7,22 mg/L) dan mengalami penurunan dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 10 mg/L. Hal ini diduga konsentrasi auksin di dalam jaringan telah melebihi konsentrasi optimum. Menurut Lizawati (2012) menyatakan bahwa, 2,4-D yang tinggi dan tidak adanya penambahan sitokinin dalam media juga mampu memacu terjadinya

senesensi yang dapat menghambat proses pertumbuhan kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Pierik (1987) menyatakan bahwa, pada konsentrasi tertentu zat pengatur tumbuh akan mempengaruhi pertumbuhan menjadi optimal, tetapi terkadang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan pada konsentrasi tinggi.

4.2. Pengaruh BAP (6- *Benzylaminopurin*) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

Berdasarkan hasil pengamatan selama 45 hari setelah tanam menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus *C. pubescens*. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Analisis Varian (ANOVA) Pengaruh BAP terhadap Induksi kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	1983,89*	2,776289
Berat Basah Kalus	92,23*	2,776289
Persen Luasan Kalus Pada Eksplan	83,568*	2,776289

Keterangan : * kadar BAP berbeda nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil analisis varian (ANOVA) pada variabel hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan diperoleh F hitung lebih besar dari F tabel. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh BAP berbeda nyata terhadap variabel pengamatan pada induksi kalus embrio muda *C. pubescens*. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Hasil dari uji DMRT 5% disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Pengaruh BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Konsentrasi BAP mg/L	Pengamatan Hari Ke-45		
	Hari Muncul Kalus (Hari)	Berat Basah Kalus (g)	Persen Luasan Kalus Pada Eksplan (%)
0	25,04b	0,68b	87,80b
0,25	25,10b	0,82d	92,20c
0,5	23,50a	0,96e	95,00d
0,75	30,92c	0,77c	88,40b
1	35,00d	0,60a	75,00a

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

Berdasarkan hasil dari uji DMRT 5% terhadap variabel hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi kalus embriogenik *C. pubescens* yaitu dengan rata-rata 23,5 HST dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lama adalah perlakuan BAP 1 mg/L yaitu pada 35 HST. Rata-rata berat basah kalus 0,96 g dan rata-rata persen luasan kalus pada eksplan yaitu 95%. Konsentrasi 0,5 mg/L BAP adalah konsentrasi yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Namun, penambahan BAP yang semakin meningkat akan menghambat munculnya kalus embriogenik *C. pubescens*. Menurut Abidin (1983) menyatakan bahwa, ZPT dalam kondisi tertentu mampu menghambat kerja hormon endogen dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi kalus *C. pubescens* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian

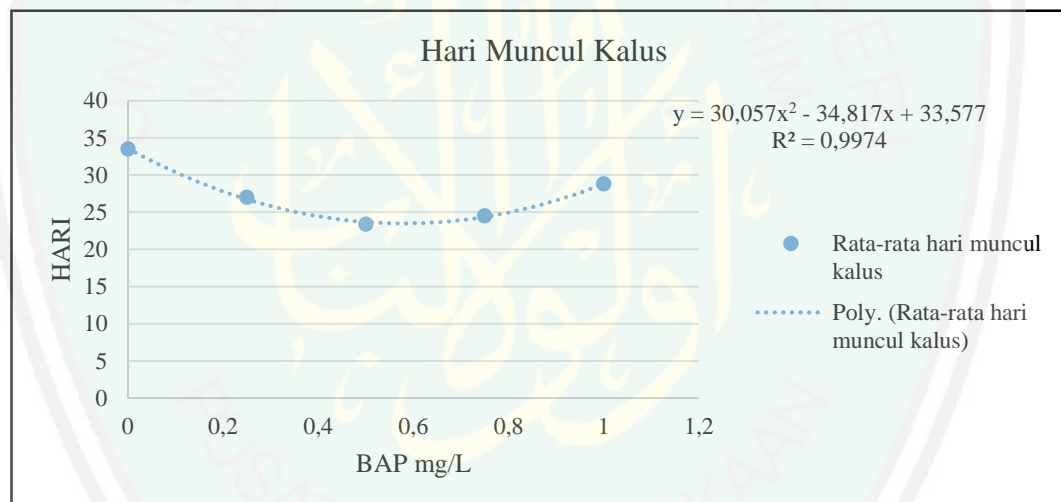
kadar sitokinin yang rendah mampu menginduksi kalus paling cepat. Hal ini serupa dengan penelitian Ramdan *et al.*, (2014) bahwa, konsentrasi BAP yang rendah 0,5 mg/L mampu menginduksi kalus *Citrus rootstock* paling cepat yaitu 8 HST. Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya hormon endogen auksin yang cukup terdapat pada eksplan *C. pubescens*, sehingga tanpa penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tinggi dapat menumbuhkan kalus. Menurut Dixon dan Gonzales (1994) dalam Setiti *et al.*, (1996) bahwa, media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

Pemberian berbagai konsentrasi BAP berpengaruh terhadap berat basah kalus dan persen eksplan berkalus. Konsentrasi BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang dapat menghasilkan berat basah kalus dan persen eksplan berkalus yang tinggi. Hal ini serupa dengan penelitian Mondal *et al.*, (1994) menunjukkan bahwa, perlakuan 0,5 mg/L BAP dan media MS mampu menginduksi kalus *Carica papaya* (Var. Honey Dew) dengan berat basah kalus 3,5 g. Menurut Rahayu *et al.*, (2003) menyatakan bahwa, bobot segar kalus yang besar disebabkan oleh kandungan airnya tinggi, selain itu berat basah kalus yang dihasilkan juga tergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel-sel membelah, dan membesarnya kalus. Sifat yang penting dari sitokinin adalah perangsangannya terhadap pembelahan sel.

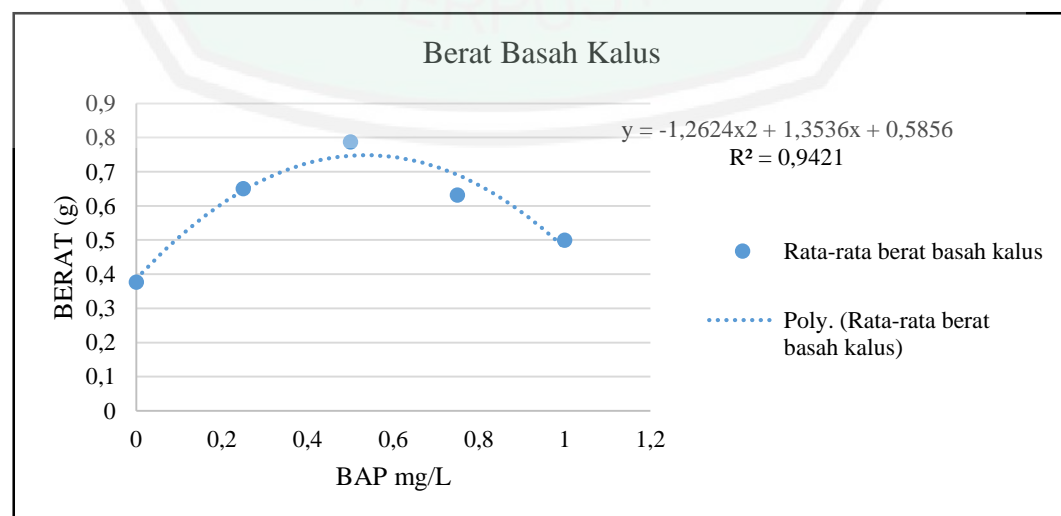
Hormon bekerja optimal pada konsentrasi tertentu dan sel umumnya mengandung hormon yang cukup atau hampir cukup untuk menjaga secara normal. Menurut Santoso dan Nursandi (2004) menunjukkan bahwa, penambahan sitokinin berupa BAP memberikan respons pada eksplan embrio muda *C. pubescens*.

Sitokinin berperan dalam menstimulus terjadinya pembelahan sel dan proliferasi kalus. BAP yang ditambahkan pada media kultur akan menaikkan laju sintesis protein, sehingga mendorong pembesaran dan pembelahan sel dengan cara meningkatkan peralihan dari G2 ke mitosis.

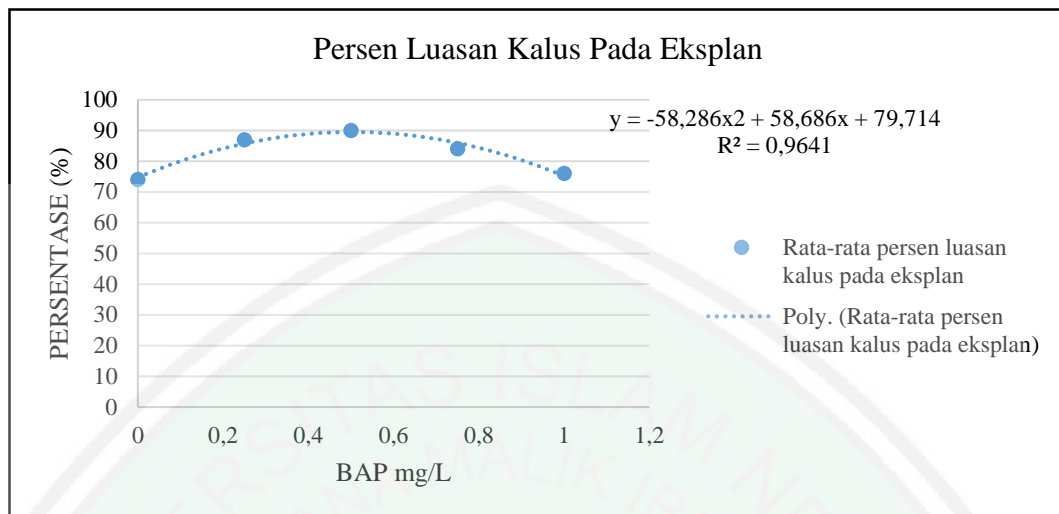
Untuk mengetahui konsentrasi pemberian BAP yang optimum terhadap induksi kalus embriogenik *C. pubescens* dapat dianalisis menggunakan analisis regresi. Berikut disajikan gambar analisis regresi hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan.



Gambar 4.4 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Hari Muncul Kalus.



Gambar 4.5 Kurva Regresi Pengaruh BAP terhadap Berat Basah Kalus.



Gambar 4.6 Kurva Regresi pengaruh BAP terhadap Persen Luasan Kalus Pada Eksplan.

Berdasarkan Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa kurva hari muncul kalus menghasilkan garis kuadratik dengan persamaan $y = 30,057x^2 - 34,817x + 33,577$ dengan nilai determinasi $R = 0,9974$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi BAP terhadap hari muncul kalus dengan nilai kepercayaan 0,99%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = 30,057x^2 - 34,817x + 33,577$ bahwa perlakuan BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat $(0,57 ; 23,49)$ yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah 0,57 mg/L dengan rata-rata hari muncul kalus 23,49 HST.

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -1,2624x^2 + 1,3536x + 0,5856$ dengan nilai determinasi $R = 0,9421$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi BAP terhadap berat basah kalus dengan nilai kepercayaan 0,94%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -1,2624x^2 + 1,3536x + 0,5856$ bahwa

BAP terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,53 ; 0,9484) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk berat basah kalus adalah 0,53 mg/L dengan rata-rata berat basah kalus 0,9484 g.

