

**INDUKSI KALUS BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI 2,4-D DAN BA PADA MEDIA
MS SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH :
YAYANG NIA PURNAWATI
NIM. 13620074**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**INDUKSI KALUS BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI 2,4-D DAN BA PADA MEDIA
MS SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

**OLEH :
YAYANG NIA PURNAWATI
NIM. 13620074**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**INDUKSI KALUS BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI 2,4-D DAN BA PADA MEDIA
MS SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

OLEH :

YAYANG NIA PURNAWATI

NIM. 13620074

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 29 Mei 2019

Pembimbing I,



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

Pembimbing II,



Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIDT. 19810512 20160801 1060

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

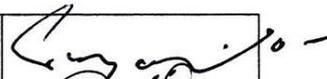
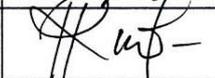
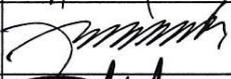
HALAMAN PENGESAHAN

**INDUKSI KALUS BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)
DENGAN PENAMBAHAN KOMBINASI 2,4-D DAN BA PADA MEDIA
MS SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

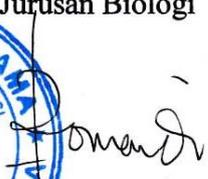
OLEH :
YAYANG NIA PURNAWATI
NIM. 13620074

Telah Dipertahankan di Depan Penguji Skripsi
dan dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal2019

Penguji Utama	Suyono, M.P	
Ketua Penguji	Ruri Siti Resmisari, M.Si	
Sekretaris Penguji	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P	
Anggota Penguji	Mujahidin Ahmad, M. Sc	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yayang Nia Purnawati

NIM : 13620074

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Induksi Kalus Bidara Upas (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hallier
F.) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D Dan Ba Pada Media Ms
Secara *In Vitro*

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

Malang, Mei 2019
Yang membuat pernyataan,



Yayang Nia Purnawati
NIM. 13620074

MOTTO

Lamun Siro Sekti, Ojo Mateni
Lamun Siro Banter, Ojo Ndisiki
Lamun Siro Pinter, Ojo Minteri

“Usaha, Doa dan Yakin”
Gusti Allah Mboten Sare

Halaman persembahan

Alhamdulillah, tiada kata terindah selain rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat, Taufiq dan hidayah-Nya sehingga saya dapat mencapai jenjang ini serta Shalawat dan salam tetap terlimpah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini ku persembahkan kepada :

Kedua Orang tua ku, Bapak Purnomo dan Ibu Sukartinah,
kakak dan adik ku, Leni Asri Purwanti dan Fian Tri Purnomo.

Yang tak pernah letih menyemangati dan memberi doa dan dukungan baik berupa materi maupun kasih sayang sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini.

Terima Kasih untuk sahabat baikku Dian Eka Sari yang selalu ada disaat bahagiaku maupun sedihku, yang mau mendengar keluh kesah ku disaat-saat sibukmu.

Terima Kasih juga untuk sahabat-sahabatku dan Laboran dari Tim KJT mbak lil, mbak Muz, Pipit, Ismi, Putro, Nadia, Kamil yang selalu aku repoti

Terima kasih buat sahabat Biologi mahasiswa yang ku kenal pertama di UIN dan Ma'had Sayyidah dan sahabat biologi Nita, Shoddiqah, Anis, Childa, Ida, Anna nduth, Manyo dan teman biologi seangkatan dan adek tingkat yang tdk dapat di sebut satu persatu

Terima kasih untuk Team Medicare Bu titik, Mas Sugeng, dek ima, dek kolip, Bejo, Dek arina, Dek Ana, Mbak Hana Yang sudah sering aku repoti dan minta tolongi

Terima Kasih pula untuk seseorang di Pulau Teluk, terima kasih telah menjadi inspirasi dan memberi warna di lukisan takdirku, semoga kau disana selalu dalam lindunganNya

Ku persembahkan pula skripsi ini untuk yang selalu bertanya kapan skripsimu selesai

Terlambat lulus atau lulus tidak tepat waktu bukan sebuah kejahatan, bukan sebuah aib. Alangkah kerdilnya jika mengukur kepintaran seseorang hanya dari siapa yang paling cepat lulus. Bukankah sebaik-baik skripsi adalah skripsi yang selesai ? Baik itu selesai tepat waktu maupun tidak tepat waktu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, Wr.Wb.

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Induksi Kalus Bidara Upas (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hallier F.) Dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D Dan BA Pada Media MS Secara *In Vitro*”**. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Sang revolusioner pembawa cahaya terang bagi peradaban, salah satunya adalah melalui pendidikan yang senantiasa berlandaskan keagungan moral dan spiritual.

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

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Mujahidin Ahmad, M. Sc selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Purnomo dan Ibu Sukartinah serta Kakak dan Adik Penulis Leni Asri Purwanti dan Fian Tri Purnomo tercinta yang

senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.

8. Laboran dan staff asministrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. 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.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan sumbangan pemikiran, do'a dan semangat hingga terselesaikannya skripsi ini.

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

Wassalamu 'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang,20 Mei 2019

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	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTACT	xvii
ملخص البحث	xviii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis Penelitian	10
1.5 Manfaat Penelitian	11
1.6 Batasan Masalah	11

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i>)	13
2.1.1 Klasifikasi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i>)	13
2.1.2 Deskripsi Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i>)	14
2.1.3 Asal dan Penyebaran	15
2.1.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman	16
2.2 Kultur Jaringan <i>In vitro</i>	17
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan <i>In vitro</i>	17
2.2.2 Kultur Kalus	18
2.2.2.1 Warna kalus	19
2.2.2.2 Tekstur kalus	20
2.2.2. Tekstur kalus	21
2.2.3 Media Kultur Jaringan	22
2.3 Sumber Eksplan	24

2.4 Zat Pengatur Tumbuh	25
2.4.1 2,4 Dikhlorofenoksiasetat (2,4-D)	26
2.4.2 Benzyladenine (BA).....	28
2.4.3 Perbandingan Auksin Dan Sitokinin	29
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	30
3.2 Rancangan Penelitian	30
3.3 Alat dan Bahan	31
3.3.1 Alat	31
3.3.2 Bahan	31
3.4 Variabel Penelitian	31
3.5 Langkah Kerja	32
3.5.1 Sterilisasi Alat	32
3.5.2 Pembuatan Stok Hormon	32
3.5.3 Pembuatan Media	32
3.5.4 Sterilisasi Media	33
3.5.5 Persiapan Ruang tanam	33
3.6 Induksi Kalus	33
3.6.1 Sterilisasi Eksplan	33
3.6.2 Tahap Induksi Kalus.....	34
3.6.3 Tahap Pemeliharaan	35
3.7 Pengamatan	35
3.7 Teknik Analisis data	36
3.7 Desain Penelitian	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Metabolit Sekunder Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.)	38
4.2 Pengaruh Pemberian BA Terhadap Induksi Kalus Daun Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.)	46
4.3 Pengaruh Interaksi Konsentrasi 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Daun Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.).....	51
4.4 Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BA Terhadap Morfologi dan Anatomi Induksi Kalus Bidara Upas	57
4.5 Hasil Penelitian Dalam Perspektif Islam	64

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	69
5.2 Saran	70

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Bidara Upas	15
Gambar 2.2 Tekstur Kalus Stevia	21
Gambar 2.3 Literature	22
Gambar 2.4 Struktur Kimia 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D)	28
Gambar 2.5 Struktur Kimia <i>Benzyladenine</i> (BA)	28
Gambar 2.6 Kesimbangan auksin dan sitokinin	29
Gambar 3.1 Skema Penelitian	37
Gambar 4.1 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)	43
Gambar 4.2 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)	44
Gambar 4.3 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)	45
Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l)	48
Gambar 4.5 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l)	49
Gambar 4.6 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l)	50
Gambar 4.7 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA(mg/l)	54
Gambar 4.8 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA (mg/l)	55
Gambar 4.9 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA (mg/l)	56
Gambar 4.10 Histologi kalus daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.) pada perbesaran 400x	62

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BA	30
Tabel 4.1 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) pengaruh pemberian 2,4-D	38
Tabel 4.2 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian 2,4-D terhadap induksi kalus daun Bidara Upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.).....	39
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) pengaruh pemberian BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier	46
Tabel 4.4 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.).....	47
Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.).....	51
Tabel 4.6 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.)	52
Tabel 4.7. Hasil Pengamatan Warna dan Tekstur Kalus Daun Bidara Upas pada hari ke 30 setelah inisiasi	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan	78
Lampiran 2. Hasil Uji Anava dan Uji Lanjut DMRT 5%	80
Lampiran 3. Gambar Hasil Pengamatan	88
Lampiran 4. Perhitungan larutan stok	89
Lampiran 5. Perhitungan pengambilan stok	89
Lampiran 6. Alat-alat penelitian	91
Lampiran 7. Bahan penelitian	92
Lampiran 8. Foto kegiatan penelitian	93

Induksi Kalus Bidara Upas (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hallier f.) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D Dan BA Pada Media MS Secara *In Vitro*

Yayang Nia Purnawati, Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, Mujahidin Ahmad, M. Sc

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus Bidara Upas (*Merremia Mammosa*). Bahan yang digunakan yaitu media MS, zat pengatur tumbuh, organ daun sebagai eksplan kalus, kalus tersebut digunakan untuk memperbanyak metabolit sekunder yang digunakan sebagai antikanker, antidiabetes, antiinflamasi, peningkatan kandungan metabolit sekunder ini diperoleh melalui kultur kalus kompak dengan penambahan 2,4-D dan BA sehingga produksi meningkat. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 20 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini ada dua factor yaitu konsentrasi 2,4-D meliputi 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2 mg/l dan konsentrasi BA 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l. Data dianalisis dengan uji ANAVA *Two Way* $\alpha=5\%$. Apabila terdapat perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji Duncan *Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5 % serta uji regresi korelasi. Hasil dari penelitian kalus menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus Bidara Upas (*Merremia Mammosa*) yang optimal pada kombinasi 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l BA hari muncul kalus hari ke-12 HST dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 92,66 % dan berat kalus sebanyak 0,387 gr.

Kata kunci: Kalus, Bidara Upas (*Merremia Mammosa*), 2,4-D, BA

The Callus Induction of Bidara Upas (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hallier f.) by adding the Combination of 2,4-D and BA in MS Media through *In Vitro*

Yayang Nia Purnawati, Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, Mujahidin Ahmad, M. Sc

ABSTRACT

The research aims at determining the influence of growth regulator substance of 2,4-D and BA against callus induction of Bidara Upas (*Merremia Mammosa*). The material is MS media, growth regulator substance, leaf organs as callus explants, the callus is used to multiply secondary metabolites that are used as anticancer, anti-diabetic, anti-inflammatory, increased content of secondary metabolites are obtained through unified callus culture with the addition of 2,4-D and BA , it make the production increases. The research was experimental by using a completely randomized design (CRD) with 20 treatments and 3 replications. The treatments of the research were two factors, 2,4-D concentration included 0 mg/l, 0.5 mg / l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2 mg/l and the concentration of BA included 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l. Data were analyzed by Two Way ANAVA test $\alpha = 5\%$. If there is a significant difference, it will be followed by the Duncan Multiple Range Test (DMRT) with a significant level of 5% and a correlation regression test. The results of the callus research showed the influence of 2,4-D and BA concentrations on the callus induction of optimal Bidara Upas (*Merremia Mammosa*) in a combination of 1 mg/l 2,4-D and 1 mg/l BA on the 12th (HST) day of callus day with the percentage of callus growth in explants was 92.66% and callus weight was 0.387 gr.

Keywords: Callus, Bidara Upas (*Merremia Mammosa*), 2,4-D, BA

استقراء الكالس بيدارا أوفاس (*Merremia Mammosa* (Lour.) Hallier f.) بإضافة مزيج من 2،4-د و ب.أ. في

الوسيلة م.س (MS) مختبرا (*In Vitro*)

بيانج نيا فورنواقي، الدكتورة إيفيكا سندي سافترى، الماجستير، مجاهدين أحمد، الماجستير

ملخص البحث

يهدف هذا البحث لأن يحدد تأثير مادة المنظم النمو 2،4-د و ب أ على استقراء الكالس بيدارا أوفاس (*Merremia Mammosa*). المواد المستخدمة هي وسائط م.س، مادة المنظم النمو، وأوراق الازدراع الكالس، ويستخدم الكالس لمضاعفة المستقبلات الثانوية التي تستخدم كمضاد للسرطان، ومضاد للسكري، ومضاد للالتهابات، وزيادة محتوى المستقبلات الثانوية تحصل من خلال زراعة الكالس المدجة مع إضافة 2،4-د و ب.أ بحيث يزيد الإنتاج. هذا البحث تجريبي باستخدام تصميم عشوائي كامل (CRD) مع 20 معالجات و 3 مكررات. كان العلاج في هذا البحث عاملين، يعني تركيز 2،4-د يشمل 0 ملغم/لتر، 0.5 ملغم/لتر، 1 ملغم/لتر، 1.5 ملغم/لتر، 2 ملغم/لتر وتركيز ب.أ هو 0 ملغم/لتر، 0.5 ملغم/لتر، 1 ملغم/لتر، 1.5 ملغم/لتر. وقد تم تحليل البيانات عن طريق اختباراً انافا لاتجاهين (*ANAVA Two Way*) $\alpha = 5\%$. إذا كان هناك اختلاف كمي، فسوف يتبعه اختبار (DMRT) Duncan Multi Range بمستوى أهمية 5% واختبار انحدار الارتباط. دلت نتائج بحث الكالس أن هناك تأثير تركيزات 2،4-د و ب.أ على استقراء الكالس بيدارا أوفاس (*Merremia Mammosa*) الامثل في مزيج 1 ملغم/لتر 2،4-د و 1 ملغم/لتر ب.أ اليوم الظهور الكالس للثاني عشر (اليوم بعد الزراعة) مع نسبة نمو الكالس في الازدراع هو 92.66%. ووزن الكالس هو 0.387 غ

الكلمات الرئيسية: الكالس، بيدارا أوفاس (*Merremia Mammosa*) 2،4-د، ب.أ (BA)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT telah menciptakan bumi ini dengan segala isinya, mempunyai tujuan dan manfaat masing-masing, karena tidak ada ciptaan Allah SWT yang sia-sia. Salah satu ciptaan-Nya adalah tumbuh-tumbuhan yang baik dan mempunyai banyak manfaat di dalamnya. Hal ini disebutkan dalam Al-qur'an Surah asy-Syu'ara (26): 7 yang berbunyi :

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)

Ayat di atas Allah SWT menjelaskan bahwa Dia-lah yang menurunkan hujan dari langit dan menumbuhkan bermacam-macam tumbuhan yang baik dan bermanfaat untuk kehidupan manusia dan makhluk lainnya di muka bumi. Tumbuh-tumbuhan merupakan rezeki anugerah dari Allah SWT untuk manusia, hewan, dan makhluk lainnya (Darwis, 2004). 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 SWT 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 bidara upas yang memiliki berbagai manfaat. Dalam hal ini tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang dapat

dimanfaatkan seperti contohnya tumbuhan yang digunakan untuk obat-obatan (obat herbal).

Obat herbal merupakan sediaan atau bahan baku berasal dari tumbuhan yang mempunyai efek terapi atau efek lain yang bermanfaat bagi manusia (Hidayat, 2006). Berbagai jenis tumbuhan dengan berbagai tujuan pengobatan telah dijadikan alternatif pengobatan bagi masyarakat yang kemudian didukung oleh penelitian dari berbagai instansi (Adha, 2009).

WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit terutama untuk penyakit kronis, degenerative dan kanker. Data statistik WHO menyebutkan di negara-negara di Afrika, Asia dan Amerika Latin menggunakan obat herbal. Bahkan di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat tradisional untuk pengobatan primer (WHO, 2003). Selain itu, didukung juga dengan maraknya kampanye “*back to nature*” atau kembali ke alam, merupakan upaya mencari, meneliti dan menggunakan bahan alami nabati untuk mengatasi berbagai penyakit yang banyak muncul dilingkungan masyarakat akhir-akhir ini, sehingga penggunaan obat herbal semakin luas (Suhartati & Virgianti, 2015).

Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) adalah salah satu tumbuhan herbal. Depkes.RI (1979) Tumbuhan ini berasal dari Asia Tenggara dan tersebar di daerah tropika terutama pada tanah kering yang tidak di genangi air. Mansyur (2001) Bidara upas tersebar di India, Pulau Andaman dan Indo-China. Tumbuhan ini dapat tumbuh di dataran rendah. Lasmadiwati (2003) Bidara upas dapat tumbuh di daerah dataran rendah hingga ketinggian 250 mdpl dengan suhu

berkisar 16-30 C dan curah hujan antara 2500-4000 mm/tahun. Bidara upas berasal dari Filipina dan dinaturalisasi di daerah Indonesia seperti Jawa Tengah (Tepatnya di Solo, Yogyakarta dan sekitarnya)

Perbanyakkan tumbuhan bidara upas secara konvensional menggunakan umbi. Menurut Arlianti (2015) perbanyakkan dengan umbi mempunyai masa dormansi yang tergolong agak lama sekitar 4-5 bulan baru keluar tunas. Selain itu apabila umbi mengalami luka kemungkinan untuk tumbuh tunas sangat kecil. Bila menggunakan stek batang keberhasilannya sekitar 50% banyak yang mempengaruhi stek diantaranya tidak boleh ada goncangan sehingga bergesernya tanaman pada media pasir yang akhirnya menurunkan pertumbuhan. Karena rendahnya kemampuan tumbuh stek maka jarang untuk perbanyakkan tumbuhan. Apabila menggunakan teknik *mikrocutting* terdapat kendala pada keterbatasan bibit serta kesulitan untuk mendapatkannya dikarenakan termasuk dalam jenis tumbuhan obat yang langka. Menurut Badan Perencanaan Pembangunan Nasional (2003) bidara upas termasuk ke dalam kriteria langka berdasar *Indonesia Biodiversity Strategy and Action Plan*. Permintaan terhadap simplisianya tinggi sebagai herbal yang dijual sebagai jamu gendong dan industry obat tradisional di tengah sulitnya mendapatkan tanaman ini di masyarakat dan alam.

Bidara upas termasuk dalam suku *Convolvulaceae*. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Di wilayah Indonesia dan Malaysia, tumbuhan ini dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai gangguan pernafasan, pencernaan, luka akubat gigitan ular atau luka bakar dan diabetes (Mansyur,2001). Farizal (2012) melaporkan

bahwa senyawa aktif pada ekstrak bidara upas secara nyata dapat mengatasi bakteri *Salmonella typhimurium* yaitu bakteri penyebab demam tifoid. Mazni (2008) menambahkan bahwa bidara upas juga mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Menurut Hermawan (2014) dalam Cancer chemoprevention Research Center UGM, kandungan zat antioksidan pada getah segar bidara upas memiliki peran dalam pengobatan kanker alternatif. Menurut Malviya *et al.* (2010) salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa obat sebagai antidiabetes yaitu bidara upas.

Menurut Aniq *et al.* (2014) berdasarkan hasil telaah fitokimia ekstrak daun bidara upas mengandung senyawa flavonoid, kuinon, senyawa fenolat, terpenoid, dan steroid. Suarsana *et al.* (2008) kebanyakan tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti glikosida, alkaloid, terpenoid, flavonoid dan karotenoid mempunyai aktivitas antidiabetes. Kurniasih (2014) melaporkan bahwa bidara upas memiliki kandungan flavonoid yang dapat menghambat proses inflamasi sehingga dapat dijadikan obat antiinflamasi.

Menurut Ramar (2014) menyatakan bahwa budidaya memainkan peran pada tanaman obat dapat dilihat dari perbanyakan secara cepat, konservasi dan peningkatan produksi metabolit sekunder. Teknik kultur *in vitro* tanaman menawarkan kesempatan yang sangat baik untuk konservasi tanaman penting ini dan meningkatkan produksi metabolit sekundernya. Sitorus *et al.*, (2011) metabolit sekunder yang didapatkan melalui kultur kalus memiliki kadar metabolit lebih banyak dan tinggi, karena pada suatu media menunjukkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder lebih tinggi dan lebih besar. Yuwono

(2006) menambahkan bahwa penelitian induksi kalus merupakan salah satu langkah penting karena mempunyai keuntungan untuk memproduksi metabolit sekunder. Dalam penelitian ini kalus yang ingin dihasilkan adalah kalus dengan tekstur kompak yang nantinya dapat digunakan untuk menginduksi metabolit sekunder. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bahwa karakteristik kalus sendiri tergantung pada komposisi media pengulturan, khususnya zat pengatur tumbuh, dan jenis eksplan. Kalus dengan tekstur kompak akan menghasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan kalus dengan tekstur meremah. Alcantara *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kalus tebu non-embriogenik (NE) yang memiliki ciri ukuran sel besar dan rapat antar sel, dengan nukleous yang tidak tampak, kompak, dan tidak transparan.

Media yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog) yang umumnya digunakan untuk berbagai tumbuhan. Menurut Hendaryono dan Wijayanti (1994) medium Murashige dan skoog (MS) adalah yang paling banyak digunakan oleh peneliti untuk tanaman apa saja. Selain media, ZPT juga mempunyai peran yang penting dalam proses kultur jaringan. Media tanpa penambahan ZPT akan menghasilkan pertumbuhan lebih lambat daripada media yang diberi ZPT.

Jenis hormon tanaman yang sekarang banyak dipakai secara *in vitro* adalah auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan dan paling efektif adalah 2,4-D (Santoso dan Nursandi, 2004). 2,4-D digunakan secara tunggal menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (Syahid dan Natalini, 2007). Menurut Rahayu (2003) Penambahan 2,4-D dalam

media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Indah (2013) menambahkan bahwa dibanding dengan golongan auksin lainnya, 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan saat sterilisasi.

Selain auksin, sitokinin juga mempunyai peran dalam menginduksi kalus dimana juga memicu pembelahan sel. Pemberian sitokinin ke dalam medium kultur jaringan penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk dan morfogenesis (Zulkarnain, 2014) Tinggi rendahnya konsentrasi 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 dari pada sitokinin maka akan terbentuk tunas aksilar. Namun bila konsentrasi auksin dan sitokinin seimbang maka akan terbentuk kalus. Menurut Wahyuningtyas (2014) BA memiliki sifat yang stabil, murah dan lebih efektif jika dibandingkan dengan kinetin.

Allah SWT telah menciptakan segala hal dengan begitu sempurna. Setiap penciptaan-Nya sudah ditetapkan dengan sangat rapi dan indah, bahkan setiap ukuran pun di atur dengan rapi, indah dan seimbang. Alloh menciptakan masing-masing ukuran dengan kadar yang berbeda-beda sesuai dengan yang dibutuhkan. Seperti dalam firman-Nya dalam surat Al-A'laa ayat 1-4

سَبِّحْ اسْمَ رَبِّكَ الْأَعْلَى ﴿١﴾ الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى ﴿٢﴾ وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى ﴿٣﴾

وَالَّذِي أَخْرَجَ الْمَرْعَى ﴿٤﴾

Artinya : “*Sucikanlah nama Tuhanmu yang Maha Tinggi, yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya), dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk, dan yang menumbuhkan rumput-rumputan,*” (QS. Al-A’laa 87: 1-4)

Shihab (2003) menjelaskan makna dari ayat di atas adalah Allah SWT SWT telah memberi kadar atau ukuran atau batas tertentu dalam diri, sifat atau kemampuan maksimal makhluk-Nya. Rifa’i (2000) menambahkan bahwa pada ayat yang artinya “dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk”, yaitu menunjukkan manusia untuk memilih mana jalan menuju kesengsaraan dan jalan menuju kebahagiaan. Allah SWT SWT mengisyaratkan bahwa terdapat rahasia di balik kata “kadar” yang harus dikaji dan dipelajari.

Beberapa penelitian tentang kombinasi ZPT telah dilakukan. Berdasarkan penelitian Mungole dkk (2009) menunjukkan bahwa eksplan daun *Ipomoea obscura* L. menghasilkan presentase kalus tertinggi dengan perlakuan dengan kombinasi 2,4-D (0,8 mg/L) dengan kinetin (0,8 mg/L). Menurut Hertiasari dkk (2014) pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 0.4 mg/L tanpa glutamin merupakan konsentrasi terbaik untuk rata-rata bobot segar kalus ubi jalar kultivar Ayamurasaki. Sedang pemberian 2,4-D pada konsentrasi 1,2 mg/L menghasilkan kalus berwarna hijau kekuningan.

Menurut Khaladhar (2010) pada tumbuhan *Merremia tridentata* L. eksplan ujung tunas dan bunga dengan media MS yang ditambahkan 2,4-D pada konsentrasi 0,5-3,0 mg/L menginduksi kalus dalam waktu 15 hari. Jumlah kalus yang terbanyak dihasilkan dari eksplan dengan konsentrasi 2,4-D 1 mg/L dan BA 1 mg/L. Aziz (2014) melaporkan dalam penelitiannya pada tumbuhan iles-iles dengan media MS ditambahkan ZPT berupa 2,4-D 1 mg/l dan BA 1 mg/l mampu menginduksi kalus dalam waktu 13 hari, dengan kalus tekstur kompak dan berwarna putih.

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BA untuk induksi kalus, Menurut Damayanti *et al.* (2005) auksin 2,4 D merupakan auksin sintetik kuat yang berfungsi memacu pembentukan kalus, pemanjangan/pertumbuhan sel, inisiasi akar dan induksi embryogenesis somatik. Penambahan sitokinin BA berfungsi untuk memacu pembelahan sel, jaringan, organogenesis, menginduksi pembentukan tunas dan proliferasi tunas aksilar. Penelitian ini penting dilakukan karena penelitian awal kultur kalus bidara upas dan juga dapat digunakan sebagai acuan untuk pengembangan kultur bidara upas selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*?
2. Adakah pengaruh pemberian kombinasi BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*?
3. Adakah pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*?
4. Bagaimana pengaruh zat pengatur tubuh 2,4-D dan BA terhadap kualitas (warna, tekstur dan anatomi) kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.

3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
4. Untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tubuh 2,4-D dan BA terhadap kualitas (warna, tekstur dan anatomi) kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ada pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
2. Ada pengaruh pemberian kombinasi BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
3. Ada pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
4. Ada pengaruh zat pengatur tubuh 2,4-D dan BA terhadap kualitas (warna, tekstur dan anatomi) kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memperluas ilmu pengetahuan dalam bidang kultur jaringan tumbuhan bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)
2. Dapat menjadikan dasar penelitian lebih lanjut tentang pengaruh beberapa zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) melalui teknik kultur *in vitro*.
3. Penelitian dapat digunakan sebagai upaya memproduksi metabolit sekunder yang lebih tinggi sehingga bermanfaat untuk industri farmasi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tumbuhan bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) didapatkan dari Solo, Jawa Tengah.
2. Media yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog).
3. Hormon yang digunakan adalah 2,4-D yang dikombinasikan dengan BA
4. Eksplan bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) yang diambil adalah daun yang berumur 10 hari.
5. Eksplan di potong dengan ukuran 1 cm x 1 cm.
6. Jumlah eksplan satu per botol kultur.
7. Konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D terdiri dari 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L, dan 2 mg/L. Dan pada zat pengatur tumbuh BA terdiri dari 0,5 mg/L, 1 mg/L, dan 1,5 mg/L.

8. Parameter yang diamati adalah hari munculnya kalus, berat basah kalus, warna kalus, dan tekstur kalus, persentase tumbuh kalus dan anatomi kalus.
9. Pengamatan dilakukan selama 30 hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bidara Upas (*Merremia mammosa*)

2.1.1 Klasifikasi Bidara Upas (*Merremia mammosa*)

Tumbuhan bidara upas (*Merremia mammosa*) adalah suku dari convolvulaceae yang mempunyai 60 marga, salah satunya *Merremia* yang juga mempunyai 60 jenis. Bidara upas di beberapa daerah dikenal dengan sebutan blandar, widoro upas (jawa), heilale (Ambon) dan blading (Madura) (Mansyur,2001).

Menurut Lasmadiwati (2003), berikut adalah klasifikasi tumbuhan bidara upas :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Merremia</i>
Jenis	: <i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hallier f.

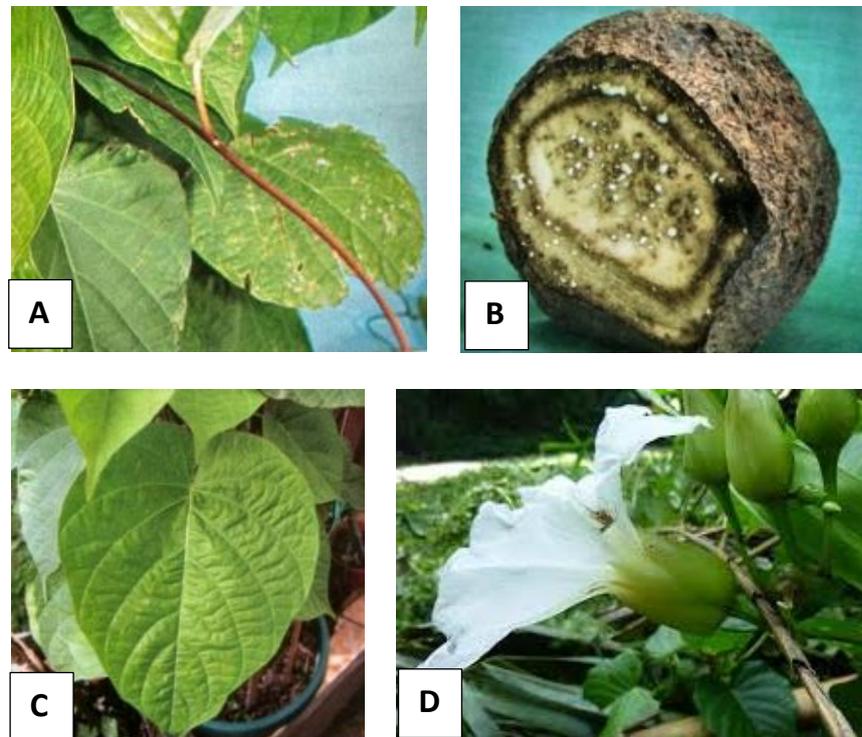
2.1.2 Deskripsi Bidara Upas (*Merremia mammosa*)

Tumbuhan perenial yang melilit (liana) berbulu, panjang batang 3-6 m. Umbi berkumpul di dalam tanah menggelendong sampai membulat, memberkas, panjang 10-25 cm, dengan getah yang kental seperti susu (Depkes. RI, 1979; Mansyur, 2001).

Tanaman ini memiliki daun tunggal bertangkai, panjang daun sekitar 5-12 cm, dan lebarnya 4-15 cm. Daun berbentuk jantung, berwarna hijau tua, tepi daun rata, ujung daun meruncing, dan pertulangan daun menyirip (Lasmadiwati, 2003).

Perbungaannya majemuk, yakni sejumlah 1-4 kuntum, membentuk lonceng, berwarna putih, panjang 7-8 cm, dan apabila menjadi buah, kelopaknya tidak gugur (Dalimartha, 2009)

Umbi bidara upas hampir mirip dengan ubi jalar. Letak umbi berkumpul dalam tanah. Kulit umbi berwarna kuning kecoklatan, tebal, dan bergetah. Umbi berwarna putih, tetapi bila kering warnanya berubah menjadi coklat. Umbi berbentuk bulat memanjang dengan ukuran sebesar telur bebek sampai sebesar bayi manusia. Bila umbi berada di tanah yang kering yang tidak tergenang tetapi gembur, berat mencapai 5 kg atau lebih (Lasmadiwati, 2003).



Gambar 2.1 (a) batang bidara upas, (b) umbi bidara upas, (c) daun bidara upas (Lasmadiwati, 2003) (d) bunga bidara upas (probo, 2014)

2.1.3 Asal dan Penyebaran

Menurut sejarahnya, tanaman bidara upas berasal dari Filipina. Namun, dapat pula dijumpai di daerah tropis, khususnya di Indonesia. Daerah penyebaran bidara upas terbatas di daerah Jawa Tengah (Tepatnya di Solo, Yogyakarta, dan sekitarnya), Maluku (Ambon), dan Sumatera (Lasmadiwati,2003).

Bidara upas ditemukan di daerah dataran rendah dan juga dijumpai di dataran tinggi pada ketinggian 250 m di atas permukaan laut. Suhu yang sesuai berkisar 16-30°C dan curah hujan antara 2.500-4000 mm/tahun (Lasmadiwati,2003).

2.1.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman

Secara turun temurun bidara upas digunakan sebagai obat untuk penyakit infeksi tuberkulosis dengan cara meminum air rebusan umbinya (Agil, dkk., 2010). Cairan dari umbi segar diminum sebagai obat radang pada tenggorokan dan organ-organ pernafasan, disentri, demam, serta digunakan sebagai obat luar pada bekas gigitan ular, luka bakar, keracunan, dan pencahar ringan (Mansyur, 2001). Bubur akar segarnya dilumaskan pada dada (payudara) wanita menyusui untuk memperlancar keluarnya air susu (ASI) (Heyne, 1987). Selain itu, digunakan juga untuk mengobati kelainan pada tenggorokan (Depkes. RI, 1979), radang amandel, batuk rejan, bronkhitis, TBC, batuk, nyeri perut, tifus, difteria, penawar racun ular, busung lapar, kudis, kencing manis, kencing batu, anemia, eksim, luka, kanker, dan radang usus buntu (Ogata, dkk., 1995).

Kandungan senyawa kimia dalam tanaman bidara upas diantaranya polifenol, triterpenoid, terpenoid dan flavonoid (Agil, dkk., 2010). Adanya senyawa flavonoid inilah yang menjadikan tanaman ini berpotensi sebagai immunomodulator. Bagian tanaman yaitu umbi bersifat menyejukkan, anti radang, antitoksik, menghilangkan nyeri, menghilangkan bengkak (Dalimartha, 2009).

