

**PENGARUH 2,4-D DAN BAP DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI
TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DAUN WUNGU
(*Graptophyllum pictum* L. Griff.)**

SKRIPSI

Oleh:
DIAN EKA SARI
NIM. 13620057



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

**PENGARUH 2,4-D DAN BAP DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI
TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DAUN WUNGU
(*Graptophyllum pictum* L. Griff.)**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**OLEH:
DIAN EKA SARI
NIM. 13620057**

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

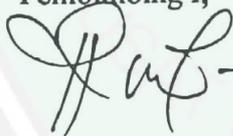
HALAMAN PERSETUJUAN
PENGARUH 2,4-D DAN BAP DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI
TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DAUN WUNGU
(*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

SKRIPSI

OLEH:
DIAN EKA SARI
NIM. 13620057

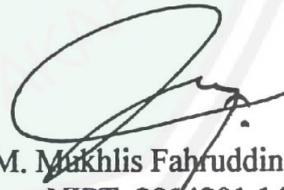
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 15 Agustus 2018

Pembimbing I,



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

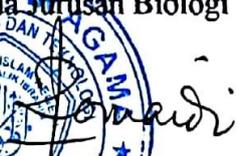
Pembimbing II,



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

Mengetahui
Kepala Jurusan Biologi




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

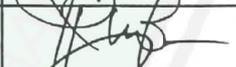
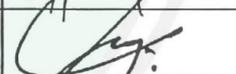
HALAMAN PENGESAHAN
PENGARUH 2,4-D DAN BAP DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI
TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DAUN WUNGU
(*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

SKRIPSI

OLEH:
DIAN EKA SARI
NIM. 13620057

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

Tanggal 15 Agustus 2018

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



Mengejahui,
Ketua Jurusan Biologi


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

PERNYATAAN KEASLIHAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dian Eka Sari
NIM : 13620057
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Pengaruh 2,4-D Dan BAP dengan Berbagai Konsentrasi terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* L. Griff.)

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

Malang, 05 Agustus 2018
Yang membuat pernyataan,



Dian Eka Sari
NIM. 13620057

MOTTO

**Dialah Sabar Jadi Teman Perjalanan dan Cukup
Allah Yang Jadi Sandaran.**

~ Give Your Best, Let Allah Do The Rest ~



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, tiada kata terindah selain syukur kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, yang mengizinkan aku menimbah sebagian dari ilmu-Nya ini. Shalawat dan salam tetap terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya ini untuk orang-orang yang aku cintai,

Kedua orang tua ku, Bapak Winarno dan Ibu Siswati yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, nasihat dan do'a yang tiada henti dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Terimakasih Dian ucapkan dengan ketulusan hati, semoga kelak Dian bisa menjadi orang yang kalian harapkan.

Adikku, Desi Dwi Lestari dan Muhammad Hafidz Nurfian yang menjadi salah satu motivasi dan penyemangatku dikala sedih, susah dan malas ^^.

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada sahabatku, Yayang Nia Purnawati Syarif dan Deshita M. Ditya yang telah menjadi keluarga kecilku. Terima kasih telah mendengar setiap keluh kesahku, kerewelanku dan selalu memberi nasihat, motivasi dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

Buat teman-teman seperjuanganku Biologi 13 khususnya Yayang, Kamilia, Rizky, Nadia, Muzdalifah, Pipit, Ismi dan team KJT 14 (Maslahah, Masluhah, Khusnia, Endah, Monik, Miftah dan Ana) terima kasih sudah memberi motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarokatuh

Syukur *Alhamdulillah* penulis haturkan kepada Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh 2,4-D dan BAP Dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff)” ini. Shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

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

1. Prof. Dr. 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. Dr. Dwi Suheriyanto, M.Si, selaku wali dosen yang telah memberikan motivasi, masukan dan bimbingan dari semester 1 hingga saat ini.
5. Ruri Siti Resmisari, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I, selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan bimbingan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Suyono M.P., selaku penguji ujian skripsi yang telah memberikan bimbingan, masukan dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini.

8. Segenap sivitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh Bapak atau Ibu Dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Kedua orang tua penulis Bapak Winarno dan Ibu Siswati serta adik Desi dan Hafidz tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
10. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2013 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

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

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGAJUAN | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| MOTTO | vi |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| ABSTRAK | xv |
| ABSTACT | xvi |
| ملخص البحث | xvii |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 8 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 8 |
| 1.4 Hipotesis Penelitian | 9 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 9 |
| 1.6 Batasan Masalah | 11 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Tanaman Wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff) | 12 |
| 2.1.1 Tanaman Wungu dalam perspektif Islam | 12 |
| 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Wungu | 13 |
| 2.1.3 Deskripsi Tanaman Wungu | 14 |
| 2.1.4 Kandungan dan Pemanfaatan Daun Wungu | 16 |
| 2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan | 17 |
| 2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tanaman | 17 |
| 2.2.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tanaman | 19 |
| 2.3 Kultur Kalus Embriogenik | 21 |
| 2.3.1 Tekstur Kalus | 22 |
| 2.3.2 Warna Kalus | 23 |
| 2.3.3 Berat Kalus | 24 |

| | |
|---|----|
| 2.3.4 Anatomi Kalus | 25 |
| 2.4 Zat Pengatur Tumbuh | 26 |
| 2.4.1 2,4-D (<i>2,4 Dichlorophenoxy Acetid Acid</i>) | 27 |
| 2.4.2 BAP (<i>6-Benzyl Aminopurine</i>) | 29 |
| 2.4.3 Kinerja 2,4-D dan BAP | 31 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Waktu dan Tempat | 33 |
| 3.2 Rancangan Penelitian | 33 |
| 3.3 Variabel Penelitian | 34 |
| 3.4 Alat dan Bahan | 34 |
| 3.4.1 Alat | 34 |
| 3.4.2 Bahan | 34 |
| 3.5 Prosedur Penelitian | 35 |
| 3.5.1 Pembuatan dan Sterilisasi Media | 35 |
| 3.5.2 Sterilisasi Alat | 35 |
| 3.5.3 Sterilisasi Ruang Tanam | 36 |
| 3.5.4 Sterilisasi Eksplan | 36 |
| 3.5.5 Inisiasi Eksplan | 36 |
| 3.5.6 Pengamatan | 37 |
| 3.6 Analisis Data | 38 |
| 3.7 Skema Penelitian | 39 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu | 40 |
| 4.2 Pengaruh Pemberian BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu | 47 |
| 4.3 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu | 53 |
| 4.4 Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Morfologi dan Anatomi Kalus Daun Wungu..... | 60 |
| 4.5 Kajian Hasil Penelitian Dalam Perspektif Islam | 69 |
| BAB V PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan | 77 |
| 5.2 Saran | 78 |
| DAFTAR PUSTAKA | |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

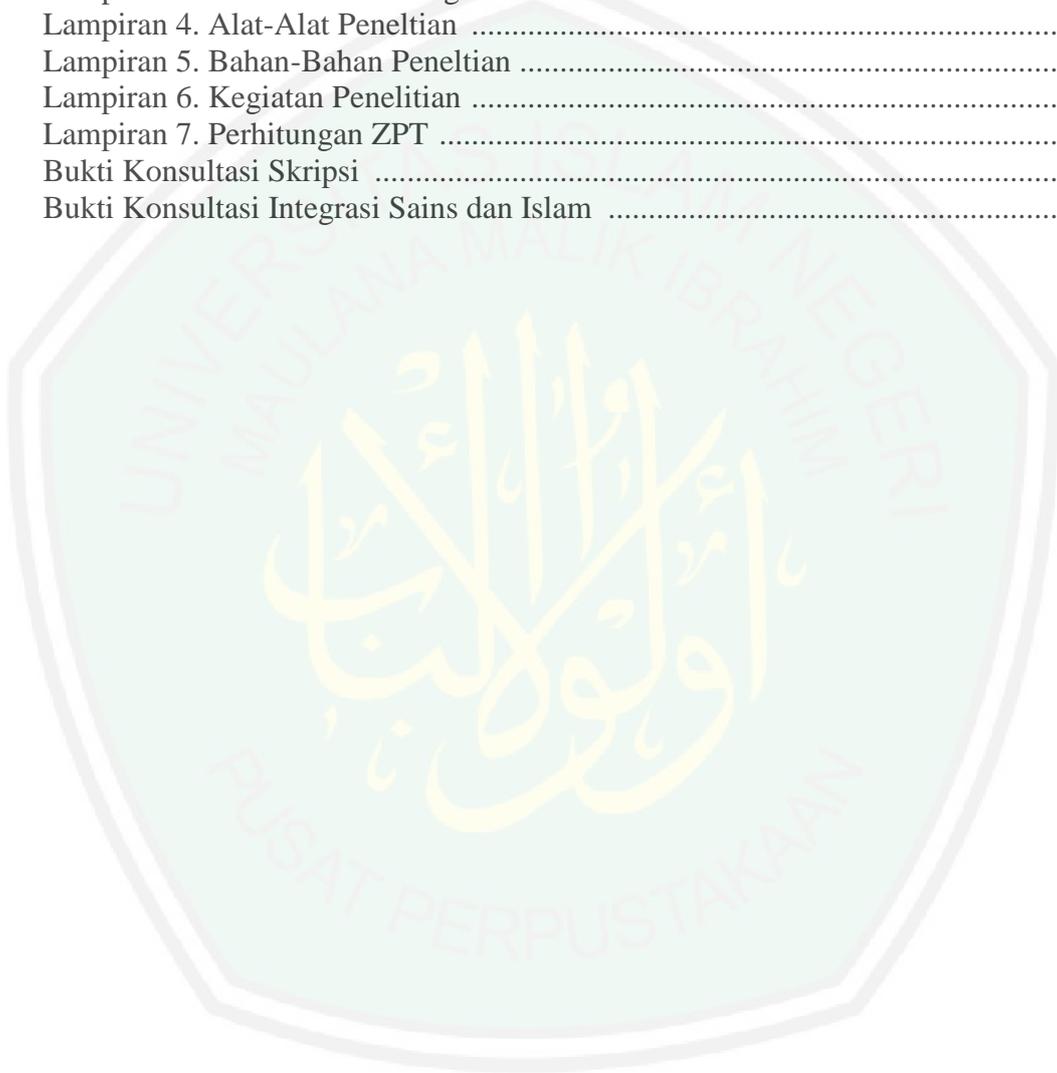
| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Keragaan Tanaman Wungu | 15 |
| Gambar 2.2 Proses Pembentukan Embriogenesis Somatik | 22 |
| Gambar 2.3 Struktur Kalus Daun Ramin Pada Perlakuan 2,4-D | 23 |
| Gambar 2.4 Warna Kalus Daun Ramin | 24 |
| Gambar 2.5 Anatomi Kalus | 25 |
| Gambar 2.6 Struktur Kimia 2,4-D | 28 |
| Gambar 2.7 Struktur Kimia BAP | 30 |
| Gambar 2.8 Interaksi Auksi dan Sitokonin dalam Kultur Jaringan Tumbuhan..... | 31 |
| Gambar 3.1 Skema Penelitian | 39 |
| Gambar 4.1 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l) | 44 |
| Gambar 4.2 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l) | 45 |
| Gambar 4.3 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l) | 46 |
| Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l) | 50 |
| Gambar 4.5 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l) | 51 |
| Gambar 4.6 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l) | 52 |
| Gambar 4.7 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l) | 57 |
| Gambar 4.8 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l) | 58 |
| Gambar 4.9 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l) | 59 |
| Gambar 4.10 Histologi Kalus daun wungu | 67 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP | 33 |
| Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian 2,4-D terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 40 |
| Tabel 4.2 Ringkasan Hasil Uji DMRT 5% pengaruh pemberian 2,4-D terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 41 |
| Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian BAP terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 47 |
| Tabel 4.4 Ringkasan Hasil Uji DMRT 5% pengaruh pemberian BAP terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 48 |
| Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 53 |
| Tabel 4.6 Ringkasan Hasil Uji DMRT 5% pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 54 |
| Tabel 4.7 Warna dan Tekstur Kalus Daun Wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff.) | 60 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|-----|
| Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan | 88 |
| Lampiran 2. Hasil Uji Anava dan Uji Lanjut DMRT 5% | 89 |
| Lampiran 3. Gambar Hasil Pengamatan | 98 |
| Lampiran 4. Alat-Alat Penelitian | 100 |
| Lampiran 5. Bahan-Bahan Penelitian | 101 |
| Lampiran 6. Kegiatan Penelitian | 102 |
| Lampiran 7. Perhitungan ZPT | 103 |
| Bukti Konsultasi Skripsi | 104 |
| Bukti Konsultasi Integrasi Sains dan Islam | 105 |



ABSTRAK

Dian Eka Sari. 2018. **Pengaruh 2,4-D dan BAP dengan Berbagai Konsentrasi terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff).** Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Ruri Siti Resmisari, M.Si (II) M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci : Daun wungu, kalus, Embriogenik, 2,4-D, BAP

Daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) merupakan tanaman obat yang layak dikembangkan sebagai salah satu tanaman obat unggulan asli Indonesia. Daun wungu mengandung alkaloid yang tidak beracun, glikosida, dan flavonoid yang kuat serta memiliki aktivitas anti-inflamasi, anti-plak, anti-oksidan, anti-bakteri, anti-diabetes dan sebagainya. Kebutuhan tanaman obat ini semakin meningkat sehingga perlu pengembangan dan budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP serta kombinasinya dalam menginduksi kalus embriogenik daun wungu. Sehingga dapat dijadikan acuan dalam upaya perbanyakan bibit tanaman wungu secara in vitro.

Penelitian ini bersifat eksperimental, dengan menggunakan desain rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktor, 25 kombinasi perlakuan dalam 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D, yaitu 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, dan 2 mg/l. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP, yaitu 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, dan 2 mg/l. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif yang akan dianalisis menggunakan ANAVA dua jalur dengan $\alpha = 5\%$ dan diuji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf signifikansi 5%, serta uji regresi korelasi. Data kualitatif dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 0.5 mg/l 2,4-D memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus daun wungu, yaitu 16 HST, persentase tumbuh kalus pada eksplan 28,2% dengan berat basah kalus 0,04634 gr. Konsentrasi 0.5 mg/l BAP hanya berpengaruh nyata pada hari muncul kalus yaitu 18 HST. Konsentrasi kombinasi 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP juga menunjukkan pengaruh nyata pada induksi kalus daun wungu, yaitu 12 HST, dan persentase tumbuh kalus pada eksplan 73,3% dengan berat basah kalus 0,12307 gr. Morfologi dan Anatomi yang mencirikan kalus embriogenik yaitu pada perlakuan 0.5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP.

ABSTRACT

Dian Eka Sari. 2018. **The Influence of 2,4-D and BAP with Various Concentrations Toward Wungu Leaf Embryogenic Callus Induction (*Graptophyllum pictum* L.Griff)**. Thesis. Biology Department of Technology and Science Faculty, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisors: (I) Ruri Siti Resmisari, M.Si (II) M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: Wungu Leaf, Callus, Embryogenic, 2,4-D, BAP

Wungu leaf (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) is medicinal plants that are suitable to be developed as one of the superior original Indonesian medicinal plants. Wungu leaf contains non-toxic alkaloids, glycosides, strong flavonoids and it has anti-inflammatory, anti-plaque, anti-oxidant, anti-bacterial, anti-diabetic activities and so on. The need of medicinal plants is more increasing so it needs the development and cultivation. This study aims to know the influence of 2,4-D and BAP concentrations and their combinations in inducing embryogenic callus of wungu leaf. Therefore, it can be used as a reference in multiplication of Wungu seeds in vitro.

This study was experimental by using Completely Randomized Design of 2 factors, 25 treatment combinations in 3 replications. The first factor is the concentration of 2,4-D, which is 0 mg / l, 0.5 mg / l, 1 mg / l, 1.5 mg / l, and 2 mg / l. The second factor is BAP concentration, which is 0 mg / l, 0.5 mg / l, 1 mg / l, 1.5 mg / l, and 2 mg / l. The data obtained was quantitative data that will be analyzed by using two-way ANAVA with $\alpha = 5\%$ and further tested by using DMRT with a significance level of 5%, and correlation regression test. Qualitative data was analyzed by using descriptive analysis.

The results showed that the concentration of 0.5 mg / l 2,4-D gave real influence toward the induction of wungu leaf callus, which was 16 HST, with the percentage of callus growth on explants was 28.2% with callus wet weight 0.04634 gr. The concentration of 0.5 mg / l BAP only had real influence on the day the callus appeared which was 18 HST. The combination concentration of 1 mg / l 2,4-D + 0 mg / l BAP also showed real influence on the induction of wungu leaf callus, which was 12 HST, and the percentage of callus growth on explants was 73.3% with callus wet weight of 0.12307 gr. Morphology and anatomy that characterizes embryogenic callus, which is in the treatment of 0.5 mg / l 2,4-D + 0 mg / l BAP.

ملخص البحث

ديان ايكا ساري. 2018. تأثير 2،4،دو BAP مع تركيزة متنوعة على تحريض الكالس الجنيني لاوراق وونغو (*Graptophyllum pictum* L.Griff). البحث الجامعي. قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. الاشراف: رورى ستي ريسميسارى، الماجستير، و م. مخلص فحر الدين، الماجستير

الكلمات الرئيسية: أوراوقونغو، الكالس، الجنيني، 2،4،دو BAP

أوراق وونغو هي النباتات الطبية التي تنبغى باعتبارها النباتات الطبية الأم فيايندونيسيا. أوراق وونغوتحتوي على قلويدات التي هي غير سامة، وجليكوسيدات وفلافونيدات وقوية ولها نشاط مضاد للالتهابات، والمضادة للوحة، المضادة للأكسدة، والمضادة للبكتيريا، والمضادة السكري وغيرها. الحاجة إلى هذه النباتات الطبية آخذة زيادة جدا ، لذا تحتاج إلى تنمية وزراعة. يهدف هذا البحث إلى تحديد تأثير 2،4،دو BAP مع تركيزة متنوعة على تحريض الكالس الجنيني لاوراق وونغو. بحيث يمكن ان يستخدمه كمرجع في الجهود المبذولة لضرب بذور نباتوونغو في المختبر.

هذا البحث هو تجريبيااستخدام تصميم العشوائيةالكاملة (RAL) العاملين، 25 تركيبات معالجات في 3 مكررات. العامل الأول هو تركيز 2،4-د، أي 0 ملغ/لتر، و 0.5 ملغم/لتر، و 1 ملغ/لتر، و 1.5 ملغم/لتر و 2 ملغ/لتر. العامل الثاني هو تركيز BAP ، اي 0 ملغ/لتر ، و 0.5 ملغ/لتر ، و 1 ملغ/لتر ، و 1.5 ملغ/لتر ، و 2 ملغ/لتر. البيانات هي في شكل البيانات الكمية التي ستحللها باستخدام ANOVA حارتين مع $\alpha=5\%$ واختبرتها باستخدام اختبار DMRT مع مستوى الدلالة 5٪، واختبار الارتباط الانحدار. تحليل البيانات النوعية هو باستخدام التحليل الوصفي.

دلت النتائج أن تركيز 0.5 ملغ/لتر 2،4د تأثير كبير على تحريض الكالس الجنيني لاوراق وونغو، أي 16 HST، نسبة النمو الكالس في ازدرع هي 28.2٪ مع الوزن الرطب الكالس فهو 0.04634 غم. تركيز 0.5 ملغ/لتر BAP يؤثر فقط كبيرا على يوم ظهور الكالس يعني HST 18. أظهر تركيز مزيج 1 ملغ/لتر 2،4د+0 ملغ/لتر BAP يؤثر أيضا حقيقة على تحريض الكالس الجنيني لاوراق وونغو، يعني HST 12، ونسبة النمو الكالس على ازدرع 73.3٪ مع مع الوزن الرطب الكالس فهو 0.12307 غرام. مورفولوجيا وعلم التشريح يميزان الكالس الجنيني على معالجة 0.5 ملغ/لتر 2،4-د+0 ملغ/لتر BAP.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah Subhana Wa Ta'ala menciptakan tumbuhan dengan segala manfaat pentingnya yang dapat digunakan oleh manusia dalam menunjang kehidupannya. Adapun manfaat tumbuhan itu diantaranya sebagai sumber oksigen, sandang, pangan, papan dan juga pengobatan. Sebagaimana firman Allah dalam Al-Quran Surah asy-Syu'ara (26): 7;

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

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S asy-Syu'ara (26): 7)

Menurut Tafsir Al-Qurtubhi (2000), “*Karim*” artinya baik dan mulia. Asal kata “*al-Karim*” dalam bahasa arab adalah *al-Fadl* (keutamaan). Kata ini mengacu pada kata “*Anbatsna*” yang berarti menumbuhkan tanaman. Sehingga sebagaimana ayat Al-Quran dan tafsir tersebut, Allah Subhana Wa Ta'ala telah menciptakan bumi ini dengan menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Salah satunya adalah tanaman daun wungu yang memiliki berbagai manfaat.

Daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) merupakan tanaman obat dari family Acanthaceae yang layak dikembangkan sebagai salah satu tanaman obat unggulan asli Indonesia. Tanaman ini telah lama dimanfaatkan sebagai obat

tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Orang Sunda menggunakannya untuk mencegah infeksi setelah melahirkan, mengembalikan stamina, menormalkan kembali ukuran rahim, membersihkan rahim dari darah putih, merangsang produksi ASI, dan mengurangi berat badan (Bermawie *et. al.*, 2006). Olagbende-Dada (2009) melaporkan bahwa daun wungu memiliki aktivitas anti implantasi, sehingga ampuh untuk mengobati bisul, abses dan wasir. Srinivasan (2011) menambahkan bahwa daun wungu juga mampu dalam mengobati sembelit, rematik, infeksi saluran kemih, kudis, hepatomegali, dan penyakit telinga. Selain itu, daun wungu dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi, anti-plak, anti-oksidan, anti-bakteri dan anti-diabetes (Ozaki, 1989; Endang, 2005; Jiangseubchatvera, 2015; Olagbende-Dada SO, 2011).

Daun wungu mengandung alkaloid bebas yang tidak beracun. Jika dilakukan penyulingan uap, daunnya memberikan zat berbau sugesif dari kumarin yaitu senyawa dari minyak atsiri yang memiliki aktivitas anti penggumpalan (Wilson, 2010; Salisbury, 1995). Pemanfaatan daun wungu sebagai bahan baku obat telah digunakan oleh Industri Kecil Obat Tradisional di Jawa, Bali dan Nusa Tenggara sebanyak 10.253 kg/tahun (Kemala, *et. al.*, 2003), Industri Obat Tradisional Indonesia sekitar 30 ton/tahun dan perusahaan jamu berskala nasional yang memerlukan 1-2 ton daun ungu setiap bulannya (Pusat Studi Biofarmaka IPB, 2008).

Besarnya kebutuhan daun wungu ini, maka perlu dilakukan pengembangan dan budidaya. Di Indonesia, tanaman ini biasanya diperbanyak secara konvensional yaitu dengan cara distek karena sulit terbentuk biji yang menyebabkan pengaturan

benih dan jumlah bibit terbatas. Namun perbanyak secara stek memiliki kendala yaitu adanya serangan larva *Doleschallia bisaltide* yang menyebabkan penurunan hasil stek hingga 70% (Khumaida, 2008). Menurut Wilson (2010) perbanyak melalui metode konvensional tidak berhasil karena endopatogen. Selain kendala tersebut, Isnawati dalam Novita (2012) menyatakan bahwa dalam stek tanaman wungu memiliki kelemahan diantaranya, mudah terserang hama dan penyakit, dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti musim dan cuaca, membutuhkan tunas-tunas aksilar yang banyak, dan apabila bagian organnya di potong/dipetik akan mengalami penurunan pertumbuhan. Sehingga perlu dilakukan upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut.

Upaya tersebut salah satunya melalui teknik kultur jaringan tumbuhan. Sebagaimana firman Allah Subhana Wa Ta'ala dalam surah al-Waqiah ayat 62-64;

وَلَقَدْ عَلِمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾ أَفَرَأَيْتُمْ مَا كَحَرْتُونَ ﴿٦٣﴾ ءَأَنْتُمْ
تَزْرَعُونَهُۥٓ أَمْ نَحْنُ الزَّارِعُونَ ﴿٦٤﴾

Artinya: “(62) dan Sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, Maka Mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)? (63) maka Terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam (64) kamukah yang menumbuhkannya atau Kamikah yang menumbuhkannya?” (Q.S al-Waqiah (56): 62-64)

Menurut tafsir al-Mishbah kata “*Tadzakkaruuna*” asalnya adalah “*Tatadzakkaruuna*”, berbentuk kata kerja *mudhari* (masa lampau) (Shihab, 2001). Hal ini mengisyaratkan bahwa kalau pada masa lalu kamu (manusia) belum

mengambil pelajaran, sehingga diharapkan untuk masa kini dan masa yang akan datang, manusia secara bersungguh-sungguh menarik pelajaran.