Hasil analisis regresi untuk variabel persen luasan kalus pada eksplan didapatkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -58,286x^2 + 58,686x + 79,714$ dengan nilai determinasi $R = 0,9641$, artinya terdapat pengaruh antara perlakuan berbagai konsentrasi BAP terhadap persen luasan kalus pada eksplan dengan nilai kepercayaan 0,96%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -58,286x^2 + 58,686x + 79,714$ bahwa perlakuan BAP terhadap persen luasan kalus pada eksplan mencapai titik optimum pada koordinat (0,5 ; 94,48) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk persen luasan kalus pada eksplan adalah 0,5 mg/L dengan rata-rata persen luasan kalus pada eksplan 94,48%.

Berdasarkan dari hasil analisis regresi pada ketiga variabel dapat diketahui bahwa pertumbuhan kalus mengalami peningkatan dengan konsentrasi BAP (0,5 – 0,57 mg/L) dan mengalami penurunan pertumbuhan kalus pada konsentrasi BAP 1 mg/L. Hal ini kemungkinan dikarenakan pertumbuhan kalus telah optimum pada kisaran konsentrasi BAP 0,5 mg/L. Sehingga penambahan konsentrasi BAP menjadi 1 mg/L tidak memberikan pengaruh yang baik terhadap induksi kalus embriogenik *C. pubescens*. Hasil penelitian Seyyedyousefi *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa, media $\frac{1}{2}$ MS dan 0,5 mg/L BAP mampu menginduksi kalus *Alstromeria* yaitu 35,58%.

4.3. Pengaruh Interaksi 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6-Benzylaminopurin) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

4.3.1. Pengamatan secara Kuantitatif Pengaruh Interaksi 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6-Benzylaminopurin) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch secara *In Vitro*.

Pemberian auksin pada kultur kalus efektif dalam menginduksi pembentukan kalus, walaupun demikian peran sitokinin sangat dibutuhkan untuk proliferasi kalus sehingga kombinasi auksin dan sitokinin sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus (Abidin, 1983). Sehingga diharapkan dari kombinasi 2,4-D dan BAP dapat berpengaruh terhadap induksi kalus embriogenik *C. pubescens*. Berdasarkan hasil pengamatan selama 45 hari setelah tanam pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi dan pertumbuhan kalus embriogenik *C. pubescens* didapatkan hasil analisis varian (ANOVA) pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Analisis Varian (ANOVA) Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	269,082*	1,605492
Berat Basah Kalus	5,947*	1,605492
Persen Luasan Kalus Pada Eksplan	3,362*	1,605492

Keterangan : *interaksi 2,4-D dan BAP berbeda nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA menunjukkan bahwa interaksi 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan berbeda nyata yang ditunjukkan dengan nilai F hitung lebih besar dari nilai F tabel.

Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut menggunakan uji DMRT 5% yang disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Perlakuan (mg/L)		Pengamatan Hari Ke-45		
2,4-D	BAP	Hari Muncul Kalus (Hari)	Berat Basah Kalus (g)	Persen Luasan Kalus Pada Eksplan (%)
0	0	33,50m	0,38a	74,00a
	0,25	27,00i	0,65cd	87,00def
	0,5	23,40e	0,79efg	90,00efgh
	0,75	24,50f	0,63cd	84,00cde
	1	28,80j	0,50b	76,00ab
2,5	0	26,30h	0,64cd	88,00defg
	0,25	25,60g	0,82fg	92,00fghij
	0,5	24,60f	0,99i	97,00ijk
	0,75	34,50no	0,70cd	90,00efgh
	1	39,30q	0,45ab	76,00ab
5	0	21,60d	0,78efg	94,00ghijk
	0,25	21,20cd	0,88gh	97,00ijk
	0,5	20,70c	0,980i	98,00jk
	0,75	33,80mn	0,71de	90,00efgh
	1	34,40no	0,60c	72,00a
7,5	0	20,00b	0,86fgh	96,00hijk
	0,25	19,60ab	0,94hi	97,00ijk
	0,5	19,00a	1,09j	99,00k
	0,75	27,60i	1,09j	95,00hijk
	1	34,80o	0,82g	80,00bc
10	0	23,80e	0,77ef	87,00def
	0,25	32,10l	0,83fg	88,00defg
	0,5	29,80k	0,94hi	91,00fghi
	0,75	34,20mno	0,71de	83,00cd
	1	37,70p	0,64cd	71,00a

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

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pada hari muncul kalus interaksi 2,4-D dan BAP pada perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Konsentrasi interaksi 2,4-D 7,5 mg/L dan BAP 0,5 mg/L merupakan konsentrasi yang paling baik untuk menginduksi

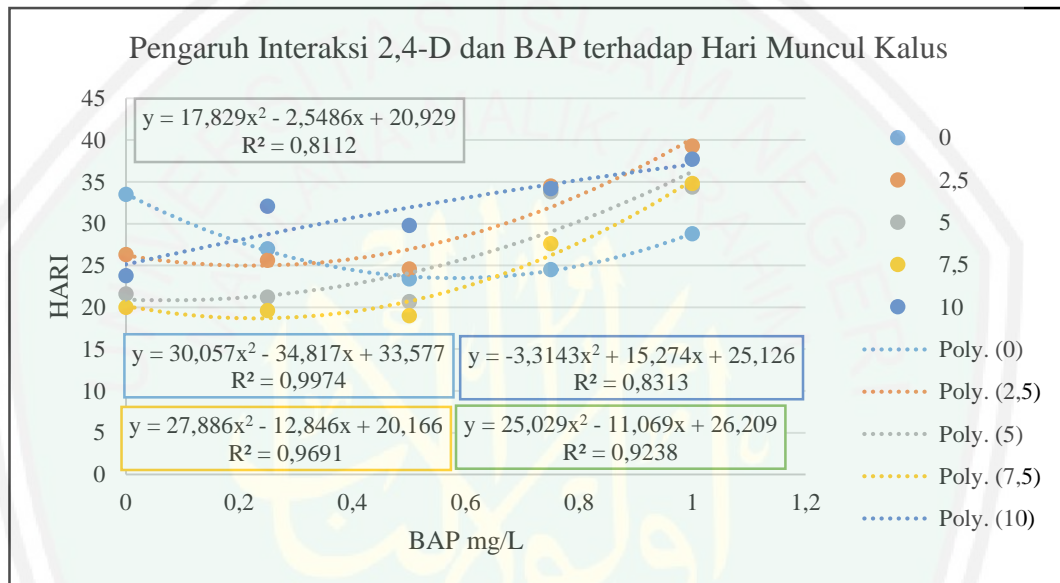
kalus dan pertumbuhan kalus pada ketiga variabel pengamatan. Hasil rata-rata hari muncul kalus paling cepat yaitu 19 HST, berat basah kalus yang paling tinggi yaitu 1,09 g, dan untuk rata-rata persen luasan kalus pada eksplan tertinggi yaitu 99%. Menurut Zulkarnain (2009) bahwa, pemberian auksin dan sitokinin yang seimbang akan berdampak pada munculnya kalus. Oleh karena itu, hari muncul kalus yang lama disebabkan interaksi zat pengatur tumbuh yang diberikan pada eksplan tidak tepat untuk menginduksi kalus, sehingga menghambat pertumbuhan kalus pada eksplan.

Hal ini bergantung dari respon setiap eksplan, karena selain penambahan zat pengatur tumbuh berupa auksin dan sitokinin pada media, respon sel-sel eksplan juga di pengaruhi oleh hormon endogen dan sifat kompeten dari setiap eksplan (Santoso dan Nursandi, 2004). Hasil penelitian Rosyidah *et al.*, (2014) bahwa, perlakuan 2 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP menghasilkan respon pertumbuhan kalus melati (*Jasminum sambac*) paling lambat yaitu sebesar 0,848 g. Menurut Khanayah (2012) bahwa, konsentrasi zat pengatur tumbuh terlalu rendah kurang mampu menginduksi kalus, namun sebaliknya jika terlalu tinggi akan bersifat toksik bagi eksplan dan jika konsentrasi yang diberikan tidak seimbang, maka kombinasi kedua zat pengatur tumbuh tidak cocok untuk merangsang pembentukan kalus.

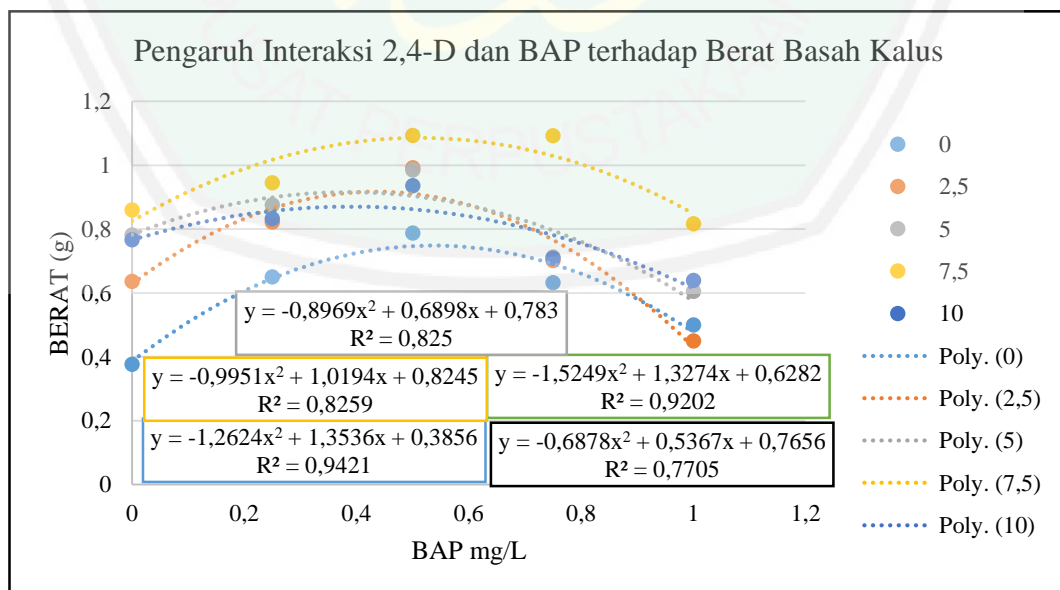
Menurut Skoog dan Miller dalam Bidwell (1979) menyatakan bahwa, pada kultur kalus yang menunjukkan tidak ada ketentuan khusus bagi konsentrasi zat-zat pembentuk organ, konsentrasi auksin dan sitokinin relatif berbeda-beda. Sedangkan menurut pendapat Armini *et al.*, (1992) menyatakan bahwa, konsentrasi yang

diperlukan dari ZPT tergantung dari jenis eksplan, genotip, kondisi kultur dan zat pengatur tumbuh.

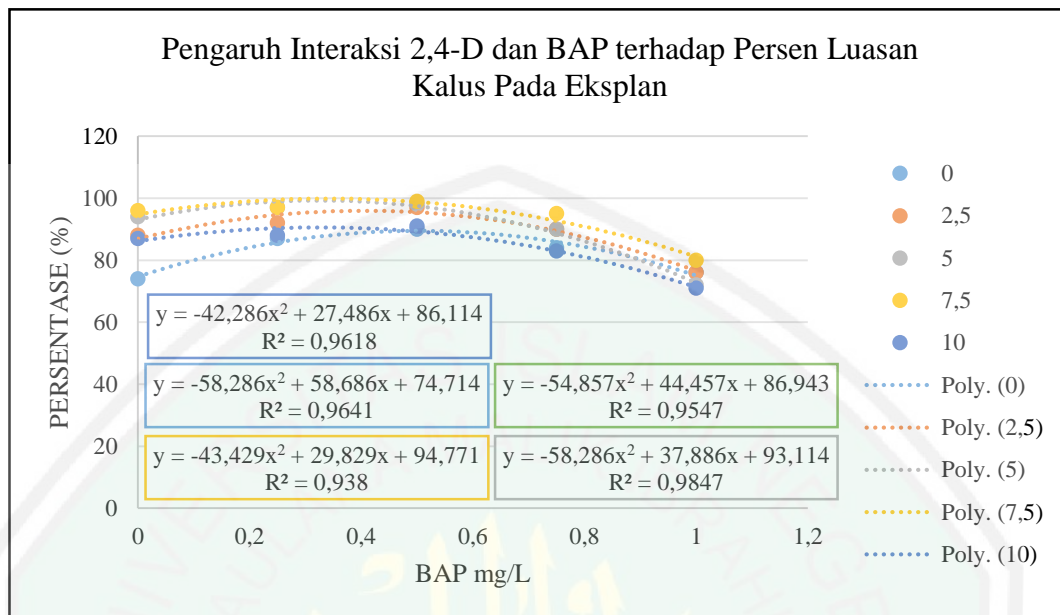
Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari interaksi 2,4-D dan BAP yang dapat meningkatkan induksi kalus embriogenik *C. pubescens* dapat dilakukan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi tersaji pada Gambar 4.7; 4.8; 4.9.