Untuk dikonsumsi sebagai obat, umbi segar bidara upas sebanyak 10-100 g direbus dengan tiga gelas air hingga 1 gelas, lalu air rebusannya diminum. Untuk pemakaian luar, umbi diiris tipis-tipis atau diparut menjadi bubur, lalu dibalurkan di tempat yang sakit. Hasil penelitian

perusahaan farmasi PT Eisai Indonesia, tumbuhan ini dapat menghambat perbanyakan(replikasi) virus HIV (penyebab penyakit AIDS) pada sel hidup, namun tidak dapat mematikannya (Mustarichie et *al.*,2011)

2.2 Kultur Jaringan *In vitro*

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan *In vitro*

Kultur *in vitro* merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif. Kultur *in vitro* merupakan teknik perbanyakan dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur *in vitro* adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Zulkarnain, 2014).

Menurut Sutini dkk (2008) Teknik ini mempunyai keuntungan dalam produksi metabolit dibandingkan dengan tanaman utuh karena kecepatan pertumbuhan sel dan biosintesis dalam kultur yang diinisiasi dari eksplan sangat tinggi dan dalam periode yang sangat singkat. Sedangkan regenerasi tanaman melalui teknik *in vitro* memiliki keuntungan karena dapat menghasilkan tanaman baru dengan jumlah yang lebih banyak serta bebas dari penyakit (Ibrahim, dkk., 2010). Berbeda dengan teknik perbanyakan vegetatif secara konvensional, teknik kultur *in vitro*

in vitro melibatkan pemisahan sejumlah komponen biologis dan tingkat pengendalian yang tinggi untuk memacu proses regenerasi dan perkembangan eksplan. Setiap tahapan dari proses-proses tersebut dapat dimanipulasi melalui seleksi bahan eksplan, medium kultur dan faktor lingkungan termasuk eliminasi mikroorganisme, seperti cendawan dan bakteri. Semua faktor dimanipulasi untuk memaksimalkan hasil yang dicapai dalam bentuk jumlah dan mutu propagula yang didapatkan (Zulkarnain, 2014)

2.2.2 Kultur Kalus

Kultur kalus merupakan salah satu teknik kultur in vitro yang banyak digunakan untuk menghasilkan bibit tanaman bebas penyakit. Terdapat banyak keuntungan dalam penggunaan kultur kalus, diantaranya dapat diproduksi dalam jumlah banyak dengan kondisi lingkungan yang terkontrol, tidak memerlukan lahan yang luas, dan dapat menghasilkan metabolit yang lebih tinggi dari tanaman aslinya (Yustina, 2003).

Kalus adalah kumpulan masa sel yang belum terorganisasi (amorphous) yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Secara in vitro, kalus dapat terbentuk pada bekas-bekas luka irisan karena sebagian sel pada permukaan irisan tersebut akan mengalami proliferasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Kalus dapat digambarkan dengan pertumbuhan menggunakan kurva signoid, biasanya terdiri dari lima fase (1) fase lag (2) periode

pertumbuhan eksponensial (3) periode pertumbuhan linear (4) periode penurunan kecepatan tumbuh (5) stasioner (Smith, 2000).

Tahap kalus kompak (metabolit sekunder) biasanya terjadi pada tahap stasioner, menurut Darwati (2007) peningkatan metabolit sekunder pada tahap stasioner, pada bagian vakuola tersimpan makanan sel dan akan terjadi peningkatan didalamnya. Pada tahap ini akan terjadi kematian pada pertumbuhan pada sel. Hal ini dikarenakan pada nutrisi yang berada dalam media telah terakumulasi dan terbentuk senyawa-senyawa toksik yang akan dikeluarkan pada kalus dalam media. Pada fase ini lebih baik dilakukan Teknik subkultur untuk menyelamatkan kalus agar tetap hidup.

2.2.2.1 Warna Kalus

Warna kalus merupakan salah satu indikator pertumbuhan eksplan pada kultur in vitro sehingga dapat diketahui kalus yang memiliki sel yang aktif membelah dan kalus yang mati (Indah, 2013). warna kalus metabolit dari kalus gandarusa adalah berwarna hijau pekat dan putih dan akhirnya menjadi coklat (Wahyuni, 2016) kalus yang berwarna hijau bahwasanya kalus tersebut memiliki klorofil pada jaringannya, maka apabila kalus tersebut semakin hijau maka kalus tersebut semakin menandakan banyaknya klorofil didalamnya (Dwi, 2012)

Warna kalus yang bervariasi bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang berwarna kecoklatan dapat disebabkan oleh

kondisi eksplan yang mempunyai kandungan fenol tinggi (Hendaryono & Wijayanti, 1994).

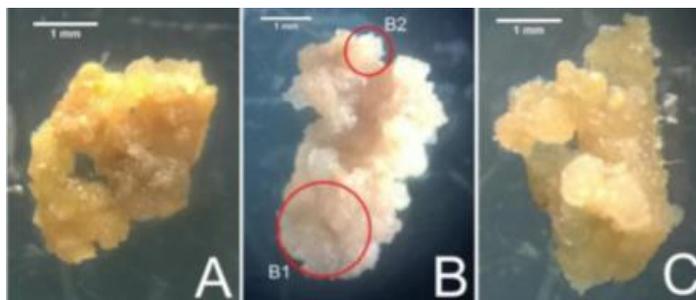
2.2.2.2 Tekstur Kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi sel nya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus kompak dan kalus remah. Kalus kompak bertekstur padat dan keras, tersusun dari sel kecil yang sangat rapat. Sedangkan kalus remah bertekstur remah lunak tersusun dari sel dengan ruang antar sel yang banyak (Subarnas, 2011).

Tekstur kalus dapat bervariasi dari kompak hingga remah, tergantung pada jenis tanaman, komposisi nutrien media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur (Pierik ,1997). kalus kompak dapat dilihat dari tekstur dengan tanda kalusnya keras dan mengembang dan bentuknya besar, pada penelitiannya pada daun binahong tekstur kalus binahong tampak kompak dan besar untuk menghasilkan kalus metabolit (Sugiyarto, 2010).

Kalus remah biasanya lebih banyak dipakai sebagai perbanyakan jaringan, menurut Sitorus (2011) Apabila pada penelitian *kultur in vitro* membutuhkan kalus remah maka dilakukan dengan menggunakan Teknik subkultur berulang-ulang, karna pada kalus remah ini adalah kalus terpisah-pisah dan menjadi bagian kecil-kecil dan gampang lepas, dan didalamnya terdapat banyak air. Menurut Rahayu (2003) menyatakan bahwa dengan menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D biasanya banyak

menghasilkan kalus dengan tekstur remah. Dibawah ini contoh dari tekstur kalus.



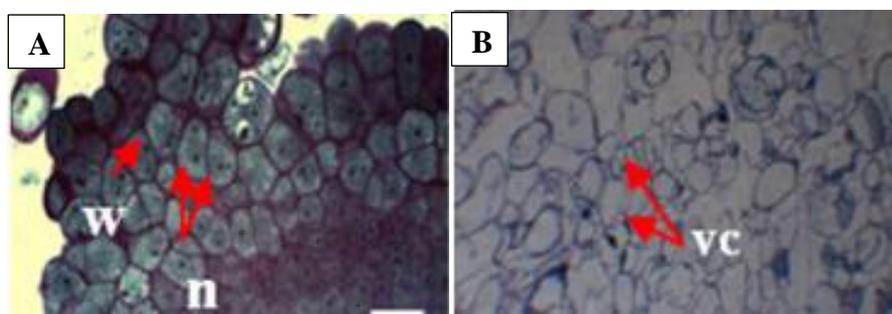
Gambar 2.2 Tesktur kalus stevia (A) kalus kompak, (B) kalus intermediet (B1= kalus kompak, B2 = kalus remah), (C) kalus remah (Putri,2015).

2.2.2.3 Anatomi Kalus

Kalus kompak yaitu kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air (Manuhara, 2001). Street (1993) menambahkan susunan sel pada kalus kompak memiliki sel yang rapat, padat sehingga sulit untuk dipisahkan. Kemudian ukuran vakuola relative lebih besar, mempunyai dinding polisakarida yang lebih besar dalam sel selnya. Ukuran vakuola yang besar ini memungkinkan untuk kalus dapat menyimpan air di dalam sel, sehingga kandungan air pada kalus relative tinggi dan berat basah pada kalus akan naik.

Hasil pengamatan histologi Alcantara *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kalus tebu non-embriogenik (NE) yang memiliki ciri ukuran sel besar dan rapat antar sel, dengan nukleous yang tidak tampak, kompak, dan tidak transparan. Mostafiz and Alina (2018) juga menambahkan bahwa kalus non embriogenik selnya terlihat longgar, berair dan berwarna

kekuningan sampai kecoklatan. Kalus non embriogenik kurang mampu untuk regenerasi. Kalus non embriogenik mempunyai vakuola besar dan luas serta butir pati yang kecil. Menurut Jafari (2015) sebagai perbandingan, kalus embriogenik mempunyai struktur globular dan mempunyai inti yang besar dan terlihat di mikroskop sedang kalus non-embriogenik mempunyai struktur sel yang rapat dan ukuran yang beragam serta terdapat vakuola lebih besar.



Gambar Literature 2.3 Histologi kalus *Musa acuminata* A. kalus embriogenik B. kalus non-embriogenik (Jafari, 2015)

2.2.3 Media Kultur Jaringan

Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media. Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya. Oleh karena itu, macam-macam media kultur jaringan telah ditemukan sehingga jumlahnya cukup banyak. Nama-nama media tumbuh untuk eksplan ini biasanya sesuai dengan nama penemunya. Media

tumbuh untuk eksplan berisi kualitatif komponen bahan kimia yang hampir sama, hanya agak berbeda dalam besarnya kadar untuk tiap-tiap persenyawaan (David, 2008).

Media yang digunakan biasanya berupa garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain itu diperlukan juga bahan tambahan seperti agar-agar, gula, arang aktif, bahan organik dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan juga 20 bervariasi, baik jenis maupun jumlahnya. Medium yang sudah jadi ditempatkan pada tabung reaksi atau botol-botol kaca. Medium yang digunakan juga harus disterilkan dengan cara memanaskannya dengan autoklaf agar tidak terjadi kontaminasi dari bakteri maupun cendawan. Komposisi media yang digunakan dalam kultur jaringan dapat berbeda jenis dan konsentrasinya. Perbedaan komposisi media dapat mengakibatkan perbedaan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro* (Anjar, 2008).

Keasaman medium adalah salah satu yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan tanaman. Pada umumnya, keasaman medium ditetapkan antara 5,6-5,8. Medium yang terlalu asam ($\text{pH} < 4,5$) atau terlalu basa ($\text{pH} > 7,0$) dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Hal itu mungkin disebabkan oleh tidak tersedianya sejumlah unsur hara pada kisaran pH tertentu. Pada pH tinggi, unsur-unsur seperti besi seng, mangan, tembaga, dan boron mengalami presipitasi sebagai hidroksida sehingga tidak tersedia bagi jaringan yang dikulturkan.

Sedangkan pH rendah, unsur-unsur seperti kalsium, magnesium, belerang, fosfor, dan molibdat tidak tersedia (Zulkarnain, 2014).

Kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan kultur *in vitro* yang optimal bervariasi antarspesies ataupun antarvarietas. Bahkan jaringan yang berasal dari bagian tanaman yang berbeda pun akan berbeda kebutuhan nutrisinya. Oleh karena itu, tidak ada satu pun medium dasar yang berlaku universal untuk semua jenis jaringan dan organ. Meskipun demikian, medium dasar MS yang direvisi (Murashige dan Skoog, 1962) adalah yang paling luas penggunaannya dibandingkan dengan media dasar lainnya. Medium MS yang direvisi selanjutnya disebut MS banyak digunakan terutama pada mikropropagasi tanaman dikotil yang sangat memuaskan. Hal itu dikarenakan medium MS memiliki kandungan garam-garam yang lebih tinggi daripada media lain, di samping kandungan nitratnya juga tinggi (Zulkarnain, 2014).

2.3 Sumber Eksplan

Eksplan adalah bahan tanaman yang dipakai untuk memperbanyak tanaman dengan sistem kultur jaringan (Hendaryono, 1994). Eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang dikeluarkan atau dipisahkan dari tanaman induk kemudian dikulturkan. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah tunas pucuk, potongan batang, potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, umbi akar, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

Ukuran eksplan yang dikulturkan sangat menentukan keberhasilan eliminasi virus melalui kultur meristem karena hanya bagian paling ujung dari meristem yang benar-benar bebas dari virus, sekalipun pada tanaman induk yang sakit. Semakin kecil ukuran eksplan yang dikulturkan, akan semakin efektif pula prosedur eliminasi virus. Bebasnya jaringan meristem dari infeksi virus disebabkan oleh sedikitnya vakuola yang dimiliki oleh sel-sel meristem, disamping terganggunya lintasan vaskular di dalam jaringan tersebut (Zulkarnain, 2014).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah dapat mendorong, menghambat, atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Widyastuti, 2006). Zat ini berfungsi untuk merangsang pertumbuhan misalnya pada pertumbuhan akar, pertumbuhan tunas, proses perkecambahan. Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa 23 organik yang bukan hara (nutrien) yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat merubah proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terdiri dari 5 (lima) kelompok yaitu Auksin, Giberelin, Sitokinin, Etylen, dan Inhibitor dengan ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi (Abidin,1994).

Di dalam kultur Jaringan, kehadiran zat pengatur tumbuh sangat nyata pengaruhnya. Bahkan Pierik (1997) menyatakan bahwa sangat sulit untuk menerapkan teknik kultur jaringan pada upaya perbanyakan

tanaman tanpa melibatkan zat pengatur tumbuh. Proses multiplikasi juga melibatkan faktor eksternal lain berupa ZPT. Fungsi ZPT dalam hal ini adalah membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan. Sitokinin adalah salah satu jenis hormon tumbuhan yang berperan dalam pembelahan sel serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan. Mekanisme kerja sitokinin hampir sama dengan kinetin namun dalam praktek kultur jaringan umumnya peneliti menggunakan sitokinin (Zulkarnain, 2014).

2.4.1. *Diklorofenoksiasetat (2,4-D)*

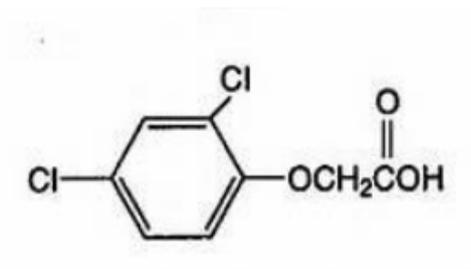
Auksin mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Secara fisiologis auksin diantaranya berperan terhadap pembentukan kalus dan pembelahan sel (Abidin, 1994). Menurut Raghavan (1986) dalam Lizawati (2012) auksin meningkatkan kuantitas sel-sel embriogenik dengan cara memacu pembelahan sel untuk membentuk massa proembriogenik, serta mencegah inisiasi pertumbuhan yang teratur pada sel-sel tersebut.

Auksin mempengaruhi pengenduran atau pelenturan dinding sel melalui peningkatan protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H^+ ke dinding sel. Ion H^+ ini mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Peristiwa ini menyebabkan pengenduran dinding sel akibatnya air mudah masuk ke dalam sel sehingga terjadi pembesaran sel. Pembesaran sel tersebut diikuti dengan

proses sintesis material dinding sel dan sitoplasma. Konsentrasi auksin yang dapat digunakan berkisar antara 0,01–10 ppm (Gunawan 1995).

2,4-D merupakan auksin kuat yang sering digunakan secara tunggal untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman. 2,4-D merupakan auksin yang paling banyak digunakan untuk induksi embriogenesis somatik. 2,4-D juga merupakan ZPT yang paling efektif dalam produksi kultur embriogenik (Bhojwani & Razdan, 1996). Penggunaan kombinasi antara auksin (2,4-D) dengan sitokinin (Benzyl Adenin ataupun kinetin) akan meningkatkan proses induksi kalus (Litz & Gray, 1995). Dibandingkan dengan auksin golongan IAA, 2,4-D memiliki sifat yang lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah, 2013).