Dijelaskan juga dalam tafsir al-Maraghi kata "*Tahrutsun*" memiliki arti yang menyebarkan bijinya dan mengelolah tanahnya, sedangkan kata "*Tazra'unahu*" memiliki arti menumbuhkan dan menjadikannya tumbuhan yang berkembang (al-Maraghi, 1992). Penjelasan dari tafsir di atas dapat diambil pelajaran bahwa manusia mampu menyebarkan benih dan mengolah tanahnya, tetapi yang menumbuhkan dan menjadikannya berkembang di atas tanah dengan segala unsur hara didalamnya hanya Allah Subhana Wa Ta'ala dan atas kehendak-Nya. Dari sini kita bisa menerapkannya pada kultur jaringan tumbuhan, yaitu teknik perbanyakan dengan mengisolasi bagian tumbuhan dan menumbuhkannya kembali (atas kehendak Allah) menjadi tanaman lengkap dalam media yang sudah dimodifikasi dalam kondisi aseptis. Apalagi perbanyakan melalui kultur jaringan pada tanaman daun wungu belum banyak dilakukan.

Perbanyakan melalui kultur jaringan tumbuhan memiliki potensi yang besar. Zulkarnain (2009) mengungkapkan bahwa penggunaan teknik ini dinilai memiliki banyak manfaat, diantaranya yaitu menghasilkan tanaman yang secara genetik identik dengan induknya, menghasilkan jutaan klon dalam waktu singkat hanya dari sejumlah kecil material awal, menawarkan suatu alternatif bagi spesies-spesies yang resisten terhadap sistem perbanyakan generative dan konvensional dengan melakukan manipulasi terhadap faktor-faktor lingkungan.

Tahap awal perbanyakan dalam kultur jaringan tumbuhan ialah induksi kalus embriogenik. Menurut Malikhah (2007) tujuan dari induksi kalus

embriogenik yaitu untuk memperbanyak sel secara masal dan setiap selnya memiliki kemampuan membentuk organisme baru melalui embriogenesis dan organogenesis. Oleh karena itu pada penelitian ini, diharapkan dengan menginduksi kalus embriogenik, pemenuhan bibit daun wungu dapat dicapai dalam waktu singkat dan hasil yang banyak. Adapun ciri-ciri kalus embriogenik ialah tekstur kalus remah dan mudah terurai, warna kalus putih kekuningan hingga putih susu, tidak mudah terjadi oksidasi zat fenolik dan sel-selnya mudah berkembangbiak (Mahadi, 2012). Struktur kalus remah sangat berkolerasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus yang cepat. Untuk mendapat kalus yang demikian, bergantung pada sejumlah variabel diantaranya pilihan eksplan, modifikasi media kultur (jenis media dan zat pengatur tumbuh) dan faktor lingkungan (pH, suhu, cahaya, aerasi) (Malikah, 2007).

Eksplan (bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan inokulum awal) dalam penelitian ini berupa daun muda yang berada pada nomor dua dari pucuk. Sebagaimana diungkapkan oleh Sitinjak *et. al.* (2006) bahwa bagian tanaman yang digunakan, muda tidaknya eksplan dan ukuran eksplan menentukan keberhasilan kultur jaringan tumbuhan. Wattimena (1992) menambahkan bahwa kalus embriogenik dapat diperoleh dari jaringan tanaman yang masih meristematik yaitu daun muda, tunas, ujung akar, epikotil dan hipokotil kecambah serta kotiledon muda. Sehingga peneliti memilih eksplan tersebut karena daun pada posisi nomor dua (dari pucuk) masih muda, meristematik, teksturnya lebih kuat dan diduga kandungan auksinnya lebih sedikit dibanding daun nomor satu dari pucuk.

Media juga menjadi penentu keberhasilan kultur jaringan karena tidak semua eksplan dapat tumbuh pada media yang sama. Media dasar yang luas pemakaiannya yaitu MS (*Murashige and Skoog*). Menurut Kardaji dan Bukhory (2008), media MS terdiri dari komposisi garam anorganiknya yang tinggi, unsur makro, mikro dan karbohidrat yang pada umumnya berupa sukrosa atau gula. Hasil kultur jaringan akan lebih baik apabila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin, asam amino dan ZPT. Golongan ZPT (zat pengatur tumbuh) yang sangat penting dalam kultur jaringan tumbuhan adalah auksin dan sitokinin. Auksin dan sitokinin yang diberikan baik secara eksogen maupun dari tanaman itu sendiri (endogen) tidak bekerja sendiri-sendiri tetapi saling berinteraksi dalam mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Karjadi dan Bukhory, 2008). Untuk induksi kalus embriogenik dalam penelitian ini, kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan ialah 2,4-D sebagai auksin dan BAP sebagai sitokinin.

2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy acetid acid*) merupakan golongan auksin yang digunakan untuk menginduksi kalus karena sifatnya yang kuat sehingga mampu merangsang pembentukan kalus. Hal ini diungkapkan oleh Abidin (1985) bahwa 2,4-D merupakan auksin sintesis kuat yang sering digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari jaringan tanaman. Pada beberapa penelitian 2,4-D digunakan untuk induksi kalus embriogenik dan kalus yang dihasilkan bersifat remah, putih kekuningan-putih susu dan berbiomassa cukup tinggi (Azizah, 2017). Pemberian BAP (*6-Benzyl aminopurine*) juga berperan dalam menginduksi kalus yang peranannya memicu pembelahan sel. BAP memiliki struktur dasar

yang sama dengan kinetin tetapi lebih efektif karena BAP mempunyai gugus benzil. BAP pada umumnya juga memiliki respon lebih baik dibandingkan kinetin dan 2-Ip (Flick *et. al.*, 1983).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sitinjak, dkk. (2006) kombinasi konsentrasi terbaik untuk menginduksi kalus embriogenik dari meristem jahe hingga mencapai 93,33% per eksplan adalah 1 mg/l 2,4-D + 3 mg/l BA. Dan ketika konsentrasi 2,4-D semakin dinaikkan justru kualitas kalus semakin menurun. Hasil yang berbeda didapat pada penelitian Indria (2016) dimana induksi kalus embriogenik rumput gajah didapatkan dengan komposisi media 2,4-D 3 mg/l + BAP 0,9 mg/l. Mahadi (2017) juga melakukan induksi kalus embriogenik pada jeruk katsuuri (*Citrus microcarpa*) melaporkan perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang terbaik adalah pada perlakuan D2B2 (2 mg/l 2,4-D dan 2 mg/l BAP) untuk menghasilkan kalus embriogenik dengan warna kalus putih kekuningan dan remah. Kasi dan sumaryono (2008) menginduksi kalus embriogenik somatik pada sagu dengan penambahan 10 mg/l 2,4-D menghasilkan embriogenik somatik dengan ciri histologi/anatomi memiliki banyak sel meristematik yang ditandai dengan inti sel besar, dinding sel tebal, pati yang banyak dan sel yang aktif membelah.

Chaudhury dan Qu (2000) dalam Sitinjak (2006) mengungkapkan bahwa auksin yang digunakan bersama-sama dengan sitokinin dapat menstimulasi embriogenesis, namun untuk menginduksi embriogenesis somatik, diperlukan ratio tertentu dari auksin dan sitokinin tersebut. Mengacu pada beberapa penelitian diatas, peneliti menggunakan konsentrasi 2,4-D dan BAP untuk menginduksi

kalus embriogenik daun wungu masing-masing sebanyak 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l dan 2 mg/l yang ditambahkan secara tunggal maupun kombinasi. Jenis eksplan yang digunakan berasal dari daun muda nomor dua dari pucuk dengan media dasar MS.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Bagaimanakah pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)?
2. Bagaimanakah pengaruh berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)?
3. Bagaimanakah pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)?
4. Bagaimana pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap morfologi (warna dan tekstur) dan anatomi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
2. Untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).

3. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
4. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap morfologi (warna dan tekstur) dan anatomi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah

1. Terdapat pengaruh berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
2. Terdapat pengaruh berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
3. Terdapat pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
4. Terdapat pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap morfologi dan anatomi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki nilai guna atau manfaat sebagai berikut:

- a. Bagi peneliti

1. Memberikan informasi tentang penggunaan hormon yang efektif untuk induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) secara *in vitro*.
 2. Memberikan informasi mengenai respon konsentrasi BAP dan 2,4-D beserta kombinasinya terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
 3. Memberikan informasi mengenai perbedaan morfologi dan anatomi kalus yang dihasilkan melalui penelitian induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.).
- b. Bagi Balai Budidaya
1. Induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) secara *in vitro* diharapkan mampu menjadi langkah awal dalam embriogenik somatik untuk penyediaan bibit secara masal yang nantinya dapat memenuhi permintaan industri jamu dan pasar.
- c. Bagi Masyarakat
1. Memberi informasi pada masyarakat bahwa daun wungu merupakan tanaman obat untuk mengobati beberapa penyakit yang dapat ditemukan di sekitar kita.
 2. Memberikan informasi singkat mengenai kandungan dan manfaat daun wungu beserta cara pemanfaatannya
 3. Mengedukasi Masyarakat mengenai potensi tanaman wungu sebagai kearifan lokal.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Bibit tanaman daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) berasal dari Materia Medika Batu.
2. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun wungu nomor 2 dari ujung batang dan ukuran eksplan ketika inisiasi berukuran 1cm x 1cm.
3. Media yang digunakan adalah media MS. Penambahan zat pengatur tumbuh berupa 2,4-D dengan konsentrasi 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l dan BAP dengan konsentrasi 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l.
4. Jumlah eksplan satu per botol kultur.
5. Setelah inisiasi, eksplan disimpan dalam ruang kultur dengan pencahayaan dan suhu 21⁰C selama 40 hari.
6. Pembuatan preparat pada pengamatan anatomi kalus dengan metode *squash* tanpa pemberian warna pada kalus remah dan irisan melintang pada kalus kompak.
7. Parameter yang diamati meliputi hari munculnya kalus pertama kali, persentase tumbuh kalus pada eksplan, berat kalus, warna kalus, tekstur kalus dan anatomi kalus.
8. Pengamatan kualitas (warna, tekstur) dan anatomi kalus dilakukan sebagai penguat keberhasilan induksi kalus embriogenik.
9. Pengamatan anatomi kalus embriogenik diamati dengan ciri sel yang meristematik ditandai dengan inti sel yang besar, dinding sel tebal, ruang antar sel serta butir pati banyak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

2.1.1 Tanaman Wungu dalam perspektif Islam

Tumbuhan di bumi ini memiliki banyak sekali jenis dan macamnya, baik yang sudah terklasifikasikan maupun yang belum terklasifikasi. Menurut Tjitrosoepomo (2011) tumbuhan di alam ditaksir meliputi 300.000 jenis tumbuhan. Dalam klasifikasinya dibagi-bagi menjadi sejumlah divisi dan tiap divisi seterusnya berturut-turut dibagi-bagi lagi dalam takson yang lebih rendah yaitu kelas, bangsa, suku marga dan jenis. Sebagaimana firman Allah 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 شَتَّىٰ

Artinya: “Dan kami turunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”. (Qs. Thaha: 53).

Menurut *Tafsir Jalalain* adapun lafal شتَّىٰ menjadi sifat sifat dari lafal ازواج yang mengandung arti bermacam-macam warnanya, rasanya dan sebagainya. Dan kata شتَّىٰ adalah bentuk jamak dari kata شتيت , seperti kata مريض dan مرضى . Berasal dari ungkapan الامر شت yang berarti berbeda-beda (Al-Mahalli, 2000). Syanqithi (2007) menafsirkan “tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” sebagai jenis tumbuhan yang bermacam-macam manfaat, bentuk warna, ukuran, bau, dan rasa. Sehingga dapat diartikan bahwa Allah menciptakan tumbuhan yang

mempunyai berbagai macam manfaat. Dalam ayat lain Allah SWT berfirman tentang penumbuhan tumbuh-tumbuhan yang baik dalam Al-Quran surat Asy-Syu'ara' (26):7 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S asy-Syu'ara (26): 7)

Menurut Tafsir Al-Qurtubhi (2000), “*Karim*” artinya baik dan mulia. Asal kata “*al-Karim*” dalam bahasa arab adalah *al-Fadl* (keutamaan). Kata ini mengacu pada kata “*Anbatsna*” yang berarti menumbuhkan tanaman. Sehingga sebagaimana ayat Al-Quran dan tafsir tersebut, Allah Subhana Wa Ta’ala telah menciptakan bumi ini dengan menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Salah satunya adalah tanaman wungu yang memiliki berbagai manfaat sebagai tanaman obat.

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Wungu

Tanaman wungu memiliki sistematika taksonomi yang terdiri dari kingdom Plantae, divisi Spermatophyte, subdivisi Angiospermae, kelas Dycyledone, ordo Tubiflorae, famili Acanthaceae, genus *Graptophyllum* dan spesies *Graptophyllum pictum* (Linn) Griff (Hutapea, 1993). Menurut *United States Department of Agriculture* (USDA) (2008), taksonomi wungu sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivisi : Spermatophyta

| | |
|----------|---|
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Subkelas | : Asteridae |
| Ordo | : Scrophulariales |
| Famili | : Acanthaceae |
| Genus | : Graptophyllum |
| Spesies | : <i>Graptophyllum pictum</i> L. Griff. |

Menurut Heyne (1987), wungu dikenal diluar negeri sebagai *Caricature plant* (Inggris), *Gertenschrifiblant* (Jerman). Indonesia sendiri memiliki berbagai macam nama daerah seperti *handeuleum*, *daun temen-temen* (Sunda), *daun putrid* (Ambon), *temen* (Bali), *kabi-kabi* (Ternate) dan *dongo-dongo* (Tidore). Daerah Madura menyebutnya *karaton* dan *karatong*. Daerah Jawa mengenal daun ini dengan nama *demung*, *tulak*, dan *wungu*.

2.1.3 Deskripsi Tanaman

Tanaman wungu merupakan tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi 1,5-3 meter, batang berkayu, kulit dan daun berlendir serta baunya kurang enak. Tanaman wungu memiliki daun yang letaknya berhadap-hadapan. Perbungaan majemuk dan tersusun dalam rangkaian berupa tandan yang berwarna merah tua. Tanaman ini memiliki tiga varietas yaitu yang berdaunungu, hijau dan belang-belang putih. Namun yang digunakan sebagai obat adalah varietas yang berdaun ungu (Dalimartha, 1999).

Ciri-ciri batangnya meliputi aerial, berkayu, silindris, tegak, warna ungu kehijauan, bagian dalam solid, permukaan licin, percabangan simpodial (batang

utama tidak tampak jelas), arah cabang miring keatas. Daunnya tunggal tersusun berhadapan (*folia oposita*), warna ungu tua, panjang 15-25 cm, lebar 5-11 cm, helaian daun tipis tegar, bulat telur, ujung runcing, pangkal meruncing (*acuminatus*), tepi rata, pertulangan menyirip (*pinnate*), dan permukaannya mengkilat (*nitidus*). Sedangkan bunganya majemuk dan muncul dari ujung batang (*terminalis*). Buah berbentuk kotak sejati (*capsula*), lonjong, warna ungu kecoklatan dengan bentuk biji bulat putih dan akarnya tunggang. Keragaan tanaman wungu ditampilkan pada gambar 2.1 sebagai berikut.



Gambar 2.1 Keragaan Tanaman Wungu (a) dan bunganya (b) (BPPT, 2008).

Menurut BPPT (2008) tanaman wungu cocok tumbuh di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1.250 meter di atas permukaan laut. Wibowo (2000) menambahkan bahwa tanaman wungu mampu tumbuh pada ketinggian di bawah 800 meter dpl, dimana semakin tinggi dataran maka daun wungu akan semakin berwarna ungu yang disebabkan adanya peningkatan senyawa flavonoid yang

dikandungnya. Djazuli & Farhan (2000) menyebutkan tanaman wungu umumnya dikembangkan menggunakan stek batang karena buah dan biji sulit terbentuk.

2.1.4 Kandungan dan Pemanfaatan Daun Wungu

Daun tanaman wungu mengandung alkaloid yang tidak beracun, glikosida, flavonoid, steroid, dan saponin. Sedangkan batangnya mengandung kalsium oksalat, asam format dan lemak. Secara tradisional daun wungu telah dimanfaatkan sebagai obat luar untuk mengobati borok, bisul, dan kudis. Air rebusan daunnya dapat diminum untuk mengobati penyakit wasir, batu empedu dan penyakit hati. Bunganya bermanfaat sebagai pelancar haid (Dalimartha, 1999).

Isnawati dan Soediro (2003) mengemukakan bahwa tanaman wungu juga mengandung antosianin, leukoantosianin, tanin galat, asam protokatekuat, flavon dan flavonol. Menurut Wahyuningtyas (2005) ekstrak daun wungu 40% dapat menghambat pembentukan plak pada gigi. Berdasarkan uji klinis pada kelinci menunjukkan bahwa infus daun wungu dengan kadar 1,56-100% mempunyai efek sebagai laksansia ringan, yaitu dengan menaikkan kontraksi otot polos jejunumnya (Sumastuti, 2000). Rahmi (2014) melaporkan bahwa ekstrak daun wungu memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemik(dosis 50 mg/ kg BB). Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas tertinggi yang menyebabkan penurunan gluosa darah sebesar 37,6%. Ekstrak daun wungu berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber zat anti-diabetes.

Srivinasan (2015) juga meneliti mengenai efek ekstrak daun wungu terhadap tikus yang diinduksi gentamisin dan hasil yang diperoleh menunjukkan

bahwa tikus nephrotoxic yang diinduksi gentamisin memiliki aktivitas penanda biokimia yang lebih rendah dan peningkatan kadar TBARS, serum kreatinin dan urea. Hebatnya, setelah diberi dengan ekstrak daun wungu, tingkat anomali penanda biokimia, peroksidasi lipid dan serum kretinin kembali normal, sehingga daun wungu memiliki efek nefroprotektif dan bisa menjadi sumber alami yang menjanjikan melawan nefrotoksisitas yang disebabkan gentamisin.

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan tumbuhan adalah upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan dan organ), kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril pada kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi kembali menjadi tanaman lengkap. Penggunaan istilah yang lebih spesifik, yaitu *micropropagasi* terhadap pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam upaya perbanyakan tanaman, dimulai dari pengkulturan bagian tanaman yang sangat kecil (eksplan) secara aseptik di dalam tabung kultur atau wadah yang serupa (Zulkarnain, 2009).

Azriati *et.al.* (2010) mengungkapkan bahwa kultur jaringan tumbuhan adalah suatu metode untuk mengisolasi potongan jaringan tanaman dari kondisi alami pada media nutrisi dalam kondisi aseptik yang dapat menjadi tanaman lengkap. Potongan jaringan yang diambil mampu mengadakan pembelahan sel perpanjangan (perbesaran sel) sehingga membentuk *shootlet* (tunas), *rootlet* (akar), atau *planlet* (tanaman lengkap). Yuliarti (2010) menambahkan bahwa

potongan jaringan yang mampu mengadakan pembelahan tersebut dikarenakan sel tanaman bersifat *totipotensi sel*, yaitu bahwa setiap sel organ tanaman mampu tumbuh menjadi tanaman yang sempurna bila ditempatkan di lingkungan yang sesuai. Sifat totipotensi sel tanaman tersebut dimanfaatkan dalam teknik kultur jaringan.

Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa prinsip kultur jaringan tumbuhan meliputi: (1) totipotensi sel dan (2) organogenesis. Totipotensi sel merupakan kemampuan sel-sel tanaman dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap, baik secara langsung maupun melalui fase kalus. Regenerasi pucuk dan akar di control melalui zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin dan sitokinin. Organogenesis adalah proses terbentuknya akar atau tunas baik secara langsung dari permukaan eksplan atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus.

Manfaat teknik kultur jaringan tumbuhan yang utama adalah perbanyakan klon atau perbanyakan tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lain. Teknik kultur jaringan bermanfaat dalam beberapa hal khusus, yaitu perbanyakan klon secara cepat, keragaman genetik, kondisi aseptik, seleksi tanaman, stok tanaman mikro, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nutfah, produksi tanaman sepanjang tahun dan memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konvensional (Zulkarnain, 2009).

2.2.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kultur Jaringan Tumbuhan

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur jaringan tumbuhan adalah eksplan, media tanam, kondisi fisik media, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh (Alitalia, 2008).

1. Eksplan

Eksplan adalah bagian tanaman (dapat berupa sel, jaringan atau organ) yang digunakan sebagai bahan inokulum awal yang ditanam dalam media kultur. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan sebaiknya merupakan bagian yang mempunyai sel aktif membelah, berasal dari tanaman induk yang sehat dan berkualitas tinggi. Meskipun pada prinsipnya semua sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya eksplan dipilih dari bagian tanaman yang masih muda, yaitu daun muda, ujung akar, ujung batang, keeping biji atau tunas (Yusnita, 2003). Menurut Sitinjak *et. al* (2006), ukuran eksplan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan eksplan *in vitro*. Apabila eksplan tertentu kecil, menyebabkan ketahanan eksplan yang kurang baik dalam kultur dan apabila eksplan terlalu besar, akan mudah terkontaminasi oleh mikroorganisme.

2. Media

Keberhasilan penggunaan metode kultur jaringan tumbuhan sangat bergantung pada media yang digunakan. Media ini tidak hanya menyediakan unsure hara (mikro dan makro) tetapi juga karbohidrat (gula) untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis (Gunawan, 1987). Media sebagai sumber makanan harus mengandung senyawa organik dan

anorganik, seperti nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu: gula, air, asam amino, vitamin dan ZPT (Santoso, 2004). Media MS (Murashige dan Skoog) adalah media yang umum dan paling banyak digunakan dalam kultur jaringan karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman. Menurut Gamborg dan Shyluk (1981) dalam Purwanto & Mardin (2007) media MS memiliki komposisi media berupa makronutrien terdiri atas NH_4NO_3 1.650mg/l, KNO_3 1.900mg/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 332,2mg/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370 mg/l, KH_2PO_4 170mg/l. Komponen mikronutrien terdiri atas KI 0,83 mg/l, H_3BO_3 6,2mg/l, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 16,9mg/l, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,6mg/l, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25mg/l, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,025mg/l, Na_2EDTA 37,3mg/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8mg/l. Komponen vitamin dan asam amino yang terdiri atas Thiamin HCL 0,1mg/l, asam nicotinic 0,5mg/l, pyridoxine HCL 0,5mg/l, Glycine 2,0mg/l, myo-inositol 100mg/l. Disusun juga dari komponen lain berupa sukrosa 30mg/l, dan agar 7 gr/l.

3. Zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan nutrisi yang aktif dalam jumlah kecil yang disintetiskan pada bagian tertentu tanaman dan pada umumnya diangkat ke bagian lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan tanggapan secara biokimia, fisiologis, dan morfologis (Wattimena, 1992). Dalam teknik kultur jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan, Pierik dalam Zulkarnain (2009) menyebutkan sangat sulit menerapkan teknik kultur jaringan tumbuhan pada upaya perbanyakan

tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Menurut Abidin (1895), zat pengatur tumbuh di dalam tanaman terdiri dari 5 kelompok yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilen dan inhibitor dengan cirri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologis. Zat pengatur tumbuh yng sering digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin.

4. Lingkungan tumbuh

Lingkungan tumbuh yang terdiri dari oksigen dibutuhkan jaringan secara *in vitro* sebagai pembelahan dan pertumbuhan sel pada jaringan. Intensitas cahaya optimum pada kultur sebesar 0-1000 lux (inisiasi), 1000-10000 (multiplikasi), 10000-30000 (pengakaran) dan <30000 untuk aklimatisasi. Temperatur ruang kultur yang paing sering digunakan yaitu 20-27⁰C. pH (keasaman) dimana sel-sel yang dikembangkan dengan kultur jaringan memiliki toleransi pH yang sempit dan tidak normal antara 5-6. Kondisi lingkungan sangat menentukan terhadap tingkat keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan (Santoso, 2004).

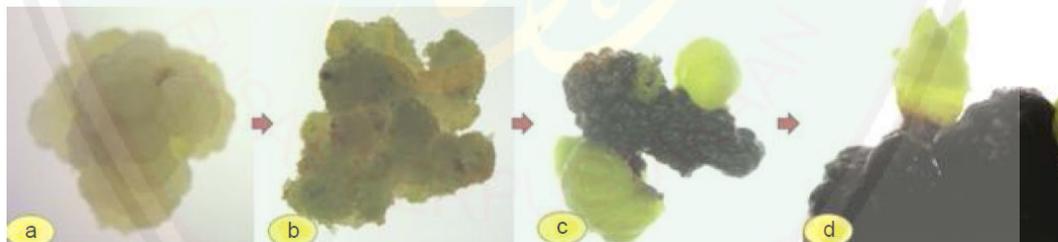
2.3 Kultur Kalus Embriogenik

Kalus merupakan suatu kumpulan sel *amorphous* yang terbentuk dari jaringan awal yang membelah secara terus-menerus. Pembentukan kalus dapat terjadi pada organ tanaman yang mengalami luka, sel-sel parenkim yang letaknya berdekatan denga luka tersebut bersifat meristematik dan dapat membentuk masa sel yang tdak terdeferensi. Kalus dapat dihasilkan dari semua bagian tanaman, baik akar, daun muda, tunas, hpokotil, poen, endosperm dan mesofl. Namun, organ

yang berbeda akan menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Pandiangan dan Subarnas, 2011).