Gambar 4.7 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Hari Muncul Kalus.



Gambar 4.8 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Berat Basah Kalus.



Gambar 4.9 Kurva Regresi Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Persen Luasan Kalus Pada Eksplan.

Berdasarkan Gambar 4.7 dapat diketahui bahwa kurva hari muncul kalus menghasilkan garis kuadratik dengan persamaan $y = 27,886x^2 - 12,846x + 20,166$ dengan nilai determinasi $R = 0,9691$, yang artinya hubungan antara perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus dengan nilai kepercayaan 0,96%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = 27,886x^2 - 12,846x + 20,166$ bahwa perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,23 ; 18,68) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah konsentrasi 0,23 mg/L BAP dan konsentrasi 2,4-D yang optimum adalah 7,5 mg/L dengan rata-rata hari muncul kalus yaitu 18,68 HST.

Berdasarkan Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa kurva berat basah kalus menghasilkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -0,9951x^2 + 1,0194x + 0,8245$ dengan nilai determinasi $R = 0,8259$, yang artinya hubungan antara perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap berat basah kalus dengan nilai kepercayaan 0,82%. Pada

analisis diferensial dengan persamaan $y = -0,9951x^2 + 1,0194x + 0,8245$ bahwa perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap berat basah kalus mencapai titik optimum pada koordinat (0,51 ; 1,0855) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah konsentrasi 0,51 mg/L BAP dan konsentrasi 2,4-D yang optimum adalah 7,5 mg/L dengan rata-rata berat basah kalus sebesar 1,0855 g.

Berdasarkan Gambar 4.9 dapat diketahui bahwa kurva persen luasan kalus pada eksplan menghasilkan garis kuadratik dengan persamaan $y = -43,429x^2 + 29,829x + 94,771$ dengan nilai determinasi $R = 0,938$, yang artinya hubungan antara perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap persen luasan kalus pada eksplan dengan nilai kepercayaan 0,93%. Pada analisis diferensial dengan persamaan $y = -43,429x^2 + 29,829x + 94,771$ bahwa perlakuan 2,4-D dan BAP terhadap persen luasan kalus pada eksplan mencapai titik optimum pada koordinat (0,34 ; 99,89) yang artinya bahwa konsentrasi yang optimum untuk menginduksi kalus adalah konsentrasi 0,34 mg/L BAP dan konsentrasi 2,4-D yang optimum adalah 7,5 mg/L dengan rata-rata persen luasan kalus pada eksplan sebesar 99,89%.

4.3.2. Pengamatan secara Kualitatif Pengaruh Interaksi 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6- Benzylaminopurin) Terhadap Morfologi dan Anatomi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch.

Kalus merupakan kumpulan dari sel yang tidak terorganisir dan terjadi karena pembelahan yang sangat aktif. Rangsangan dari hormon endogen dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan (eksogen) menyebabkan metabolisme sel menjadi aktif, dalam keadaan demikian jaringan mengalami diferensiasi. Keadaan ini akan terus berlangsung selama proliferasi kalus (Rivai *et al.*, 2014). Kalus

embriogenik memiliki ciri berwarna kekuningan, putih kekuningan, putih kecoklatan dan memiliki tekstur remah, serta terdapat inti besar jika diamati secara mikroskopis. Hal tersebut dapat di lihat dari morfologi dan anatomi kalus yang terbentuk pada eksplan. Pengamatan morfologi kalus embriogenik *C. pubescens* dilakukan pada hari ke 45 HST yang meliputi warna kalus dan tekstur kalus. Hasil pengamatan warna dan tekstur kalus dapat dilihat pada Tabel 4.7.

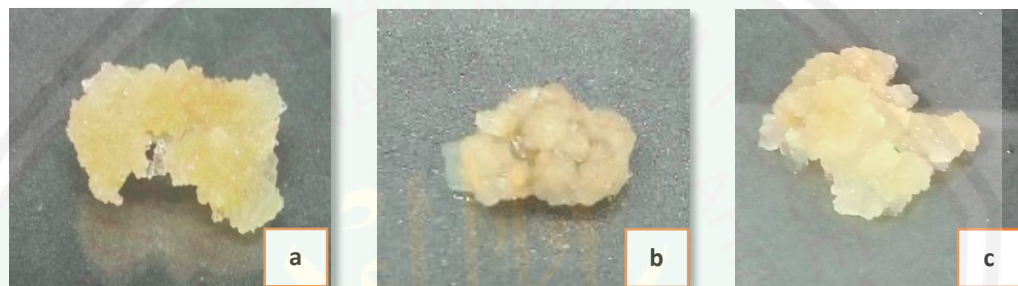
Tabel 4.7 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP terhadap Warna dan Tekstur Kalus Embriogenik *C. pubescens* Lenne & K. Koch.

Perlakuan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP	Kuning Kecoklatan	Intermediet
0 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP	Putih kekuningan	Intermediet
0 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Remah
0 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Intermediet
0 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Kompak
2,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Kompak
2,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Kompak
2,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Remah
2,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Remah
2,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Remah
5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Remah
5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
7,5 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
7,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
7,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	Kekuningan	Remah
7,5 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP	Putih kekuningan	Remah
7,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Remah
10 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Kompak
10 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Remah
10 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP	Putih kekuningan	Kompak
10 mg/L 2,4-D + 0,75 mg/L BAP	Kuning kecoklatan	Kompak
10 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP	Putih kecoklatan	Intermediet

Pengamatan morfologi pada kalus meliputi warna dan tekstur kalus. Warna kalus merupakan indikator visual yang digunakan untuk menentukan pertumbuhan kalus dan menentukan kalus tersebut termasuk ciri kalus embriogenik. Berdasarkan pada hasil penelitian ini, pada awal tumbuh kalus semua perlakuan menunjukkan kalus yang berwarna putih, namun mengalami perubahan warna setelah diamati pada hari ke-45. Setiap perlakuan menghasilkan warna kalus yang berbeda-beda yaitu warna kekuningan, putih kekuningan, putih kecoklatan dan kuning kecoklatan. Perlakuan yang efektif dalam menginduksi kalus embriogenik terdapat pada konsentrasi 7,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP dengan menghasilkan warna kalus kekuningan. Pada konsentrasi 0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP menghasilkan warna kalus kuning kecoklatatan. Sedangkan pada konsentrasi 5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP menghasilkan warna kalus putih kekuningan. Hasil penelitian variabel warna berbeda-beda tiap perlakuan. Hal ini kemungkinan dikarenakan kalus sedang mengalami masa pertumbuhan yang baik, sehingga warna yang dihasilkan berbeda-beda. Hal ini sesuai dengan pendapat Mahadi *et al.*, (2014) bahwa, warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus, pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik.

Berkaitan dengan pembentukan kalus embriogenik Peterson dan Smith (1991) menjelaskan bahwa, kalus embriogenik dicirikan dengan warna kalus yang putih kekuningan dan mengkilat. Sedangkan menurut pendapat Al-Gendi (2013) bahwa, ciri kalus embriogenik adalah berwarna kuning kecoklatan. Kalus yang berwarna putih disebabkan karena jaringan penyusun kalus belum mengandung kloroplas. Hal ini sesuai dengan pendapat Tsuru (1998) bahwa, kalus yang

berwarna putih merupakan jaringan embriogenik yang belum mengandung kloroplas, tetapi mengandung butiran pati yang tinggi. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena adanya pigmentasi warna yang mengalami degradasi. Berdasarkan hal tersebut dapat dilihat dari hasil pengamatan warna kalus pada Gambar 4.10.

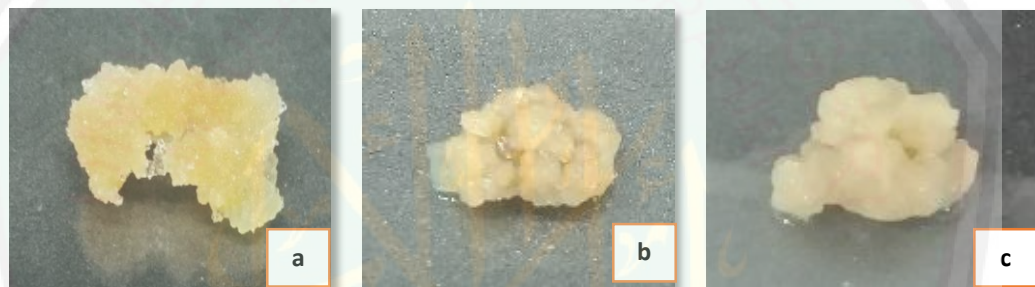


Gambar 4.10 Warna Kalus Embriogenik *C. pubescens*. a) Kekuningan (7.5 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP), b) Kuning kecoklatan (0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP), c) Putih kekuningan (5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP).

Indikasi kalus embriogenik dapat dilihat dari tekstur kalus yang dihasilkan. Berdasarkan pada hasil pengamatan terhadap tekstur kalus *C. pubescens* diperoleh tiga macam tekstur kalus yang terbentuk. Perlakuan 7,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP menghasilkan tekstur remah. Pada perlakuan 0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP menghasilkan tekstur intermediet. Sedangkan pada perlakuan 2,5 mg/L 2,4-D + 0,25 mg/L BAP menghasilkan tekstur kompak.

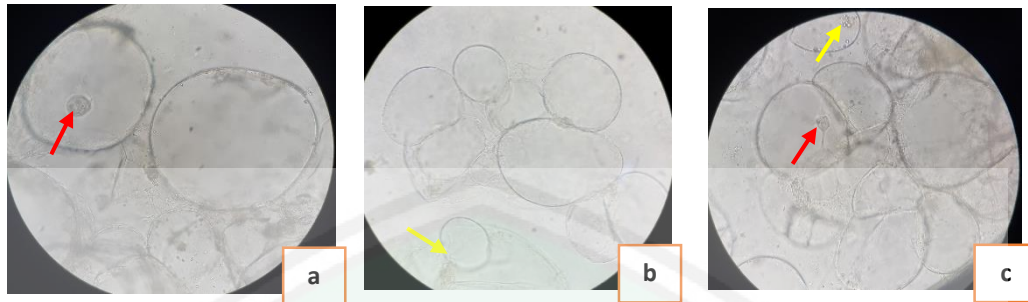
Kalus yang betekstur remah mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal. Tekstur kalus remah mempunyai ciri kandungan air yang banyak, mudah lepas dan tumbuh terpisah menjadi bagian yang kecil (Sitorus *et al*, 2011). Terbentuknya kalus remah dapat dipengaruhi oleh jenis eksplan dan hormon yang digunakan. Kalus dengan tekstur remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang

diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut. Menurut Zulkarnain dan Lizawati (2011) bahwa, tekstur kalus remah mengindikasikan sifat-sifat embriogenik yang akan berkembang menjadi embrio somatik. Pembelahan sel pada tekstur kalus remah (*friable*) lebih cepat daripada tekstur kalus kompak, karena pada tekstur kalus kompak mengalami pembentukan lignifikasi (Mahadi *et al.*, 2016). Berdasarkan hal tersebut dapat dilihat dari hasil pengamatan tekstur kalus pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Tekstur Kalus Embriogenik *C. pubescens*. a) Remah (7.5 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP), b) Intermediet (0 mg/L 2,4-D + 0 mg/L BAP), c) Kompak (2.5 mg/L 2,4-D + 0.25 mg/L BAP).