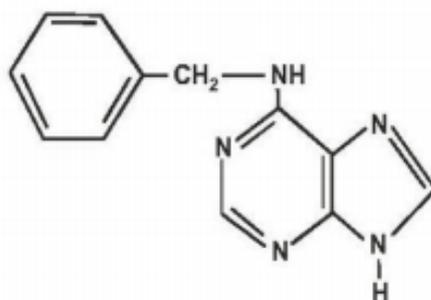
Respon awal eksplan terhadap 2,4-D adalah pembentukan kalus sebagai wujud dediferensiasi. Kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir yang awalnya merupakan jaringan penutup luka, dimana sel-sel yang pada awalnya dorman (*quiescent*) terdiferensiasi kembali (*dediferensiasi*). Dediferensiasi terjadi karena sel-sel tumbuhan (jaringan), yang secara alamiahnya bersifat autotrof dikondisikan menjadi heterotrof dengan cara memberikan nutrisi yang cukup kompleks di dalam medium kultur, sehingga sel-sel membelah secara tidak terkendali membentuk massa sel yang tidak terorganisir (kalus) (Rusdianto dan Indrianto, 2012)



Gambar 2.4 Struktur Kimia 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D)
(Zulkarnain, 2014)

2.4.2 *Benzyladenine* (BA)

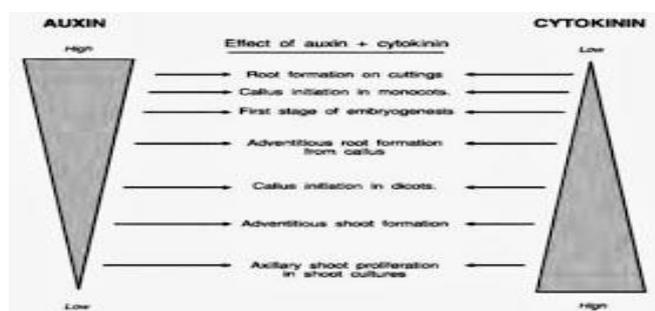
Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam proses pembelahan sel. Sifat karakteristik sitokinin adalah merangsang pembelahan sel pada kultur jaringan tanaman (Wilkins 1989). BA mempunyai sifat yang sulit didegradasi oleh enzim sehingga mempunyai daya rangsang yang lebih lama, tidak mudah dirombak oleh sistem enzim dalam tanaman, dan lebih mudah didapatkan serta lebih ekonomis dibanding thidiazuron. Ibrahim et al. (2004) berhasil menginduksi kalus dari daun *Echinacea purpurea* dengan pemberian MS dengan penambahan BA 0,2 mg/l dan 2,4-D 1 mg/l.



Gambar 2.5 Struktur Kimia *Benzyladenine* (BA) (Abidin,1993)

2.4.3. Perbandingan Auksin Dan Sitokinin

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



Gambar 2.6 kesimbangan auksin dan sitokinin (George dan sherrinton (1989)).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober – Desember 2018. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 2 faktor. Faktor pertama yakni konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari (0 ; 0.5 ; 1.0 ; 1.5 ; 2.0 mg/L). Faktor kedua yakni konsentrasi BA yang terdiri dari (0 ; 0.5 ; 1 ; 1.5 mg/L). Masing-masing perlakuan 3 kali ulangan. Sehingga terdapat 20 buah unit percobaan dalam satu percobaan terdapat 1 eksplan sehingga terdapat 60 buah eksplan. Disajikan dalam bentuk tabel 3.1

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan 2,4-D dan BA

Perlakuan		2,4-D (mg/L)				
		0	0.5	1.0	1.5	2.0
BA (mg/L)	0	D0B0	D1B0	D2B0	D3B0	D4B0
	0.5	D0B1	D1B1	D2B1	D3B1	D4B1
	1.0	D0B2	D1B2	D2B2	D3B2	D4B2
	1.5	D0B3	D1B3	D2B3	D3B3	D4B3

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur, plastic, karet, batang pengaduk, gelas ukur 1000 ml, neraca analitik, pH meter, pipet mikro, blue tip, panci, kompor, *autoclave*, LAF (*Laminar Air Flow*), penyemprot alkohol, Rak kultur, pinset, cawan petri, blade, handle, oven, hot plate and magnetic stirer, lemari pendingin, bunsen, rak kultur, AC (*Air Conditioner*), lampu, tisu, kertas label, *aluminium foil*.

3.3.2 Bahan-bahan

Bahan yang digunakan sebagai eksplan adalah daun bidara upas (*Merremia mammosa*) sebagai induksi kalus. Bahan untuk sterilisasi adalah fungisida, bakterisida, alkohol 70 % dan 98 %, aquades steril, clorox. Bahan Media yang digunakan adalah gula, agar-agar, media MS (*Murashige and Skoog*), aquades, ZPT berupa Auksin (2,4-D) dan Sitokinin (BA).

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yaitu : 1) variabel bebas, 2) variabel terikat, 3) variabel kontrol. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai macam konsentrasi 2,4-D dan BA. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hari munculnya kalus, warna kalus, tekstur kalus, anatomi kalus, persentase eksplan berkalus dan berat kalus. Variabel terkontrol adalah cahaya, suhu, media MS, pH dan kelembapan.

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat diseksi (scapel, pinset, gunting), alat gelas dan botol kultur dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir. Dikeringkan alat-alat diseksi, alat gelas dan botol kultur dengan oven selama 3 jam dengan suhu 120 °C. Alat-alat diseksi dibungkus dengan *aluminium foil* lalu dimasukkan dalam plastic sedangkan alat-alat gelas ditutup plastik, kemudian disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121 C selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Stok Hormon

Pembuatan stok hormone bertujuan untuk mempermudah dalam proses pembuatan media. Konsentrasi yang digunakan yaitu 100mg/l dalam 100 ml aquades. Langkah pertama dengan menimbang ZPT yang akan digunakan sebanyak 0.1 gram, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml. Langkah selanjutnya ZPT yang sudah ditimbang tersebut dihomogenkan dengan aquades hingga larut, setelah larut dimasukkan ke dalam botol dan diberi label.

3.5.3 Pembuatan Media

Media MS ditimbang sebanyak 4,43 gram, gula sebanyak 30 gram, dan agar sebanyak 10 gram yang dibagi banyaknya perlakuan. Bahan seperti media MS, gula dimasukkan pada 1000 ml aquades kemudian dihomogenkan dengan stirrer diatas hot plate. Media dibagi kedalam botol perlakuan dan kemudian ditambahkan ZPT untuk masing-masing perlakuan kemudian di homogenkan. Setelah itu, pH media diukur dengan

indikator pH. Jika pH asam ditambahkan larutan NaOH dan jika basa ditambahkan larutan HCL. Media dipanaskan dan diaduk hingga mendidih. Media yang telah masak, dimasukkan ke dalam botol kultur. Kemudian ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet serta di beri label.

3.5.4. Sterilisasi Media

Media kultur yang telah dibuat, kemudian disterilkan dengan cara di masukkan *autoclaf* pada suhu 121 C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.5.5. Persiapan ruang tanam

Persiapan ruang tanam atau sterilisasi ruang tanam dilakukan sebelum inisiasi eksplan dalam LAF, dengan cara disemprot alkohol 70 % dan dibersihkan menggunakan *tissue*. Dilanjutkan dengan lampu UV selama 1 jam. Saat akan digunakan lampu UV dimatikan, lampu neon dan blower dinyalakan guna menghindari bakteri atau jamur yang akan masuk ke dalam botol kultur selama proses inisiasi. Setiap alat yang akan masuk kedalam LAF sebaiknya di semprot dengan alkohol 70 % termasuk kedua tangan dan baju yang akan dipakai dalam proses inisiasi.

3.6 Induksi Kalus

3.6.1 Sterilisasi Eksplan

Dicuci daun dengan detergen cair dan dibilas dengan air bersih lalu dilanjutkan dengan direndam fungisida selama 15 menit, lalu eksplan dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Kemudian dilanjutkan dengan direndam bakterisida selama 15 menit, lalu eksplan dibilas dengan air

mengalir sampai bersih. Selanjutnya sterilisasi dilanjutkan didalam LAF menggunakan alkohol 70 % selama 5 menit lalu dibilas dengan akuades steril. Kemudian direndam selama 5 menit dan dibilas dengan aquades steril. Selanjutnya eksplan direndam dalam larutan Clorox 30 % selama 5 menit dan dibilas dengan aquades steril. Sterilisasi terakhir menggunakan aquades steril sebanyak tiga kali masing-masing selama 3 menit. Setelah itu, Eksplan siap ditanam.

3.6.2 Tahap Induksi Kalus

Pada tahap ini menggunakan ZPT berupa 2,4-D dan BA. Disiapkan semua alat dan bahan yang digunakan dalam proses penanaman. Setelah itu dinyalakan bunsen. Disemprot pinset dengan alkohol 70 % atau di celupkan pada alkohol 98 %, kemudian dibakar diatas api bunsen. Dilakukan 2-3 kali guna memusnahkan spora jamur atau bakteri yang masih menempel pada pinset. Setelah itu, eksplan dipotong menggunakan scapell untuk daun bagian tulang daun dibuang. Daun dipotong dengan ukuran 1 cm x 1 cm dan dimasukkan ke dalam botol yang berisi media. Botol kultur yang sudah terisi eksplan ditutup dan diikat dengan plastik wrap. Botol kultur diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 20-25 C selama 30 hari dan dilakukan pengamatan hari munculnya kalus

3.6.3 Tahap Pemeliharaan

Pemeliharaan yaitu botol kultur diletakkan di ruang kultur yang bersuhu 20-15 °C. Eksplan yang terkontaminasi langsung dikeluarkan agar tidak menimbulkan kontaminasi pada eksplan lain. Dilakukan penyemprotan alkohol pada botol kultur setiap hari untuk mengurangi kontaminasi.

3.7. Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari sekali untuk melihat respon eksplan seperti hari munculnya kalus atau kontaminasi pada eksplan. Pengamatan terakhir dilakukan pada hari ke 30 setelah tanam atau 4 minggu penanaman. Penelitian ini menggunakan dua cara pengamatan. Pengamatan kualitatif meliputi pengamatan tekstur kalus dan warna kalus. Sedangkan pengamatan kuantitatif meliputi hari muncul kalus, persentase kalus dan berat kalus.

a. Hari muncul kalus(HST)

Pengamatan hari muncul kalus dilakukan setiap hari setelah inisiasi, hingga 30 hari. Hal ini dikarenakan untuk melihat terbentuknya kalus pertama kali pada setiap perlakuan.

b. Persentase eksplan berkalus

Pengamatan persentase tumbuh kalus terhadap eksplan dilakukan pada hari terakhir pengamatan, yakni pada hari ke-30. Dan dihitung dengan menggunakan kertas millimeter, dengan rumus :

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

c. Berat kalus

Pengamatan berat kalus dilakukan dengan cara menimbang eksplan yang membentuk kalus pada hari akhir pengamatan.

d. Warna kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan setiap hari setelah hari pertama muncul kalus hingga hari ke-30 dengan ketentuan kalus berwarna

e. Tekstur kalus

Pengamatan tekstur kalus dilakukan pada hari terakhir pengamatan, yakni pada hari ke-30 dengan ketentuan kalus berbentuk remah, kompak atau intermediet.

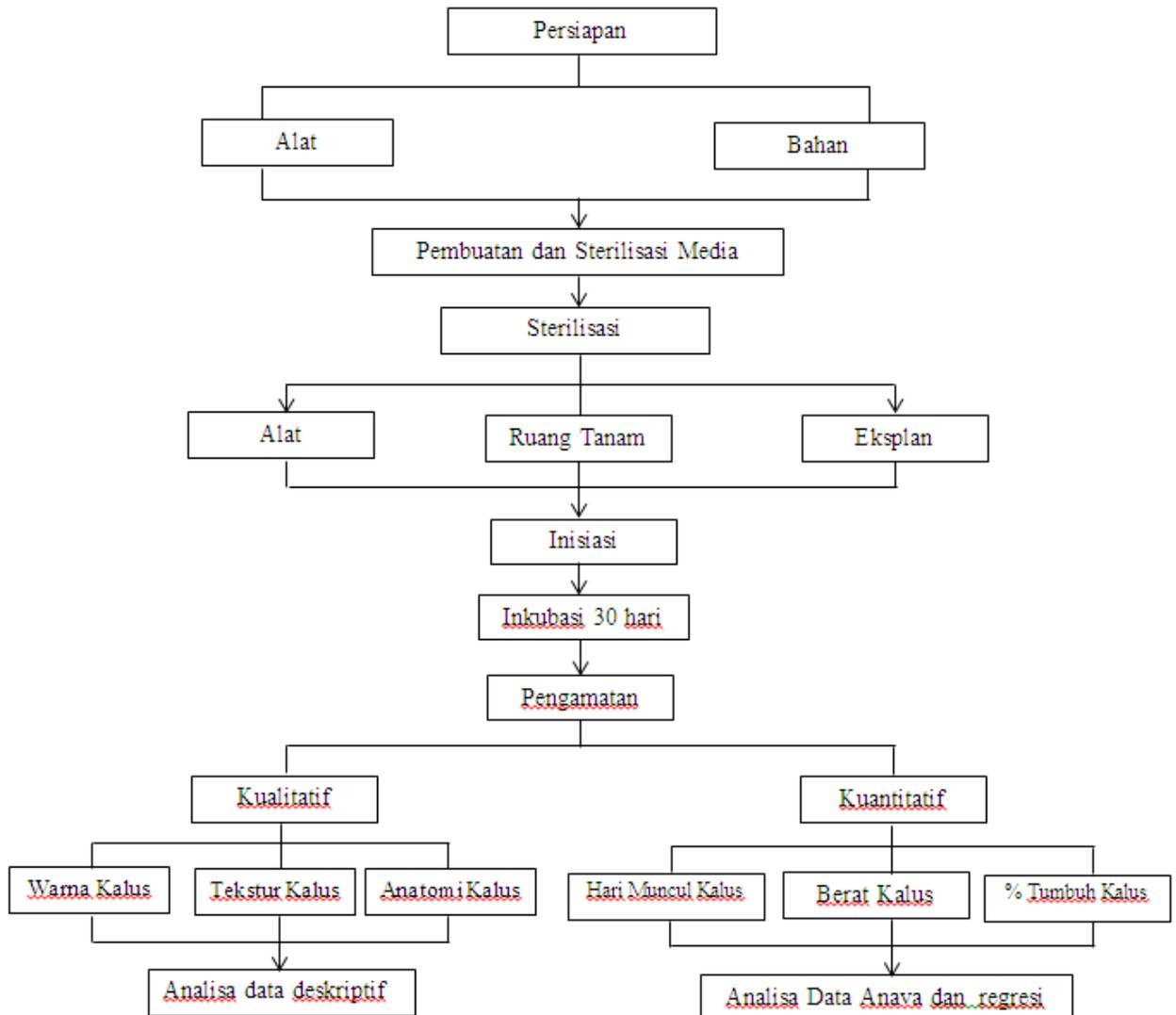
f. Anatomi kalus

Pengamatan anatomi kalus dilakukan untuk melihat kalus termasuk dalam ciri-ciri kalus metabolit. Pengamatan dilakukan dengan cara membuat preparat kalus dengan metode irisan tanpa pewarnaan pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Lalu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

3.8 Teknik Analisis Data

Data pengamatan berupa data kuantitatif. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan analisis *Analysis of Variance* (ANOVA) *one way* menggunakan SPSS 16,0. Apabila terdapat perbedaan nyata dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test*(DMRT) pada taraf 5 % untuk mengetahui kombinasi ZPT yang terbaik.

3.9 Desain Penelitian



Gambar 3.1 Skema Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Metabolit Sekunder Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

2,4-D adalah auksin kuat yang sering digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai eksplan tanaman (Lizawati, 2012). Berdasarkan hasil penelitian selama 30 hari setelah tanam, didapatkan data hasil analisis varian (ANAVA). Hasil analisis varian (ANAVA) menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D berpengaruh terhadap hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat kalus. Hal ini merupakan indikator pertumbuhan kalus dalam kultur in vitro.

Ringkasan hasil anava disajikan dalam tabel 4.1 sebagai berikut.

Tabel 4.1. Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANAVA) pengaruh pemberian 2,4-D

Variabel	F-hitung	F table 5%
Hari Muncul Kalus (HST)	144,492*	2,605975
Persentase Tumbuh Kalus pada Eksplan	973,2*	2,605975
Berat Basah Kalus	1577*	2,605975

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

Berdasarkan hasil ANAVA (tabel 4.1) menunjukkan bahwa nilai F hitung pada hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus, lebih besar dari F tabel 5 % yang artinya terdapat pengaruh nyata pada pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D terhadap semua variable tersebut. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) taraf 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 Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Konsentrasi 2,4-D (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%)	Berat Kalus (gr)
0	22,417c	15,833a	0,029a
0,5	15,5b	57,5c	0,208b
1	13,667a	74,833e	0,287e
1,5	13,583a	66,333d	0,265d
2	15,417b	53,75b	0,229c

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

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5 % pada hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian 2,4-D berbeda nyata pada masing-masing konsentrasi. Konsentrasi 2,4-D sebanyak 1 mg/L adalah konsentrasi yang dapat menginduksi kalus yaitu dalam 13 HST. Penelitian serupa yakni pada penelitian Aziz (2014) bahwa 2,4-D dengan konsentrasi 1 mg/l merupakan konsentrasi terbaik dalam menginduksi kalus illes-iles dengan rerata waktu induksi 13 HST. Sedangkan perlakuan tanpa 2,4-D (0 mgL) merupakan konsentasi paling lama dalam menginduksi kalus yaitu 22 hari. Maka, dengan demikian pada penelitian ini, tanpa pemberian auksin secara eksogen mampu menginduksi kalus. Hal ini diduga karena ada kandungan auksin endogen yang ada di dalam daun sehingga mampu menginduksi kalus tanpa ada penambahan auksin eksogen. Menurut Campbell *et al.* (2014) pada daun muda yang meristematik yang letaknya mendekati ujung batang mempunyai kadar auksin yang tinggi karena auksin banyak disintesis pada jaringan meristematik tunas apical dan daun-daun

muda. Zulkarnain dan Hadiyono (1997) menambahkan bahwa salah satu faktor penentu induksi kalus yaitu ada tidaknya kambium pada eksplan, bila eksplan mengandung kambium maka kalus dapat terbentuk.