Terdapat dua macam kalus yang terbentuk dalam kultur jaringan tumbuhan yaitu kalus embriogenik dan non-embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis atau embriogenesis. Sedangkan kalus non-embriogenik adalah kalus yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman (Sukmadjaja, 2005).

Dalam regenerasi melalui embriogenesis, terdapat beberapa tahapan dari eksplan menjadi tanaman lengkap yang meliputi: tahapan induksi, poliferasi, dan diferensiasi jaringan. Proses pembentukan embrio somatik pada umumnya didahului dengan pembentukan jaringan embrionik, selanjutnya pembentukan struktur embrio globular, hati, torpedo dan kotiledon (Handayani, 2008)

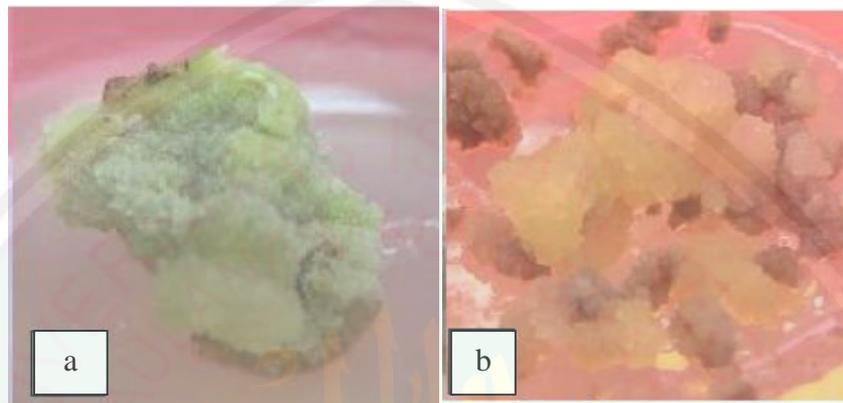


Gambar 2.2 Proses pembentukan embriogenesis somatik: (a) kalus remah; (b) kalus kehijauan; (c) bentuk bulat; (d) tahap kotiledon (Joni, 2017).

2.3.1 Tekstur Kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan meremah. Kalus kompak bertekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus meremah bertekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak. Perbedaan

tekstur kalus menimbulkan adanya perbedaan kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder. Kalus kompak menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak daripada kalus meremah (Surbarnas, 2011).

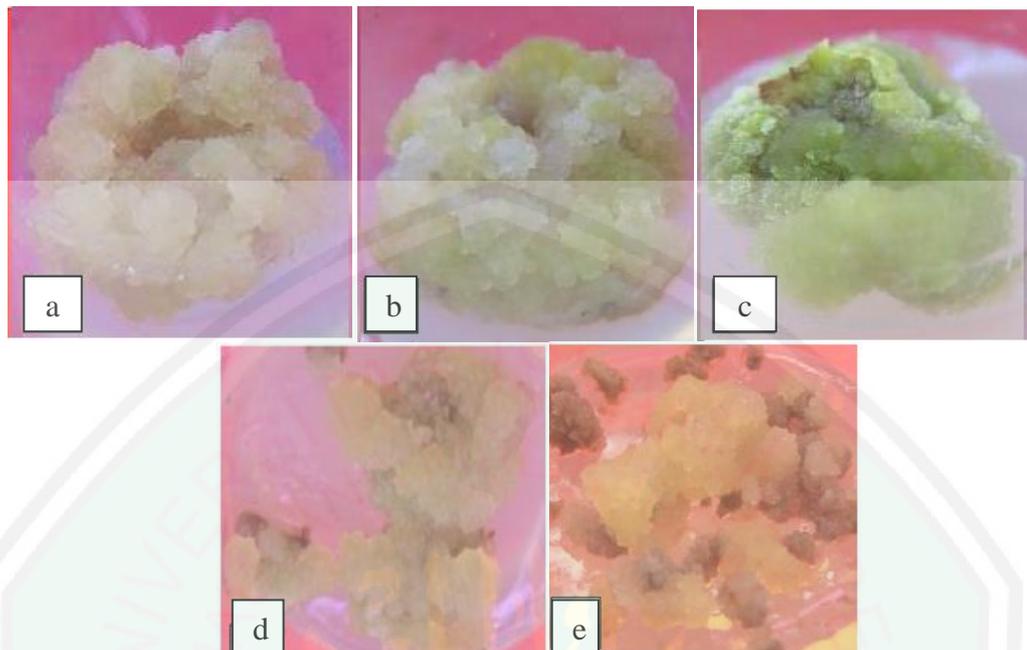


Gambar 2.3 Struktur kalus daun ramin pada perlakuan 2,4-D
a) struktur kompak dan b) struktur remah (Yelnititis, 2012)

Kalus remah merupakan kalus yang baik untuk perbanyakkan jaringan. Kalus remah ialah kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi bagian-bagian yang kecil, mudah lepas, dan mengandung banyak air (Sitorus, 2011). Kalus yang remah dapat diperoleh dengan cara melakukan sub kultur berulang-ulang dengan medium padat. Pembentukan kalus dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam medium seperti zat pengatur tumbuh. Konsentrasi 2,4D dan ekstrak khamir yang tinggi akan menghasilkan kalus bertekstur remah (*friable*) (Rahayu 2003).

2.3.2 Warna Kalus

Warna kalus juga merupakan indikator dalam pertumbuhan kalus. Kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embriogenik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi (Ariati, 2012). Warna kalus mengidentifikasi keberadaan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus semakin banyak pula kandungan klorofilnya dalam kalus (Dwi, 2012).



Gambar 2.4 Warna kalus daun ramin (a-b) perlakuan 2,4-D+TDZ; (c) perlakuan 2,4-D; (d-e) perlakuan 2,4-D+biotin (Yelnititis, 2012).

Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Tanda bahwa kalus yang diregenerasikan dapat membentuk tunas antara lain terjadinya perubahan warna dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, perubahan warna tersebut merupakan tanda adanya morfogenesis (Lestari dan Mariska, 2003).

2.3.3 Berat Kalus

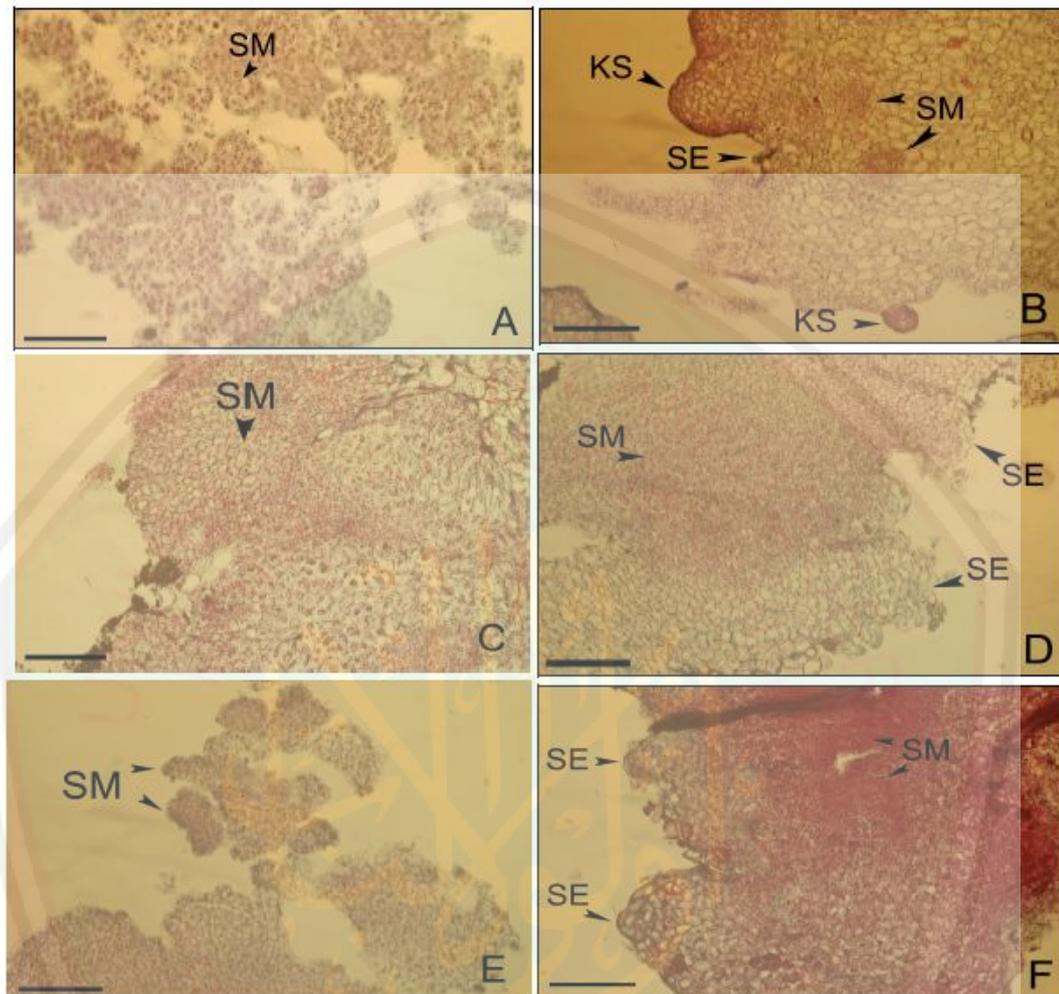
Pertumbuhan kalus pada media kultur biasanya ditentukan dengan mengukur berat kalus (Yokota *et al.*, 1999). Ruswaningsih (2007), berat segar secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Berat segar kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya yang tinggi. Berat basah yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri,

memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Berat kering merupakan parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai ukuran global pertumbuhan tanaman dengan segala peristiwa yang dialaminya. Untuk mendapatkan berat kering dilakukan pengeringan untuk menghilangkan kadar air dan menghentikan aktivitas metabolisme dalam bahan hingga diperoleh berat yang konstan (Muryanti *et al.*, 2005).

2.3.4 Anatomi Kalus

Pada penelitian Kasi dan Sumaryono (2008) Pengamatan anatomi dari kalus embriogenik sagu menunjukkan bahwa kalus embriogenik remah terdiri atas selsel yang bersifat meristematik (yang ditandai dengan ruang antar sel lebih rapat, mempunyai inti yang jelas, menyerap warna kuat, sitoplasma padat dan aktivitas pembelahan sel yang tinggi). Pada kalus embriogenik remah di medium padat dan SPS sel-sel meristem tersebut membentuk kluster-kluster yang dilindungi lapisan polisakarida (Gambar 2.5A dan 2.5E), dimana setiap kluster tersebut nantinya akan menjadi satu individu kalus yang terpisah.

Pada penelitian yang sama (Kasi dan Sumaryono, 2008) pada ketiga medium (padat, SPS, dan cair) Kalus embriogenik noduler terdiri atas sel-sel meristematik dan sel-sel embriogenik (Gambar 2.5B, 2.5D, dan 2.5F). Sel meristematik pada umumnya terdapat di bagian tengah sedangkan sel embriogenik terdapat di bagian tepi. Sel embriogenik mempunyai ruang antar sel yang tidak dijumpai pada sel meristem, sehingga sel-sel meristem lebih rapat. Di antara kedua jaringan tersebut terdapat sekelompok sel yang mempunyai vakuola yang besar dan bersifat parenkimatis (yang nantinya akan membentuk jaringan parenkim).



Gambar 2.5. Penampang lintang kalus embriogenik remah dan noduler pada tiga sistem kultur yang berbeda. Kalus embriogenik remah pada medium padat (A). Kalus embriogenik noduler pada medium padat (B). Kalus embriogenik remah di medium cair (C). Kalus embriogenik noduler di medium cair (D). Kalus embriogenik remah di SPS (E). Kalus embriogenik noduler di SPS (F). SM= sel meristem, SE= sel embriogenik, KS= kalus sekunder. Bar = 125 μm (Kasi dan Sumaryono, 2008).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Dalam kultur jaringan, ada dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting, yaitu auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh tersebut mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, kultur jaringan dan kultur organ (Kardaji dan Bukhory, 2008). Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan

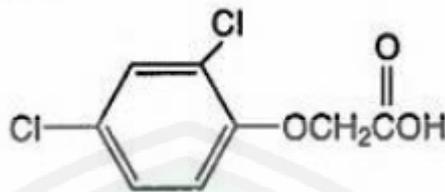
ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *in vitro* kalus.

Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi “faktor pemicu” dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al.*, 1989) dalam (Lestari, 2011). Suryowinoto (1996) dalam Arianti (2015) juga menambahkan bahwa untuk mendapatkan kalus, perlu adanya keseimbangan antara sitokinin dan auksin.

2.4.1 2,4-D (2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid)

2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) merupakan auksin tiruan yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik (Bhojwani & Razdan, 1996). Dibandingkan dengan golongan auksin IAA, 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah, 2013).

Menurut Abidin (1985), aktivitas auksin ditentukan oleh adanya struktur cincin yang tidak jenuh, adanya rantai keasaman (*acid chain*), pemisahan *carboxyl group* (-COOH) dari struktur cincin, dan adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman. Rantai yang mempunyai *carboxyl group* dipisahkan oleh karbon atau karbon dan oksigen akan memberikan aktivitas yang optimal. Sebagai contoh yaitu IAA dan 2,4-D mempunyai aktivitas cukup tinggi karena persyaratan di atas terpenuhi.



Gambar 2.6 Struktur kimia 2,4-D (Zulkarnain, 2009)

Zat pengatur tumbuh yang dikenal, auksin kuat seperti 2,4-D dikenal sebagai komponen media tumbuh yang mampu menginduksi kalus embriogenik pada berbagai jenis tanaman. Penambahan 2,4-D dalam media menurut Rahayu (2003) akan dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Selain itu menurut Harjadi (2009) 2,4-D juga dapat digunakan untuk herbisida gulma berdaun lebar.

2,4-D sebagai auksin menyebabkan perluasan dan pemanjangan sel tidak terjadi tetapi memicu pembelahan sel. Pembelahan sel yang berlebihan dan tidak diikuti dengan perluasan dan pemanjangan mengakibatkan terjadinya kalus. Pemberian 2,4-D pada medium dasar kultur *in vitro* dapat menginduksi kalus dan menyebabkan pertumbuhan kalus terus berlangsung (Krinkorian, 1995).

Kisaran konsentrasi hormon 2,4-D yang cocok untuk menginduksi pembentukan kalus adalah antara 0,5-2 mg/l. Pada kultur kalus beberapa kultivar padi penambahan 2,4-D saja dalam media mampu menginduksi kalus. Hasil yang sama juga didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Harahap (2005) pada kultur kalus pegagan perlakuan 2,4-D saja menghasilkan pengaruh secara nyata terhadap berat basah dan kering kalus yang berasal dari daun dan tangkai daun pada umur 8 dan 16 minggu setelah tanam. Pada kultur kalus pegagan 2,4-D hanya dibutuhkan dalam konsentrasi yang rendah dimana secara umum rata-rata

berat basah kalus mengalami penurunan pada konsentrasi 2,4-D yang tinggi (3 mg/l dan 5 mg/l). Pembentukan kalus pegangan yang baik diperoleh dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dalam konsentrasi rendah (0,1 mg/l – 1,0 mg/l). Nazza (2013) juga mengemukakan bahwa media yang di suplementasi dengan 2 mg/L 2,4-D merupakan media yang tepat untuk induksi kalus pegangan dengan cepat yakni 1,25 hari.

Konsentrasi 2,4-D yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena telah melebihi konsentrasi optimum untuk pertumbuhan eksplan. Disamping itu di dalam vakuola banyak terdapat senyawa flavons dan quinons yang pada proses oksidasi akan berikatan dengan oksigen menghasilkan brown polimers yang menyebabkan eksplan menjadi coklat. Selanjutnya eksplan akan kering dan mati. Hal ini diduga karena pemberian 2,4 D yang berlebihan fungsinya berubah sebagai herbisida (Hendaryono,1994).

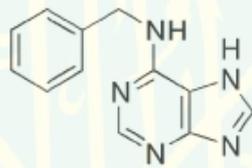
2.4.2 BAP (6-Benzylaminopurine)

Bentuk dasar sitokinin adalah adenine (*6-aminopurine*). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan aktifitas sitokinin. Didalam senyawa sitokinin, panjang rantai dan hadirnya ikatan double akan meningkatkan aktifitas zat pengatur tumbuh. Sitokinin memiliki rantai samping yang kaya akan karbon dan hydrogen yang menempel pada nitrogen yang menonjol pada puncak cincin purin (Santoso, 2004)

BAP (*6-Benzylaminopurine*) mempunyai struktur yang sama dengan kinetin, akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin, karena memiliki gugus *benzyl* (Alitalia, 2008). Umumnya tanaman memiliki respon yang

baik dengan BAP, dibandingkan dengan kinetin sehingga BAP lebih efektif untuk memproduksi tunas *in vitro* maupun induksi kalus *in vitro* (Ramasamy, *et. al.*, 2005)

BAP merupakan sitokinin sintesis yang memiliki rumus bangun $C_{12}H_{11}N_5$, berat molekul sebesar 225,26 dan titik lebur $230-233^{\circ}C$ (Alitalia, 2008). Wattimena (1992) menambahkan bahwa BAP merupakan turunan adenine yang disubstitusi pada posisi 6 yang strukturnya serupa dengan kinetin. Struktur kimia BAP dapat dilihat pada gambar 2.5 berikut.



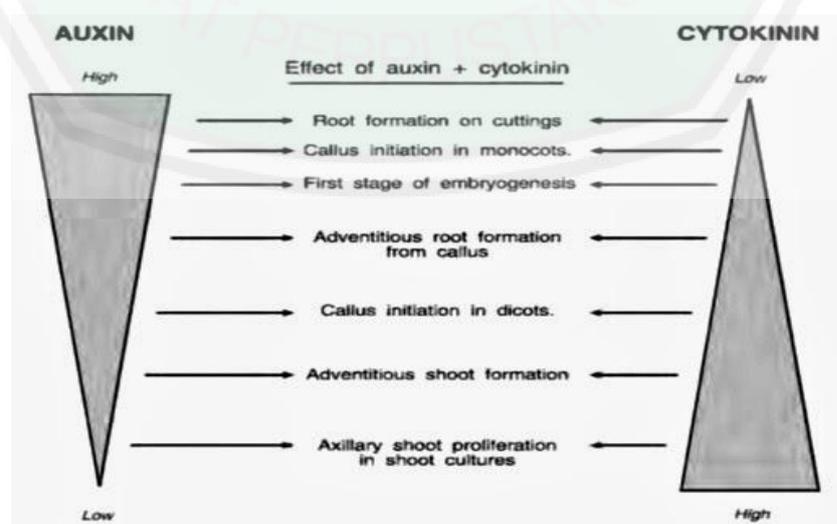
Gambar 2.7 Struktur kimia BAP (Zulkarnain, 2009)

ZPT golongan sitokinin seperti BAP berfungsi da pembelahan sel. Menurut Utami (1998) dalam Kurnianingsing (2009), sitokinin dalam hal ini BAP berperan memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat mendorong terjadinya pembelahan sel. Selain itu, BAP juga dapat memacu jaringan untuk menyerap air dari sekitarnya sehingga proses sintesis protein dan pembelahan sel dapat berjalan dengan baik. Dalam penelitian Ardiana (2009), kalus yang terbentuk dari kultur kotiledon melon didapatkan dengan penggunaan media MS yang ditambahkan 1 mg/l BAP, kemudian Sudarmaji (2003) melaporkan bahwa konsentrasi BAP menghasilkan kualitas kalus yang berbeda pada kapas yang diberi konsentrasi 2 mg/l BAP menghasilkan kualitas kapas yaitu sebesar 3,49 kali eksplan.

2.4.3 Kinerja 2,4-D (2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid) dan BAP (6-Benzylaminopurine)

Auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sering digunakan pada media kultur. ZPT tersebut memberikan efektifitas yang nyata pada tanaman tergantung pada konsentrasi kombinasi yang diinginkan dalam kultur jaringan sehingga lebih terarah dalam mempengaruhi morfogenesisnya. Menurut Karjadi dan Bukhory (2008) perimbangan dan interaksi auksin dan sitokinin yang diberikan pada media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen akan menentukan arah perkembangan suatu kultur.

Campbell (2014) menyatakan bahwa respon tanaman terhadap hormone biasanya tidak terlalu bergantung pada jumlah hormon, melainkan pada konsentrasi relatifnya dibanding hormon-hormon yang lain. Keseimbangan hormonal, bukan hormon-hormon yang bekerja sendiri-sendiri tetapi saling bersinergis yang dapat mengontrol pertumbuhan dan perkembangan. Berikut interaksi antar hormon auksin dan sitokinin pada gambar 2.6.



Gambar 2.7 Interaksi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan tumbuhan (Luri, 2014)

Berdasarkan gambar di atas dapat dilihat bahwa tinggi rendahnya auksin dan sitokinin akan berpengaruh pada hasil kultur. Bila konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin maka akan terbentuk akar. Sedangkan bila konsentrasi auksin lebih rendah daripada sitokinin maka akan terbentuk tunas aksilar. Namun bila konsentrasi auksin dan sitokinin seimbang maka akan terbentuk kalus.

Penelitian oleh Syahid *et.al* (2010) menggunakan 2,4-D 0,1; 0,3 dan 0,5 mg/l dengan ZPT golongan sitokinin yaitu BA 0,1 dan 0,3 mg/l untuk memicu pertumbuhan kalus tanaman jati belanda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan 2,4-D 0,3 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 0,1 mg/l terhadap ukuran diameter kalus terbesar dan berat basah kalus. Kemudian menurut Indah dan Ermavitalini (2013), pemberian 0,5 mg/l 2,4-D dan 2 mg/l BAP pada media MS memberikan hasil terbaik pada hari munculnya kalus daun nyemplung yaitu 13 hari setelah tanam dan berat segar sebanyak 197,8 mg.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Petrova (2011), pada salah satu famili Asteraceae yaitu pada tanaman *Arnica montana* Linn. melaporkan bahwa perpaduan konsentrasi 2,4-D 1 mg/l dan BAP 1 mg/l mampu menginduksi kalus 50% pada saat subkultur dengan waktu 10 hari setelah inisiasi dan kalus berwarna pucat kehijauan serta berstektur remah. Kemudian Mahadi (2017) juga melakukan induksi kalus pada jeruk katsuuri (*Citrus microcarpa*) melaporkan perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan BAP yang terbaik adalah pada perlakuan D2B2 (2 mg/l 2,4-D dan 2 mg/l BAP) untuk menghasilkan kalus embriogenik.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian mengenai pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embrionik daun wungu dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Januari-April 2018.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan dalam penelitian ini berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan yaitu konsentrasi 2,4-D dan BAP yang masing-masing memiliki konsentrasi 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; dan 2 mg/l. Total kombinasi perlakuan sebanyak 25 dan dilakukan 3 ulangan, sehingga terdapat 75 buah unit percobaan yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP

| ZPT | | BAP | | | | |
|-------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | | B0 (0 mg/l) | B1 (0,5 mg/l) | B2 (1 mg/l) | B3 (1,5 mg/l) | B4 (2 mg/l) |
| 2,4-D | D0 (0 mg/l) | D0B0 | D0B1 | D0B2 | D0B3 | D0B4 |
| | D1 (0,5 mg/l) | D1B0 | D1B1 | D1B2 | D1B3 | D1B4 |
| | D2 (1 mg/l) | D2B0 | D2B1 | D2B2 | D2B3 | D2B4 |
| | D3 (1,5 mg/l) | D3B0 | D3B1 | D3B2 | D3B3 | D3B4 |
| | D4 (2 mg/l) | D4B0 | D4B1 | D4B2 | D4B3 | D4B4 |

3.3 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 3 variabel yaitu:

1. Variabel bebas yang meliputi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP
2. Variabel terikat yang meliputi hari muncul kalus (HST), persentase tumbuh kalus pada eksplan (%), berat kalus (gr), warna dan tekstur kalus serta anatomi kalus.
3. Variabel terkontrol adalah media MS, cahaya dan suhu.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, timbangan analitik, *Laminar Air Flow*, *oven*, lemari pendingin, kompor, panci, batang pengaduk, spatula, *hot plate* dan *stirrer*, gelas ukur, *beaker glass*, botol kultur, pH meter, pipet tetes, bunsen, korek api, *handsprayer*, rak kultur, kamera, lampu *flourence*, cawan petri, alat-alat diseksi (*pinset*, *scaple handle*, *blade*), plastik, karet, kertas label, *aluminium foil*, kertas milimeter, mikroskop, *objec glass* dan *cover glass*.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan daun yang masih muda (daun ke-dua dari ujung batang) yang ditumbuhkan dalam rumah kaca, medium MS, gula, agar, aquades, aquades steril, larutan stok zat pengatur

tumbuh 2,4-D dan BAP, NaOH 1N, HCl 1N, alkohol 70% dan 95%, fungisida, bakterisida, *spiritus*, *thypol*, *detergent*, dan NaOCl 10%.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan dan Sterilisasi Media

Bahan media yaitu MS sebanyak 6,645 gr dan gula 45 gr dilarutkan dalam 1500 ml aquades menggunakan hot plate dan *stirrer* hingga homogen. Dibagi kedalam 25 gelas masing-masing 60 ml. Setiap gelas ditambahkan ZPT sesuai konsentrasi dan kombinasi. Kemudian keasaman media diatur pada suhu 5,9-6,0 menggunakan pH meter. Jika $\text{pH} < 5,9-6,0$ maka ditambahkan NaOH 1N dan jika lebih maka ditambah HCl 1N. Setelah itu masing-masing larutan tersebut ditambahkan agar sebanyak 0,175 gr (dalam 1,5 liter media terdapat 10,5 gram agar) dan dipanaskan di atas kompor sambil diaduk hingga mendidih. Setelah itu dimasukkan ke dalam 5 botol kultur untuk masing-masing kombinasi, ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet. Media dalam botol kultur tersebut di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

3.5.2 Sterilisasi Alat

Alat-alat diseksi meliputi pinset, *scaple handle*, dan *spatula* serta alat-alat gelas atau logam dicuci dengan *detergent* atau *thypol*, dibilas dengan air bersih beberapa kali, kemudian dikeringkan dan disterilisasi dengan *oven*. Setelah itu alat-alat diseksi dibungkus dengan aluminium foil dan alat-alat dari gelas dibungkus dengan kertas dan disterilisasi kembali menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 30 menit. Pinset dan *scaple handle* setiap

kali akan digunakan di dalam LAF sebelumnya dicelupkan kedalam alkohol 96% dan dibakar dengan nyala api bunsen.