Pengamatan secara morfologi menunjukkan terbentuknya kalus embriogenik dengan tekstur remah, mudah dipisahkan satu sama lain. Struktur kalus embriogenik yang didapat dari hasil pengamatan secara visual (pengamatan morfologi) didukung dengan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop (pengamatan anatomi). Hasil pengamatan anatomi kalus embriogenik *C. pubescens* disajikan pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Hasil Pengamatan Anatomi Kalus Embriogenik *C. pubescens* 400X, a) Remah (7.5 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP) b) Intermediet (0 mg/L 2,4-D + 0.25 mg/L BAP), c) Kompak (10 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP). Panah Merah = Inti sel, Panah kuning = Plastida.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis pada Gambar 4.12 kalus *C. pubescens* yang mempunyai ciri kalus embriogenik terlihat inti sel yang sangat jelas, bentuk sel bulat dan lonjong. Hal ini sesuai dengan pendapat Ardiyanti (2015) bahwa, adanya jaringan yang terdiri dari sel-sel hidup yaitu plasma dan inti sel yang nampak jelas. Menurut Sitinjak (2005) dalam penelitian Khumaida dan Handayani (2010) bahwa, induksi kalus embriogenik dibutuhkan kombinasi konsentrasi optimum 2,4-D dan BAP yang mampu meningkatkan sensitivitas sel dari jaringan eksplan untuk mengaktifkan kembali siklus sel dan inisiasi pembentukan embrio atau kombinasi konsentrasi hormon yang mampu mengaktifkan gen-gen spesifik untuk induksi kalus embriogenik. Menurut Kasi dan Sumaryono (2008) menyatakan bahwa, kalus embriogenik mempunyai sel-sel yang rapat dan bersifat meristematik dengan ditandai ruang antar sel yang rapat, inti sel yang jelas, sitoplasma padat dan tingginya aktivitas pembelahan sel.

4.4. Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tanaman *C. pubescens* termasuk famili Caricaceae merupakan salah satu jenis tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat. *C. pubescens* memiliki potensi sebagai tanaman obat. Setiap organ pada tanaman ini mempunyai manfaat yang berbeda-beda. Perbanyakan tanaman *C. pubescens* masih dilakukan secara tradisional atau konvensional. Oleh karena itu, perlu adanya perbanyakan tanaman dalam jumlah banyak dan membutuhkan waktu yang singkat. Salah satunya melalui kultur secara *in vitro*. Media untuk menumbuhkan kultur *in vitro* merupakan salah satu faktor penentu pertumbuhan tanaman.

Tanah merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari kehidupan tanaman, karena tanah adalah media tempat tumbuh berkembangnya suatu tumbuhan. kemampuan tanah sebagai tempat hidup tanaman dan menghasilkan bahan yang dapat dipanen ditentukan oleh tingkat kesuburan. Berdasarkan firman Allah dalam surat Al-A'raf ayat 58 sebagai berikut.

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكْدًا ۗ كَذَٰلِكَ
نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: “Dan tanah yang baik, tanam-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanam-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur” (QS. Al-A'raf/ 7: 58).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) bahwa, tanah yang subur merupakan tanah yang baik yang mampu menghasilkan tanaman dengan cepat dan subur. Sedangkan tanah yang tidak subur merupakan tanah yang tidak subur, seperti tanah

yang belum digarap dan belum siap untuk ditanami, serta tanah lainnya yang tidak dapat ditanami. Al-Harits (2008) menyatakan bahwa, tanah yang baik, hujan dapat membuat tanah bisa bermanfaat sehingga dapat menumbuhkan tanaman. Sedangkan tanah yang tidak subur, hujan tidak akan menumbuhkan sesuatu yang bermanfaat. Berdasarkan ayat tersebut menjelaskan bahwa tanah subur biasanya mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup. Tanaman dapat tumbuh pada media selain tanah, misalnya dengan teknik kultur *in vitro*.

Kultur *In Vitro* merupakan perbanyakan jaringan mikro tanaman secara *in vitro* dengan metode perbanyakan tanaman, sehingga dihasilkan tanaman yang sempurna dan jumlahnya banyak (Yuliarti, 2010). Teknik mengisolasi potongan pada jaringan tanaman dari kondisi alami pada media nutrisi dalam kondisi aseptik, sehingga membentuk tanaman yang utuh merupakan teknik kultur jaringan (Azriati *et al.*, 2010).

Zaman modern ini yang diikuti dengan perkembangan teknologi serta ilmu pengetahuan, maka penggunaan salah satu teknik kultur *in vitro* dapat digunakan untuk melestarikan jenis makhluk hidup. Nabi Muhammad SAW bersabda dalam riwayat Hadist Imam Muslim sebagai berikut.

عن انس ان النبي صلى الله عليه و سلم مر بقوم يلحقون فقال لو لم تفعلوا لصلح قال فخرج شيصا فمر بهم فقال ما لنخلكم قالوا

قلت كذا وكذا قال انتم اعلم بامر دنياكم

Artinya : “*Dari sahabat Anas rodhiyallahu “anhu dia berkata : bahwasannya ketika sampai di Madinah Nabi Muhammad SAW melewati suatu kaum (dari kalanga sahabat ansor) yang sedang mengawinkan pohon kurma, maka Beliau berkata : ”Sekiranya kalian tidak melakukannya niscaya itu lebih baik”. Anas melanjutkan : “Kemudian (mereka tidak melakukannya) sehingga hasilnya jelek (gagal). Tatkala Nabi kembali melewati mereka*

Baliau bertanya kepada mereka “bagaimana dengan pohon-pohon kurma kalian?” mereka menjawab “Bukankan Anda yang mengatakan begini dan begitu (mereka mengikuti perintah Nabi meskipun hasilnya jelek)” Maka Nabi bersabda : ” Kalian lebih tahu dengan urusan dunia kalian” (H.R Muslim No 4352).

Berdasarkan Hadist tersebut bahwa Nabi Muhammad SAW memperbolehkan menggunakan teknik yang menghasilkan kebaikan bagi kehidupan makhluk hidup. Dengan teknik yang baik akan menghasilkan hasil yang baik pula. Sehingga dengan adanya teknik kultur *in vitro* dapat digunakan untuk melestarikan tumbuhan dan mengambil kandungan senyawa yang baik untuk dimanfaatkan manusia melalui induksi kalus.

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara optimum dalam kultur *in vitro* dipengaruhi oleh media tanam dan zat pengatur tumbuh (Hutami, 2008). Interaksi antara media tanam dan zat pengatur tumbuh yang sesuai akan mempengaruhi pertumbuhan kalus, meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis (Fithrotin, 2017 dan Lestari, 2011).

Masing-masing eksplan tanaman memiliki kebutuhan media tanam yang berbeda-beda, karena media tanam mengandung unsur hara yang berbeda untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kandungan yang terdapat pada media tanam tidak hanya unsur hara (makro dan mikro), tetapi terdapat kandungan karbohidrat (gula) yang digunakan untuk menggantikan karbondioksida yang diperoleh dari alam melalui proses fotosintesis. Selain itu, kandungan asam amino, vitamin dan zat pengatur tumbuh dibutuhkan dalam media (Gunawan, 1998). Media Murashige dan Skoog (MS) adalah termasuk media yang sering digunakan (Yuliarti, 2010). Golongan auksin dan sitokinin termasuk jenis zat pengatur tumbuh

yang biasanya digunakan dalam kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang digunakan kultur *in vitro* juga memiliki ukuran yang berbeda-beda. Kebutuhan tanaman akan zat pengatur tumbuh juga berbeda.

Berdasarkan hal tersebut Allah SWT berfirman dalam surat Al-Qamar ayat 49 sebagai berikut.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”. (QS. Al-Qamar/ 54 : 49).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007) bahwa, Allah SWT telah menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut. Allah menciptakan segala sesuatu dengan kesempurnaan tersendiri. Pada penelitian ini komposisi media yang optimal untuk induksi kalus embriogenik *C. pubescens* adalah media $\frac{1}{2}$ MS + 7,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP pada ketiga variabel pengamatan selama 45 hari yaitu hari muncul kalus, berat basah kalus, dan persen luasan kalus pada eksplan. Pada komposisi ZPT yang rendah dan lebih tinggi, kalus embrio muda *C. pubescens* pertumbuhannya mengalami penurunan. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa dalam meningkatkan pertumbuhan suatu tanaman dibutuhkan kadar yang sesuai. Namun, kadar optimal untuk tanaman *C. pubescens* akan berbeda dengan tanaman lainnya.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa, kebesaran dan kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan segala sesuatu menurut kadar dan ketetapan. Hal tersebut merupakan kehendak Allah SWT yang menumbuhkan

berjuta-juta sel yang berpotensi menjadi tanaman utuh. Sehingga dari penelitian ini, diharapkan sebagai makhluk ciptaan Allah untuk selalu meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada-Nya. Meningkatkan rasa syukur kepada sang pencipta alam semesta yang tiada henti memberikan kenikmatan kepada makhluknya.



BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi 2,4-D yang dapat menginduksi kalus embriogenik *C. pubescens* adalah pada konsentrasi 7,5 mg/L 2,4-D yaitu pada 24,2 HST dengan berat basah kalus 0,96 g dan persen luasan kalus pada eksplan 93,4%.
2. Konsentrasi BAP yang dapat menginduksi kalus embriogenik *C. pubescens* adalah pada konsentrasi 0,5 mg/L BAP yaitu pada 23,5 HST dengan berat basah kalus 0,96 g dan persen luasan kalus pada eksplan 95%.
3. Interaksi 2,4-D dan BAP yang dapat menginduksi kalus embriogenik *C. pubescens* adalah pada konsentrasi 7,5 mg/L 2,4-D dan 0,5 mg/L BAP yaitu pada 19 HST dengan berat basah kalus 1,09 g dan persen luasan kalus pada eksplan 99%. Dan dibuktikan dengan kalus yang berwarna kekuningan dan bertekstur remah serta memiliki inti besar, mengandung butir pati dan plastida.