Daun bidara upas awal pertumbuhan kalus ditandai dengan pembengkakan pada eksplan yang dilukai atau pada tulang daun. Menurut Yelnititis dan Komar (2010) Proses induksi kalus diawali dengan terjadinya penebalan pada bagian tulang daun dan daerah yang telah dilukai. Astutik (2007) menambahkan bahwa tanaman ketika dilukai akan terbentuk kalus yang diakibatkan karena sel mengalami kerusakan dan terjadi autolisis, sehingga sel-sel pada eksplan akan melakukan perbaikan pada sel yang rusak yang diawali dengan pembengkakan. Taiz dan Zieger (1998) menambahkan bahwa pembengkakan disebabkan adanya pengaruh tekanan turgor dan auksin. Tekanan turgor terjadi apabila sel menyerap molekul air sebagai respon akan meningkatnya konsentrasi zat terlarut yang terdapat pada vakuola, sehingga akan menyokong perluasan sel yang nantinya akan membentuk kalus. Auksin menyebabkan dinding sel mengendur dan merenggang, kemudian terjadi pembelahan sel dan pemanjangan yang nantinya akan membentuk kalus.

2,4-D berperan dalam pembelahan, pemanjangan, perkembangan sel, menaikkan tekanan osmotik dan meningkatkan permeabilitas sel terhadap air sehingga air dapat masuk ke dalam sel dengan meningkatkan volume sel (Kartikasari, 2013). 2,4-D mengaktifkan pompa proton pada dinding sel dan menginduksi sekresi ion H^+ keluar sel. Sekresi ion H^+ ini mengaktifkan enzim tertentu seperti selulase, hemiselulase dan pektinase yang berperan dalam

pemutusan beberapa ikatan hydrogen pada rantai molekul selulosa yang menyusun dinding sel, sehingga dinding sel menjadi melentur dan meregang, selain itu keluarnya ion H^+ menyebabkan dinding sel menjadi asam. Pengasaman dinding sel tersebut menyebabkan ion K^+ diambil dari dalam sel dan pengambilan ini membuat potensial air dalam sel berkurang. Sehingga air masuk ke dalam sel secara osmosis dan menyebabkan sel mengalami pembesaran (Salisbury dan Ross, (1995) dalam Fadhilah (2014)).

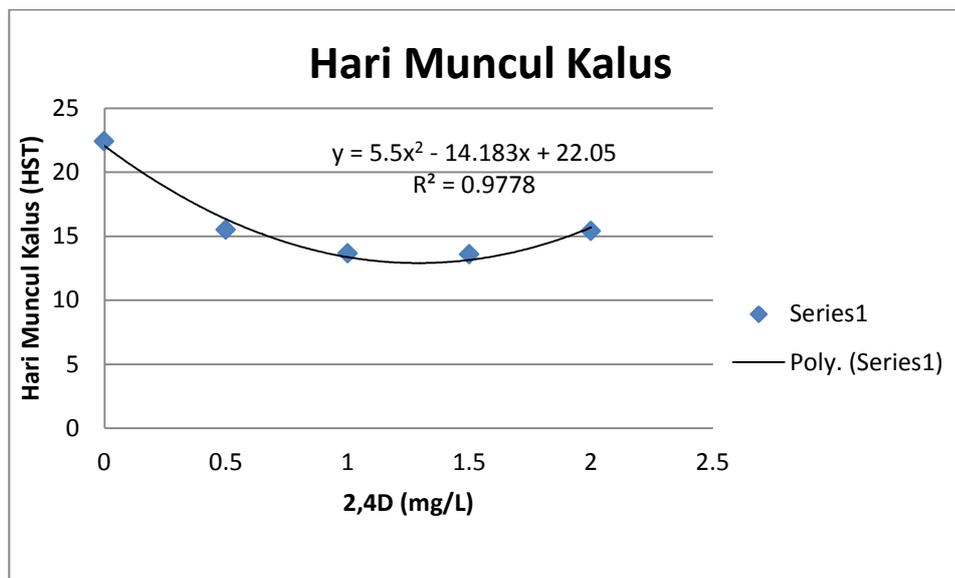
Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT 5 % pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D juga berpengaruh terhadap persentase tumbuh kalus pada eksplan. Perlakuan yang paling efektif adalah perlakuan 2,4-D 1 mg/l dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 74,8 %. Sedangkan persentase tumbuh kalus pada eksplan yang paling rendah dihasilkan oleh perlakuan 2,4-D 0 mg/l yakni 15,8 %. Menurut Zulkarnain dan Lizawati (2011) bahwa kebutuhan eksplan terhadap zat pengatur tumbuh 2,4-D untuk menginduksi kalus cukup rendah, sehingga pada konsentrasi 1 mg/l, sudah cukup untuk menginduksi kalus. Salisbury dan Ross (1995) menambahkan bahwa induksi akan meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sampai mencapai titik optimum.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5% pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D memberikan pengaruh terhadap berat kalus daun bidara upas. Perlakuan yang mempunyai berat kalus paling tinggi dan efektif adalah pada perlakuan 2,4-D 1 mg/l dengan hasil 0,287 gr. Sedangkan hasil paling rendah dihasilkan pada perlakuan tanpa 2,4-D yakni 0.029 gr. Penelitian yang dilakukan Fitrianti (2006)

pada eksplan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees.) memiliki hasil yang serupa yaitu didapatkan berat basah kalus pada pemberian konsentrasi 1 mg/l 2,4-D sebesar 0,31 gr.

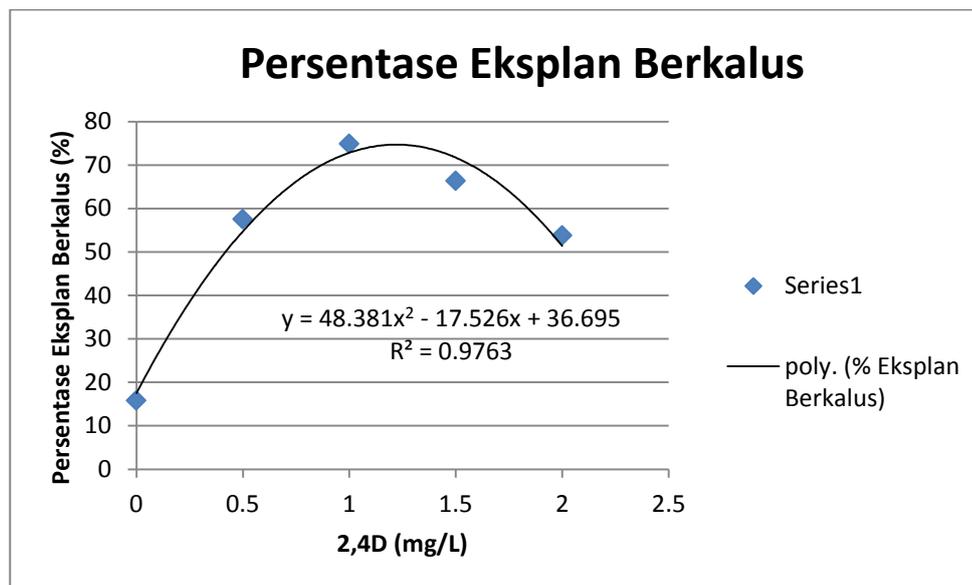
Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui banyak faktor yang mempengaruhi dalam persentase dan berat kalus. Menurut Mahadi *et al.*(2016) perbedaan dalam hasil pertumbuhan juga di pengaruhi oleh faktor genetis, jenis tumbuhan, lingkungan dan kemampuan jaringan dalam menyerap unsur hara dalam media kultur. Ardiana (2009) menambahkan bahwa media MS mengandung unsur hara makro dan mikro, zat besi dan sukrosa sehingga memacu pertumbuhan eksplan dalam pembentukan kalus.

Indah dan Ermavitalini (2013) Berat kalus yang besar disebabkan karena kandungan air yang tinggi. Indria *et al.*(2017) juga menambahkan berat basah yang dihasilkan tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus. Sitorus *et al.*(2011) menyatakan bahwa pembelahan sel yang optimal akan menyebabkan pertumbuhan kalus yang optimal dan akan meningkatkan berat basah kalus. Hubungan sebab-akibat antara konsentrasi 2,4-D dan uji variabel dapat diketahui dengan melakukan analisis korelasi pada masing-masing variabel. Hasil analisis regresi korelasi pada pemberian konsentrasi 2,4-D disajikan pada gambar 4.1; 4.2 dan 4.3



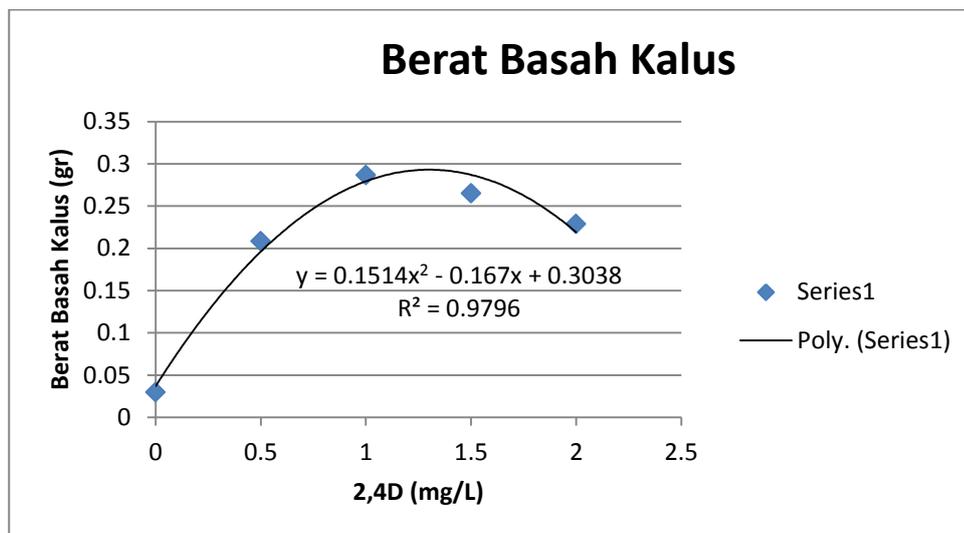
Gambar 4.1 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.1) didapatkan persamaan $y = 5,5x^2 - 14,18x + 22,05$ dengan nilai determinasi $R = 0,977$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi 2,4-D dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 97,7%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 5,5x^2 - 14,18x + 22,05$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (0,745 ; 14,53). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 0,745 mg/l akan mempercepat hari muncul kalus hingga mencapai 14 hari setelah inisiasi. Indah dan Ermavitalini (2013) Kombinasi antara hormon endogen dan eksogen dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus. Pemberian hormone eksogen yang kurang tepat dapat menghambat pertumbuhan kalus.



Gambar 4.2 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.2) didapatkan persamaan $y = 48.381x^2 - 17.526x + 36.695$ dengan nilai determinasi $R = 0,9763$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi 2,4-D dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 97,63%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 48.381x^2 - 17.526x + 36.695$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (1,05 ; 71,37). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 1,05 mg/l akan menghasilkan rata-rata persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 71,37%.



Gambar 4.3 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi 2,4-D (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.3) didapatkan persamaan $y = 0.1514x^2 - 0.167x + 0.3038$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0,9796$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 97,96%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 0.1514x^2 - 0.167x + 0.3038$ didapatkan perlakuan 2,4-D mencapai titik puncak pada koordinat (0,91 ; 0,277). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi 2,4-D sebesar 0,91 mg/l akan menghasilkan rata-rata berat basah kalus sebesar 0,277 gr.

Kurva pada hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat basah kalus menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka kurva menurun. Dalam penelitian ini, maka 2,4-D yang tinggi menurunkan hasil. Hal tersebut disebabkan 2,4-D mempunyai sifat herbisida pada konsentrasi tinggi. Menurut penelitian Siregar (2006) 2,4-D dapat berubah fungsi menjadi herbisida jika diberikan pada konsentrasi tinggi. Campbell (2014) auksin merangsang

pertumbuhan hanya dalam konsentrasi tertentu, berkisar 10^{-8} sampai 10^{-4} M. pada konsentrasi lebih tinggi auksin dapat menghambat pemanjangan sel, juga dapat menginduksi hormone etilen, yaitu jenis hormon yang umumnya menghambat pemanjangan sel.

4.2 Pengaruh Pemberian BA Terhadap Induksi Kalus Daun Bidara Upas

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh BA berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus, dan berat kalus daun bidara upas (Lampiran 2). Ringkasan hasil analisis varian disajikan pada tabel 4.3 sebagai berikut

Tabel 4.3. Ringkasan Hasil Analisis Varian (ANOVA) pengaruh pemberian BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Variabel	F-hitung	F table 5%
Hari Muncul Kalus (HST)	40,46*	2,838745
Persentase tumbuh kalus pada eksplan	602,613*	2,838745
Berat Basah Kalus	1461*	2,838745

Keterangan: *pemberian BA berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANOVA, menunjukkan bahwa hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus mempunyai nilai F hitung lebih besar daripada F tabel 5% maka dapat disimpulkan pemberian berbagai konsentrasi BA berpengaruh terhadap semua variabel tersebut. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%.

Tabel 4.4 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Konsentrasi BA (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase tumbuh kalus pada eksplan(%)	Berat Kalus (gr)
0	17,933b	36,333a	0,208b
0,5	14,33a	60,733c	0,239c
1	15a	72,2d	0,286d
1,5	17,2b	45,33b	0,081a

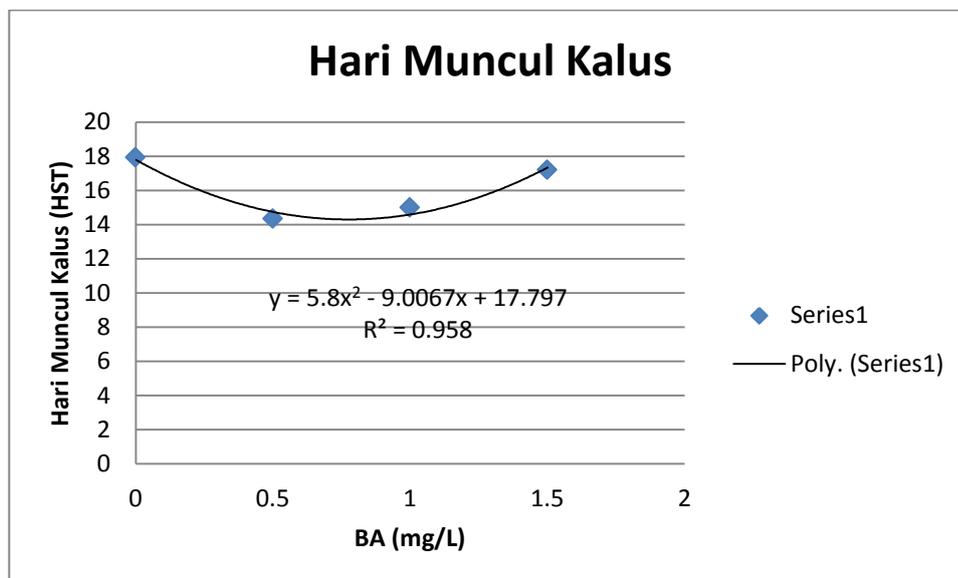
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil DMRT 5% yang tersaji dalam tabel 4.4 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian BA berbeda nyata terhadap masing-masing konsentrasi. Hasil terbaik dari konsentrasi BA sebanyak 1 mg/l mampu menginduksi kalus dalam 15 HST dibanding dengan konsentrasi lainnya. Hasil ini sesuai dengan Harahap (2005) bahwa BA 1 mg/l mampu menginduksi kalus paling cepat dibandingkan konsentrasi 0.5 mg/l yang baru menginduksi kalus pada 3 HST. Puteri (2014) penambahan BAP dengan konsentrasi 1 mg/L pada media MS mampu mempercepat induksi kalus daun *Annona muricata* L. yakni pada 7 HST. Penelitian Fithrotin (2017) juga menunjukkan hal yang sama yakni pada konsentrasi 1 mg/l BA dapat menginduksi kalus (*Angelica keiskei* Koidzumi) paling cepat yakni pada 16 HST.

Pemberian konsentrasi BA pada persentase pertumbuhan kalus dan berat kalus juga berpengaruh nyata. Dapat dilihat dari hasil pengamatan, bahwa persentase tumbuh kalus dan berat kalus tertinggi pada perlakuan 1 mg/l BA masing masing 72,2% dan 0.286 gr. Perlakuan terbaik pada penelitian ini yakni pada konsentrasi 2,4-D dan BA yang seimbang. Menurut Ikeuchi et al. (2013) penambahan auksin dan sitokinin dalam jumlah yang seimbang akan mendorong

pembentukan kalus. Dengan adanya penambahan yang 2,4-D dan BA yang tepat, maka eksplan akan diarahkan untuk membentuk kalus, hal ini karena 2,4-D dan BA dapat bekerja secara sinergis dalam dalam pembentukan kalus dan pertumbuhan kalus yang baik.