3.5.3 Sterilisasi Ruang Tanam

Laminar Air Flow (LAF) disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu. Kemudian alat-alat diseksi, alat-alat gelas dan aquades steril dimasukkan kedalam LAF yang sebelumnya telah disemprot dengan alkohol 70%. Setelah itu sinar UV pada LAF dinyalakan selama 1 jam sebelum LAF digunakan.

3.5.4 Sterilisasi Eksplan

Eksplan daun wungu yang masih muda dicuci dengan *detergent* lalu dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya ekplan di rendam dalam fungisida selama 15 menit, bilas hingga bersih kemudian direndam kembali dengan bakterisida selama 15 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir selama 1 jam. Sterilisasi selanjutnya dilakukan di dalam LAF dengan cara eksplan direndam dalam larutan NaOCl 10% selama 10 menit, lalu di bilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Eksplan kemudian dicelupkan kedalam alkohol 96% selama 5 detik dan dibilas kembali dengan aquades steril.

3.5.5 Inisiasi Eksplan

Eksplan yang sudah steril dipotong terlebih dahulu dengan *scaple* di atas cawan petri dengan ukuran 1 cm x 1 cm. Kemudian ditanam pada media tanam MS yang sudah di beri perlakuan. Masing-masing botol diisi 1 potongan eksplan. Selanjutnya botol-botol hasil inisiasi tersebut diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 21⁰C dengan pencahayaan selama 40 hari.

3.5.6 Pengamatan

a. Pengamatan Kuantitatif meliputi:

1. Pengamatan hari muncul kalus (HST), dilakukan setiap hari hingga hari ke-40 dan dicatat terbentuknya kalus pertama kali pada setiap penelitian.
2. Pengamatan persentase tumbuh kalus pada eksplan (%), dilakukan pada akhir pengamatan yaitu hari ke-40 dan dihitung menggunakan kertas milimeter, dengan rumus

$$\frac{\text{luas eksplan yang ditumbuhi kalus}}{\text{luas seluruh eksplan}} \times 100\%$$

3. Pengamatan berat kalus, dilakukan dengan menimbang eksplan yang membentuk kalus pada akhir pengamatan

b. Pengamatan Kualitatif meliputi:

1. Pengamatan warna kalus, diamati mulai hari pertama muncul kalus hingga hari ke-40 dengan ketentuan kalus meliputi warna putih, putih kekuningan, dan kuning kehijauan.
2. Pengamatan tekstur kalus, diamati pada akhir pengamatan yaitu hari ke-40 dengan ketentuan berbentuk remah, kompak atau intermediet.
3. Pengamatan anatomi kalus remah dilakukan dengan cara dibuat preparat kalus dengan metode *squash* tanpa pewarnaan pada *object glass* dan di tutup *cover glass*. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x.
4. Pengamatan anatomi kalus kompak dilakukan dengan cara dibuat preparat kalus dengan metode irisan melintang tanpa pewarnaan pada *object glass*

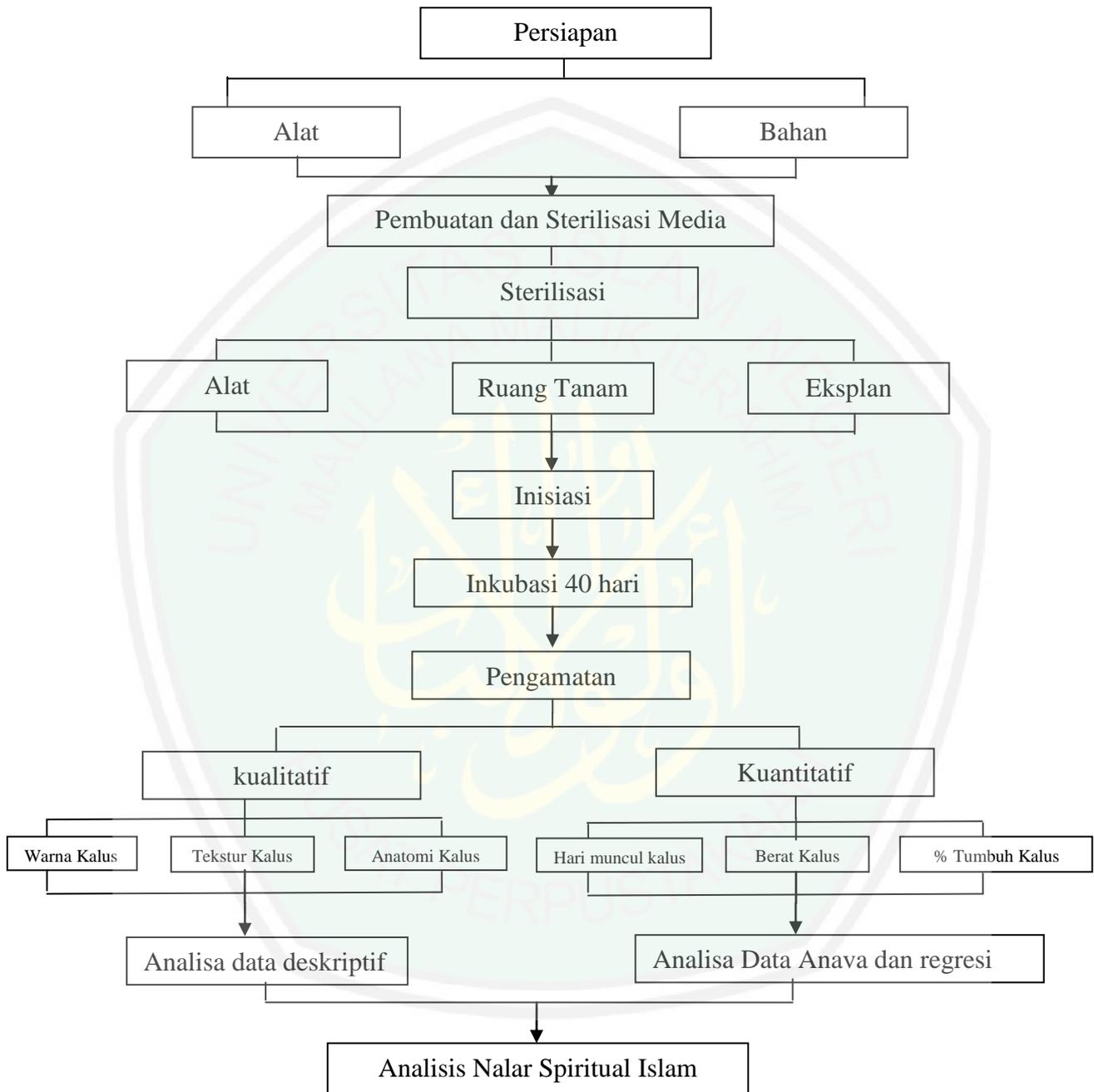
dan di tutup *cover glass*. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x.

3.6 Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis menggunakan uji ANAVA (Analisis Varian) dan bila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT pada selang kepercayaan 5%. Hubungan dan konsentrasi optimum perlakuan dapat diketahui dengan analisis regresi korelasi. Sedangkan untuk data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif.

Keseluruhan hasil penelitian ini kemudian dianalisis melalui nalar spiritualitas islam. Ini merupakan aspek penting dalam membina kekuatan yang diiringi keimanan terhadap kekuasaan Allah Subhana Wa Ta'ala atas segala kehidupan termasuk dalam aktivitas penelitian. Penelitian tidak hanya merujuk pada hal ilmiah tetapi juga Ilahiyah melalui Kalam Allah Subhana Wa Ta'ala dalam Al-Quran dan Hadits Rasulullah, karena apa yang terjadi di alam semua sudah dijelaskan dalam Al-Quran. Tinggal bagaimana kita berpikir dan mengambil pelajarana agar lebih mendekatkan diri kepada Allah, mencari keridhaan dan keberkahan-Nya serta menjadi manfaat bagi orang lain. Hal tersebut merupakan tugas dan tanggung jawab ilmuan muslim.

3.7 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu

Auksin 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh yang efektif dalam mendorong pemanjangan dan pembesaran sel yang biasa digunakan untuk induksi kalus (Phua *et.al.*, 2016). Hasil analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus daun wungu (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.1 sebagai berikut.

Tabel 4.1. Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) pengaruh pemberian 2,4-D terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Variabel | F-hitung | F table 5% |
|--------------------------------------|----------|------------|
| Hari Muncul Kalus (HST) | 857,820* | 2,557179 |
| Persentase Tumbuh Kalus pada Eksplan | 111,605* | 2,557179 |
| Berat Basah Kalus | 20,230* | 2,557179 |

Keterangan: *pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANAVA, menunjukkan bahwa hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus memiliki nilai F hitung lebih besar dari F tabel 5% yang artinya pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap semua variabel tersebut. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% diringkas dalam tabel 4.2 sebagai berikut.

Tabel 4.2 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian 2,4-D terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Konsentrasi 2,4-D (mg/l) | Hari Muncul Kalus (HST) | Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) | Berat Kalus (gr) |
|---------------------------------|--------------------------------|---|-------------------------|
| 0 | 34,6667e | 0,6a | 0,00002a |
| 0,5 | 16,4a | 28,2cd | 0,04634c |
| 1 | 17,07a | 30,6d | 0,038187c |
| 1,5 | 18,8667c | 26,4c | 0,02312b |
| 2 | 19,8d | 19,4667b | 0,021993b |

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian 2,4-D berbeda nyata terhadap masing-masing konsentrasi. Konsentrasi 2,4-D sebanyak 0,5 mg/l merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi kalus yaitu dalam 16 HST dibanding dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan waktu muncul kalus yang paling lama adalah perlakuan tanpa 2,4-D (0 mg/l) yaitu 34,67 atau 35 hari. Dengan demikian pada penelitian ini, tanpa pemberian auksin 2,4-D secara eksogen sudah mampu menginduksi kalus. Munculnya kalus tersebut diduga karena kandungan auksin endogen dalam daun masih terbilang tinggi sehingga tanpa adanya auksin eksogen sudah mampu menginduksi kalus. Hal ini diperkuat oleh Campbel *et.al* (2014), bahwa auksin banyak disintesis pada jaringan meristematik tunas apikal dan daun-daun muda, sehingga pada daun muda yang meristematik yang letaknya mendekati ujung batang, kadar auksinnya tinggi.

Munculnya kalus pada daun wungu ditandai dengan membengkaknya eksplan pada tempat perlukaan atau tulang daun. Menurut Sirotus *et. al.* (2011)

pembentukan kalus terjadi karena adanya perlukaan yang diberikan pada eksplan sehingga sel-sel pada eksplan akan memperbaiki sel-sel yang rusak tersebut. Pada awalnya terjadi pembentangan dinding sel dan penyerapan air, sehingga sel akan membengkak selanjutnya terjadi pembelahan sel yang nantinya akan membentuk kalus. Pemanjangan dan pembelahan sel ini juga dipengaruhi oleh kinerja dari auksin maupun sitokinin.

Auksin berupa 2,4-D dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan plastisitas dan pengembangan dinding sel (Abidin, 1985). Plastisitas dan pengembangan dinding sel didorong oleh pemberian auksin, karena auksin mengeluarkan H^+ ke dalam dinding sel dan H^+ ini menyebabkan pH dinding sel menurun sehingga terjadi pelonggaran struktur dinding (berarti peningkatan plastisitas) dan terjadi pertumbuhan. Menurut Lakitan (1996) pelonggaran dinding sel terjadi karena pH yang rendah mengaktifkan enzim yang mematahkan ikatan-ikatan antara polisakarida pembatas pada dinding sel kemudian sel akan tumbuh lebih cepat karena adanya kenaikan tekanan turgor. Pertumbuhan juga membutuhkan pembentukan senyawa bahan baku dinding sel. Pembuatan komponen-komponen dinding sel dan penyusunan kembali ke dalam suatu matriks dinding sel yang utuh juga dipengaruhi oleh 2,4-D dengan jalan mengaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam pembuatan komponen dinding sel (Wattimena, 1992).

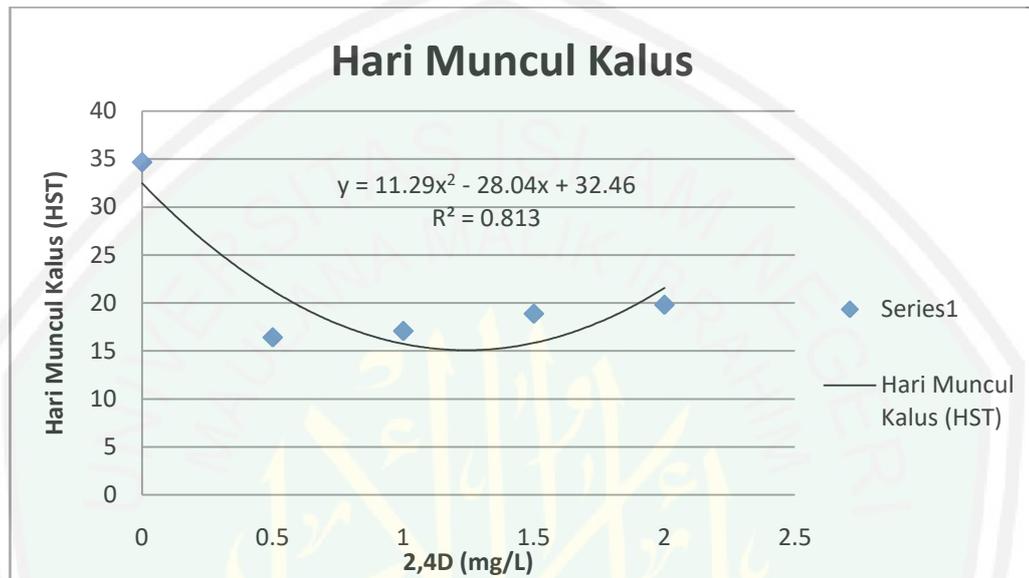
Pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D juga berpengaruh nyata terhadap persentase tumbuh kalus pada eksplan. Dari hasil pengamatan, perlakuan paling

efektif ialah perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D dengan presentase eksplan berkalus sebesar 28%. Persentase tumbuh kalus pada eksplan tertinggi yaitu pada pemberian 1 mg/l 2,4-D sebesar 30,6%. Sedangkan rata-rata persentase tumbuh kalus pada eksplan paling rendah dihasilkan oleh perlakuan 2,4-D 0 mg/l yaitu 0,6%. Hasil yang serupa didapat pada penelitian yang dilakukan oleh Elangomathavan (2017) dengan konsentrasi 2,4-D 1 mg/l pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) yang menghasilkan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 19,7% pada eksplan daun dan 30,9% pada eksplan tangkai daun (*petiole*).

Pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D juga memberikan pengaruh terhadap berat kalus daun wungu. Perlakuan yang mempunyai berat kalus paling tinggi dan efektif adalah pada pemberian 2,4-D sebanyak 0,5 mg/l dengan berat kalus 0,04634 gr, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan hasil pada perlakuan 2,4-D 1 mg/l karena mempunyai notasi yang sama pada uji DMRT 5%. Penelitian yang dilakukan Guntoro (2013) pada eksplan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki hasil yang serupa yaitu didapatkan berat basah kalus pada pemberian konsentrasi 1 mg/l 2,4-D sebanyak 0,06144 gr.

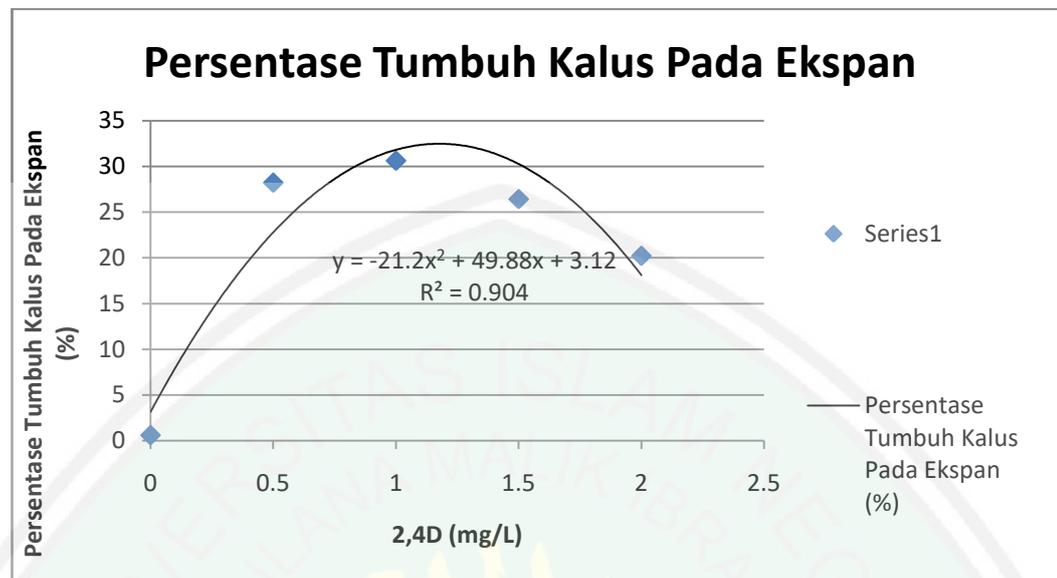
Sitorus *et. al.* (2011) menyatakan bahwa pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal dan akan meningkatkan berat basah kalus. Rahayu (2003) menambahkan bahwa berat segar kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya yang tinggi, selain itu berat basah yang dihasilkan juga tergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Hubungan sebab-akibat antara konsentrasi 2,4-D dan variabel uji dapat diketahui dengan

melakukan analisis regresi korelasi pada masing-masing variabel uji yaitu hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan, dan berat basah kalus. Adapun hasil analisis regresi korelasi disajikan pada gambar 4.1; 4.2 dan 4.3



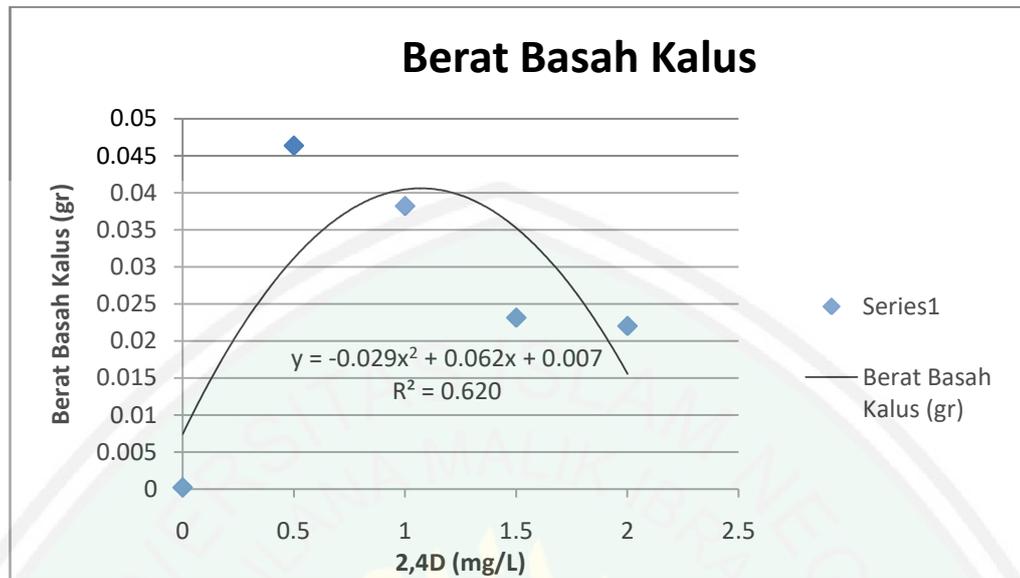
Gambar 4.1 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.1) didapatkan persamaan $y = 11.29x^2 - 28.04x + 32.46$ dengan nilai determinasi $R = 0,813$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 81,3%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $11.29x^2 - 28.04x + 32.46$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (1,24 ; 15,05). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 1,251 mg/l akan mempercepat hari muncul kalus hingga mencapai 15 hari setelah inisiasi.



Gambar 4.2 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.2) didapatkan persamaan $y = -21.2x^2 + 49.88x + 3.12$ dengan nilai determinasi $R = 0,904$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi 2,4-D dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 90,4%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = -21,2x^2 + 49,88x + 3,12$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (1,176 ; 32,46). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 1,176 mg/l akan menaikkan rata-rata persentase tumbuh kalus pada eksplan hingga mencapai 32,46%.



Gambar 4.3 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.3) didapatkan persamaan $y = -0,029x^2 + 0,062x + 0,007$ dengan nilai determinasi $R = 0,620$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 62%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = -0,029x^2 + 0,062x + 0,007$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (1,069 ; 0,04). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 1,089 mg/l akan menaikkan rata-rata berat basah kalus hingga mencapai 0,04%.

Kurva hari muncul kalus menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin lama juga hari muncul kalus. Begitu juga dengan kurva persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah. Dengan demikian, pada penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan maka semakin menurunnya hasil yang diperoleh. Hal tersebut dapat disebabkan karena 2,4-D bersifat herbisida pada konsentrasi tinggi seperti yang

diungkapkan oleh Siregar (2006) 2,4-D yang diberikan pada konsentrasi yang tinggi akan berubah fungsinya menjadi herbisida. Barnes & Seefeldt (2009) menambahkan bahwa 2,4-D ditemukan sangat efisien dalam mengendalikan pertumbuhan kayu dan tanaman herba berdaun lebar. Tanaman herba yang diberikan 2,4-D kadar tinggi mengalami detoksifikasi yang menghambat metabolisme asam nukleat dan protein sehingga tanaman mati. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sitinjak, dkk. (2006) konsentrasi 2,4-D terbaik untuk menginduksi kalus embriogenik dari meristem jahe adalah 1 mg/l 2,4-D. Dan ketika konsentrasi 2,4-D semakin dinaikkan justru kualitas kalus semakin menurun.

4.2 Pengaruh Pemberian BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus daun wungu (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.3 sebagai berikut.

Tabel 4.3. Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian BAP terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Variabel | F-hitung | F table 5% |
|--------------------------------------|----------|------------|
| Hari Muncul Kalus (HST) | 157,553* | 2,557179 |
| Persentase tumbuh kalus pada eksplan | 241,131* | 2,557179 |
| Berat Basah Kalus | 59,249* | 2,557179 |

Keterangan: *pemberian BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus memiliki nilai F

hitung lebih besar dari F tabel 5% yang artinya pemberian berbagai konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap semua variabel tersebut. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% diringkas dalam tabel 4.4 sebagai berikut.