5.2. Saran

Penelitian lebih lanjut diharapkan untuk:

1. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP tidak terlalu tinggi maksimal 1 mg/L.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan zat pengatur tumbuh yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1983. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Angkasa
- Al-Gendi, Amal, Riham O.B.L, Omayma, D., El-Gindi. 2013. *Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration From Callus and Suspension Cultures of Iphiona Mucronata Forssk. Eouropean Science Journal*. Vol 9. No 27
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam
- Al-Sheikh, A. B. M. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilal
- Ardiyanti, F. 2015. Morphological Characterization and Identification of *Coffea liberica* Callus of Somatic Embryogenesis Propagation. *Pelita Perkebunan*. Vol 31. No 2
- Armini, A.N. M., Wattimena dan Gunawan, L.W. 1992. *Perbanyakan Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan*. Departemen Pendidikan dan kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- 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*. Jambi: Fakultas Pertanian Universitas Jambi
- Azmin, N., Sugiyarto, dan Marsusi. 2015. Pertumbuhan Carica (*Carica pubescens*) dengan Perlakuan Dosis Pupuk Fospor dan Kalium untuk Mendukung Keberhasilan Transplantasi Di Lereng Gunung Lawu. *EL-VIVO*. Vol 3. No 1
- Azriati, E., Asmeliza, dan Nelfa, Y. 2010. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max*) terhadap Pemberian NAA secara *In Vitro*. *Jurnal Littri*. Vol 11. No 2
- Basri, A.H.H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Jurnal Agrica Ekstensia*. Vol 10. No 1
- Batthacharya, J. dan Khuspe, S.S., 2000. 2,4-5 T Induced Somatic Embryogenesis in Papaya (*Carica papaya* L.). *Journal Applied Horticultura*. Vol 2. No 2

- Bidwell, R.G.S. 1979. *Plant Physiology*. London: Mac Millan Publishing Co Inc
- Budiyanti, T., Purnomo, S., Karsinah, Wahyudi, A. 2005. Karakterisasi 88 Aksesori Pepaya Koleksi Balai Penelitian Tanaman Buah. *Buletin plasma Nutfah*. Vol 11. No 1
- Campbell, N.A, J,B Reece & L.G. Mitchell. 2005. *Biologi Eisi ke-5*. Jakarta : Erlangga
- Damayanti, D., Sudarsono, Ika, M., dan M. Herman. 2007. Regenerasi Pepaya melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen*. Vol 3. No 2
- Dewi, S.K. 2009. Analisis Strategi Pengembangan Usaha Industri Kecil olahan Carica (Studi Kasus pada Industri Kecil Olahan Carica di Kecamatan Mojotengah, Kabupaten Wonosobo). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Ekonomi dan Manajemen
- Dewita, R. 2015. Respon Eksplan Daun *Artemisia vulgaris* L. terhadap Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan 2,4-D. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas
- Dinas Pertanian Subdin Hortikultura (Distan) Kabupaten Wonosobo. 2008. *Deskripsi Usulan Flora Carica (Carica candamarcensis) Kabupaten Wonosobo*. Wonosobo: Distan Kabupaten Wonosobo
- Fatchurrozak, Suranto, dan Sugiyarto. 2013. Pengaruh Ketinggian Tempat terhadap Kandungan Vitamin C dan Zat Antioksidan pada Buah *Carica pubescens* di Dataran Tinggi Dieng. *El-Vivo*. Vol 1. No 1
- Fauzy, E., Mansyur, dan Husni, A. 2016. Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Vitamin terhadap Tekstur, Warna dan Berat Kalus Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma pada Dosis LD50 (in vitro). *Students e-Journal*. Vol 5. No 4
- Fithrotin, Y. 2017. Pengaruh Pemberian 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan Bezyladenine (BA) terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Skripsi*. Malang: UIN Malang
- George, E.F dan T.D. Sherrington. 1984. *Plan Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England: Eastern Press
- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman: PAU IPB

- Gunawan, L.W. 1995. *Teknik Kultur In Vitro dalam Holtikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Gunawan, L.W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: PAU IPB
- Guruchandran, V., dan Sasikumar, C. 2013. Organogenic Plan Regeneration Via Callus Induction in *Stevia rebaudiana* Bert. *International Journal Curr Microbiol App Sci*. Vol 2. No 2
- Haensch, K-T. 2007. Influence of 2,4-D and BAP on Callus growth and The Subsequent Regeneration of Somatic Embryos in Long-term Cultures of *Pelargonium x domesticum* cv. Madame Layal. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol 10. No 1
- Harjadi, S. 2009. *Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan pada Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Hartmann, H.T. Kester, D.E., dan Davies, F.T. 1990. *Plant Propagation: Principles and Practices. 5thed*. Singapore: Prentice Hall Inc
- Hayati, KS., Nurchayati, Y., dan Sentiari, N. 2010. Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*Medicago sativa* L.) secara *In Vitro* dengan Penambahan BAP dan NAA. *Jurnal BIOMA*. Vol 12. No 1
- Hendaryono D.P.S dan Wijayani A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Hidayat. 2001. Prospek Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) dari Sikumang, Pegunungan Dieng, Wonosobo. *Prosiding Seminar Sehari: Menggali Potensi dan Meningkatkan Prospek Tanaman Hortikultura Menuju Ketahanan Pangan. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI*. Bogor
- Hochman, K. 2007. Tanaman Carica Recipes. <http://www.thenibble.com/reviews/main/fruits/chilean-carica.asp> (diakses pada 15 Januari 2018)
- Hutami, S. 2008. Ulasan Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. Vol 4. No 2
- Ibrahim, M.S.D., Sudarsono, Rubiyo, dan Syafruddin. 2012. Pengaruh Komposisi Media terhadap Pembentukan Kalus Embriogenesis Somatik Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Buletin RISTRI*. Vol 3. Vol 1
- Indah, N. dan Dini, E. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-

Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol 2. No 1

- Indria, W. 2017. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dikhlorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Induksi Kalus dan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh *Benzyl Adenine* ((BA) terhadap induksi Kalus Embriogenik Rumput Gajah Varietas Hawaii (*Penissetum purpureum* cv. Hawaii) (in Vitro). *Student e-Journal*. Vol 6. No 1
- Kabir, H.Md. 2016. Somatic Embriogenesis and Plant Regeneration from Zygotic Embrio in *Carica papaya* L. CV. Red-Lady. *Plant*. Vol 4. No 45
- Kasi, D.P dan Sumaryono. 2008. Perkembangan Kalus Embriogenik Sagu (*Metroxylon sau Rottb.*) pada Tiga Sistem Kultur *In Vitro*. *Menara Perkebunan*. Vol 76. No 1
- Kementrian Agama Republik Indonesia. 2016. *Tafsir Ringkas Al-Qur'an Al-Karim*. Jakarta: Badan Litbang dan Diklat
- Khaniyah, S. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura prochumbens*) dengan penambahan 2,4-D dan Kinetin secara *In Vitro*. *Biosantifika*. Vol 2. No 4
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tanden Mass Spectrometry). *Skripsi*. Malang: UIN Malang
- Kristiyanto, D. H., Suranto dan Sugiyarto. 2015. Studi Variasi *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Hasil Transplantasi Di Lereng Gunung Lawu Berdasarkan Anatomi. *El-VIVO*. Vol 3. No 2
- Laily, A.N.N., Suranto, dan Sugiyarto. 2012. Characterization of *Carica pubescens* in Dieng Plateau, Central Java based on Morphological Characters, Antioxidant Capacity, Protein Banding Pattern. *Biosciense*. Vol 4. No 1
- Laily, AN. 2011. Karakterisasi *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Berdasarkan Morfologi, Kapasitas Antioksidan, dan Pola Pita Protein di Dataran Tinggi Dieng. *Tesis*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. Vol 7. No 1

- Lestari, E.G., dan Mariska, I. 2003. Pengaruh Berbagai Formulasi Media terhadap Regenerasi Kalus Padi Indica. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Tanpa Volumer. Tanpa Nomer
- Lestari, E.G., dan Yunita, R. 2008. Induksi Kalus dan Regenerasi Tunas Padi Varietas Fatmawati. *Buletin Agron.* Vol 36. No 2
- Lizawati. 2012. Proliferasi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Berbagai Kombinasi ZPT dan Asam Amino. *Jurnal Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi.* Vol 1. No 4
- Mahadi, I. 2012. Induksi Kalus Kenerak (*Goniothalamus umbrosus*) Berdasarkan Jenis Eksplan Menggunakan Metode *In Vitro*. *Jurnal Agrotek .* Vol 1. No 1
- Mahadi, I., Syafi'i, W., dan Sari, Y., 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpal*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia.* Vol 21. No 2
- Mahadi, I., Wulandari, S., dan Omar, A., 2014. Pengaruh *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi Bagi Siswa SMA. *Jurnal Biogenesis.* Vol 11. No 1
- Marlin, Yulian, dan Hermansyah. 2005. Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang "Curup" Dengan Pemberian Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor.* Vol 11.No 2
- Minarno, E. B. 2015. Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah.* Vol 5. No 2
- Minarno, E. B. 2016. Analisis Kandungan Saponin pada Daun dan Tangkai Daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. *El-Hayah.* Vol 5. No 4
- Mondal, M., Gupta, S., dan Mukherjee. 1994. Callus Culture and Planlet Production in *Carica papaya* (Var. Honey Dew). *Plant Cell Reports.* Vol 13. No 7
- Natural Resources Conservation Service. 2010. Germplasm Resources Information Network (GRIN) Taxonomy for Plants. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CAPU39> (diakses pada 15 Januari 2018)

- Neliyati. 2013. Regenerasi Embriosomatik Tengkawang (*Shorea stenoptera* Burck) pada Beberapa Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh GA3 dan BAP. *Jurnal Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi*. Vol 2. No 2
- Ngumriana, R. 2015. Strategi Pengembangan Agroindustri Pepaya Gunung (*Carica pubescens*) Studi Kasus di UKM X Kabupaten Wonosobo. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Bogor Institut Pertanian Bogor
- Nisak, K., Nurhidayati, T., dan Purwani, K.I. 2012. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol 1. No 1
- Novalina, D., Sugiyarto, dan Susilowati, A. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstran Daun *Carica pubescens* dari Dataran Tinggi Dieng terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Diare. *El-VIVO*. Vol 1. No 1
- Nugrahani, P. 2011. *Dasar Bioteknologi Tanaman Teknik Propagasi secara In Vitro*. Surabaya: Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”
- Nurhayati, N. 2012. Populasi dan Karkater Morfologi Tanaman *Carica pubescens* di Dataran Tinggi Dieng. *Tesis*. Semarang: Prodi Biosain PPS Universitas Sebelas Maret
- Peterson, G., dan Smith, R. 1991. Effect of Abscicic Acid and Callus Size on Regeneration of American and International Rice Varieties. *Plant Cell Rep*. Vol 10. Tanpa nomer
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Hinger Plant*. Netherlands: Martinus Nijhoft Publisher
- Pratiwi, E., dan Rahayu, T. 2013. Uji Hormon NAA dan BAP dalam Medium MS untuk Pertumbuhan Eksplan Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dari Berbagai Sumber Eksplan. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. Vol 1. No 1
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman mealui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin AgroBio*. Vol 5. No 2
- Pusat Perlindungan Varietas Tanman Departemen Pertanian Republik Indonesia. 2006. Panduan Pengujian Individual Kebaruan, Keunikan, Keseragaman dan Kestabilan
- Putri, Y.S. 2015. Pertumbuhan Kalus *Stevia rebaudiana* Bertoni dari Eksplan Daun dan Ruas Batang dengan Periode Subkultur Berbeda. *Skripsi*. Bogor:

Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor

- Quiroz, F., Zeel, M.Z., Teyer, F., Herrera, R., dan Vargas, L. 2002. Differential Gene Expression In Embryogenic and Non-Embryogenic Clusters from Cell Suspension Cultures of *Coffea arabica*. *Journal of Plant Physiology*. Vol 159. No 11
- Rahayu, Solichatun, B., dan Wulan, E.A. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L.. *Biofarmasi*. Vol 1. No 1
- Rahmawati, S.D. 2013. Analisis Nilai Tambah Agroindustri Olahan Carica di Kabupaten Wonosobo. *Skripsi*. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto
- Ramdan, R., Handaji, N., Beyahia, H., dan Ibriz, M. 2014. Influence of Growth Regulators on Callus Induction From Embryos of Five *Citrus rootsocks*. *Journal of Applied Bioscience*. Vol 73. Tanpa nomer
- Rastono, A., Sugiyarto dan Marsusi. 2015. Pertumbuhan Carica (*Carica pubescens*) yang Ditanam secara Tumpangsari dengan Ubi jalar (*Ipomea batatas* L.) dan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Di Lereng Gunung Lawu. *El-VIVO*. Vol 3. No 2
- Rivai, R.R., Husni, A., dan Purwito, A. 2014. Induksi Kalus dan Embrio Somatik Tanaman Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.). *Buletin Agrohorti*. Vol 2. No 1
- Riyadi, I., dan Tirtoboma. 2004. Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. *Buletin Plasma Nutfah*. Vol 10. No 2
- Robles-Martine M, Barba-de la Rosa AP. 2016. Establishment of Callus and Cell Suspensions of Wild and Domesticated *Opuntia* Species : Study in their Potential as a Source of Metabolite Production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Vol 124. No 1
- Rock, R. 2009. Product Review – Wild Mountain Papaya Extract. http://www.associatedcontent.com/article/1987516/product_review_wild_mountain_papaya.html (diakses pada 15 Januari 2018)
- Rosyidah, M., Evie, R., dan Rahayu, Y.S. 2014. Induksi Kalus Daun Melati (*Jaminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP pada Media MS secara *In Vitro*. *Lentera BIO*. Vol 3. No 3

- Rusdianto dan Indrianto, A., 2012. Induksi Kalus Embriogenik pada Wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature*. Vol 13. No 2
- Santoso, U. Dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press
- Sari, N., R. Suwarsi., dan Sumadi. 2014. Optimasi Jenis dan Konsentrasi ZPT dalam Induksi Kalus Embriogenik dan Regenerasi Menjadi Planlet pada *Carica pubescens* (Lenne & K. Koch). *Biosaintifika*. Vol 6. No 1
- Setiti, E.W.U., Sri, P.A.W., dan Sudarti, T. 1996. Peranan Media dan ZPT Untuk Induksi dan Diferensiasi Kalus pada Budidaya Jaringan Melon. *Jurnal Hortikultura*. Vol 5. No 5
- Seyyedyousefi, S.R., Kaviani, B., Dehkaei, N.P., dan Salehzadeh, A. 2013. Callus Induction in *Alstroemeria* using NAA and BAP. *Pelagia Research Library*. Vol 3. No 5
- Simirgiotis, M.J., Caligari, P.D., dan Schmeda-Hirschmann, G. 2009. Identification of Phenolic Compounds From The Fruits of The Mountain Papaya *Vasconcellea pubescens* A. DC. Grown in Chile by Liquid Chromatography-UV Detection-Mass Spectrometry. *Food Chemistry*. Vol 115. No 2
- Siregar, C. 2006. Pengaruh 2,4-D untuk Inisiasi Kalus Jaringan Nucellus *Mangifera odorta* Griff Melalui Budidaya Jaringan. *Jurnal Floratek*. Vol 2. Tanpa Nomer
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) Secara In Vitro pada Media Murashige & Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*. Vol 13. No 1
- Smith, R.H. 2000. *Plant Tissue Culture Tehniques and Experiment 2nd end*. New Delhi: Elsilver Publisher
- Sorentina, M.S.M., Haliani, Muslimin, dan Suwastika, LN. 2013. Induksi kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) lokal Palu pada Medium MS dengan Penambahan 2,4-D (2,4-Asam Dikloropenoksi Asetat) dan Air Kelapa. *Online Jurnal of Nature Science*. Vol 2. No 2
- Subarnas, A. 2011. *Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung; CV. Lubuk Agung

- Suhartati dan Nursyamsi. 2007. Pengaruh Komposisi Media WPM dan BAP pada Pertumbuhan Bibit Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Perbanyakkan secara In Vitro. *Info Hutan*. Vol 4. No 4
- Surachman, D. 2011. Teknik Pemanfaatan Air Kelapa untuk Perbanyakkan Nilam secara In Vitro. *Buletin Teknik Pertanian*. Vol 16. No 1
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius
- Suwarni dan Suprijono, A. 2014. Krim Tabir Surya Dari Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) dengan Esktrak Buah Carica (*Carica pubescens*) Sebagai SPF. E-Publikasi Fakultas Farmasi. Tanpa Vol. Tanpa No
- Suyadi, A., Purwantoro, A., dan Trisnowati, S. 2003. Penggandaan Tunas Abaca Melalui Kultur Meristem. *Ilmu Pertanian*. Vol 10. No 2
- Taryono. 2015. *Pengantar Bioteknologi*. Yogyakarta : UGM Press
- Toharah, N.I., Jekti, D.S.Y., dan Zulkifli, L. 2015. Pertumbuhan Kalus Daun Melon (*Cucumis melo*) Varietas MAI 119 dengan Pemberian BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetid Acid*). *E-journal Penelitian Pendidikan IPA*. Vol 1. No 2
- Trimulyono, G., Solichatun, dan Marliana, S.D. 2004. Pertumbuhan Kalus dan Kandungan Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Perlakuan Asam α -Naftalen Aseta (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. Vol 2. No 1
- Tsuro, M. 1998. Comparison Effect of Different Types of Cytocine for Shoot Formation and Plant Regeneration in Leaf Derivat Callus of Lavender (*Lavandura vera* DC). *Kyoto Prefucal Japan*. 606-8522
- Vilasini, P., Latipah, Z., dan Salasiah, A. 2000. Induction of Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Embryos of Eksotika papaya (*Carica papaya*). *Journal Tropical Agriculture and Food Science*. Vol 28. No 2
- Wahyuni, D.K., Prasetyo, D., dan Hariyanto, S. 2014. Perkembangan Kultur Daun *Aglaonema* sp. dengan Perlakuan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh NAA dan 2,4-D dengan BAP. *Jurnal Bioslogos*. Vol 4. No 1
- 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

- Wetter, L.R., dan Constabel, F. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung: Penerbit ITB
- Wijayanti, R dan Febrinasari, N. 2017. Karkterisasi Ekstrak Biji Pepaya (*Carica pubescen*) serta Uji Antibakteri terhadap *Enteropathogenic Eschericia coli* (EPEC) Penyebab Diare pada Mencit Jantan. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi (Journal of Pharmacy Science)*. Vol 8. No 1
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. Vol 6. No 3
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher
- Yuwono, T. 2008. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: UGM Press
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hopokkoti dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada Pemberian 2,4-D. *Jurnal Nature Indonesia*. Vol 14. No 1
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyakan Tanaman Budidaya*. Jakarta: PT. Bumi Aksara

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. DATA HASIL PENGAMATAN

1. DATA HARI MUNCUL KALUS

DATA HARI MUNCUL KALUS

No	Perlakuan		No embrio	Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	2,4-D	BAP		1	2	3	4	5		
1	0	0	1	33	35	35	34	34	335	33,5
			2	34	32	33	32	33		
		rata^		33,5	33,5	34	33	33,5		
2	0,25		1	27	27	27	27	28	270	27
			2	26	27	27	27	27		
		rata^		26,5	27	27	27	27,5		
3	0,5		1	22	22	24	24	25	234	23,4
			2	24	22	25	22	24		
		rata^		23	22	24,5	23	24,5		
4	0,75		1	24	23	25	23	23	245	24,5
			2	24	25	25	27	26		
		rata^		24	24	25	25	24,5		
5	1		1	29	30	28	28	29	288	28,8
			2	29	28	28	30	29		
		rata^		29	29	28	29	29		
6	0		1	27	27	26	25	26	263	26,3
			2	27	27	26	26	26		
		rata^		27	27	26	25,5	26		
7	0,25		1	26	26	25	25	26	256	25,6
			2	27	25	26	25	25		
		rata^		26,5	25,5	25,5	25	25,5		
8	2,5		1	24	24	25	25	25	246	24,6
			2	24	25	25	25	24		
		rata^		24	24,5	25	25	24,5		
9	0,75		1	34	34	35	35	35	345	34,5
			2	34	34	35	35	34		
		rata^		34	34	35	35	34,5		
10	1		1	39	38	39	39	38	393	39,3
			2	39	39	40	41	41		
		rata^		39	38,5	39,5	40	39,5		
11	5		1	22	21	21	20	22	216	21,6
			2	22	23	22	22	21		
		rata^		22	22	21,5	21	21,5		

12		0,25	1	21	21	22	21	21	212	21,2
			2	22	22	20	22	20		
rata^			21,5	21,5	21	21,5	20,5			
13		0,5	1	21	22	20	21	20	207	20,7
			2	20	21	22	20	20		
rata^			20,5	21,5	21	20,5	20			
14		0,75	1	33	34	33	32	33	338	33,8
			2	35	35	34	34	35		
rata^			34	34,5	33,5	33	34			
15		1	1	34	35	34	35	35	344	34,4
			2	33	33	35	35	35		
rata^			33,5	34	34,5	35	35			
16	7,5	0	1	21	20	20	21	21	200	20
			2	19	19	20	19	20		
rata^			20	19,5	20	20	20,5			
17		0,25	1	20	20	21	20	20	196	19,6
			2	20	19	20	18	18		
rata^			20	19,5	20,5	19	19			
18		0,5	1	20	21	21	21	20	190	19
			2	17	18	18	17	17		
rata^			18,5	19,5	19,5	19	18,5			
19		0,75	1	27	27	26	27	26	276	27,6
			2	29	29	28	29	28		
rata^			28	28	27	28	27			
20	1	1	35	36	35	35	35	348	34,8	
		2	33	35	35	34	35			
rata^		34	35,5	35	34,5	35				
21	10	0	1	24	24	23	23	25	238	23,8
			2	24	23	25	24	23		
rata^			24	23,5	24	23,5	24			
22		0,25	1	32	33	32	31	32	321	32,1
			2	33	32	32	31	33		
rata^			32,5	32,5	32	31	32,5			
23		0,5	1	28	28	28	29	29	298	29,8
			2	30	32	30	32	32		
rata^			29	30	29	30,5	30,5			
24		0,75	1	34	35	34	34	34	342	34,2
			2	34	34	34	35	34		
rata^			34	34,5	34	34,5	34			
25	1	1	38	37	37	38	38	377	37,7	
		2	38	38	38	38	37			
rata^		38	37,5	37,5	38	37,5				