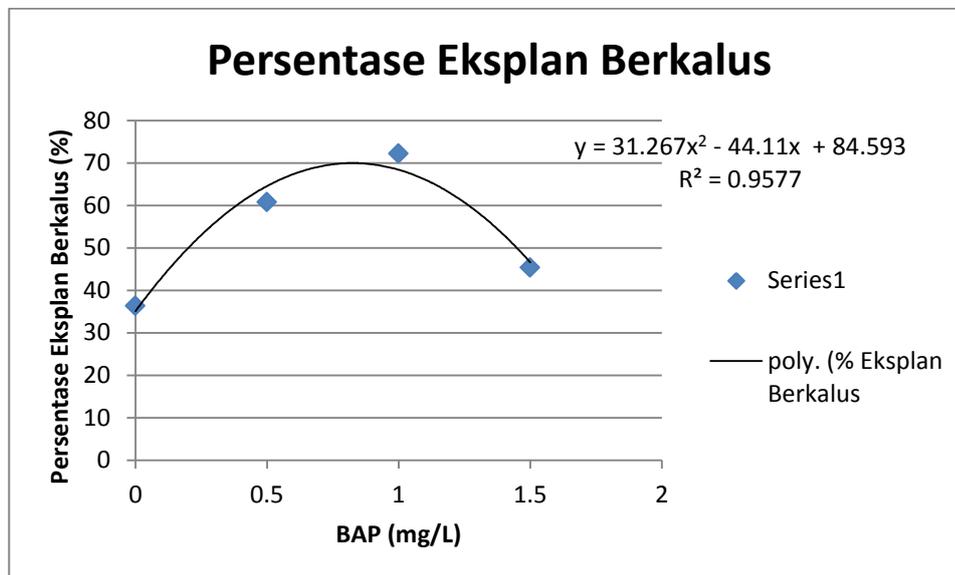
Hubungan sebab-akibat antara konsentrasi BA dengan variabel uji dapat diketahui dengan melakukan analisis regresi korelasi pada masing-masing variabel uji seperti hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus dan berat kalus. Hasil analisis regresi korelasi disajikan pada gambar 4.4; 4.5 dan 4.6



Gambar 4.4 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l).

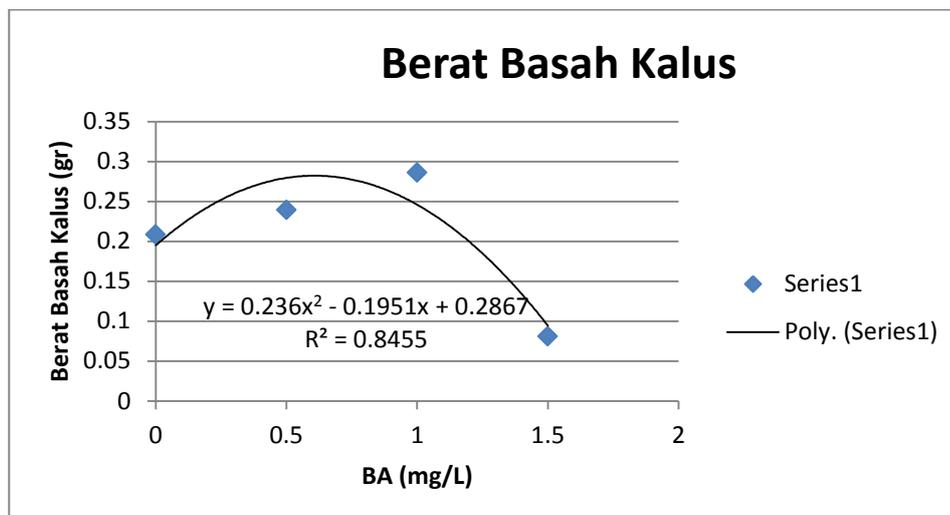
Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.4) didapatkan persamaan $y = 5,8x^2 - 9,006x + 17,79$ dengan nilai determinasi $R = 0,958$ yang artinya pengaruh pemberian konsentrasi BA dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 95,8%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 5,8x^2 - 9,006x + 17,79$ didapat titik puncak pada koordinat (0,98 ; 14,55) yang menunjukkan bahwa pemberian

konsentrasi BA sebesar 0,98 mg/l akan mempercepat rata-rata hari muncul kalus hingga mencapai 14 hari.



Gambar 4.5 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.5) didapatkan persamaan $y = 31.267x^2 - 44.11x + 84.593$ dengan nilai determinasi $R = 0,9577$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BA dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 95,77%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 31.267x^2 - 44.11x + 84.593$ didapat titik puncak pada koordinat (0,96 ; 72,28) yang menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BA sebesar 0,96 mg/l akan menghasilkan rata-rata persentase kalus pada eksplan sebesar 72,28%.



Gambar 4.6 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai konsentrasi BA (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.6) didapatkan persamaan $y = 0.236x^2 - 0.1951x + 0.2867$ dengan nilai determinasi $R^2 = 0.8455$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi BA dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 84,55%. Prediksi konsentrasi optimum ditentukan dengan persamaan $y = 0.236x^2 - 0.1951x + 0.2867$ didapat titik puncak pada koordinat (0,73 ; 0,273) yang menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BA sebesar 0,73 mg/l akan menghasilkan berat kalus sebesar 0,273gr.

Dari hasil analisis pada ketiga variabel dapat diketahui bahwa pertumbuhan kalus mengalami peningkatan dengan konsentrasi BA yang semakin tinggi (0-1 mg/l) dan mengalami penurunan pada konsentrasi 1.5 mg/l BA. Hal ini dikarenakan pertumbuhan kalus telah optimum pada kisaran konsentrasi 1 mg/l BA. Sehingga penambahan konsentrasi BA 1,5 mg/l tidak memberikan pengaruh baik pada induksi kalus. Hasil yang serupa didapatkan pada penelitian Ardian, *et al.* (2011) bahwa pada pertumbuhan tunas ubi kayu dimana perlakuan 0,2 mg/l BA diperoleh hasil yang lebih baik pada perlakuan 0,8 mg/l BA. Hal serupa juga

didapatkan pada penelitian Sukamto (2011) bahwa pertumbuhan kalus cendana pada konsentrasi 1 mg/l BA memperoleh persentase kalus 30,77 % lebih baik dari pada konsentrasi 2 mg/l BA memperoleh persentase kalus 17,65 %.

BA merupakan zat pengatur tumbuh yang termasuk dalam hormon sitokinin. Menurut Campbell (2014) sitokinin berfungsi untuk mengatur pembelahan sel pada tunas dan akar. Sitokinin bekerja secara bersamaan dengan auksin untuk mempengaruhi pembelahan sel dan diferensiasi sel. Sitokinin tidak dapat bekerja sendiri. Dalam mengontrol deferensiasi sel terdapat rasio antara sitokinin dan auksin. Rasio pemberian auksin dan sitokinin tertentu akan menumbuhkan massa sel dan membentuk gugusan sel yang tidak terdiferensiasi yang disebut dengan kalus.

4.3 Pengaruh Interaksi Konsentrasi 2,4-D dan BA Terhadap Induksi Kalus Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi kalus daun bidara upas(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 BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Variabel	F-hitung	F table 5%
Hari Muncul Kalus (HST)	21,583*	2,003459
Persentase tumbuh kalus pada eksplan	40,109*	2,003459
Berat Basah Kalus	120,906*	2,003459

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

Berdasarkan hasil ANAVA, menunjukkan bahwa hari muncul kalus, persentase tumbuh kalus pada eksplan dan berat basah kalus mempunyai nilai F hitung lebih besar daripada F tabel 5%. Hal ini mempunyai arti bahwa interaksi konsentrasi antara 2,4-D dan BA berpengaruh nyata terhadap variabel pertumbuhan kalus. Maka perlu dilakukan uji lanjut dengan uji DMRT 5%.

Tabel 4.6 Ringkasan hasil uji DMRT 5% pengaruh pemberian kombinasi 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.)

Perlakuan (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HST)	Persentase tumbuh kalus pada eksplan (%)	Berat Kalus (gr)
D0B0 (0 2.4-D + 0 BA)	31k	0a	0a
D0B1 (0 2.4-D + 0,5 BA)	19,667j	26,667d	0,057c
D0B2 (0 2.4-D + 1 BA)	19ij	21,667c	0,027b
D0B3 (0 2.4-D + 1,5 BA)	20j	15b	0,033b
D1B0 (0,5 2.4-D + 0 BA)	15,667efg	50fg	0,228ef
D1B1 (0,5 2.4-D + 0,5 BA)	12a	66,667h	0,232ef
D1B2 (0,5 2.4-D + 1 BA)	17fgh	80j	0,318i
D1B3 (0,5 2.4-D + 1,5 BA)	17,333ghi	33,333e	0,056c
D2B0 (1 2.4-D + 0 BA)	14,667bcde	50fg	0,299h
D2B1 (1 2.4-D + 0,5 BA)	12,333a	81,667jk	0,361k
D2B2 (1 2.4-D + 1 BA)	12,333a	92,667l	0,387l
D2B3 (1 2.4-D + 1,5 BA)	15,333def	75i	0,1d
D3B0 (1,5 2.4-D + 0 BA)	13ab	48,333f	0,279g
D3B1 (1,5 2.4-D + 0,5 BA)	13,333abc	78,667ij	0,328i
D3B2 (1,5 2.4-D + 1 BA)	13ab	85k	0,353jk
D3B3 (1,5 2.4-D + 1,5 BA)	15cde	53,333g	0,1d
D4B0 (2 2.4-D + 0 BA)	15,333def	33,333e	0,237f
D4B1 (2 2.4-D + 0,5 BA)	14,333bcde	50fg	0,219e
D4B2 (2 2.4-D + 1 BA)	13,667abcd	81,667jk	0,345j
D4B3 (2 2.4-D + 1,5 BA)	18,333hij	50fg	0,115d

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

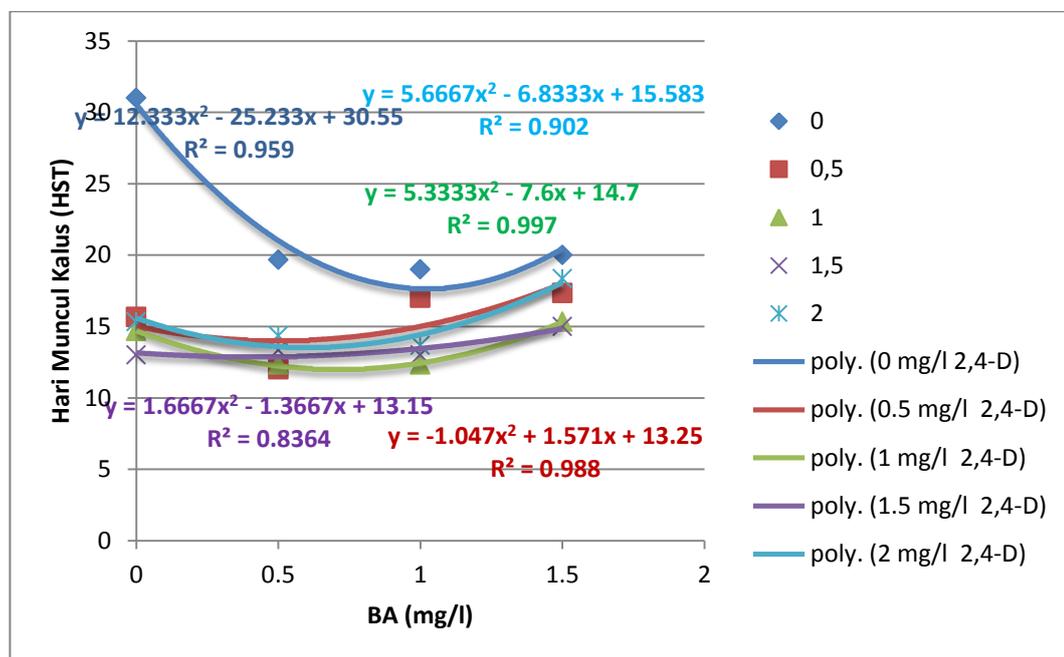
Hasil uji lanjut DMRT 5% pada hari muncul kalus menunjukkan bahwa perlakuan pemberian kombinasi 2,4-D dan BA berbeda nyata terhadap hari muncul kalus. Perlakuan kombinasi 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA merupakan konsentrasi yang mampu menginduksi kalus daun bidara upas pada 12 HST, meski hasilnya tidak berbeda nyata dengan dengan perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA dan 0.5 mg/l 2,4-D dan 0.5 mg/l BA karena memiliki notasi yang sama pada uji lanjut DMRT 5 %. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Fithrotin (2017) bahwa pada daun ashitaba pada perlakuan D3B3 (1 mg/l 2,4-D + 0.75 mg/l BA) yang menghasilkan induksi kalus pada hari ke-12 HST.

Kombinasi 2,4-D dan BA juga berpengaruh pada variable 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 + 1 mg/l BA menghasilkan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 92,66 % dengan berat basah 0.387 gr. Penelitian Qudriyyah (2018) yang menggunakan eksplan daun ciplukan dengan konsentrasi 0 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP memiliki persentase 100 % dan pada konsentrasi 1,5 2,4-D + 0 mg/l BAP mempunyai berat kalus 0,4180 gr.

Ketiga variabel di atas menghasilkan hasil tinggi pada perlakuan kombinasi 2,4-D dan BA yang seimbang. Hal ini juga diduga konsentrasi auksin dan sitokinin endogen yang seimbang sehingga didapatkan hasil 2,4-D dan BA seimbang. Menurut Fitrianti (2006) perbandingan auksin dan sitokinin yang seimbang pada eksplan dapat menghasilkan pertumbuhan kalus. Menurut George (1993) pembentukan kalus pada beberapa tanaman, khususnya monokotil,

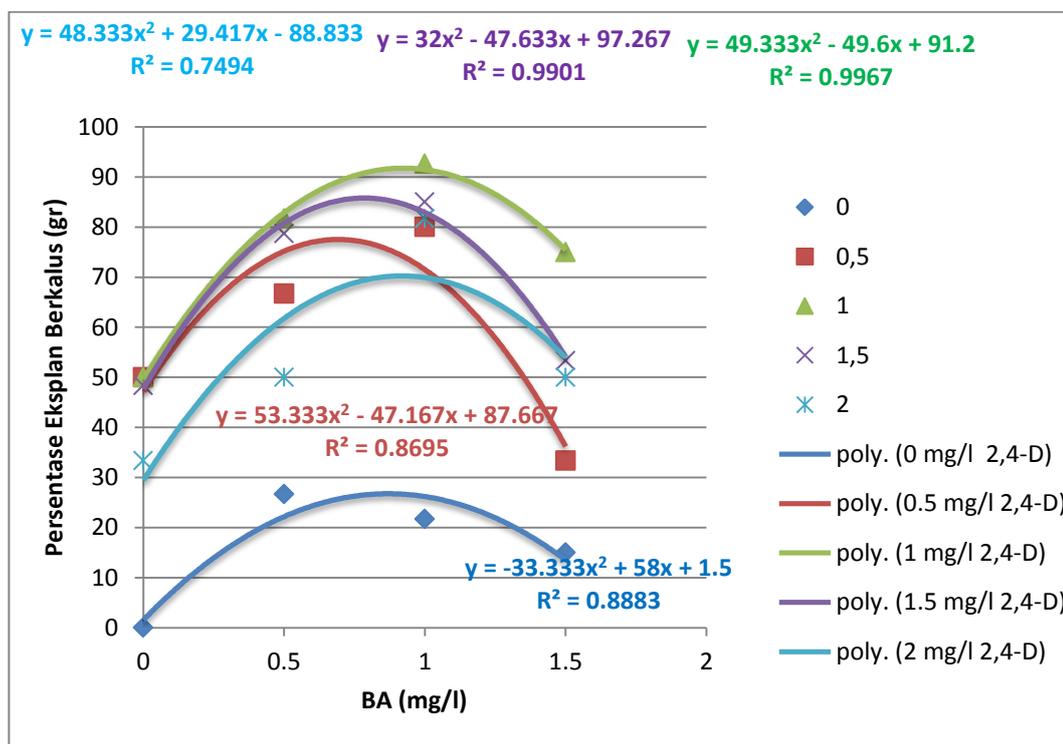
penambahan sitokinin eksogen dibutuhkan dalam konsentrasi yang sangat rendah (0 – 0,1 mg/l). Narayanaswamy (1994) Setiap eksplan yang berasal dari organ dan spesies yang berbeda akan membutuhkan zat pengatur tumbuh yang berbeda pula. Ariati (2012) menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh.