Tabel 4.4 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian BAP terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Konsentrasi 2,4-D (mg/l) | Hari Muncul Kalus (HST) | Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) | Berat Kalus (gr) |
|--------------------------|-------------------------|--|------------------|
| 0 | 19,2b | 46,1333e | 0,074847c |
| 0,5 | 18a | 32,2667d | 0,03532b |
| 1 | 20,0667c | 16,1333c | 0,01252a |
| 1,5 | 24 d | 7,2667b | 0,00538a |
| 2 | 25,5333 e | 3,4667a | 0,001780a |

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian BAP berbeda nyata terhadap masing-masing konsentrasi. Namun semakin tinggi konsentrasi BAP, hari muncul kalus semakin lama. Hal ini dapat terjadi karena ketidakseimbangan hormon endogen dan eksogen yang diberikan (dalam hal ini BAP). Abidin (1985) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dalam kondisi tertentu (dalam hal ini dapat berupa tinggi rendahnya konsentrasi maupun sifat ZPT itu sendiri) mampu menghambat kerja hormon endogen dan mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel. Konsentrasi BAP sebanyak 0,5 mg/l merupakan konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi kalus yaitu dalam 18 HST dibanding dengan konsentrasi lainnya. Dari hasil ini

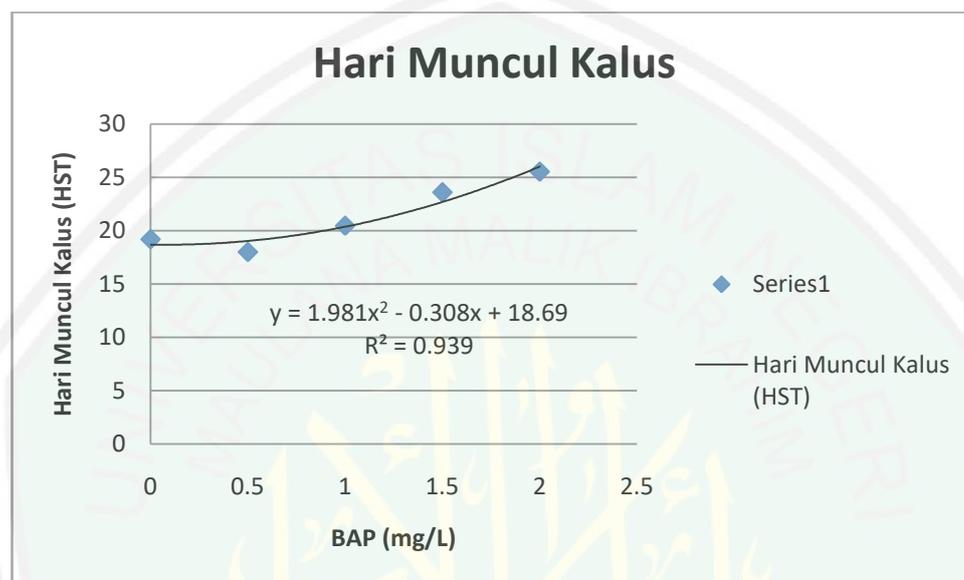
menunjukkan bahwa dalam konsentrasi BAP yang rendah sudah mampu untuk menginduksi kalus.

Pemberian berbagai konsentrasi BAP juga berpengaruh nyata terhadap persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus. Dari hasil pengamatan diperoleh persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus tertinggi yaitu pada perlakuan tanpa BAP masing-masing sebesar 46,13% dan 0,074847 gr. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tanpa pemberian BAP sudah mampu menghasilkan persentase dan berat basah tertinggi. Hal ini dapat terjadi diduga karena sitokinin endogen dalam tanaman sudah cukup tinggi. Menurut George (1993) pembentukan kalus pada beberapa tanaman, khususnya monokotil, penambahan sitokinin eksogen dibutuhkan dalam konsentrasi yang sangat rendah (0 – 0,1 mg/l). Ariati (2012) menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh.

Pada penelitian induksi kalus embriogenik somatik yang dilakukan oleh Supatmi *et.al* (2016) pada eksplan daun cabai dengan penambahan 0,1-0,5 mg/l BAP menghasilkan kalus dengan daya hidup 73-100%. Konsentrasi 0,1 mg/l mampu menginduksi embriogenik somatik yang ditandai dengan fase proembriogenik awal nodular. Sedangkan pada penelitian Hartati (2013) pada eksplan rumput gajah konsentrasi 0,01 mg/l BAP mampu menginduksi kalus hingga 2 MST dengan persentase eksplan berkalus 24,5%.

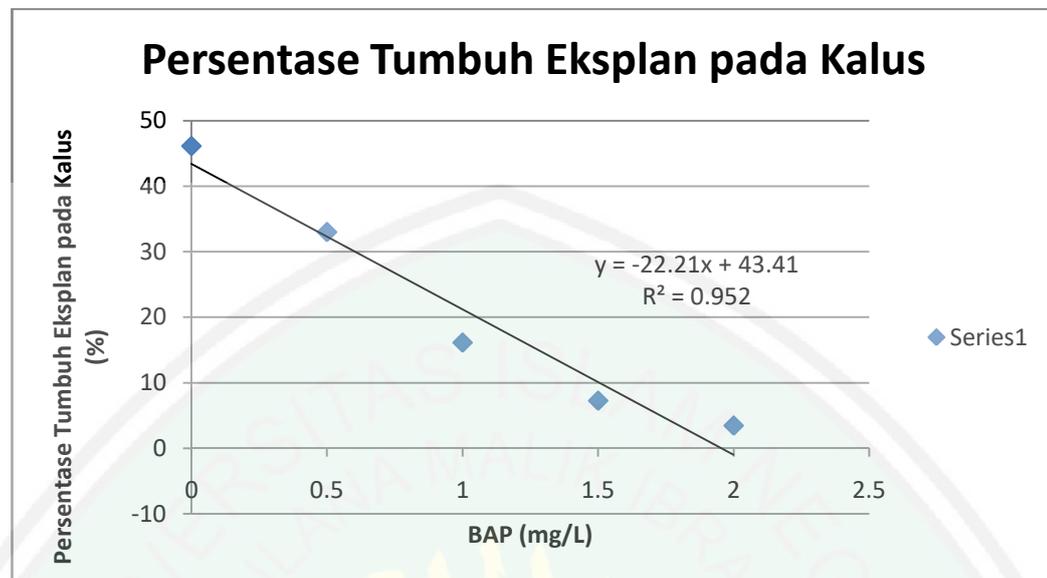
Hubungan sebab-akibat antara konsentrasi BAP dengan variabel uji dapat diketahui dengan melakukan analisis regresi korelasi pada masing-masing

variabel uji yaitu hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan, dan berat basah kalus. Adapun hasil analisis regresi korelasi disajikan pada gambar 4.4; 4.5 dan 4.6



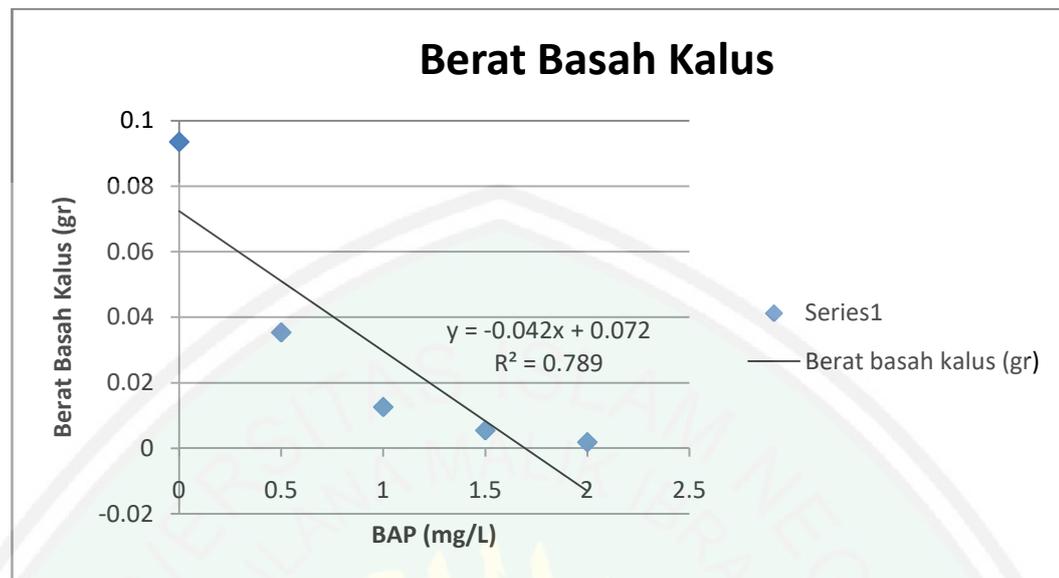
Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l)

Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.4) didapatkan persamaan $y = 1.981x^2 - 0.308x + 18.69$ dengan nilai determinasi $R = 0,939$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi BAP dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 93,9%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 1.981x^2 - 0.308x + 18.69$ didapat titik puncak pada koordinat (0,078; 18,68) yang menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP sebesar 0,078 mg/l akan mempercepat rata-rata hari muncul kalus hingga mencapai 18,68 hari atau 19 hari.



Gambar 4.5 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.5) didapatkan persamaan $y = -22.21x + 43.41$ dengan nilai determinasi $R = 0,952$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BAP dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 95,2%. Koefisien x bernilai negatif yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP maka semakin menurunkan persentase kalus yang tumbuh. Berdasarkan persamaan $y = -22.21x + 43.41$ diketahui koefisien regresi variabel konsentrasi BAP(x) sebesar -22,21 yang artinya setiap kenaikan konsentrasi BAP sebesar 1 mg/l akan menurunkan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 22,21%.



Gambar 4.6 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai konsentrasi BAP (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.6) didapatkan persamaan $y = -0.042x + 0.072$ dengan nilai determinasi $R = 0.789$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BAP dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 78,9%. Koefisien x bernilai negatif yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP maka semakin menurunkan berat basah kalus. Berdasarkan persamaan $y = -0.042x + 0.072$ diketahui koefisien regresi variabel konsentrasi BAP(x) sebesar -0,042 yang artinya setiap kenaikan konsentrasi BAP sebesar 1 mg/l akan menurunkan berat basah kalus sebesar 0,042gr.

4.3 Pengaruh Interaksi 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus daun wungu (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.5 sebagai berikut.

Tabel 4.5. Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Variabel | F-hitung | F table 5% |
|--------------------------------------|----------|------------|
| Hari Muncul Kalus (HST) | 49,195* | 1,850315 |
| Persentase tumbuh kalus pada eksplan | 24,730* | 1,850315 |
| Berat Basah Kalus | 7,137* | 1,850315 |

Keterangan: *berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus memiliki nilai F hitung lebih besar dari F tabel 5% yang artinya pemberian kombinasi berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap semua variabel tersebut. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%. Hasil uji lanjut DMRT 5% diringkas dalam tabel 4.6 sebagai berikut.

Tabel 4.6 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| Perlakuan (mg/l) | Hari Muncul Kalus (HST) | Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) | Berat Kalus (gr) |
|---------------------|-------------------------|--|-------------------|
| 0 2,4-D + 0 BAP | 41,0000 l | 0,0000 a | 0,000000 a |
| 0 2,4-D + 0,5 BAP | 24,0000 j | 1,6667 ab | 0,000733 a |
| 0 2,4-D + 1 BAP | 26,3333 k | 1,3333 ab | 0,000300 a |
| 0 2,4-D + 1,5 BAP | 41,0000 l | 0,0000 a | 0,000000 a |
| 0 2,4-D + 2 BAP | 41,0000 l | 0,0000 a | 0,000000 a |
| 0,5 2,4-D + 0 BAP | 13,3333 ab | 46,6667 e | 0,077467 d |
| 0,5 2,4-D + 0,5 BAP | 14,0000 b | 48,3333 f | 0,092267 e |
| 0,5 2,4-D + 1 BAP | 16,3333 c | 30,3333 e | 0,040567 b |
| 0,5 2,4-D + 1,5 BAP | 17,6667 cd | 9,6667 bc | 0,017033 a |
| 0,5 2,4-D + 2 BAP | 20,6667 fg | 6,0000 ab | 0,004367 a |
| 1 2,4-D + 0 BAP | 12,3333 a | 73,3333 g | 0,123067 f |
| 1 2,4-D + 0,5 BAP | 13,3333 ab | 32,3333 d | 0,053900 c |
| 1 2,4-D + 1 BAP | 17,6667 cd | 27,3333 d | 0,008667 a |
| 1 2,4-D + 1,5 BAP | 19,6667 efg | 14,3333 c | 0,003900 a |
| 1 2,4-D + 2 BAP | 22,3333 i | 5,6667 ab | 0,001400 a |
| 1,5 2,4-D + 0 BAP | 14,6667 b | 62,3333 f | 0,085900 e |
| 1,5 2,4-D + 0,5 BAP | 18,3333 d | 53,3333 e | 0,018233 a |
| 1,5 2,4-D + 1 BAP | 19,3333 ef | 7,3333 abc | 0,008667 a |
| 1,5 2,4-D + 1,5 BAP | 20,3333 fgh | 6,6667 abc | 0,002067 a |
| 1,5 2,4-D + 2 BAP | 21,6667 hi | 2,3333 ab | 0,000733 a |
| 2 2,4-D + 0 BAP | 14,6667 b | 48,3333 e | 0,087800 a |
| 2 2,4-D + 0.5 BAP | 20,3333 fgh | 29,3333 d | 0,011467 a |
| 2 2,4-D + 1 BAP | 20,6667 fg | 14,3333 c | 0,004400 a |
| 2 2,4-D + 1.5 BAP | 21,3333 ghi | 5,6667 ab | 0,003900 a |
| 2 2,4-D + 2 BAP | 22,000 i | 3,3333 ab | 0,002400 a |

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

Hasil uji lanjut DMRT 5% pada hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP berbeda nyata terhadap hari muncul kalus. Perlakuan kombinasi 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP merupakan

konsentrasi yang paling cepat dalam menginduksi kalus daun wungu yaitu 12 HST, meski hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP karena memiliki notasi yang sama pada uji lanjut DMRT 5%. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Mahadi (2016) pada jeruk katsuuri (*Citrus microcarpa*) pada perlakuan D1B0 (1mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP) yang menghasilkan induksi kalus pada hari ke-7 HST.

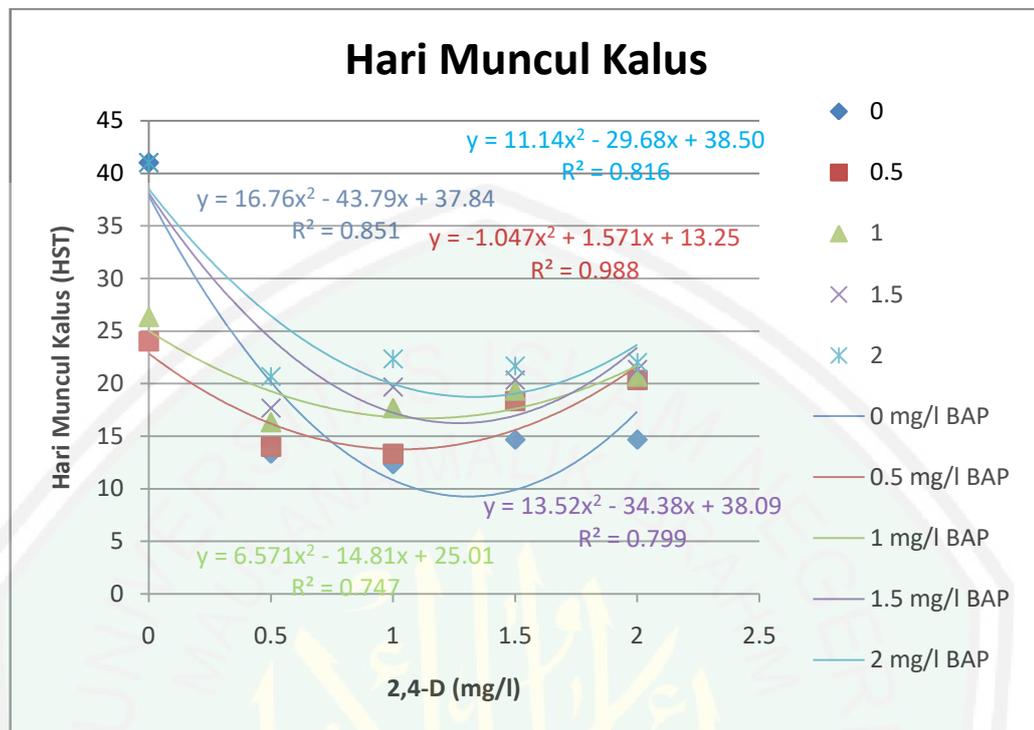
Kombinasi 2,4-D dan BAP juga berpengaruh pada variabel persen terbentuknya kalus dan berat basah kalus. Hasil tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi lainnya pada dua variabel tersebut adalah perlakuan kombinasi 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP yang menghasilkan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 73,33% dengan berat kalus mencapai 0,123067 gr. Hal serupa juga terjadi pada penelitian Mufidatunniswah (2017) yang menggunakan eksplan jintan hitam dengan perlakuan kombinasi 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP, menghasilkan eksplan berkalus sebesar 100% dengan berat basah 0,0933 gr.

Ketiga variabel di atas menghasilkan hasil yang tinggi pada perlakuan kombinasi 2,4-D saja tanpa BAP. Dengan demikian dimungkinkan eksplan daun wungu sudah memiliki sitokinin endogen yang cukup sehingga pemberian auksin eksogen saja sudah mampu membentuk kalus. Dodds and Robert dalam Waryastuti (2017) mengungkapkan bahwa pembentukan kalus embriogenik membutuhkan auksin dengan konsentrasi tinggi dan sitokinin yang rendah. Menurut George (1993) pembentukan kalus pada beberapa tanaman, khususnya monokotil, penambahan sitokinin eksogen dibutuhkan dalam konsentrasi yang sangat rendah (0 – 0,1 mg/l). Ariati (2012) menyatakan bahwa konsentrasi yang

diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh.

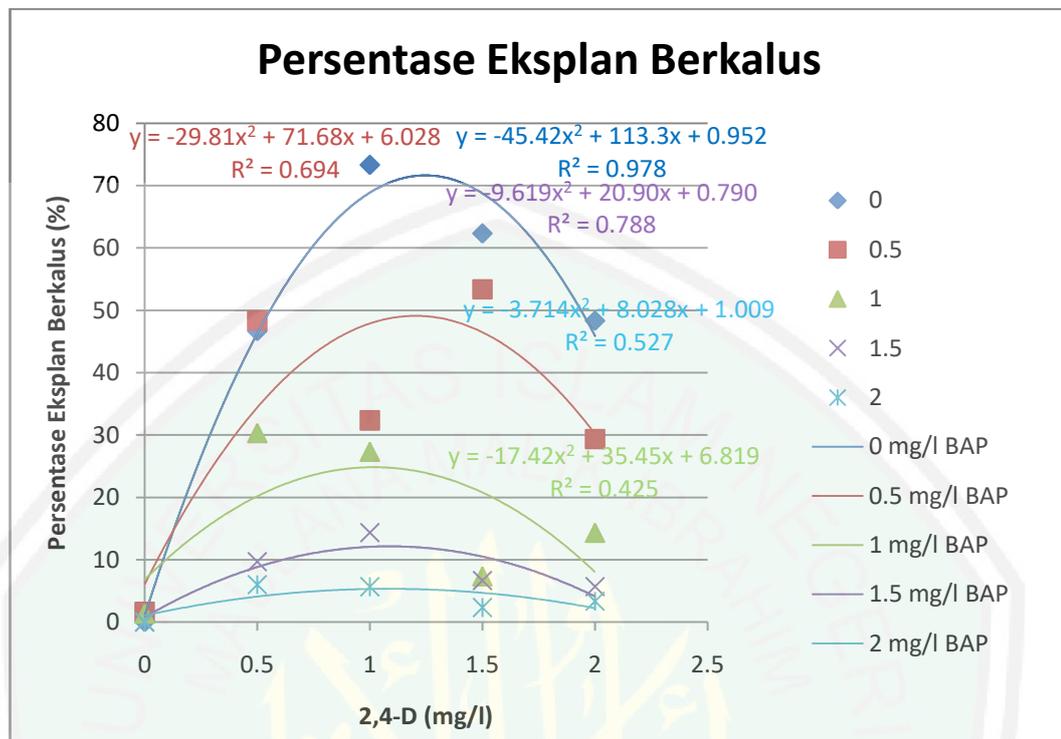
Abidin (1985) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dalam kondisi tertentu (dalam hal ini dapat berupa tinggi rendahnya konsentrasi maupun sifat ZPT itu sendiri) mampu menghambat kerja hormon endogen dan mengganggu pertumbuhan dan perkembangan sel. Mahadi (2017) menambahkan bahwa pertumbuhan kalus selain dipengaruhi oleh kecepatan pembelahan sel karena pengaruh pemberian hormon eksogen juga dipengaruhi oleh kondisi genetis, umur jaringan, dan jenis tanaman serta faktor lingkungan yang meliputi cahaya, kandungan O₂, dan kelembaban udara serta kemampuan jaringan untuk menyerap zat-zat hara yang tersedia, hal ini banyak dipengaruhi oleh aerasi media.

Pada penelitian ini, konsentrasi kombinasi yang efektif dalam menginduksi kalus diperoleh pada perlakuan 1 mg/l 2,4D + 0 mg/l BAP. Untuk mengetahui hubungan sebab-akibat dari interaksi 2,4-D dan BAP dan variabel uji dapat dilakukan dengan analisis regresi korelasi. Hasil analisis regresi korelasi diringkas dalam gambar 4.7; 4.8; 4.9 sebagai berikut:



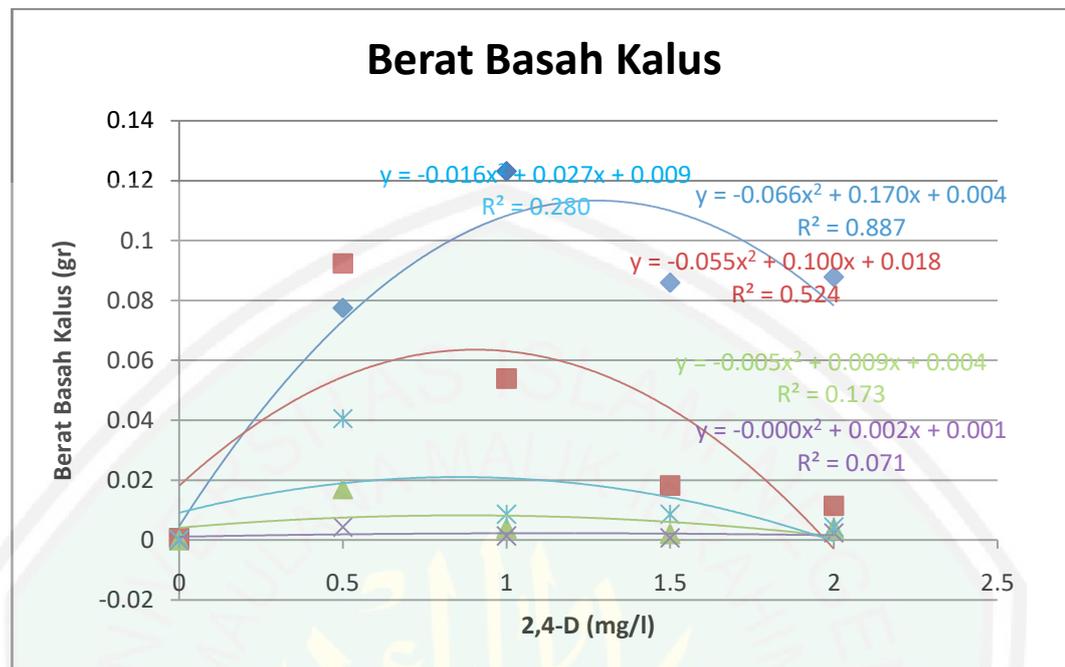
Gambar 4.7 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l)

Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.7) pada kombinasi 2,4-D dan BAP mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = -1,047x^2 + 1,571x + 13,25$ dengan nilai determinasi $R = 0,988$ yang artinya hubungan antara pemberian kombinasi 2,4-D dan BAP dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 98,8%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = -1,047x^2 + 1,571x + 13,25$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (0,75 ; 13,84). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 0,75 mg/l dan BAP 0,5 mg/l akan mempercepat rata-rata hari muncul kalus hingga mencapai 13,84 hari setelah inisiasi atau 14 hari setelah inisiasi.



Gambar 4.8 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.8) mengikuti persamaan $y = -45,42x^2 + 113,3x + 0,952$ dengan nilai determinasi $R = 0,978$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dan BAP dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 97,8%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = -45,42x^2 + 113,3x + 0,952$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP mencapai titik puncak pada koordinat (1,247 ; 71,61). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 1,247 mg/l dan BAP 0 mg/l akan menaikkan rata-rata persentase tumbuh kalus pada eksplan hingga mencapai 71,61%.



Gambar 4.9 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.9) pada kombinasi 2,4-D dan BAP mengikuti persamaan $y = -0.066x^2 + 0.170x + 0.004$ dengan nilai determinasi $R = 0,887$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D dan BAP dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 88,7%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = -0,055x^2 + 0,100x + 0,018$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BAP mencapai titik optimum pada koordinat (1,29; 0,1135). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 1,29 mg/l dan BAP 0 mg/l akan menaikkan rata-rata berat basah kalus hingga mencapai 0,1135 gr.