2. DATA BERAT BASAH KALUS

DATA BERAT BASAH KALUS

No	Perlakuan		No embrio	Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	2,4-D	BAP		1	2	3	4	5		
1	0	0	1	0,312	0,436	0,308	0,392	0,427	3,763	0,3763
			2	0,418	0,304	0,483	0,372	0,311		
		rata^		0,365	0,37	0,3955	0,382	0,369		
2	0,25	0	1	0,713	0,612	0,556	0,745	0,716	6,502	0,6502
			2	0,698	0,567	0,663	0,557	0,675		
		rata^		0,7055	0,5895	0,6095	0,651	0,6955		
3	0,5	0	1	0,798	0,786	0,842	0,733	0,786	7,869	0,7869
			2	0,775	0,777	0,754	0,785	0,833		
		rata^		0,7865	0,7815	0,798	0,759	0,8095		
4	0,75	0	1	0,633	0,688	0,654	0,573	0,699	6,32	0,632
			2	0,676	0,623	0,593	0,644	0,537		
		rata^		0,6545	0,6555	0,6235	0,6085	0,618		
5	1	0	1	0,442	0,523	0,587	0,502	0,522	4,994	0,4994
			2	0,513	0,483	0,511	0,488	0,423		
		rata^		0,478	0,503	0,549	0,495	0,473		
6	2,5	0	1	0,666	0,578	0,678	0,761	0,683	6,362	0,6362
			2	0,635	0,567	0,634	0,612	0,548		
		rata^		0,6505	0,5725	0,656	0,6865	0,6155		
7	0,25	0	1	0,876	0,768	0,754	0,748	0,946	8,217	0,8217
			2	0,703	0,927	0,845	0,820	0,830		
		rata^		0,7895	0,8475	0,7995	0,784	0,888		
8	0,5	0	1	1,321	0,793	1,132	0,827	0,937	9,919	0,9919
			2	0,986	0,879	0,912	0,995	1,137		
		rata^		1,154	0,836	1,022	0,911	1,037		
9	0,75	0	1	0,746	0,677	0,658	0,784	0,672	7,007	0,7007
			2	0,658	0,789	0,635	0,695	0,693		
		rata^		0,702	0,733	0,6465	0,7395	0,6825		
10	1	0	1	0,398	0,377	0,468	0,587	0,432	4,4975	0,44975
			2	0,467	0,425	0,341	0,468	0,5345		
		rata^		0,4325	0,401	0,4045	0,5275	0,48325		
11	5	0	1	0,722	0,735	0,779	0,835	0,712	7,814	0,7814
			2	0,814	0,812	0,882	0,734	0,789		
		rata^		0,768	0,7735	0,8305	0,7845	0,7505		
12	0,25	0	1	0,967	0,887	0,794	0,887	0,846	8,755	0,8755
			2	0,874	0,896	0,978	0,792	0,834		
		rata^		0,921	0,892	0,886	0,840	0,840		

13		0,5	1	0,967	0,925	1,261	0,890	0,849	9,846	0,9846
			2	1,314	0,892	0,884	0,878	0,986		
		rata^		1,1405	0,9085	1,0725	0,884	0,9175		
14		0,75	1	0,782	0,658	0,798	0,695	0,673	7,117	0,7117
			2	0,772	0,707	0,694	0,632	0,706		
		rata^		0,777	0,6825	0,746	0,6635	0,6895		
15		1	1	0,694	0,674	0,548	0,522	0,689	6,044	0,6044
			2	0,579	0,638	0,504	0,573	0,623		
		rata^		0,6365	0,656	0,526	0,5475	0,656		
16		0	1	0,846	0,915	0,923	0,946	0,832	8,595	0,8595
			2	0,897	0,899	0,703	0,876	0,758		
		rata^		0,8715	0,907	0,813	0,911	0,795		
17		0,25	1	1,021	0,977	0,945	0,851	0,796	9,446	0,9446
			2	0,967	0,826	0,844	1,322	0,897		
		rata^		0,994	0,9015	0,8945	1,0865	0,8465		
18	7,5	0,5	1	0,996	0,986	0,914	1,467	0,977	10,931	1,0931
			2	0,987	1,621	0,997	0,997	0,989		
		rata^		0,9915	1,3035	0,9555	1,232	0,983		
19		0,75	1	0,987	0,978	0,998	0,977	1,398	10,917	1,0917
			2	0,998	1,298	0,997	0,997	1,289		
		rata^		0,9925	1,138	0,9975	0,987	1,3435		
20		1	1	0,768	0,793	0,799	0,874	0,885	8,164	0,8164
			2	0,667	0,734	0,895	0,885	0,864		
		rata^		0,7175	0,7635	0,847	0,8795	0,8745		
21		0	1	0,773	0,629	0,798	0,897	0,772	7,657	0,7657
			2	0,694	0,799	0,743	0,776	0,776		
		rata^		0,7335	0,714	0,7705	0,8365	0,774		
22		0,25	1	0,849	0,889	0,779	0,793	0,879	8,32	0,832
			2	0,856	0,786	0,867	0,874	0,748		
		rata^		0,8525	0,8375	0,823	0,8335	0,8135		
23	10	0,5	1	0,997	0,978	0,899	1,092	0,923	9,354	0,9354
			2	0,899	0,975	0,834	0,923	0,834		
		rata^		0,948	0,9765	0,8665	1,0075	0,8785		
24		0,75	1	0,679	0,709	0,693	0,794	0,745	7,08	0,708
			2	0,723	0,656	0,675	0,634	0,772		
		rata^		0,701	0,6825	0,684	0,714	0,7585		
25		1	1	0,567	0,648	0,629	0,628	0,674	6,388	0,6388
			2	0,597	0,558	0,734	0,669	0,684		
		rata^		0,582	0,603	0,6815	0,6485	0,679		

3. DATA PERSEN LUASAN KALUS PADA EKSPLAN

DATA PERSEN LUASAN KALUS PADA EKSPLAN

No	Perlakuan		No embrio	Ulangan					Jumlah	Rata- rata
	2,4-D	BAP		1	2	3	4	5		
1	0	0	1	70	80	80	70	60	740	74
			2	80	70	70	80	80		
		rata^		75	75	75	75	70		
2	0,25	0,25	1	80	80	90	80	90	870	87
			2	90	90	100	90	80		
		rata^		85	85	95	85	85		
3	0,5	0,5	1	80	90	100	80	90	900	90
			2	90	100	90	90	90		
		rata^		85	95	95	85	90		
4	0,75	0,75	1	80	80	90	90	80	840	84
			2	90	90	80	80	80		
		rata^		85	85	85	85	80		
5	1	1	1	80	80	70	80	80	760	76
			2	70	80	80	70	70		
		rata^		75	80	75	75	75		
6	0	0	1	90	80	80	90	80	880	88
			2	100	90	80	100	90		
		rata^		95	85	80	95	85		
7	0,25	0,25	1	90	100	90	80	90	920	92
			2	90	90	90	100	100		
		rata^		90	95	90	90	95		
8	0,5	0,5	1	100	90	100	90	100	970	97
			2	100	100	90	100	100		
		rata^		100	95	95	95	100		
9	0,75	0,75	1	90	80	90	90	90	900	90
			2	100	90	80	100	90		
		rata^		95	85	85	95	90		
10	1	1	1	80	70	70	80	80	760	76
			2	70	80	80	70	80		
		rata^		75	75	75	75	80		
11	0	0	1	100	100	90	100	80	940	94
			2	90	90	100	90	100		
		rata^		95	95	95	95	90		
12	0,25	0,25	1	90	100	100	100	100	970	97
			2	100	90	100	100	90		
		rata^		95	95	100	100	95		
13	0,5	1	100	100	90	90	100	980	98	

			2	100	100	100	100	100		
		rata^		100	100	95	95	100		
14		0,75	1	100	100	90	70	80	900	90
			2	80	100	100	90	90		
		rata^		90	100	95	80	85		
15		1	1	80	60	80	60	70	720	72
			2	70	80	70	70	80		
		rata^		75	70	75	65	75		
16		0	1	100	90	100	100	100	960	96
			2	90	100	90	100	90		
		rata^		95	95	95	100	95		
17		0,25	1	90	100	100	100	90	970	97
			2	100	100	90	100	100		
		rata^		95	100	95	100	95		
18	7,5	0,5	1	90	100	100	100	100	990	99
			2	100	100	100	100	100		
		rata^		95	100	100	100	100		
19		0,75	1	100	90	100	90	90	950	95
			2	90	100	90	100	100		
		rata^		95	95	95	95	95		
20		1	1	80	70	80	80	90	800	80
			2	90	80	70	90	70		
		rata^		85	75	75	85	80		
21		0	1	80	90	90	90	80	870	87
			2	90	80	100	80	90		
		rata^		85	85	95	85	85		
22		0,25	1	100	90	90	100	80	880	88
			2	90	80	100	80	70		
		rata^		95	85	95	90	75		
23	10	0,5	1	100	90	80	90	80	910	91
			2	90	100	90	100	90		
		rata^		95	95	85	95	85		
24		0,75	1	80	70	90	90	90	830	83
			2	90	90	80	80	70		
		rata^		85	80	85	85	80		
25		1	1	70	60	70	60	80	710	71
			2	80	80	60	80	70		
		rata^		75	70	65	70	75		

LAMPIRAN 2. HASIL ANALISIS VARIASI (ANAVA) DAN UJI LANJUT DMRT 5%

1. HASIL ANAVA PADA HARI MUNCUL KALUS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4512,632 ^a	24	188,026	628,851	,000
Intercept	97384,968	1	97384,968	325702,234	,000
2,4-D	852,612	4	213,153	712,886	,000
BAP	2372,732	4	593,183	1983,890	,000
2,4-D dan BAP	1287,288	16	80,455	269,082	,000
Error	29,900	100	,299		
Total	101927,500	125			
Corrected Total	4542,532	124			

a. R Squared = ,993 (Adjusted R Squared = ,992)

UJI DMRT5% 2,4-D TERHADAP HMK

HMK

Duncan^{a,b}

2,4-D	N	Subset				
		1	2	3	4	5
7,5	25	24,2000				
5	25		26,3400			
0	25			27,4400		
2,5	25				30,0600	
10	25					31,5200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

UJI DMRT5% BAP TERHADAP HMK

HMK

Duncan^{a,b}

BAP	N	Subset			
		1	2	3	4
0,5	25	23,5000			
0	25		25,0400		
0,25	25		25,1000		
0,75	25			30,9200	
1	25				35,0000
Sig.		1,000	,699	1,000	1,000

2. HASIL ANAVA PADA BERAT BASAH KALUS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Berat_basah_kalus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4,139 ^a	24	,172	34,303	,000
Intercept	73,635	1	73,635	14645,246	,000
2,4-D	1,806	4	,452	89,802	,000
BAP	1,855	4	,464	92,230	,000
2,4-D dan BAP	,478	16	,030	5,947	,000
Error	,503	100	,005		
Total	78,277	125			
Corrected Total	4,642	124			

a. R Squared = ,892 (Adjusted R Squared = ,866)

UJI DMRT 5% 2,4-D TERHADAP BERAT BASAH KALUS

Berat_basah_kalus

Duncan^{a,b}

BAP	N	Subset				
		1	2	3	4	5
1	25	,60175				
0	25		,68382			
0,75	25			,76882		
0,25	25				,82480	
0,5	25					,95838
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

UJI DMRT 5% BAP TERHADAP BERAT BASAH KALUS

Berat_basah_kalus

Duncan^{a,b}

BAP	N	Subset				
		1	2	3	4	5
1	25	,60175				
0	25		,68382			
0,75	25			,76882		
0,25	25				,82480	
0,5	25					,95838
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

3. HASIL ANAVA PADA PERSEN LUASAN KALUS PADA EKSPLAN

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persen_Luasan_Kalus_pada_Eksplan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8917,200 ^a	24	371,550	21,111	,000
Intercept	960972,800	1	960972,800	54600,727	,000
2,4-D	2087,200	4	521,800	29,648	,000
BAP	5883,200	4	1470,800	83,568	,000
2,4-D dan BAP	946,800	16	59,175	3,362	,000
Error	1760,000	100	17,600		
Total	971650,000	125			
Corrected Total	10677,200	124			

a. R Squared = ,835 (Adjusted R Squared = ,796)

UJI DMRT 5% 2,4-D TERHADAP PERSEN LUASAN KALUS PADA EKSPLAN

Persen_luasan_kalus_pada_eksplan

Duncan^{a,b}

2,4-D	N	Subset		
		1	2	3
0	25	82,2000		
10	25	84,0000		
2,5	25		88,6000	
5	25		90,2000	
7,5	25			93,4000
Sig.		,132	,181	1,000