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



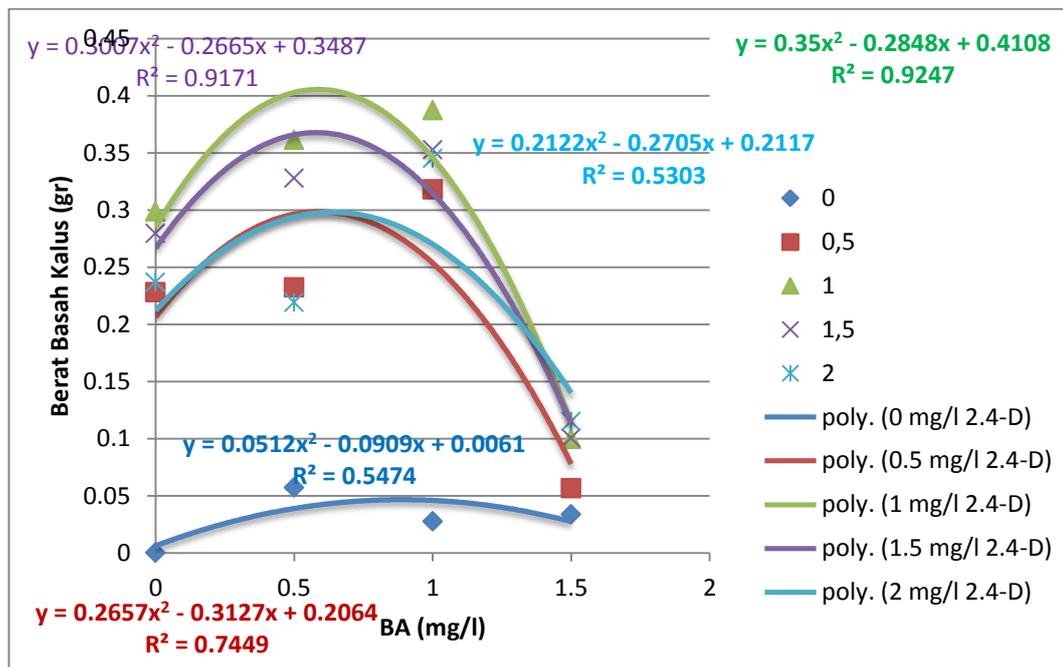
Gambar 4.7 Kurva regresi hari muncul kalus (HST) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA (mg/l)

Berdasarkan hasil analisis regresi untuk variabel hari muncul kalus (gambar 4.7) pada kombinasi 2,4-D dan BA mengikuti pola garis kuadratik dengan persamaan $y = 5,333x^2 - 7,6x + 14,7$ dengan nilai determinasi $R = 0,997$ yang artinya hubungan antara pemberian kombinasi 2,4-D dan BA dengan hari muncul kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 99,7%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = 5,333x^2 - 7,6x + 14,7$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BA mencapai titik puncak pada koordinat (0,97 ; 12,33). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 1 mg/l dan BA 0,97 mg/l akan mempercepat rata-rata hari muncul kalus hingga mencapai 12 hari setelah inisiasi.



Gambar 4.8 Kurva regresi persentase tumbuh kalus pada eksplan (%) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk pengaruh kombinasi 2,4-D dan BA terhadap variabel persentase tumbuh kalus pada eksplan (gambar 4.8) mengikuti persamaan $y = 49.333x^2 - 49.6x + 91.2$ dengan nilai determinasi $R = 0,9967$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi 2,4-D dan BA dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 99,67%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = 49.333x^2 - 49.6x + 91.2$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BA mencapai titik puncak pada koordinat (0,92 ; 87,83). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 1 mg/l dan BA 0,92 mg/l akan menghasilkan rata-rata persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 87,83%.



Gambar 4.9 Kurva regresi berat basah kalus (gr) daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BA (mg/l)

Hasil analisis regresi untuk variabel berat basah kalus (gambar 4.9) pada kombinasi 2,4-D dan BA mengikuti persamaan $y = 0.35x^2 - 0.2848x + 0.4108$

dengan nilai determinasi $R = 0,9247$ yang artinya hubungan antara pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D dan BA dengan berat basah kalus mempunyai tingkat kepercayaan sebesar 92,47%. Prediksi konsentrasi optimum dengan persamaan $y = 0.35x^2 - 0.2848x + 0.4108$ didapatkan perlakuan kombinasi 2,4-D dan BA mencapai titik puncak pada koordinat (0,72 ; 0,317). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi kombinasi 2,4-D 1 mg/l dan BA 0,72 mg/l akan menghasilkan rata-rata berat basah kalus sebesar 0,317 gr.

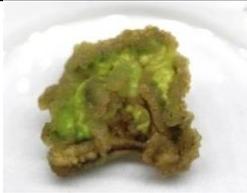
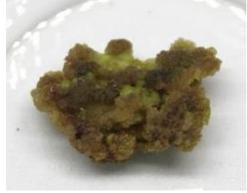
4.4 Pengaruh Pemberian Kombinasi 2,4-D dan BA Terhadap Morfologi dan Anatomi Induksi Kalus Bidara Upas

4.4.1 Morfologi Kalus

Morfologi kalus adalah penampakan fisik yang dijadikan indikator perkembangan eksplan yang meliputi warna kalus dan tekstur kalus. Warna kalus dijadikan salah satu indikator dalam menentukan kalus termasuk dalam kalus metabolit atau embriogenik karena warna kalus berbeda-beda dan di pengaruhi oleh laju pertumbuhan dan media. Pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan BA terhadap morfologi daun bidara upas yang di induksi selama 30 hari disajikan dalam tabel 4.7. sebagai berikut:

Tabel 4.7. Hasil Pengamatan Warna dan Tekstur Kalus Daun Bidara Upas pada hari ke 30 setelah inisiasi

Perlakuan (mg/l)	Warna	Tekstur
 0 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA	-	-

 0 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA	Coklat	Kompak
 0 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA	Kehijauan	Kompak
 0 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA	Kehijauan	Kompak
 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA	Coklat kehitaman	Kompak
 0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak

 1 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA	Putih kehijauan	Kompak
 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 1 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 1,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 1,5 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak
 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA	Kuning kecoklatan	Kompak

 <p>1,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA</p>	Coklat	Kompak
 <p>2 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA</p>	Kuning kecoklatan	Kompak
 <p>2 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA</p>	Putih kekuningan	Kompak
 <p>2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA</p>	Putih kecoklatan	Kompak
 <p>2 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA</p>	Putih kekuningan	Kompak

Berdasarkan pengamatan warna kalus didapatkan hasil warna putih kekuningan, putih kehijauan, putih kecoklatan, kuning kecoklatan dan coklat kehitaman dengan tekstur kompak. Kalus yang berwarna kecoklatan juga dapat dikatakan efektif karena pada kalus metabolit warna kecoklatan dan tekstur kompak merupakan suatu indikator. Perlakuan dengan 2,4-D 0.5 mg/l, 1 mg/l, dan 1,5 mg/l yang dikombinasikan dengan BA konsentrasi 0 mg/l, 0.5 mg/l, dan 1mg/l cenderung menghasilkan warna kuning kecoklatan dan bertekstur kompak.

Hal ini seperti pernyataan Fadhilah (2014) Konsentrasi auksin yang semakin tinggi dan sitokinin yang rendah menyebabkan kalus mengalami reduksi klorofil dan warna menjadi lebih kuning atau kecoklatan.

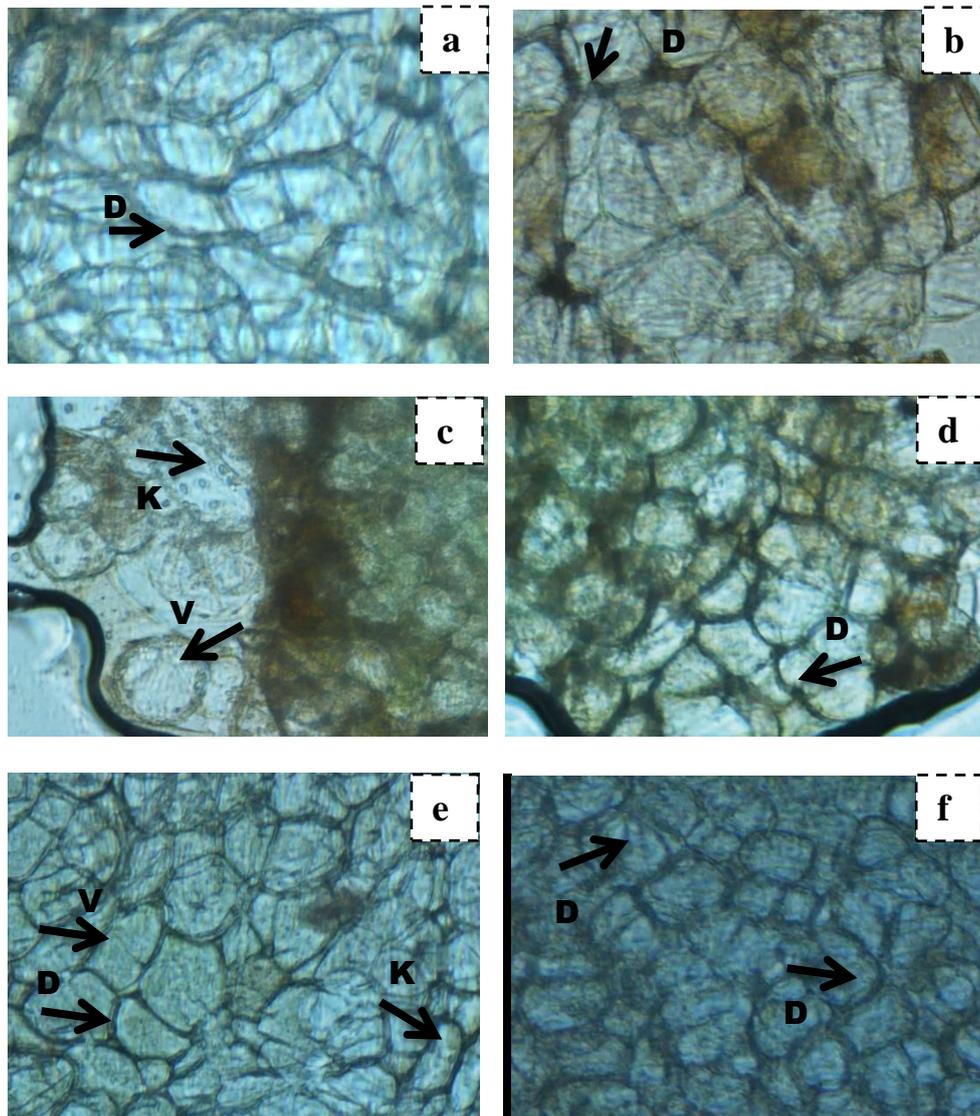
Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Jaringan yang di hasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda (Lutviana, 2012). Perbedaan warna kalus dapat disebabkan beberapa hal diantaranya yaitu pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Pada konsentrasi 2,4-D 0 mg/l kalus cenderung berwarna kehijauan. Menurut 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. Menurut indah (2013) tekstur kalus kompak merupakan kalus yang baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak.

4.4.2 Anatomi Kalus

Struktur kalus yang didapat melalui pengamatan morfologi, diamati kembali secara anatomi untuk mendukung adanya kalus metabolit. Pengamatan dilakukan

dengan perbesaran 400x dengan mikroskop inverted. Pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan BA terhadap anatomi kalus daun bidara tersaji di table 4.8



Gambar 4.10 Histologi kalus daun bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.) pada perbesaran 400x. (a) perlakuan 0,5 mg/l 2,4-D + 0 mg/l BA. (b) 0 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA. (c) 0 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA. (d) 1 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BA. (e) 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA. (f) 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA. Semua kalus kompak. K = klorofil, D = dinding sel, V = Vakuola

Pengamatan anatomi mikroskop kalus dengan perbesaran 400x, terlihat dinding sel rapat, klorofil dan vakuola. Vakuola ini lah tempat disimpnnya metabolit sekunder seperti flavonoid. Menurut Salisbury (1995) bahwa Sebagian besar flavonoid terhimpun di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. Dinding sel yang rapat dan tidak ditemukan inti sel, maka dapat dikatakan kalus tersebut termasuk dalam kalus metabolit. Menurut Manuhara (2001) kalus kompak yaitu kalus yang tersusun atas sel-sel berbentuk nodular dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air. Street (1993) menambahkan susunan sel pada kalus kompak memiliki sel yang rapat, padat sehingga sulit untuk dipisahkan. Kemudian ukuran vakuola relative lebih besar, mempunyai dinding polisakarida yang lebih besar dalam sel selnya. Ukuran vakuola yang besar ini memungkinkan untuk kalus dapat menyimpan air di dalam sel, sehingga kandungan air pada kalus relative tinggi dan berat basah pada kalus akan naik.

Gambar tersebut merupakan hasil mikroskop yang diambil dengan perbesaran 400x pada beberapa perlakuan. Gambar mikroskop diatas membuktikan bahwa pada kalus bidara upas ini termasuk dalam golongan kalus kompak. Pada pengamatan diatas pada konsentrasi 0 2,4-D terlihat klorofil yang berada di dalam kloroplas, akan tetapi semakin tinggi konsentrasi 2,4-D mengakibatkan klorofil mengalami penurunan. Menurut Rahayu (2003) bahwasanya semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang ditambahkan dalam media, maka akan mempengaruhi penurunan kandungan klorofil dan karoten.

Hasil pengamatan histologi Alcantara *et al.*, (2014) melaporkan bahwa kalus tebu non-embriogenik (NE) yang memiliki ciri ukuran sel besar dan rapat antar sel, dengan nukleous yang tidak tampak, kompak, dan tidak transparan. Hasil pengamatan histologi Mostafiz and Alina (2018) kalus non embriogenik selnya terlihat longgar, berair dan berwarna kekuningan sampai kecoklatan. Kalus non embriogenik kurang mampu untuk regenerasi. Kalus non embriogenik mempunyai vakuola besar dan luas serta butir pati yang kecil. Menurut Jafari (2015) sebagai perbandingan, kalus embriogenik mempunyai struktur globular dan mempunyai inti yang besar dan terlihat di mikroskop sedang kalus non-embriogenik mempunyai struktur sel yang rapat dan ukuran yang beragam serta terdapat vakuola lebih besar.

4.5 Hasil Penelitian Dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala macam yang ada di bumi dan di langit. Dia menumbuhkan berbagai macam hewan dan tumbuhan yang ada di bumi dengan kekuasaan-Nya baik berasal dari dari sesuatu yang hidup maupun yang tak hidup, akan tetapi dari setiap ciptaan-Nya dibutuhkan suatu proses pembentukan atau induksi. Hal ini secara implisit berkaitan dengan firman Allah SWT dalam surat Lukman ayat 10 sebagai berikut :

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya : “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya

segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”(Lukman;10)

Menurut tafsir Ibnu Katsir Allah SWT menjelaskan tentang kekuasaan-Nya yang agung dalam menciptakan langit dan bumi serta segala isinya. Allah SWT taala berfirman *خلق السماوات بغير عمد* ”Dia menciptakan langit tanpa tiang” Al Hasan dan Qatadah berkata ”Dia tidak memiliki tiang, baik yang terlihat maupun yang tidak terlihat.” *وَألقى الأرض في رواسي* “Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan bumi),” yaitu gunung-gunung menancap ke dalam bumi dan memberatkan agar bumi tidak menggoncangkan penghuninya diatas permukaan air. Untuk itu Dia berfirman *أن تميد بكم* ”supaya bumi itu tidak menggoyangkanmu.”

Dan firman-Nya *وبث فيها من كل دابة* ”segala macam jenis binatang,” yaitu Dia menciptakan di atas bumi berbagai jenis hewan yang tidak diketahui jumlah, bentuk dan warnanya kecuali yang menciptakannya. Ketika Allah SWT telah menetapkan bahwa Dia adalah Maha pencipta, maka Dia pun mengingatkan bahwa Dia adalah Maha pemberi rizki dengan firman-Nya *فيها من كل زوج كريم* *”Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu kamu tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik,”* yaitu segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik, baik untuk di manfaatkan.

Berdasarkan ayat di atas, salah satu jenis tumbuhan yang baik dan bermanfaat adalah tumbuhan bidara upas. Dalam hal ini adalah sebagai tumbuhan yang digunakan untuk obat-obatan. Menurut Aniq *et al.*(2014) berdasarkan hasil telaah fitokimia ekstrak daun bidara upas mengandung senyawa flavonoid, kuinon, senyawa fenolat, terpenoid, dan steroid. Kurniasih (2014) melaporkan

bahwa bidara upas memiliki kandungan flavonoid yang dapat menghambat proses inflamasi sehingga dapat dijadikan obat antiinflamasi.

Dalam proses pertumbuhan dan perkembangannya, tumbuhan juga memerlukan media tanam. Media tanam yang diperlukan harus mengandung unsur hara sehingga tumbuhan tersebut dapat tumbuh dengan optimal. Media tanam banyak sekali macamnya namun dalam penelitian ini menggunakan media MS. Media Murashige dan skoog (MS) adalah yang paling banyak digunakan oleh peneliti untuk tanaman apa saja karena mempunyai komposisi unsur hara yang umum (Hendaryono dan Wijayanti, 1994). Hal ini secara implisit berkaitan dengan firman Allah SWT dalam surat al-a'raf ayat 58 sebagai berikut :

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

Artinya :*“Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah SWT; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur.”(al a'raf: 58)*

Ayat diatas menunjukkan bahwa media tanam yang baik akan menghasilkan tumbuhan yang baik pula dengan perkembangan yang optimum. Media tanam yang baik mengandung unsur hara makro dan mikro yang memenuhi kebutuhan tumbuhan di alam. Sebagaimana menurut Campbell (2014) tanah yang mengandung banyak nutrisi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. Tanaman dalam menyelesaikan siklus hidupnya membutuhkan unsur esensial. Unsur esensial yang dibutuhkan oleh tumbuhan adalah mikro nutrien(diantaranya adalah karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, sulfur, dan fosfor)

dan makronutrien(diantaranya adalah klorin, besi, mangan, boron, seng, tembaga, nikel, dan molibdenum).