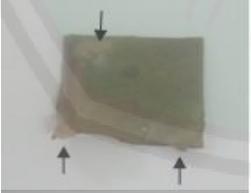
4.4 Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP Terhadap Morfologi dan Anatomi

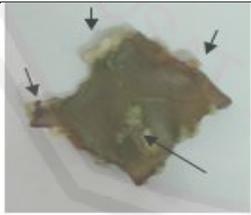
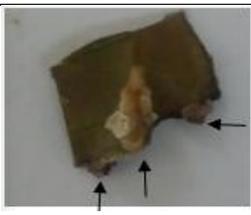
Kalus

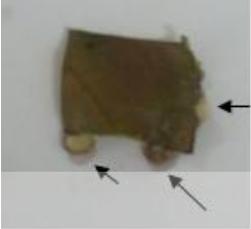
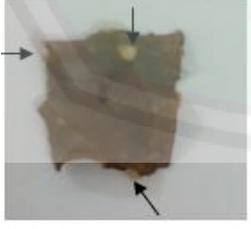
4.4.1 Morfologi Kalus

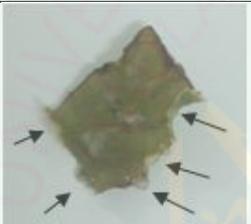
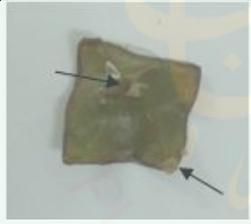
Morfologi kalus meliputi warna kalus dan tekstur kalus. Kalus yang tumbuh pada penelitian ini banyak yang belum sempurna karena kalus masih tumbuh di ujung atau bagian tepi eksplan, dengan kata lain eksplan belum membentuk kalus sepenuhnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, warna kalus daun wungu yang terbentuk adalah putih susu, putih kekuningan dan putih kehijauan. Sedangkan tekstur kalus yang diperoleh adalah kompak dan remah. Hal tersebut di tunjukkan pada tabel 4.7 sebagai berikut:

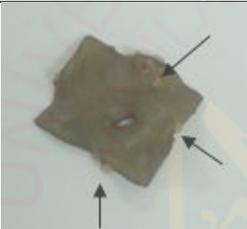
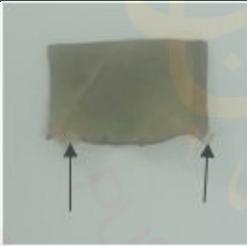
Tabel 4.7 Warna dan tekstur kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff)

| Perlakuan (mg/l) | Warna dan Tekstur | Keterangan |
|--|-----------------------------|---|
|  0 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP | - | - |
|  0 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  0 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |

| | | |
|--|-----------------------------|---|
|  <p>0 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP</p> | - | - |
|  <p>0 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP</p> | - | - |
|  <p>0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP</p> | Putih dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |
|  <p>0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP</p> | Putih dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |
|  <p>0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |

| | | |
|--|-----------------------------|---|
|  <p>0,5 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP</p> | Putih Kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP</p> | Putih dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |
|  <p>1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |
|  <p>1 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP</p> | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |

| | | |
|--|-----------------------------|---|
|  <p>1,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |
|  <p>1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP</p> | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>1,5 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP</p> | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan remah | Memiliki ciri morfologi kalus embriogenik |

| | | |
|---|-----------------------------|---|
|  <p>2 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>2 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP</p> | Kuning kehijauan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |
|  <p>2 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP</p> | Putih kekuningan dan kompak | Memiliki ciri morfologi kalus non-embriogenik |

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh tiga warna kalus daun wungu yaitu putih kehijauan, putih kekuningan dan putih dengan tekstur kalus yang remah dan kompak. Perlakuan dengan 2,4-D 0 mg/l, 1,5 mg/l dan 2 mg/l yang dikombinasikan dengan BAP konsentrasi 1 mg/l, 1,5 mg/l dan 2 mg/l cenderung menghasilkan kalus dengan warna putih kekuningan hingga kehijauan bertekstur kompak. Warna kalus kuning kehijauan ditunjukkan pada perlakuan dengan konsentrasi auksin (2,4-D) yang rendah dan sitokinin (BAP) yang tinggi.

Peran sitokinin disini kemungkinan mempengaruhi warna kuning kehijauan dan tekstur kompak pada kalus. Sebagaimana pendapat Andaryani (2010) bahwa penambahan konsentrasi sitokinin yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna hijau (cerah) pada kalus lebih tahan lama. Hal tersebut berkaitan dengan peran sitokinin yang mampu memperlambat proses senescensi (penuaan) sel dengan menghambat perombakan-perombakan butir-butir klorofil dan protein dalam sel. Ariati (2012) menambahkan bahwa tekstur kompak merupakan efek dari sitokinin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal ini menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku sehingga tekstur kalus menjadi kompak.

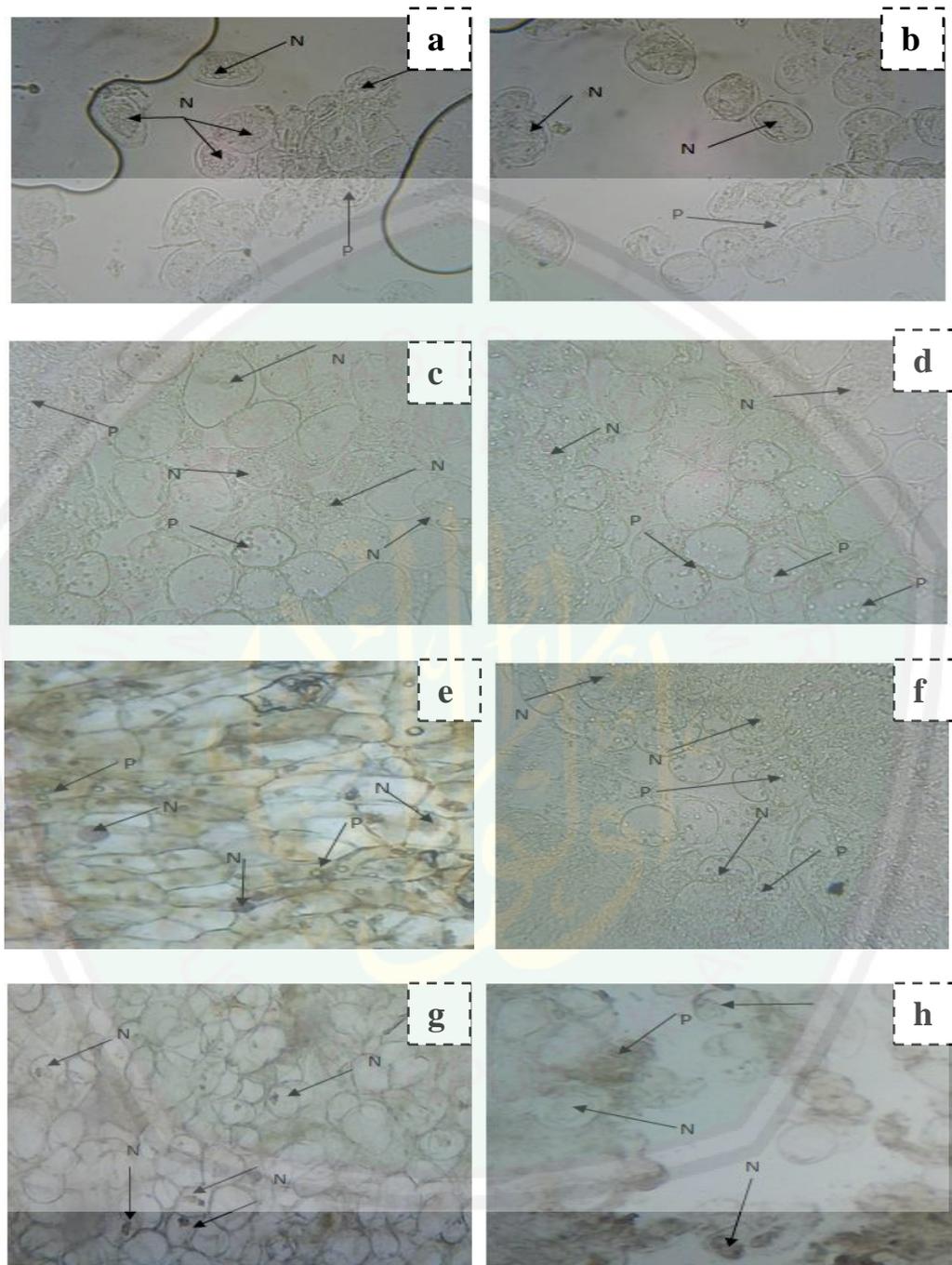
Tekstur kalus yang remah dengan warna putih kekuningan atau putih yang merupakan ciri dari kalus embriogenik seperti yang dijelaskan oleh Mahadi (2017) terdapat pada perlakuan 2,4-D konsentrasi 0,5 – 2 mg/l yang dikombinasikan dengan BAP konsentrasi 0 – 1 mg/l. Warna kalus yang putih hingga putih kekuningan mengindikasikan bahwa sel tersebut masih aktif melakukan pembelahan dan belum mengandung klorofil. Sebagaimana pendapat Ariati (2012), kalus yang berwarna putih hingga putih kekuningan merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi. Butir-butir pati tersebut akan sedikit demi sedikit tumbuh menjadi sistem membran yang jelas yang akhirnya terbentuklah butir-butir klorofil dengan paparan cahaya sehingga kalus berwarna hijau.

Terbentuknya kalus yang bertekstur remah dalam penelitian ini diduga dipacu oleh adanya hormon auksin yang tinggi, dalam hal ini 2,4-D. Andaryani

(2010) menyatakan bahwa penambahan 2,4-D menyebabkan sel-sel akan lebih aktif membelah dan melakukan perbesaran sehingga dihasilkan kalus yang remah. Secara visual kalus remah yang terbentuk pada eksplan, sel-selnya kecil dan bergerombol, ikatan antar selnya tampak renggang, jika diambil dengan pinset akan mudah pecah dan ada yang menempel pada pinset. Thomy (2012) menambahkan bahwa tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal sehingga upaya perbanyakan dalam hal jumlah kalus akan lebih mudah.

4.4.2 Anatomi Kalus

Struktur kalus yang didapat melalui pengamatan morfologi, diamati kembali secara anatomi untuk mendukung adanya kalus embriogenik. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 400x dengan mikroskop binokuler. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa organel yang terlihat jelas ialah inti sel dan pati. Menurut Purnamaningsih (2002) inti sel pada sel embriogenik akan terlihat lebih besar di banding sel sekitarnya, pada pengamatan dengan perbesaran tertentu akan terlihat butir-butir kromatin yang tersebar dalam nukleus. Kromatin akan terlihat jelas ketika berubah menjadi benang-benang yang disebut kromosom ketika proses pembelahan sel. Sedangkan butir pati menurut Mulyani (2006) merupakan bagian dari sel yang bersifat non-protoplasmik yang ada di dalam plastida. Butir pati memiliki titik eksentrik/hillum yang dikelilingi oleh garis-garis yang disebut lamella. Pada pengamatan yang dilakukan, jika pengarah halus diubah-ubah dan terfokuskan akan terlihat satu titik hillum. Hasil pengamatan ditunjukkan pada gambar 4.11 sebagai berikut.



Gambar 4.10 Histologi Kalus daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) pada perbesaran 100x. (a) perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (kalus remah), (b) perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP (kalus remah), (c) perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (kalus remah), (d) perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP (kalus remah), (e) perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP (kalus kompak), (f) perlakuan 1,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (kalus remah), (g) perlakuan 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP (kalus kompak), (h) perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (kalus remah), p= pati, N=inti sel.

Berdasarkan hasil pengamatan secara anatomi baik pada kalus kompak maupun remah didapat gambaran yang berbeda. Perbedaan antara histologi kalus remah dan kompak pada penelitian ini terlihat dari ukuran inti sel dan ruang antar sel. Pada kalus kompak (gambar 4.10 poin e dan g) ukuran inti sel lebih kecil dibanding pada kalus remah, tidak ditemukan ruang antar sel seperti pada kalus remah dan dinding selnya terlihat jelas. Hal ini juga diungkapkan oleh Ariati (2012) bahwa kalus bertekstur kompak yang padat dan keras serta non-embriolik umumnya memiliki ukuran sel yang kecil dan sangat rapat, sitoplasma yang padat, inti sel kecil bahkan sulit terlihat dan mengandung banyak butir pati.

Kalus remah pada gambar 4.10 poin a, b,c tampak memiliki inti yang besar, sitoplasma yang padat, dinding selnya terlihat jelas serta terdapat ruang antar sel yang tidak dimiliki oleh kalus kompak, sehingga kalus kompak lebih rapat. Sedangkan kalus remah pada gambar 4.10 poin d dan f memiliki inti sel yang belum begitu jelas pada pengamatan, butir pati yang banyak, dinding sel jelas dan ruang antar sel. Pandiangan dan Subarnas (2011) juga mengungkapkan bahwa kalus meremah bertekstur lunak dan tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak.

Berdasarkan hasil pengamatan ciri-ciri sel tersebut, struktur kalus yang remah yang didapat pada perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (gambar 4.10a), perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP (gambar 4.10b), dan perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP (gambar 4.10c), diduga merupakan kalus remah yang bersifat embriogenik. Hal tersebut dikarenakan ciri-ciri yang tampak, sesuai dengan pendapat Vajrabhaya (1990) dalam Tanjung (2017) yang menyatakan bahwa sel-

sel embriogenik mempunyai ciri-ciri inti sel besar, sitoplasma yang padat serta dinding sel yang tebal. Hal ini diperkuat oleh Kasi dan Sumaryono (2008) pada pengamatan anatomi kalus embriogenik remah yang terdiri atas sel-sel yang bersifat meristematik yang ditandai dengan inti sel yang besar, jelas dan menyerap warna kuat, sitoplasma yang padat serta aktivitas pembelahan sel yang tinggi.

Rudianto dan Indrianto (2012) menyatakan bahwa sel yang mempunyai kemampuan menjadi embriogenik sangat tergantung pada tingkat awal diferensiasi sel serta kondisi lingkungan yang mendukungnya, terutama interaksi kandungan hormon endogen dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sehingga konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam sel berubah. Perubahan konsentrasi tersebut merupakan *triggering factor* atau faktor pemicu yang dapat mempengaruhi ekspresi gen dalam menentukan embriogenesis somatik.

4.5 Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tumbuhan obat sampai sekarang masih dilestarikan oleh masyarakat untuk dijadikan bahan obat-obatan untuk membantu meringankan penyakit yang mereka derita. Salah satunya ialah tanaman obat daun wungu. Dari Ibnu Mas'ud, bahwa Rasulullah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.” (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri

menshahihkan hadits ini dalam Zawa'id-nya. Lihat takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad, 4/12-13).

Kemudian pada hadits yang lain dari riwayat Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah dia berkata bahwa Rasulullah bersabda,

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala.” (HR. Muslim).

Berdasarkan ayat tersebut dapat kita ketahui bahwa setiap penyakit pasti memiliki obat yang artinya penyakit tersebut dapat disembuhkan. Obat tersebut dapat kita temukan di sekitar kita berupa tanaman obat, yang salah satunya adalah tanaman wungu. Adapun tanaman wungu itu mempunyai kearifan lokal tersendiri bagi masyarakat setempat. Tanaman wungu dimanfaatkan oleh masyarakat setempat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Bahkan kebutuhan herba tanaman wungu ini oleh beberapa industri jamu Indonesia semakin meningkat.

Sehubungan dengan meningkatnya kebutuhan tanaman wungu menyebabkan frekuensi pemanenan yang selama ini dilakukan juga semakin besar dan pada akhirnya menyebabkan ketersediaan bahan baku dari tanaman menjadi menurun, apalagi tanaman wungu sulit menghasilkan biji. Untuk mengatasi keterbatasan dalam menghasilkan bibit dalam waktu yang singkat dan seragam dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan tumbuhan.

Teknik kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik perbanyakan dengan mengisolasi bagian tumbuhan dan menumbuhkannya kembali menjadi tanaman

lengkap dalam media yang sudah dimodifikasi dalam kondisi aseptis. Allah Subhana Wa Ta'ala dalam surah al-Waqiah ayat 62-64;

وَلَقَدْ عَلِمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾ أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ﴿٦٣﴾ ءَأَنْتُمْ
تَزْرَعُونَهُ أَمْ نَحْنُ الَّذِينَ نَزْرَعُونَ ﴿٦٤﴾

Artinya: “(62) dan Sesungguhnya kamu telah mengetahui penciptaan yang pertama, Maka Mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)? (63) maka Terangkanlah kepadaku tentang yang kamu tanam (64) kamukah yang menumbuhkannya atau Kamikah yang menumbuhkannya?” (Q.S al-Waqiah (56): 62-64)

Menurut tafsir al-Mishbah kata “*Tadzakkaruuna*” asalnya adalah “*Tatadzakkaruuna*”, berbentuk kata kerja *mudhari* (masa lampau) (Shihab, 2001). Hal ini mengisyaratkan bahwa kalau pada masa lalu kamu (manusia) belum mengambil pelajaran, sehingga diharapkan untuk masa kini dan masa yang akan datang, manusia secara bersungguh-sungguh menarik pelajaran.

Dijelaskan juga dalam tafsir al-Maraghi kata “*Tahrutsun*” memiliki arti yang menyebarkan bijinya dan mengelolah tanahnya, sedangkan kata “*Tazra'unahu*” memiliki arti menumbuhkan dan menjadikannya tumbuhan yang berkembang (al-Maraghi, 1992). Penjelasan dari tafsir di atas dapat diambil pelajaran bahwa manusia mampu menyebarkan benih dan mengolah tanahnya, tetapi yang menumbuhkan dan menjadikannya berkembang di atas tanah dengan segala unsur hara didalamnya hanya Allah Subhana Wa Ta'ala dan atas kehendak-Nya. “Mengolah tanahnya” dalam teknik kultur jaringan tumbuhan diibaratkan seperti membuat media yang didalamnya terdiri dari unsur hara seperti dalam tanah, “menyebarkan benih” diibaratkan seperti kegiatan inisiasi atau

menempatkan eksplan tanaman dalam media yang sudah diolah tersebut agar eksplan tersebut tumbuh kembali (atas kehendak Allah) menjadi tanaman lengkap dalam kondisi aseptis.

Penelitian ini menggunakan eksplan daun wungu yang berasal dari daun nomor dua dari ujung batang. Eksplan daun wungu di tanam dalam media MS yang telah memiliki zat pengatur tumbuh untuk merangsang pertumbuhan kalus. Pertumbuhan eksplan daun wungu menjadi kalus ditunjukkan dari beberapa perlakuan yang diberikan. Sesuai dengan firman Allah Subhana Wa Ta'ala dalam QS. Al-An'am ayat 95 sebagai berikut.

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۗ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَالِقَ ٱلَّذِينَ تُوَفَّكُونَ ۗ ﴾

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*”.

Menurut Shihab (2001), ayat tersebut merupakan bukti kekuasaan Allah. Allah, misalnya membelah biji sumber bibit untuk mengeluarkan tumbuh-tumbuhan. Dia juga membelah tunas untuk menumbuhkan pohon-pohon baru. Dia mengeluarkan benda hidup dari yang mati seperti manusia dari tanah dan mengeluarkan benda mati dari yang hidup seperti susu yang keluar dari tubuh hewan.

Berdasarkan ayat tersebut, jika diterapkan pada eksplan daun wungu yang berupa potongan daun yang bisa dikatakan “mati” dapat tumbuh menjadi kalus pada media tanam, semua berkat kehendak dan kuasa Allah Subhana Wa Ta'ala.

Potongan daun wungu tersebut terdiri dari zat-zat tidak hidup yang terakumulasi pada bagian eksplan. Ketika ditempatkan pada lingkungan yang sesuai (dalam hal ini media tanam MS dalam kondisi aseptik) mampu mengadakan pembelahan dan perbesaran sel membentuk kalus.

Allah berfirman dalam QS. Al-A'raaf ayat 58 sebagai berikut.

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

Artinya: “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (kami) bagi orang-orang yang bersyukur”.

Berdasarkan ayat di atas media tanam terdiri dari 2 macam ditinjau dari tingkat kesuburan tanamannya yaitu dari tanah yang baik (tanahnya subur) dan tanah tidak subur (tanahnya tandus). Menurut Mujahid dalam Tafsir Ibnu Katsir tanah yang baik yakni yang mengeluarkan tumbuhan dengan cepat dan tanah yang tidak subur ialah tanah yang belum digarap dan belum siap untuk ditanami serta tanah lainnya yang tidak dapat ditanami (Adullah, 2007). Sedangkan Menurut Al-Jazairi (2007) arti kalimat “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur ...”, yaitu setelah Allah menurunkan air padanya. Sedangkan “Dan tanah yang tidak...” yaitu tanah yang buruk dan kerikil. Ketika hujan turun tanaman-tanamannya hanya tumbuh tidak terawat, merana, tidak subur, susah dan tidak bagus.

Berdasarkan kedua tafsir tersebut dapat diketahui bahwa tanah yang subur maka tanamannya akan tumbuh dengan baik. Tanah yang subur biasanya

mengandung unsur hara makro dan mikro yang cukup, sebagaimana pendapat Sasmitamihardja dan Siregar (1985) yang menyatakan bahwa kandungan unsur hara dalam tanah selalu berubah-ubah, semakin tinggi ketersediaan hara, maka tanah tersebut makin subur. Kandungan dalam tanah yang subur inilah diterapkan pada media tanam MS. Media MS yang digunakan mengandung unsur hara makro dan mikro. Hara makro terdiri dari nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium dan belerang. Sedangkan hara mikro yaitu Fe, Mn, B, Mo, Cl.

Dalam kultur jaringan selain media MS, keberhasilan eksplan untuk tumbuh dan berkembang juga dipengaruhi oleh kehadiran zat pengatur tumbuh dalam media. Penelitian ini menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin untuk menginduksi kalus daun wungu. Auksin yang digunakan adalah 2,4-D sedangkan sitokininnya adalah kinetin. Suryowinoto dalam Arianti (2015) menyatakan bahwa untuk mendapatkan kalus, perlu adanya keseimbangan antara auksin dan sitokinin. Allah Subhana Wa Ta'ala berfirman dalam QS. Al-Qamar ayat 49 yang berbunyi:


 إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”.

Allah Subhana Wa Ta'ala menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannya sesuai ketetapan, ilmu pengetahuan dan suratan takdir-Nya. Jadi, semua yang terjadi di alam semesta pasti berdasarkan takdir Allah Subhana Wa Ta'ala (Muyasar, 2007). Sama halnya dalam penelitian ini yang menggunakan 5 konsentrasi 2,4-D dan BAP yang digunakan secara tunggal maupun kombinasi

untuk memperoleh ukuran/konsentrasi yang efektif dalam menumbuhkan kalus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 0,5 mg/l paling efektif dalam pertumbuhan kalus daun wungu baik dalam hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat kalus. Sedangkan BAP 0,5 mg/l hanya efektif dalam mempercepat hari muncul kalus. Perlakuan terbaik untuk kombinasi ialah pada 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP. Sehingga dapat diketahui bahwa setiap variabel pengamatan, konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan berbeda-beda.

Kalus terbentuk karena eksplan yang bersifat merismatik yang mengalami luka (dalam hal ini dipotong), karena adanya zat pengatur tumbuh dalam media menyebabkan sel dalam eksplan mengalami pemanjangan kemudian terjadi pembelahan sel yang terus menerus membentuk kalus. Pertumbuhan kalus ini menunjukkan proses perubahan secara kuantitatif berupa penambahan jumlah sel, ukuran sel, lebar serta berat kalus. Allah Subhana Wa Ta'ala berfirman dalam QS. Al-Insyiqaq ayat 19 yang berbunyi,

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ۝١٩

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

Menurut tafsir ibnu Katsir menjelaskan bahwa Imam al-Bikhari meriwayatkan dari Mujahid, dia berkata bahwa Ibnu Abba mengatakan “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”, yaitu satu keadaan ke keadaan yang lain. Dalam konteks biologi, kalimat tersebut dapat dikatakan merupakan pertumbuhan. Berdasarkan perubahan ukuran sel, metabolisme dan penampakan kalus, proses perubahan eksplan menjadi kalus

dapat dibagi menjadi tiga tahapan yaitu induksi, pembelahan dan diferensiasi. Pada tahap induksi, sel siap membelah, metabolisme menjadi aktif dan ukuran sel tetap konstan. Tahap pembelahan, sel aktif membelah atau bersifat meristik dan terjadi penurunan ukuran sel. Akhir pertumbuhan kalus, ditandai dengan peningkatan diferensiasi dicirikan dengan perbesaran sel, sel menjadi bervakuola dan penurunan laju pembelahan (Alitalia, 2008).

Hasil penelitian ini hingga terbentuknya kalus merupakan bukti kekuasaan Allah Subhana Wa Ta'ala. Mulai dari eksplan yang bisa dianggap "mati" kemudian tumbuh hingga membentuk kalus. Dari sini kita bisa melihat bagaimana Allah Subhana Wa Ta'ala menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan sebuah tanaman. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesarannya. Semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai khalifah di bumi. Sebagaimana tugas manusia sebagai khalifah Allah di muka bumi antara lain menyangkut tugas mewujudkan kemakmuran di muka bumi, dengan cara menjaga dan melestarikan alam; menuntut ilmu pengetahuan, karena manusia itu adalah makhluk yang berakal sehingga dapat dan harus dididik/diajar dan mampu mendidik/mengajar serta mengambil pelajaran pada setiap ciptaan-Nya.