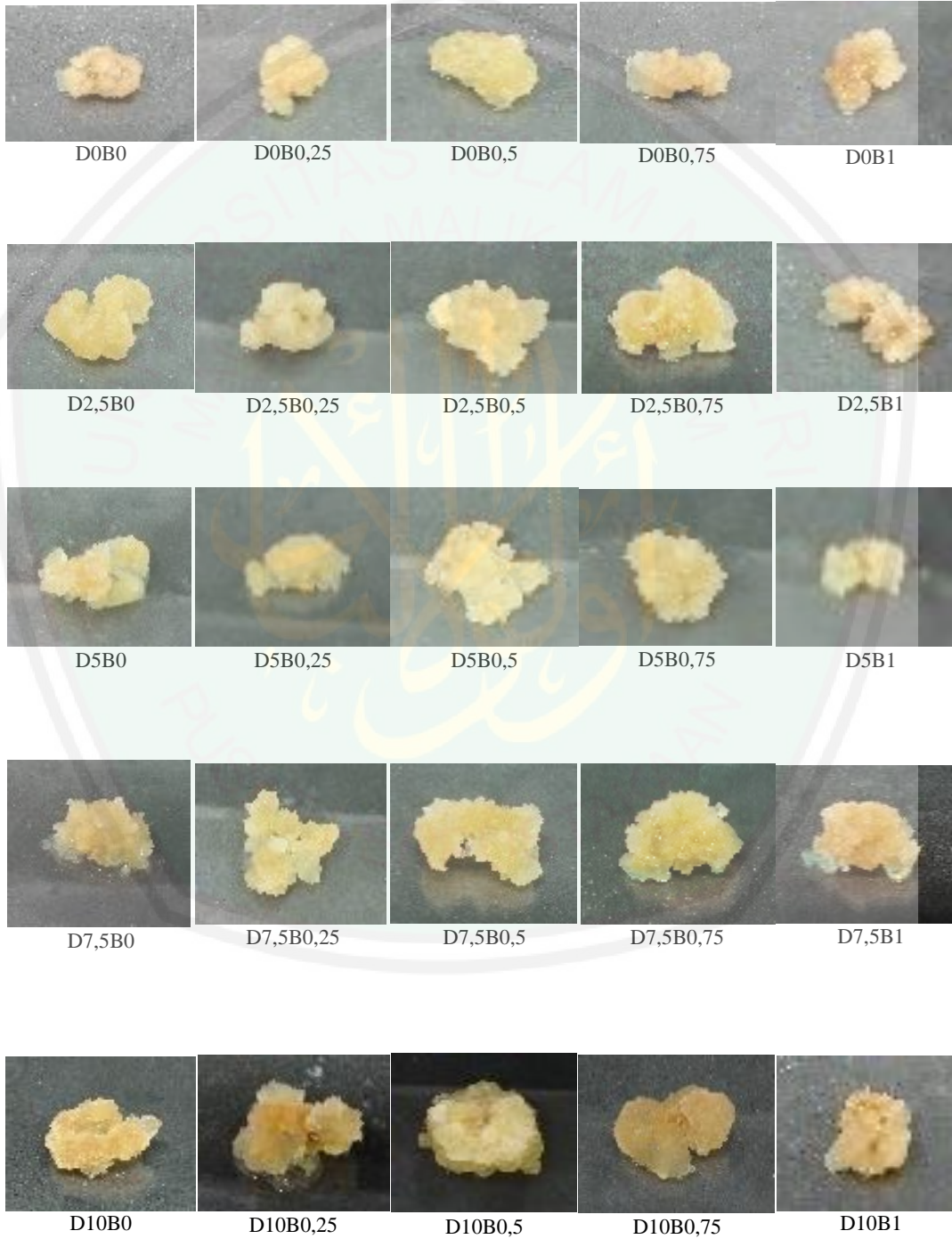
UJI DMRT 5% BAP TERHADAP PERSEN LUASAN KALUS PADA EKSPLAN

Persen_eksplan_berkalus

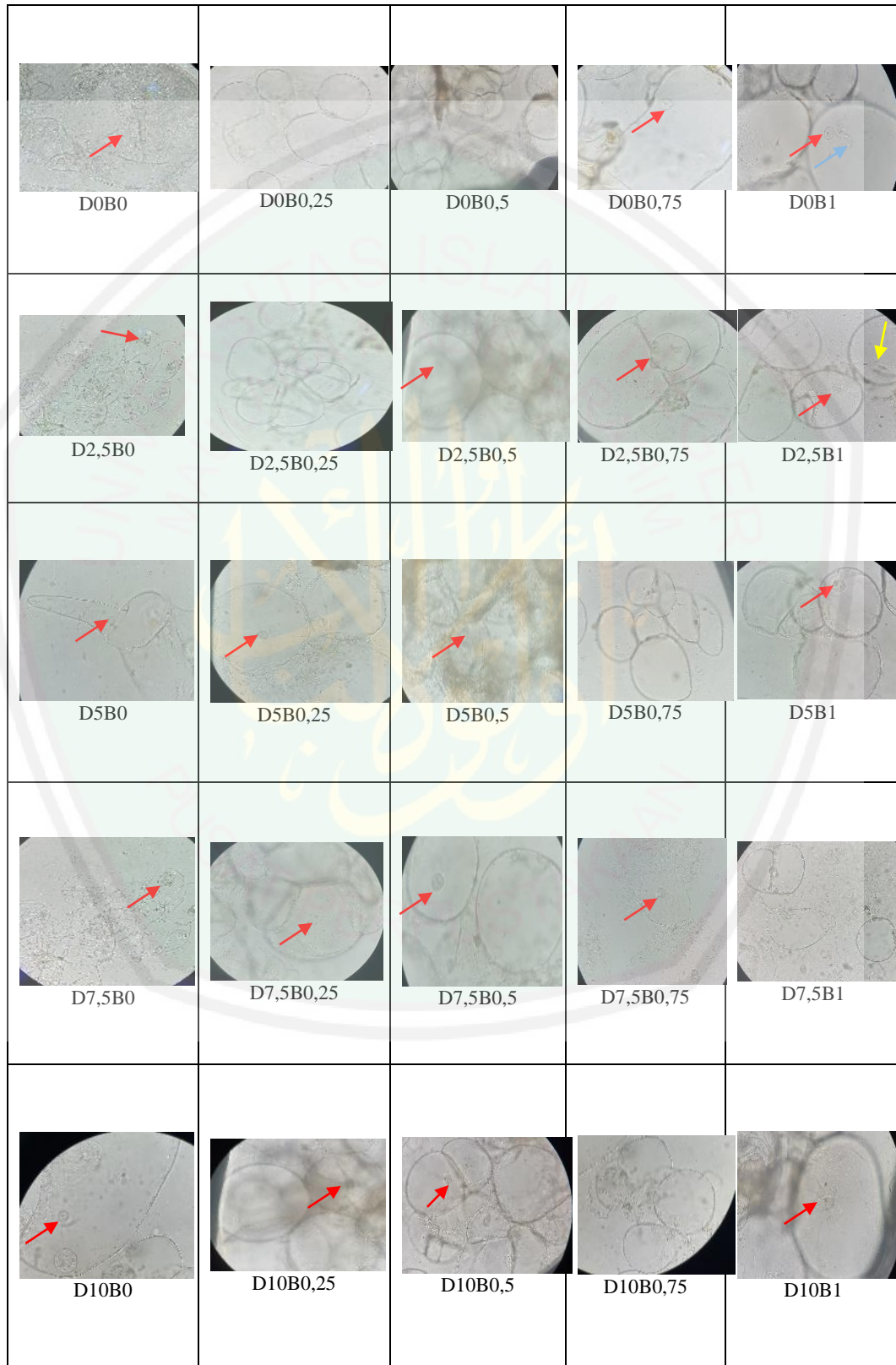
Duncan^{a,b}

BAP	N	Subset			
		1	2	3	4
1	25	75,0000			
0	25		87,8000		
0,75	25		88,4000		
0,25	25			92,2000	
0,5	25				95,0000
Sig.		1,000	,614	1,000	1,000

LAMPIRAN 3. GAMBAR HASIL PENGAMATAN MORFOLOGI DAN ANATOMI
1. MORFOLOGI



2. ANATOMI








LAMPIRAN 4. ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

		
LAF	Oven	Autoklaf
		
Hot plate	Timbangan analitik	Saringan. Botol kultur, pinset, scalpel, cawan petri, mata pisau
		
PH meter	Beaker glass, gelas ukur	Plastik dan karet

		
<p>HCL dan NAOH</p>	<p>Bayclin</p>	<p>Larutan Stok Media MS, 2,4-D dan BAP</p>
		
<p>Alkohol 70% Dan 96%</p>	<p>Gula</p>	<p>Eksplan Embrio <i>Carica pubescens</i> Lenne & K. Koch</p>

LAMPIRAN 5. FOTO KEGIATAN

		
Persiapan Sebelum Inisiasi	Proses inisiasi	Bahan sterilisasi dalam
		
Pengambilan eksplan	Pemotongan eksplan	

LAMPIRAN 6. MEDIA Murashige and Skoog (MS)**Lampiran 1 Komposisi media media dasar Murashige-Skoog (MS)**

Unsur Hara Makro	Bahan Kimia (mg L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1 650
KNO ₃	1 900
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Unsur Hara Mikro	Bahan Kimia (mg L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	22.3
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	8.6
KI	6.2
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.83
MnSO ₄ .4H ₂ O	0.025
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8

Lampiran 2 Komposisi vitamin Murashige-Skoog (MS)

Vitamin	Bahan Kimia (mg L ⁻¹)
Glycine	0.2
Myoinositol	100
Nicotinic Acid	0.05
Pyridoxine HCl (B6)	0.05
Thiamine HCl (B1)	0.01



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

Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : I'anatur Rofiqoh
NIM : 14620029
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018-2019
Pembimbing : Shinta, M.Si
Judul Skripsi : Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6-Benzylaminopurin) secara *In Vitro*

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10 Januari 2018	Judul penelitian	1. <i>Shinta</i>
2.	14 Januari 2018	BAB I	2. <i>Shinta</i>
3.	12 April 2018	BAB II	3. <i>Shinta</i>
4.	13 April 2018	BAB III	4. <i>Shinta</i>
5.	14 April 2018	ACC proposal skripsi	5. <i>Shinta</i>
6.	21 September 2018	Konsultasi hasil	6. <i>Shinta</i>
7.	28 September 2018	Konsultasi hasil	7. <i>Shinta</i>
8.	3 Oktober 2018	BAB IV dan BAB V	8. <i>Shinta</i>
9.	5 Oktober 2018	ACC skripsi	9. <i>Shinta</i>

Mengetahui,
Ketua Jurusan



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

Malang, 05 Oktober 2018
Pembimbing Skripsi

Shinta
Shinta, M.Si

NIDT. 19880110 20160801 2 064



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/Faks. (0341) 558933

Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : I'anatur Rofiqoh
NIM : 14620029
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil TA. 2018-2019
Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
Judul Skripsi : Induksi Kalus Embriogenik *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxy acetic Acid (2,4-D) dan BAP (6-Benzylaminopurin) secara *In Vitro*


No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	12 April 2018	Integrasi BAB I dan BAB II	1.
2.	13 April 2018	Revisi Integrasi BAB I dan BAB II	2.
3.	15 April 2018	ACC proposal skripsi	3.
4.	3 Oktober 2018	Integrasi BAB IV	4.
5.	5 Oktober 2018	ACC skripsi	5.

Mengetahui,
Dua Jurusan



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

Malang, 05 Oktober 2018
Pembimbing Skripsi



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008