Seperti halnya dalam penelitian ini, manusia sebagai khalifah harus berfikir dan melakukan tindakan untuk mengatasi permasalahan yang terjadi sebagai wujud syukur kepada Allah Subhana Wa Ta'ala, dalam hal ini adalah permasalahan permintaan herba daun wungu yang meningkat sedangkan penyediaan bibit terbatas. Permasalahan tersebut juga menjadi wadah untuk mengembangkan ilmu pengetahuan yang sudah dipelajarinya. Dengan demikian

diharapkan melalui penelitian ini dapat dijadikan upaya dalam memperbanyak bibit tanaman wungu dalam waktu singkat dengan hasil yang pesat, sehingga kedepannya permintaan herba daun wungu dapat terpenuhi dan tanaman wungu beserta manfaatnya semakin dikenal di masyarakat.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

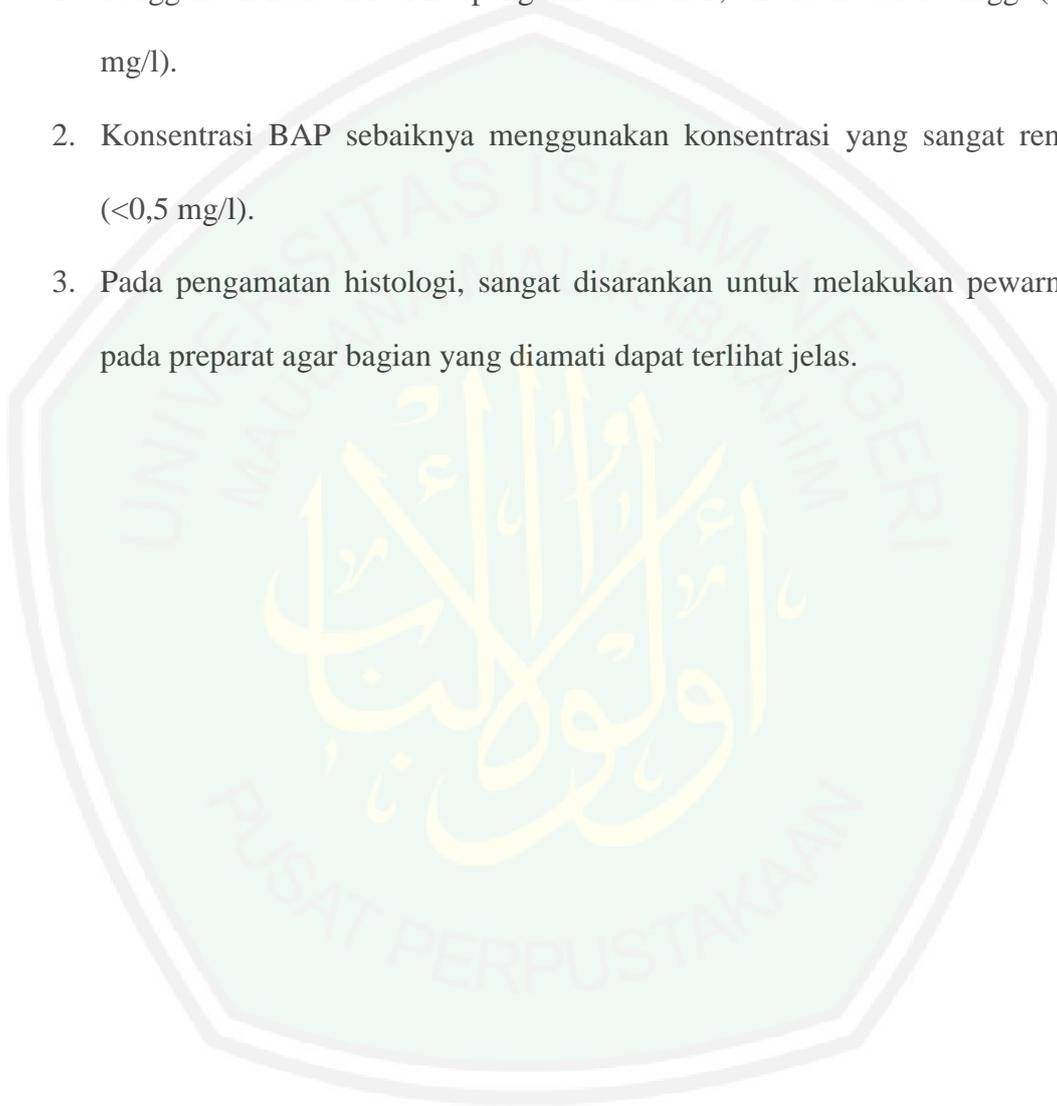
Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.), dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian konsentrasi 0,5 mg/l 2,4-D berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu yaitu 16 HST dan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 28,2% dengan berat kalus sebanyak 0,04634 gr.
2. Tanpa pemberian BAP sudah mampu menginduksi kalus embriogenik daun wungu.
3. Kombinasi 1 mg/l 2,4-D dan 0 mg/l BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik daun wungu yaitu 12 HST dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 73,3% dan berat kalus sebanyak 0,123067 gr.
4. Morfologi kalus yang diduga merupakan kalus embriogenik memiliki tekstur kalus remah dan bewarna putih hingga putih kekuningan. Secara anatomi memiliki inti besar, jelas dan menyerap warna dengan kuat, sitoplasma padat, dan mengandung butir-butir pati. Pemberiaan 2,4-D dan BAP yang menghasilkan kalus demikian ialah 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BAP.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain:

1. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D tidak terlalu tinggi ($<1,5$ mg/l).
2. Konsentrasi BAP sebaiknya menggunakan konsentrasi yang sangat rendah ($<0,5$ mg/l).
3. Pada pengamatan histologi, sangat disarankan untuk melakukan pewarnaan pada preparat agar bagian yang diamati dapat terlihat jelas.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad bin ‘Abdurrahman bin Ishaq Alu Syaikh. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi’i.
- Abidin, Z. 1985. *Dasar dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: ANGKASA Bandung.
- Al Maraghi, AM. 1992. *Terjemahan Tafsir Al maraghiy*. Semarang: Tohapatra.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara In Vitro. *Skripsi Diterbitkan*. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 46 hal.
- Al-Jazairi, S. 2007. *Aisar At Tafaasir Li Al-Kalaami Al-Aliyyi Al-Kabir*. Terjemahan Nafi Zainuddin dan Suratman. Jakarta: Darus Sunah.
- Al-Mahalli, Imam Jalaluddin dan Imam Jalaluddin As-Suyuthi. 2000. *Tafsir Jalalain*. Sinar. Bnadung: Baru Algensindo.
- Al-Qurtubi, Syaikh Imam. 2000. *Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara In Vitro. *Skripsi*. Faperta Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ardiana DW. 2009. Teknik Pemberian Benzyl Amino Purin untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo* L.). *Buletin Teknik Pertanian*, 14(2): 50-53.
- Ariati,S.N. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science* 1(1): 78-84.
- Astuti dan Andayani. 2005. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum morifolium*, Ram.) . *Jurnal Kultur Jaringan Biota*, X(3): 31-35.
- Azizah, R. 2017. Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* Var. Liberica Cv. Tungkal Jambi) dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.
- Azriati, E., Asmeliza, dan Nelfa Y. 2010. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Terhadap Pemberian NAA secara In Vitro. *Jurnal Littri*, 11(2): 31-38.

- Barnes, D.L. and S. Seefeldt. 2009. Attenuation and effectiveness of triclopyr and 2,4-D along alaska highway right-of-ways in a continental and a coastal subarctic environment. *Dissertation*, Alaska Department of T. Environment, 2: 07-06.
- Bermawie N, Kristina NN, Nurhayati H. 2006. Jamu used for women's health caring Indonesia. Di dalam: *Proceedings Women's Healths and Asian Traditional Medicine Conference and Exhibition*. 28-30 July. Putra World Trade Centre, Kuala Lumpur, Malaysia. hlm 45-54.
- BPPT. 2008. *Handeuleum (Graptophyllum pictum (Linn) Griff.)*. Jakarta: Sentra Informasi IPTEK.
- Campbell dan Reece. 2014. *BIOLOGI*. Jakarta: Erlangga.
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Djazuli M, dan Fathan R. 2000. Pengaruh pemupukan dan pemangkasan terhadap pertumbuhan, status hara, dan produktivitas daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Warta Tan Obat Ind*, 6(3):6-8.
- Dwi,N.M. 2012. Pengaruh Pemberian Air Kelapa Dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur (*Vitisvinera* L.). *Jurnal Natural science*, 1(1) :53-62.
- Elangomathavan. R, Kalaivanan. P, Hariharan. P and S. Nancy Beaulah. 2017. High Efficient Protocol for Callus Induction and Regeneration of a Medicinal Plant *Orthosiphon stamineus*. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, 4(1): 113-122.
- Endang W. 2005. The *Graptophyllum pictum* extract effect on acrylic complete denture plaque growth. *Maj Ked Gigi (Dent J)*, 38(4): 201–204.
- Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2, 4-D). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), E1-E6.
- Flick, C.E., D.A. Evans, dan W.R. Sharp. 1983. *Organogenesis in Y. Yamada (ed). Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 1 : Techniques for Propagation and Breeding*. New York: Macmillan Publishing Company.
- George, E.F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, 2nd Edition*. England: Exegetic Limited.
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Laboratorium Kultur Jaringan Tanman: PAU IPB.

- Guntoro, Rizky Rachmawati. 2013. Respon Eksplan Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Handayani, T., 2008. *Potensi Embriogenesis Beberapa Genotip Kedelai Toleran dan Peka Naungan*, Bogor: IPB.
- Harahap, R. A., 2005. *Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (Centella asiatica L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida*, Bogor: Sekolah Pascasarjana ITB.
- Harjadi, S. 2009. *Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan Dan Petunjuk Penggunaan Pada Tanaman*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Hendaryono dan Wijayanti. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Badan Litbang Departemen Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wanajaya.
- Hutapea JR. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Jakarta: Depkes RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Indah, Nur Putri dan Ermavitalini, Dini. 2013. Induksi Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1) : 2337-3520.
- Indria, W., 2016. *Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D Terhadap Induksi Kalus dan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Rumput Gajah Varietas Hawah (Pennisetum purpureum cv. Hawaii) (In vitro)*, Bogor: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Isnawati, A., & Soediro, I. (2003). Pemeriksaan Senyawa-Senyawa Turunan Fenol Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (L) Griff). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 13(1).
- Jiangseubchatveera, N., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., Teerawutgulrag, A., Santiarworn, D., Korth, J., & Pyne, S. G. 2015. The Chemical Constituents and the Cytotoxicity, Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(1), 11-17.
- Joni, Y. Z., Prihatini, R., Efendi, D., & Roostika, I. 2017. Effect Of Different Sources Of Plant Growth Regulator On The Induction And Development Of

- Mangosteen Somatic Embryos. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 17(1), 9-16.
- Karjadi dan Bukhory. 2008. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Jaringan Meristem Bawang Putih pada Media B5. *J. Hort.* 17(3):217-223.
- Kasi, P. D. & Sumaryono, 2008. Perkembangan kalus embriogenik sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) pada tiga sistem kultur in vitro. *Menara Perkebunan*, 76(1), pp. 1-10.
- Kemala, S; Sudiarto, E. R.Pribadi, JT. Yuhono, M. Yusron, L. Mauludi, M. Raharjo, B. Waskito, dan H. Nurhayati 2003. Studi Serapan, Pasokan dan Pemanfaatan Tanaman Obat di Indonesia. *Laporan teknis penelitian Bagian Proyek Penelitian Tanaman Rempah dan Obat APBN*.
- Khumaida N, Kristina NN, Sartiami D, Mardiningsih TL. 2008. Kearifan local penduduk jawa barat, maluku, dan papua dalam memanfaatkan tanaman obat handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff). Di dalam: *Potensi Tumbuhan Obat Indonesia Cengkeh (Syzygium aromaticum Linn.) dan Ketumbar (Coriandrum sativum Linn.)*. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia, XXXV*: 284-290.
- Krinkorian, A., 1995. *Hormones In Tissue Culture and Micropropagation*. s.l.:Kluwer Academic Publisher.
- Kurnianingsih, R. 2009. Pengaruh Pemberian BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) Pada Media Multiplikasi Tunas *Anthurium hookerii* Kunth. Enum. Secara In Vitro. *Vis Vitalis*, 02(2). ISSN 1978-9513
- Lakitan, Benyamin. 1996. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1):63-68.
- Lestari, E.G dan I. Mariska. 2003. Pengaruh Berbagai Formulasi Media terhadap Regenerasi Klaus pada Indica. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman.*, 257-263. Bogor, 23-24 September 2003.
- Luri, S., 2014. *Peran Sitokinin dalam Kultur in vitro*. [Online] Available at: <http://kultur-jaringan.blogspot.co.id/2014/03/peran-sitokinin-dalam-kultur-in-vitro.html> [Diakses 13 Oktober 2017].
- Mahadi I. 2012. Induksi Kalus Kenerak (*Goniothalamus umbrosus*) berdasarkan jenis eksplan menggunakan metode In Vitro. *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 1(1): 18-22.

- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. 2017. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2, 4-D dan BAP dengan Metode in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84-89.
- Malikah, N., 2007. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Indolen Butryc Acid (IBA) dan Benzyladenine (BA) Terhadap Stek Jeruk Keprok (Citrus nobillis L.) Secara In Vitro*. Skripsi Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang
- Mufidatunniswah S., Siti. 2017. Induksi Kalus Embriogenik Jinten Hitam (*Nigella sativa*) dengan Kombinasi 2,4-D dan BAP secara In Vitro. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Mulyani, Sri. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Jakarta: Penerbit Kanisius.
- Muryanti, S dan Anggarwulan, E., 2005. Pertumbuhan dan Produksi Reserpin Kalus Pule Pandak (*Rauwolfia serpentine* (L.) Bentham ex.Kurz.) pada pemberian Metil Jasmonat secara in vitro, *Bioteknologi* 22 (2).
- Nazza, Y., 2013. *Induksi Kalus Pegagan (Centella asiatica) pada Media MS dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasi dengan Air Kelapa*, MALANG: UIN MALIKI MALANG.
- Novita, Dian. 2012. Karakteristik Morfologi, Anatomi dan Kandungan Fitokimia Tanaman Handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Thesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Olagbende-Dada SO, Ogonnia SO, Coker HA, Ukpo GE. 2011. Blood glucose lowering effect of aqueous extract of *Justicia picta* (Linn) Griff. on alloxan-induced diabetic rats and its acute toxicity in mice. *Afr J Biotechnol*, 10: 1039-43.
- Olagbende-Dada SO, Ukpo GE, Coker HA, Adesina SA. 2009. Oxytocic and anti-implantation activities of the leaf extract of *Justicia picta* (Linn) Griff. (Acanthaceae). *Afr J Biotechnol*, 8: 5979-84.
- Ozaki YY, Sekita SS, Soedigdo SS, Harada MM. 1989. Anti-inflammatory effect of *Justicia picta* (L.) Griff. *Chem Pharm Bull*, 37: 2799-802.
- Pandiangan, D. dan A. Subarnas. 2011. *Produksi Katarantin melalui Kultur Jaringan*. Bandung: Lubuk Agung.
- Petrova, M., Zayova, E., Yankova, E. L. I. N. A., & Baldzhiev, G. 2011. Plant regeneration from callus culture of *Arnica montana*. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(1), 92-97.
- Phua, Qian Yi, Chee Keong Chin, Ziyad Rafiqi Mohammad Asri, Danny Yue Aun Lam, Sreeramanan Subramaniam And Bee Lynn Chew. 2016. The

callogenic effects of 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-d) on leaf explants of sabah snake grass (*Clinacanthus nutans*). *Pak. J. Bot.*, 48(2): 561-566.

- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi Tanaman melalui Embriogenik Somatik dan Beberapa Gen yang mengendalikannya. *Bulletin AgroBio*, 5(2): 51-58.
- Purwantono, P. A. & Mardin, S., 2007. Modifikasi Media MS dan Perlakuan Penambahan Air Kelapa Untuk Menumbuhkan Eksplan Tanaman Kentang. *Jurnal Penelitian dan Informasi Pertanian "Agrin"*, 11(1), pp. 36-42.
- Pusat Studi Biofarmaka IPB. 2008. Pasar domestik dan ekspor produk tanaman obat (biofarmaka). <http://www.seafast.ipb.ac.id>.
- Rahayu, B. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan Dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*, 1(1): 1-6. ISSN: 1693-2242
- Rahmi, H., Artika, I., & Azwar, N. R. 2014. Aktivitas Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Hiperglikemia. *Current Biochemistry*, 1(2).
- Ramasamy N, Ugandhar T, Praveen M, Venkataiah P, Rambabu M, Upender M and Subhash K. 2005. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cotyledons and leaf explants of *Solanum surattense*. *Indian J. Biotech.* 4: 414-418.
- Rosyidah, M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. S. 2014. Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Dichlorophenoxyacetic Acid (2, 4-D) dan 6-Benzylamino Purine (BAP) pada Media MS secara in Vitro. *Lentera Bio*, 3(3).
- Rusdianto dan Indrianto, Ari. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature*, 13(2) : 136-140
- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. Pada Kultur In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Pertanian UNS, Surakarta.
- Salisbury FB, Ross CW. 1995. Fisiologi Tumbuhan, Jilid 2. penerjemah: Lukman DR, Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Santoso, U dan Nursandi, F, 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: UMM Press
- Sasmitamihardja, D dan Siregar. 1983. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Bandung. ITB.

- Shihab, M.Q. 2001. *Tafsir Al mishbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sitinjak Rama Rian, Oti Rosyiana dan Karyono. 2006. Pengaruh 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Pada Kultur Meristem Jahe (*Zinger officinale* Rosc.). *Berita Biologi*, 8(2)
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basellarubra* L.) secara *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*, 13 (1).
- Srinivasan KK, Mathew JE, Joesph K, Vachala SD, Malini S. 2011. Effect of ethanol extract of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. on cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Herba Pol*, 57: 52–65.
- Srinivasan, K. K., Mathew, J. E., D'Silva, K. J. A., Lobo, R., & Kumar, N. 2015. Nephroprotective potential of *Graptophyllum pictum* against renal injury induced by gentamicin. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(4): 412.
- Sudarmadji. 2003. Penggunaan Benzil Amino Purine pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara *In vitro*. *Buletin Teknik Pertanian*, 8(1): 8-10.
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis Somatik Langsung Pada Tanaman Cendana. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 10(1): 1-6
- Sumastuti R. 2000. Efek infuse daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) pada usus kelinci terisolasi dalam kaitannya sebagai obat wasir. *Warta TOI* hal 1-3.
- Syahid, S. F., KRISTINA, N. N., & Seswita, D. 2010. Pengaruh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 16(1): 1-5.
- Syanqithi, Syaikh. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Penerjemah: Fakhurrazi. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Thomy, Z. 2012. *Effect of Plant Growth Regulator 2,4-D and BAP on callus Growth of Plants Producing Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.)*. Prosiding Seminar Hasil Nasional Biologi. Medan, 11 Mei 2012
- Tjitrosoepomo, G., 2011. *Taksonomi Tumbuhan (Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta, Pteridophyta)*. Yogyakarta: UGM Press.
- United States Department of Agriculture [USDA]. 2008. Classification for Kingdom Plantae Down to Genus *Graptophyllum* Nees.

- Wahyuningtyas, E. 2005. The *Graptophyllum pictum* extract effect on acrylic resin complete denture plaque growth. *Majalah Kedokteran Gigi (Dent J)*, 38(4): 201-204.
- Waryastuti, Defi Eka, Lilik Setyobudi dan Tatik Wardiyati. 2017. Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D Dan Bap Pada Media Ms Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*, 5(1): 140 – 14.
- Wattimena. 1992. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor (ID): PAU IPB.
- Wibowo. 2000. Beberapa formulasi obat tradisional yang mengandung komponen daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 6(3): 9-12.
- Wilson, Y., & Koilpillai, Y. J. 2010. In vitro propagation of *Graptophyllum pictum* L.(Acanthaceae)-a medicinal plant. *Journal of Pharmacy Research*, 3(9): 2201-2202.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6 (3) : 181-194
- Yokota, T., Tutumi, N., and Takashi, K. 1999. Growth Rate Estimation of in Vitro Primarily Induced Carrot Callus by a Fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*, 3: 231-234,
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

1. Data Pengamatan Hari Muncul Kalus

| No | Perlakuan | | Ulangan | | | jumlah | Rata-Rata |
|---------------|-----------|-----|---------|-----|-----|--------|-----------|
| | 2,4-D | BAP | 1 | 2 | 3 | | |
| 1 | 0 | 0 | 41 | 41 | 41 | 123 | 41 |
| 2 | | 0.5 | 22 | 25 | 25 | 72 | 24 |
| 3 | | 1 | 27 | 25 | 27 | 79 | 26.333333 |
| 4 | | 1.5 | 41 | 41 | 41 | 123 | 41 |
| 5 | | 2 | 41 | 41 | 41 | 123 | 41 |
| 6 | 0.5 | 0 | 13 | 13 | 14 | 40 | 13.333333 |
| 7 | | 0.5 | 14 | 15 | 13 | 42 | 14 |
| 8 | | 1 | 16 | 16 | 17 | 49 | 16.333333 |
| 9 | | 1.5 | 18 | 17 | 18 | 53 | 17.666667 |
| 10 | | 2 | 20 | 21 | 21 | 62 | 20.666667 |
| 11 | 1 | 0 | 12 | 13 | 12 | 37 | 12.333333 |
| 12 | | 0.5 | 13 | 13 | 14 | 40 | 13.333333 |
| 13 | | 1 | 18 | 17 | 18 | 59 | 17.666667 |
| 14 | | 1.5 | 19 | 20 | 20 | 53 | 19.666667 |
| 15 | | 2 | 22 | 23 | 22 | 67 | 22.333333 |
| 16 | 1.5 | 0 | 12 | 16 | 16 | 44 | 14.666667 |
| 17 | | 0.5 | 18 | 18 | 19 | 55 | 18.333333 |
| 18 | | 1 | 20 | 19 | 19 | 58 | 19.333333 |
| 19 | | 1.5 | 20 | 20 | 21 | 61 | 20.333333 |
| 20 | | 2 | 22 | 21 | 22 | 65 | 21.666667 |
| 21 | 2 | 0 | 15 | 15 | 14 | 44 | 14.666667 |
| 22 | | 0.5 | 22 | 20 | 19 | 61 | 20.333333 |
| 23 | | 1 | 22 | 20 | 20 | 62 | 20.666667 |
| 24 | | 1.5 | 20 | 22 | 22 | 64 | 21.333333 |
| 25 | | 2 | 23 | 21 | 22 | 66 | 22 |
| Total Ulangan | | | 531 | 533 | 538 | 1602 | 534 |

2. Data Pengamatan Persentase tumbuh kalus pada eksplan

| No | Perlakuan | | Ulangan | | | jumlah | Rata-Rata |
|----|-----------|-----|---------|---|---|--------|-----------|
| | 2,4-D | BAP | 1 | 2 | 3 | | |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | | 0.5 | 2 | 2 | 1 | 5 | 1.666667 |

| | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|---------|
| 3 | | 1 | 1 | 2 | 1 | 4 | 1.33333 |
| 4 | | 1.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0.5 | 0 | 40 | 46 | 54 | 140 | 46.6667 |
| 7 | | 0.5 | 60 | 40 | 45 | 145 | 48.3333 |
| 8 | | 1 | 30 | 33 | 28 | 91 | 30.3333 |
| 9 | | 1.5 | 11 | 9 | 9 | 29 | 9.66667 |
| 10 | | 2 | 5 | 5 | 8 | 18 | 6 |
| 11 | 1 | 0 | 78 | 74 | 68 | 220 | 73.3333 |
| 12 | | 0.5 | 35 | 37 | 25 | 97 | 32.3333 |
| 13 | | 1 | 25 | 30 | 27 | 82 | 27.3333 |
| 14 | | 1.5 | 10 | 15 | 18 | 43 | 14.3333 |
| 15 | | 2 | 7 | 5 | 5 | 17 | 5.66667 |
| 16 | 1.5 | 0 | 70 | 56 | 61 | 187 | 62.3333 |
| 17 | | 0.5 | 45 | 60 | 55 | 160 | 53.3333 |
| 18 | | 1 | 5 | 10 | 7 | 22 | 7.33333 |
| 19 | | 1.5 | 8 | 4 | 8 | 20 | 6.66667 |
| 20 | | 2 | 3 | 2 | 2 | 7 | 2.33333 |
| 21 | 2 | 0 | 55 | 45 | 45 | 145 | 48.3333 |
| 22 | | 0.5 | 20 | 33 | 35 | 88 | 29.3333 |
| 23 | | 1 | 15 | 18 | 10 | 43 | 14.3333 |
| 24 | | 1.5 | 6 | 6 | 5 | 17 | 5.66667 |
| 25 | | 2 | 4 | 3 | 3 | 10 | 3.33333 |
| Total Ulangan | | | 535 | 535 | 520 | 1590 | 530 |

3. Data Pengamatan Berat basah Kalus

| No | Perlakuan | | Ulangan | | | jumlah | Rata-Rata |
|----|-----------|-----|---------|--------|--------|--------|-----------|
| | 2,4-D | BAP | 1 | 2 | 3 | | |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | | 0.5 | 0.0008 | 0.0009 | 0.0005 | 0.0022 | 0.00073 |
| 3 | | 1 | 0.0001 | 0.0005 | 0.0003 | 0.0009 | 0.0003 |
| 4 | | 1.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0.5 | 0 | 0.0746 | 0.0667 | 0.0911 | 0.2324 | 0.07747 |
| 7 | | 0.5 | 0.1021 | 0.0937 | 0.081 | 0.2768 | 0.09227 |
| 8 | | 1 | 0.0683 | 0.0201 | 0.0333 | 0.1217 | 0.04057 |
| 9 | | 1.5 | 0.0303 | 0.0112 | 0.0096 | 0.0511 | 0.01703 |
| 10 | | 2 | 0.0025 | 0.0031 | 0.0075 | 0.0131 | 0.00437 |

| | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|--------|--------|--------|--------|---------|
| 11 | 1 | 0 | 0.1613 | 0.1146 | 0.0933 | 0.3692 | 0.12307 |
| 12 | | 0.5 | 0.0519 | 0.0983 | 0.0115 | 0.1617 | 0.0539 |
| 13 | | 1 | 0.0088 | 0.0111 | 0.0061 | 0.026 | 0.00867 |
| 14 | | 1.5 | 0.0045 | 0.0033 | 0.0039 | 0.0117 | 0.0039 |
| 15 | | 2 | 0.0018 | 0.0011 | 0.0013 | 0.0042 | 0.0014 |
| 16 | 1.5 | 0 | 0.1233 | 0.0598 | 0.0746 | 0.2577 | 0.0859 |
| 17 | | 0.5 | 0.0112 | 0.0098 | 0.0337 | 0.0547 | 0.01823 |
| 18 | | 1 | 0.0111 | 0.0098 | 0.0051 | 0.026 | 0.00867 |
| 19 | | 1.5 | 0.0016 | 0.0021 | 0.0025 | 0.0062 | 0.00207 |
| 20 | | 2 | 0.0012 | 0.0006 | 0.0004 | 0.0022 | 0.00073 |
| 21 | 2 | 0 | 0.1009 | 0.0965 | 0.066 | 0.2634 | 0.0878 |
| 22 | | 0.5 | 0.0145 | 0.0101 | 0.0098 | 0.0344 | 0.01147 |
| 23 | | 1 | 0.0061 | 0.0014 | 0.0057 | 0.0132 | 0.0044 |
| 24 | | 1.5 | 0.0036 | 0.0048 | 0.0033 | 0.0117 | 0.0039 |
| 25 | | 2 | 0.002 | 0.0025 | 0.0027 | 0.0072 | 0.0024 |
| Total Ulangan | | | 0.7825 | 0.622 | 0.5432 | 1.9477 | 0.64923 |

Lampiran 2. Hasil Analisis Varian (ANAVA) dan Uji DMRT 5%

1. Hari Muncul Kalus (HST)

1a. Hasil Uji ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HariMunculKalus

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 4848.613 ^a | 24 | 202.026 | 236.749 | .000 |
| | 34218.720 | 1 | 34218.720 | 4.010E4 | .000 |
| TwoFourDi | 3431.280 | 4 | 857.820 | 1.005E3 | .000 |
| BAP | 630.213 | 4 | 157.553 | 184.633 | .000 |
| TwoFourDi * BAP | 787.120 | 16 | 49.195 | 57.650 | .000 |
| Error | 42.667 | 50 | .853 | | |
| Total | 39110.000 | 75 | | | |
| Corrected Total | 4891.280 | 74 | | | |

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .987)

1b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

HariMunculKalus

Duncan

| TwoFour rDi | N | Subset | | | |
|----------------|----|---------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0.5 | 15 | 16.4000 | | | |
| 1 | 15 | 17.0667 | | | |
| 1.5 | 15 | | 18.8667 | | |
| 2 | 15 | | | 19.8000 | |
| 0 | 15 | | | | 34.6667 |
| Sig. | | .054 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .853.

- BAP

HariMunculKalus

Duncan

| BAP | N | Subset | | | | |
|------|----|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0.5 | 15 | 18.0000 | | | | |
| 0 | 15 | | 19.2000 | | | |
| 1 | 15 | | | 20.0667 | | |
| 1.5 | 15 | | | | 24.0000 | |
| 2 | 15 | | | | | 25.5333 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .853.

- Kombinasi 2,4-D dan BAP

HariMunculKalus

Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | | | | | | | |
|-----------|---|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| D2B0 | 3 | 12.33 | | | | | | | | | | | |
| D1B0 | 3 | 13.33 | 13.33 | | | | | | | | | | |
| D2B1 | 3 | 13.33 | 13.33 | | | | | | | | | | |
| D1B1 | 3 | | 14.00 | | | | | | | | | | |
| D3B0 | 3 | | 14.67 | | | | | | | | | | |
| D4B0 | 3 | | 14.67 | | | | | | | | | | |
| D1B2 | 3 | | | 16.33 | | | | | | | | | |
| D1B3 | 3 | | | 17.67 | 17.67 | | | | | | | | |
| D2B2 | 3 | | | 17.67 | 17.67 | | | | | | | | |
| D3B1 | 3 | | | | 18.33 | 18.33 | | | | | | | |
| D3B2 | 3 | | | | | 19.33 | 19.33 | | | | | | |
| D2B3 | 3 | | | | | 19.67 | 19.67 | 19.67 | | | | | |
| D3B3 | 3 | | | | | | 20.33 | 20.33 | 20.33 | | | | |
| D4B1 | 3 | | | | | | 20.33 | 20.33 | 20.33 | | | | |
| D1B4 | 3 | | | | | | 20.67 | 20.67 | 20.67 | 20.67 | | | |
| D4B2 | 3 | | | | | | 20.67 | 20.67 | 20.67 | 20.67 | | | |
| D4B3 | 3 | | | | | | | 21.33 | 21.33 | 21.33 | | | |
| D3B4 | 3 | | | | | | | | 21.67 | 21.67 | | | |
| D4B4 | 3 | | | | | | | | 22.00 | 22.00 | | | |
| D2B4 | 3 | | | | | | | | | 22.33 | | | |
| D0B1 | 3 | | | | | | | | | | 24.00 | | |
| D0B2 | 3 | | | | | | | | | | | 26.33 | |
| D0B0 | 3 | | | | | | | | | | | | 41.00 |
| D0B3 | 3 | | | | | | | | | | | | 41.00 |
| D0B4 | 3 | | | | | | | | | | | | 41.00 |
| Sig. | | .218 | .121 | .100 | .411 | .100 | .128 | .056 | .060 | .056 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

2. Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%)

2a. Hasil Uji ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Persentase

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------------|-------------------------|-----------|-----------------|----------------|-------------|
| Corrected Model | 35915.787 ^a | 24 | 1496.491 | 75.276 | .000 |
| | 33243.213 | 1 | 33243.213 | 1.672E3 | .000 |
| TwoFourDi | 8874.853 | 4 | 2218.713 | 111.605 | .000 |
| BAP | 19174.720 | 4 | 4793.680 | 241.131 | .000 |
| TwoFourDi * BAP | 7866.213 | 16 | 491.638 | 24.730 | .000 |
| Error | 994.000 | 50 | 19.880 | | |
| Total | 70153.000 | 75 | | | |
| Corrected Total | 36909.787 | 74 | | | |

a. R Squared = .973 (Adjusted R Squared = .960)

2b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

Persentase tumbuh kalus pada eksplan

Duncan

| TwoFourDi | N | Subset | | | |
|-----------|----|--------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0 | 15 | .6000 | | | |
| 2 | 15 | | 19.4667 | | |
| 1.5 | 15 | | | 26.4000 | |
| 0.5 | 15 | | | 28.2000 | 28.2000 |
| 1 | 15 | | | | 30.6000 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | .274 | .147 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 19.880.

- BAP

Persentase tumbuh kalus pada eksplan

Duncan

| BAP | N | Subset | | | | |
|------|----|--------|--------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 2 | 15 | 3.4667 | | | | |
| 1.5 | 15 | | 7.2667 | | | |
| 1 | 15 | | | 16.1333 | | |
| 0.5 | 15 | | | | 32.2667 | |
| 0 | 15 | | | | | 46.1333 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 19.880.

- Kombinasi 2,4-D dan BAP

Presentase Eksplan Berkalus

Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | | |
|-----------|---|-------------------------|--------|--------|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| D0B0 | 3 | .0000 | | | | | | |
| D0B3 | 3 | .0000 | | | | | | |
| D0B4 | 3 | .0000 | | | | | | |
| D0B2 | 3 | 1.3333 | 1.3333 | | | | | |
| D0B1 | 3 | 1.6667 | 1.6667 | | | | | |
| D3B4 | 3 | 2.3333 | 2.3333 | | | | | |
| D4B4 | 3 | 3.3333 | 3.3333 | | | | | |
| D2B4 | 3 | 5.6667 | 5.6667 | | | | | |
| D4B3 | 3 | 5.6667 | 5.6667 | | | | | |
| D1B4 | 3 | 6.0000 | 6.0000 | | | | | |
| D3B3 | 3 | 6.6667 | 6.6667 | 6.6667 | | | | |
| D3B2 | 3 | 7.3333 | 7.3333 | 7.3333 | | | | |

| | | | | | | | |
|------|---|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| D1B3 | 3 | 9.6667 | 9.6667 | | | | |
| D2B3 | 3 | | 14.3333 | | | | |
| D4B2 | 3 | | 14.3333 | | | | |
| D4B1 | 3 | | | 25.6667 | | | |
| D2B2 | 3 | | | 27.3333 | | | |
| D1B2 | 3 | | | 30.3333 | | | |
| D2B1 | 3 | | | 32.3333 | | | |
| D1B0 | 3 | | | | 46.6667 | | |
| D1B1 | 3 | | | | 48.3333 | | |
| D4B0 | 3 | | | | 48.3333 | | |
| D3B1 | 3 | | | | 53.3333 | | |
| D3B0 | 3 | | | | | 62.3333 | |
| D2B0 | 3 | | | | | | 73.3333 |
| Sig. | | .099 | .058 | .064 | .100 | .100 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

3. Berat Basah Kalus

3a. Hasil Uji ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BeratBasahKalus

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------------------|-------------------------|-----------|-------------|---------------|-------------|
| Corrected Model | .100 ^a | 24 | .004 | 18.005 | .000 |
| | .051 | 1 | .051 | 217.969 | .000 |
| TwoFourDi | .019 | 4 | .005 | 20.230 | .000 |
| BAP | .055 | 4 | .014 | 59.249 | .000 |
| TwoFourDi * BAP | .026 | 16 | .002 | 7.137 | .000 |
| Error | .012 | 50 | .000 | | |
| Total | .162 | 75 | | | |
| Corrected Total | .112 | 74 | | | |

a. R Squared = .896 (Adjusted R Squared = .847)

3b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

Berat Basah Kalus

Duncan

| TwoFour rDi | N | Subset | | |
|----------------|----|-----------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 15 | 2,066667E- 4 | | |
| 2 | 15 | | ,021993 | |
| 1.5 | 15 | | ,023120 | |
| 1 | 15 | | | ,038187 |
| 0.5 | 15 | | | ,046340 |
| Sig. | | 1.000 | .840 | .149 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

- BAP

Berat Basah Kalus

Duncan

| BAP | N | Subset | | |
|------|----|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 2 | 15 | ,001780 | | |
| 1.5 | 15 | ,005380 | | |
| 1 | 15 | ,012520 | | |
| 0.5 | 15 | | ,035320 | |
| 0 | 15 | | | ,074847 |
| Sig. | | .073 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

- Kombinasi 2,4-D dan BAP

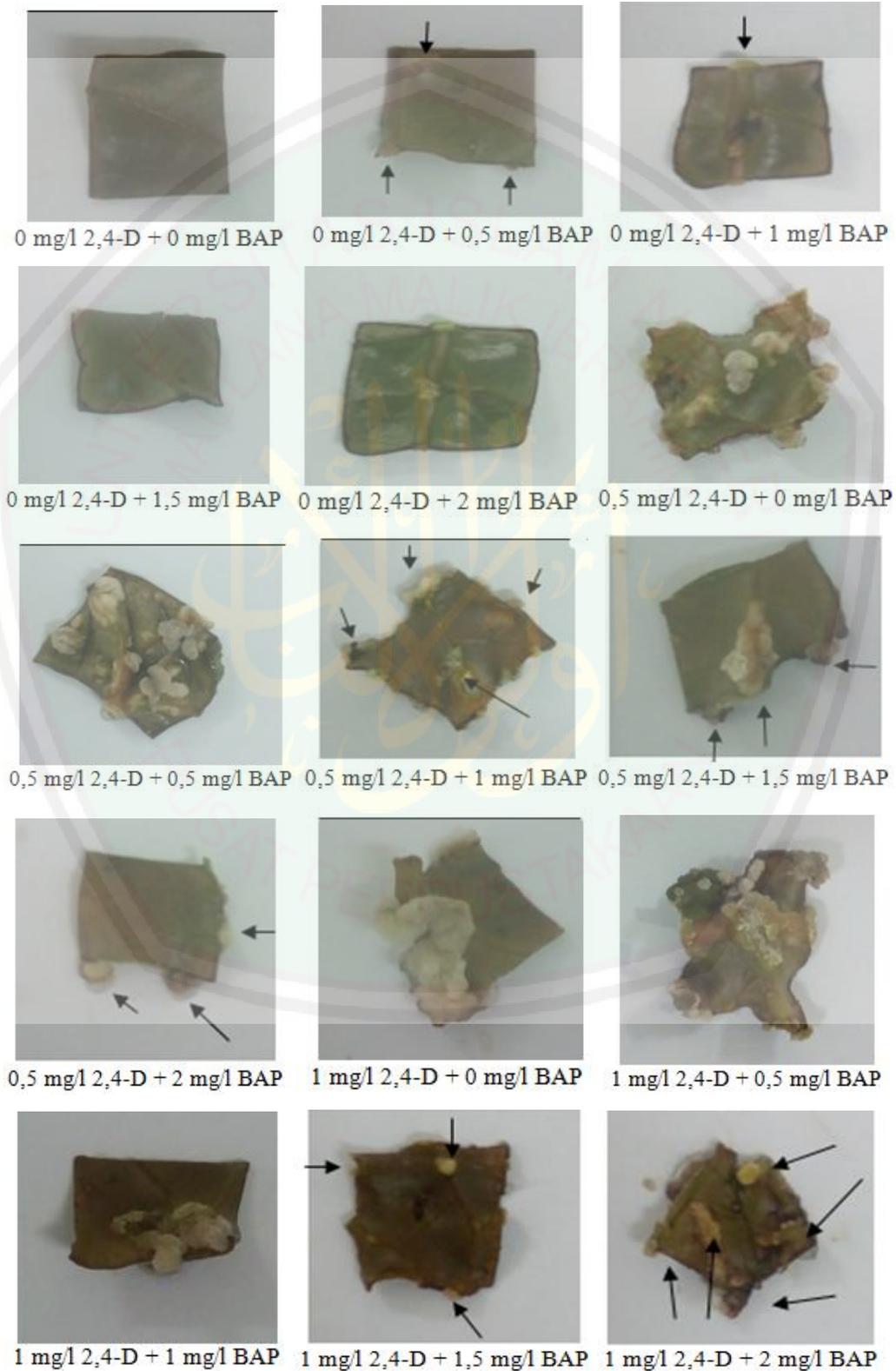
Berat Basah Kalus

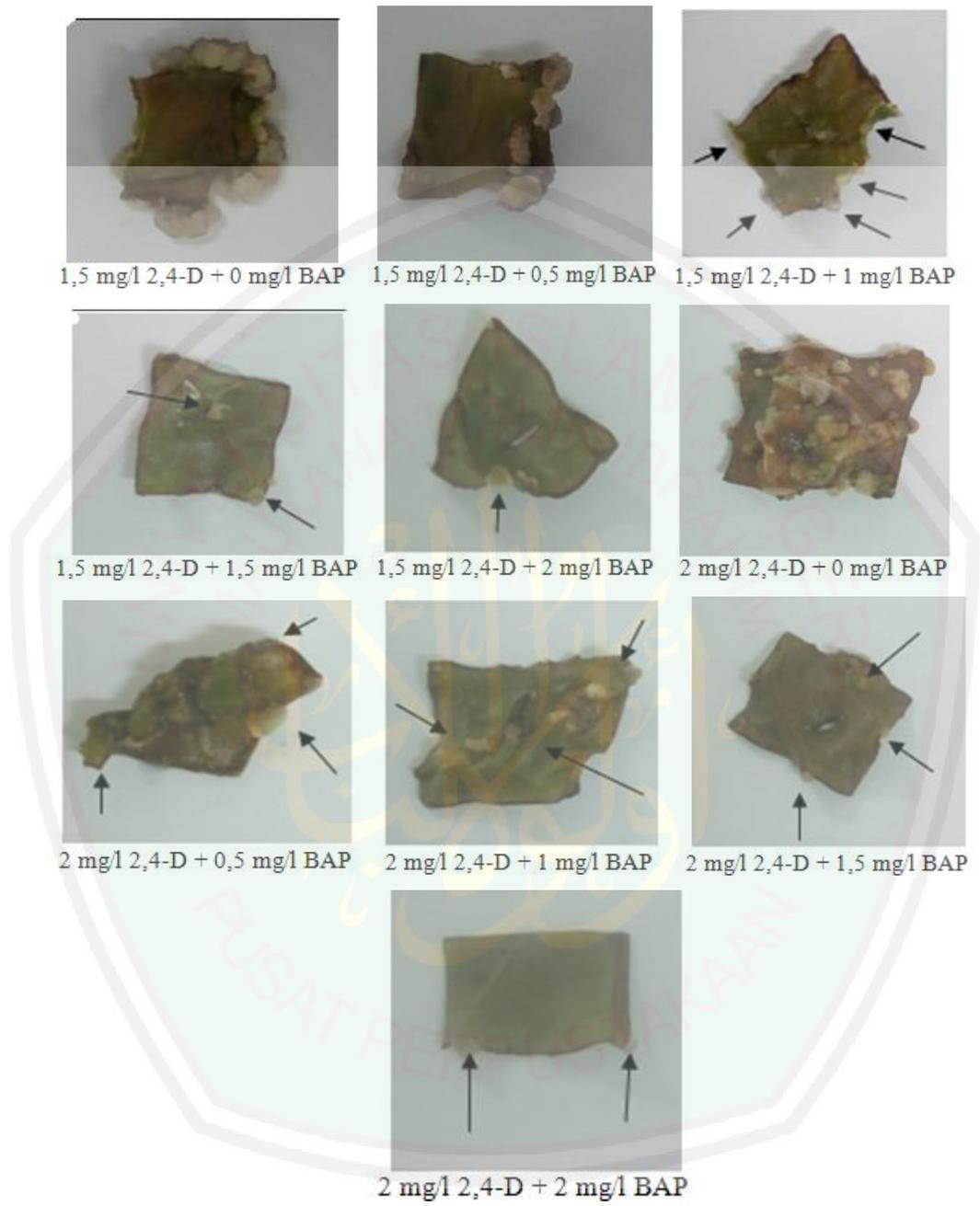
Duncan

| Perlakuan | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | | |
|-----------|---|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| D0B0 | 3 | ,000000 | | | | | |
| D0B3 | 3 | ,000000 | | | | | |
| D0B4 | 3 | ,000000 | | | | | |
| D0B2 | 3 | 3,000000E-4 | | | | | |
| D0B1 | 3 | 7,333333E-4 | | | | | |
| D3B4 | 3 | 7,333333E-4 | | | | | |
| D2B4 | 3 | ,001400 | | | | | |
| D3B3 | 3 | ,002067 | | | | | |
| D4B4 | 3 | ,002400 | | | | | |
| D2B3 | 3 | ,003900 | | | | | |
| D4B3 | 3 | ,003900 | | | | | |
| D1B4 | 3 | ,004367 | | | | | |
| D4B2 | 3 | ,004400 | | | | | |
| D2B2 | 3 | ,008667 | | | | | |
| D3B2 | 3 | ,008667 | | | | | |
| D4B1 | 3 | ,011467 | | | | | |
| D1B3 | 3 | ,017033 | ,017033 | | | | |
| D3B1 | 3 | ,018233 | ,018233 | | | | |
| D1B2 | 3 | | ,040567 | ,040567 | | | |
| D2B1 | 3 | | | ,053900 | ,053900 | | |
| D1B0 | 3 | | | | ,077467 | ,077467 | |
| D3B0 | 3 | | | | | ,085900 | |
| D4B0 | 3 | | | | | ,087800 | |
| D1B1 | 3 | | | | | ,092267 | |
| D2B0 | 3 | | | | | | ,123067 |
| Sig. | | .235 | .079 | .289 | .064 | .286 | 1.000 |

Lampiran 3. Gambar Hasil Penelitian

Morfologi Kalus





Lampiran 4. Alat-Alat Penelitian



Oven



Autoklaf



Kompor



Hot Plate



pH meter



Timb. Analitik



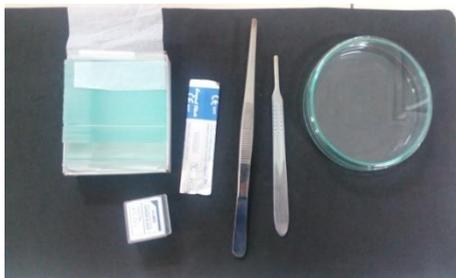
Mikroskop



Bunsen & Gelas ukur

*Beaker Glass*

Botol Kultur

Mikropipet dan *Blue Tip*

Alat-Alat diseksi dan cawan petri



Karet, label, plastik dan tisu

Lampiran 5. Bahan-Bahan Penelitian

MS



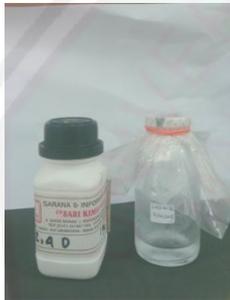
Agar



Gula



HCl dan NaOH



2,4-D



BAP



NaOCl



Alkohol



Aquades



Daun Wungu

Lampiran 6. Foto Kegiatan



Penimbangan bahan media



Pemberian ZPT



Pengukuran pH media



Pembuatan Media



Persiapan Sterilisasi Eksplan dan Inisiasi



Proses Inisiasi



Ruang Kultur

Lampiran 7. Perhitungan Larutan ZPT

- Larutan Stok ZPT

$$\frac{100\text{mg}}{1\text{l}} = \frac{100\text{mg}}{1000\text{ml}} = \frac{10\text{mg}}{100\text{ml}}$$

- Pengenceran ZPT

$$M1.V1 = M2.V2$$

- Konsentrasi 0,5 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . V1 = \frac{0,5\text{mg}}{\text{l}} . 60\text{ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . 60 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V1 = \frac{30 \text{ ml}}{100}$$

$$V1 = 0,3 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 1 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . V1 = \frac{1\text{mg}}{\text{l}} . 60\text{ml}$$

$$V1 = \frac{1 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . 60 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V1 = \frac{60 \text{ ml}}{100}$$

$$V1 = 0,6 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 1,5 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . V1 = \frac{1,5\text{mg}}{\text{l}} . 60\text{ml}$$

$$V1 = \frac{1,5 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . 60 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V1 = \frac{90 \text{ ml}}{100}$$

$$V1 = 0,9 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 2 mg/l

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . V1 = \frac{2\text{mg}}{\text{l}} . 60\text{ml}$$

$$V1 = \frac{2 \frac{\text{mg}}{\text{l}} . 60 \text{ ml}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}$$

$$V1 = \frac{120 \text{ ml}}{100}$$

$$V1 = 1,2 \text{ ml}$$



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 : Dian Eka Sari
 NIM : 13620057
 Program Studi : Biologi
 Semester : Ganjil TA. 2018-2019
 Pembimbing : Ruri Siti Resmisari, M.Si
 Judul Skripsi : Pengaruh 2,4-D Dan BAP Dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| No. | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|-----|-------------------|---|-----------------|
| 1. | 2 Agustus 2017 | Konsultasi Judul | 1. |
| 2. | 21 Agustus 2017 | Konsultasi BAB 1 | 2. |
| 3. | 31 Agustus 2017 | Konsultasi hasil revisi BAB 1 dan konsultasi BAB 3 | 3. |
| 4. | 11 September 2017 | Konsultasi BAB 1-3 | 4. |
| 5. | 28 September 2017 | Konsultasi hasil revisi BAB 2 | 5. |
| 6. | 10 Oktober 2017 | Konsultasi keseluruhan BAB 1-3 | 6. |
| 7. | 2 Mei 2018 | Konsultasi data hasil penelitian | 7. |
| 8. | 12 Juli 2018 | Konsultasi BAB 4 | 8. |
| 9. | 17 Mei 2018 | Konsultasi keseluruhan BAB 1-3 dan hasil revisi BAB 4-5 | 9. |
| 10. | 30 Juli 2018 | Konsultasi Keseluruhan dan ACC | 10. |

Mengetahui,



Romaidi, M.Sc., D.Sc.

NIP. 198102012009011019

Malang, 31 Juli 2018

Pembimbing Skripsi

Ruri Siti Resmisari, M.Si

NIDN. 19790123201608012063



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 : Dian Eka Sari
 NIM : 13620057
 Program Studi : Biologi
 Semester : Ganjil TA. 2018-2019
 Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
 Judul Skripsi : Pengaruh 2,4-D Dan BAP Dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)

| No. | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|-----|-----------------|---|-----------------|
| 1. | 18 Oktober 2017 | Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB 1-3 | 1. |
| 2. | 31 Oktober 2017 | Konsultasi hasil revisi Integrasi Sains dan Islam BAB 1-3 | 2. |
| 3. | 17 Juli 2018 | Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB 1-5 | 3. |
| 4. | 24 Juli 2018 | Konsultasi hasil revisi Integrasi Sains dan Islam BAB 3-4 | 4. |
| 5. | 30 Juli 2018 | ACC Keseluruhan | 5. |



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

Malang, 31 Juli 2018
 Pembimbing Skripsi

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