Menurut Al Harits (2008) pada tanah yang baik, hujan dapat membuat tanah itu bermanfaat sehingga menumbuhkan tanaman. Sedang tanah yang tidak baik, hujan tidak dapat membuatnya bermanfaat sehingga hanya menumbuhkan sesuatu yang tidak bermanfaat. Menurut Al Jazairi (2007) "*Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah SWT...*" yaitu setelah Allah SWT menurunkan air padannya. Sedangkan "*Dan tanah yang tidak subur...*" yaitu tanah yang buruk dan berkerikil. Ketika hujan turun tanaman-tanamannya hanya tumbuh tidak terawat, merana, tidak subur, susah, dan tidak bagus. Berdasarkan kedua tafsir di atas, tanah di analogikan dalam penelitian ini sebagai media MS yang digunakan untuk media kultur jaringan.

Selain media, zat pengatur tumbuh juga mempunyai peran penting dalam proses kultur jaringan. Media tanpa zat pengatur tumbuh akan menghasilkan pertumbuhan lebih lambat daripada media yang diberi zat pengatur tumbuh. Auksin yang digunakan adalah 2,4-D sedangkan sitokinin yang digunakan adalah BA. Suryowinoto (1996) dalam Arianti (2015) menyatakan bahwa untuk mendapatkan kalus, perlu adanya keseimbangan antara sitokinin dan auksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar zat pengatur tumbuh yang optimum dalam menginduksi kalus daun bidara upas. Sebagaimana Allah SWT SWT menciptakan segala sesuatu dengan aturan yang pasti dan dengan ukuran tertentu, seperti dalam firman-Nya surat Al Qamar ayat 49 yang berbunyi :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿١١﴾

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

Menurut As-Suyuthi (2010), dalam kitab tafsir Jalalain kalimat *خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ* “Kami menciptakannya menurut ukuran”, yakni sesuai dengan taqdir. Al-Sheikh (1994), dalam kitab tafsir Ibnu Katsir menjelaskan Dia (Allah SWT) menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk kepada ketetapan tersebut.

Kata *قَدَرٍ* bermakna ketentuan, dari segi bahasa kata tersebut bermakna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat di atas membicarakan bahwa segala sesuatu termasuk ketentuan dan sistem yang ditetapkan adalah kekuasaan dari Allah SWT dan tidak hanya terbatas pada salah satu aspek saja. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk memberi potensi yang sesuai dan dengan kadar yang cukup untuk melakukan fungsinya yang bertujuan untuk mempertahankan satu keseimbangan (Shihab, 2003). Allah SWT 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 SWT (Muyasar, 2007). Seperti halnya dalam penelitian ini yang diketahui konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimum untuk 2,4-D dan BA. Konsentrasi optimum dalam penelitian ini yakni 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l BA. Lebih lanjut dari penelitian ini tidak hanya sebagai penambah hasanah ilmu pengetahuan namun juga sebagai sarana untuk menambah keimanan dan ketakwaan kepada Allah SWT. Dimana segala sesuatu di dunia ini berjalan sesuai dengan kehendakNya dan kekuasaanNya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BA terhadap induksi kalus bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.), dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian konsentrasi 1 mg/l 2,4-D berpengaruh nyata terhadap induksi kalus daun bidara upas yaitu 13 HST dan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 74,83 % dengan berat kalus sebesar 0,287 gr.
2. Pemberian konsentrasi 1 mg/l BA berpengaruh nyata terhadap induksi kalus daun bidara upas yaitu 15 HST dan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 72,2 % dengan berat kalus sebesar 0,286 gr.
3. Kombinasi 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l BA berpengaruh nyata terhadap induksi kalus daun bidara upas yaitu 12 HST dengan persentase tumbuh kalus pada eksplan sebesar 92,66 % dan berat kalus sebesar 0,387 gr.
4. Morfologi kalus memiliki tekstur kalus kompak dan berwarna putih kekuningan, putih kehijauan, putih kecoklatan, kuning kecoklatan dan coklat kehitaman. Secara anatomi kalus terlihat dinding sel yang rapat terlihat kloroplas dalam vakuola.

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. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh BA tidak terlalu tinggi (<1 mg/l)
3. Pada pengamatan histologi, sangat di sarankan untuk melakukan pewarnaan pada preparat agar bagian yang diamati dapat terlihat jelas.
4. Induksi kalus pada konsentrasi 1 mg/l 2,4-D dan 1 mg/l BA dapat digunakan untuk produksi metabolit sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 1994. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Adha, A.C. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill.) Terhadap Aktivitas Diuretik Tikus Putih Jantan SpragueDawley*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Agil, M., Purwitasari, N., Sugianto, N.E., dan Widyowati, R. 2010. *Uji Daya Hambat Mycobacterium tuberculosis dari Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa Hall)*. Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Alcantara. G.B, Dibax. 2014. Regeneration and Histological Study of The Somatic Embryogenesis Of Sugarcane (*Saccharum Spp.*). *Acta Sci. Agron.* 36(1): 63-72.
- Al-Jazairi, S. 2007. *Aisar At Tafaasir Li Al-Kalaami Al- Aliyyi Al-Kabir*. Terjemahan Nafi Zainuddin dan Suratman. Jakarta: Darus Sunah.
- Al-Qurtubhi, Syaikh Imam. 2000. *Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Al-Sheikh, A. diterjemah oleh Ghoffar, M.1994.*Tafsir Ibnu Katsir Jilid 7*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal.
- Aniq, L., Yuliawati, K.M., dan Sadiyah, E.R. 2014. Telaah Fitokimia Daun Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier f.). Bandung : Universitas Islam Bandung.
- Anjar. 2008. *Masalah-masalah dalam kultur jaringan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ardiana, D.W. 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
- Arlianti, Tias dan Syahid, S.F. 2015 Perbanyak Benih Tanaman Obat Bidara Upas (*Merremia mammosa*). Prosiding Seminar Perbenihan Tanaman Rempah dan Obat
- 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

- Arlianti, Tias dan Syahid, S.F. 2015 Perbanyak Benih Tanaman Obat Bidara Upas (*Merremia mammosa*). Prosiding Seminar Perbenihan Tanaman Rempah dan Obat
- As-Suyuthi, Jalaluddin. 2010. *Tafsir Jalalain. Terj. Bahrin Abu Bakar*. Jakarta : Sinar Baru Algensindo.
- Astuti dan Andayani. 2007. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum morifolium*, Ram.) . *Jurnal Kultur Jaringan Biota*, X(3): 31-35
- Aziz, Mochammad Masruri. 2014. Induksi Kalus Umbi Iles-iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi 2,4-D dan BAP Secara *In Vitro*. *Lentera Bio*. Vol. 3 No. 2.
- BAPPENAS (Badan Perencanaan Pembangunan Nasional). 2003. Indonesia Biodiversity Strategy and Action Plan (IBSAP). Jakarta, Indonesia.
- Bhojwani, S.S. & M.K. Razdan. 1996. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Edition*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Campbell, N. A. & Reece, J.B., 2014. *Biologi Jilid 2*. Edisi 8 penyunt. Jakarta: Erlangga.
- Dalimartha, S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 6*. Jakarta: Puspa Swara.
- Damayanti, F., *et al.* 2005. Tanggap Eksplan Batang Tiga Kultivar Lili terhadap Kombinasi BA dengan Beberapa Taraf 2,4-D pada Medium MS. *Zuriat*. 16 (1):60-66
- Darwis. 2004. *Dasar-dasar Ilmu Pertanian dalam Al Quran* . Bandung : IPB Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia Jilid III*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- 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.
- Fadilah, N. 2013. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Gandarusa (*Justicia genderussa* F.) dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh NAA, IAA, dan BAP. *Skripsi Tidak Diterbitkan*, Surabaya: Universitas Airlangga.

- Farizal, J. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) terhadap proliferasi limfosit dan produksi roi makrofag, study eksperimental infeksi salmonella typhimurium pada mencit Balb/C. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- George, E. F. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht: Springer.
- Gunawan LW. 1995. *Teknik Kultur In Vitro dalam Holtikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harahap, R. A., 2005. *Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (Centella asiatica L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida*, Bogor: Sekolah Pascasarjana ITB.
- Hendaryono, D.P.S & A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hertiasari, Dessy., dkk. 2014. Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus Uni Jalar (*Ipomoea batatas* L.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D dan Glutamin. *Agric.Sci. J. Vol.1(4) : 167-176(2014)*
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III, Cetakan ke-1. (Terjemahan)*. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- Hidayat, M. A., 2006. Obat Herbal (Herbal Medicine): Apa yang Perlu Disampaikan pada Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. *Pengembangan Pendidikan*. 3(1), pp. 141 -147.
- Ibrahim MSD, Kristina NN dan Bermawie. 2004. Studi Pendahuluan : Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Daun Echinaceae purpurea. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. 15 (2): 41-47.
- Ibrahim, M. S. D. 2010. Pengaruh umur eksplan terhadap keberhasilan pembentukan kalus embriogenik pada kultur meristem jahe (*Zingiber officinale* Rosc). *Jurnal Littri*. 16 (1): 37 - 42.
- Ikeuchi M, Sugimoto K, & Iwase A.2013. Review: Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, Vol. 25: 3159–3173
- Indah, P. N. & Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6- Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophrnoxyacetic (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1), pp. 2337-3520.Indria 2017

- Jafari, Najmeh *et.al.* 2015. Morphohistological and molecular profiles during the developmental stages of somatic embryogenesis of *Musa acuminata* cv. 'Berangan' (AAA). *Acta Physiol Plant.* 37 : 45
- Kartikasari, Peni *et. al.* 2013. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) dan Kinetin (6-Furfurylaminopurine) untuk Pertumbuhan Tunas Eksplan Pucuk Tanaman Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq. ex Roxb.) secara In Vitro. *Lentera Bio.* Vol. 2 No. 1
- Khaladhar, DSVGK. 2010. In Vitro Regeneration of the Medicinal Herb, *Merremia tridentata* L. From Shoot Tip and Flower Explants. *Journal of Biochemistry and Biotechnology.* Vol. 1, pp 65-71
- Kurniasih, Trifonia Rosa. 2014. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall. f.) Secara Topikal Pada Mencit Betina Galur Swiss Terinduksi Karagenin. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Lasmadiwati, Endah dan Rini Setyowati. 2003. *Bidara Upas : Penurun Kadar Gula Darah, Penghambat Sel Kanker, Pelancar ASI, Penurun Panas, Antiradang.* Jakarta : Penebar Swadaya
- Lizawati (2012). Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Menara Perkebunan FP Universitas Jambi* 1(2): 75-87
- Lutviana A., Y.S.W. Manuhara dan E.S Wida. 2012. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (Helianthus annus L.).* Surabaya . Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Mahadi I, Syafi'i W, & Sari Y. 2016. 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
- Malviya, N., Jain S., and Malviya S. 2010. Antidiabetic Potential of Medicinal Plans. *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research.* 67.113-118.
- Mansyur, M. 2001. *Merremia Dennst.* Ex Endl. In van Valkenburg, J.L.C.H and Bunyapraphatsara, N (Editors). *Plant Resources of South-East Asia No. 12(2); Medicinal and Poisonous Plants 2.* Backhuys Publishers, Leiden. The Netherlands pp: 370-371

- Manuhara, Y.S.W. 2001. Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L. var Marakot). Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA*. 6(2): 127-130.
- Mazni, R. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Chois.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Serta *Brine Shrimp Lethaly Test*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Mungole, A., et al. 2009. In vitro callus induction and shoot regeneration in *Ipomoea obscura* (L.): potent indian medical plant. *Indian Journal of Science and technology*. Vol.2 No. 8
- Muyassar. 2007. *Tafsir Muyassar (Jilid 4)*. Jakarta: Qisthi Press.
- Ogata, Y. dkk. 1995. *Medical Herb Index in Indonesia (MHII), Edisi ke-2*. Jakarta : PT Eisai Indonesia.
- Pierik. 1997. *In Vitro Culture of Higher Plants*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Puteri, R. F., Ratnasari, E. & Isnawati, 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi *Naphthalene acetic acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) in Vitro. *Lentera Bio*, 3(3): 154-159.
- 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
- Ramar K., T. ArulPrakash and V. Ayyadurai. 2014. In Vitro Multiplication And Plant Reperation of *Physalis peruviana* an Important Medicinal Plant. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(3): 456-464.
- Rifa'I, M. N., 2000. *Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4 Surah Ash-Shaaffat-AnNaas*. Jakarta: Gema Insani Press.
- Rusdianto dan Indrianto, Ari. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucas carota* L.) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature*. 13 (2) : 136-140
- Salisbury & Ross, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: ITB Bandung.

- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM press.
- Shihab, M. Q. 2001. *Tafsir Al Misbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Shihab, Quraish. 2003. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati
- Sitorus, E.N., Hastuti, E.D., dan Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) secara *in vitro* pada media Murashige dan Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *BIOMA*. 13 (1).
- Suarsana, N., Proseryanto, BP., Bintang, M., Wresdiyati, T. 2008. Aktivitas Daya Hambat Enzim α -Glucosidase dan Efek Hipoglikemik Ekstrak Tempe Pada Tikus Diabetes. *Jurnal Veteriner*. 9 (3) : 122-127
- Subarnas, A., 2011. *Produksi Karatin Melalui Kultur Jaringan*. Bandung: Lubuk Agung.
- Suhartati, R. & Virgianti, D. P., 2015. Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Bakteri staphylococcus aureus yang Diisolasi dari Luka Diabetes. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 14(1), pp. 162-172. Sukanto 2011
- Sutini. 2008. Meningkatkan Produksi *Flavon-3-ol* Melalui Kalus *Camellia sinensis* L. Dengan Elisitor Cu^{2+} . *Berkas Penelitian Hayati*: 14 .
- Syahid dan Natalini. 2007. Induksi dan Regenerasi Kalus Keladi Tikus (*Typonium flagelliforme*. Lodd) Secara In Vitro. *Jurnal Littri*. 13(4) : 142-146
- Taiz L, Zeiger E (1998) *Plant physiology*. 2nd Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland.
- Wahyuningtiyas, L., 2014. Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP pada Media MS. Malang: UIN Maliki.
- Widyastuti, N. dan D. Tjokrokusumo. 2006. Peranan Beberapa Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Tanaman pada Kultur In Vitro. *Jurnal Saint dan Teknologi BPPT*. Vol. 3. No. 5.
- Wilkins, B.M. 1989. *Fisiologi Tanaman*. Jakarta: Penerbit Bina Aksara

- Yelnititis, 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(3):181-194.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Yuwono, T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press
- Zulkarnain. 2014. *Kultur Jaringan Tanaman, Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta : PT Bumi Aksara

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

1. Data pengamatan hari muncul kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-Rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	31	31	31	93	31
2		0.5	20	19	20	59	19.66667
3		1	19	19	19	57	19
4		1.5	20	20	20	60	20
5	0.5	0	15	14	18	47	15.66667
6		0.5	11	13	12	36	12
7		1	18	15	18	51	17
8		1.5	17	18	17	52	17.33333
9	1	0	16	14	14	44	14.66667
10		0.5	13	12	12	37	12.33333
11		1	13	12	12	46	12.33333
12		1.5	15	16	15	37	15.33333
13	1.5	0	13	13	13	39	13
14		0.5	14	13	13	40	13.33333
15		1	13	13	13	39	13
16		1.5	15	15	15	45	15
17	2	0	16	12	18	46	15.33333
18		0.5	14	15	14	43	14.33333
19		1	14	13	14	41	13.66667
20		1.5	18	18	19	55	18.33333
Total Ulangan			325	315	327	967	322.3333

2. Data hasil pengamatan persentase

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-Rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2		0.5	25	30	25	80	26.66667
3		1	20	25	20	65	21.66667

4		1.5	15	15	15	45	15
5	0.5	0	50	50	50	150	50
6		0.5	70	65	65	200	66.66667
7		1	80	80	80	240	80
8		1.5	30	35	35	100	33.33333
9	1	0	50	50	50	150	50
10		0.5	85	80	80	245	81.66667
11		1	98	90	90	278	92.66667
12		1.5	75	75	75	225	75
13	1.5	0	50	45	50	145	48.33333
14		0.5	76	80	80	236	78.66667
15		1	85	85	85	255	85
16		1.5	60	50	50	160	53.33333
17	2	0	30	35	35	100	33.33333
18		0.5	50	50	50	150	50
19		1	80	85	80	245	81.66667
20		1.5	50	50	50	150	50
Total Ulangan			1079	1075	1065	3219	1073

3. Data hasil pengamatan berat kalus

No	Perlakuan		Ulangan			jumlah	Rata-Rata
	2,4-D	BA	1	2	3		
1	0	0	0	0	0	0	0
2		0.5	0.0537	0.0623	0.0554	0.1714	0.057133
3		1	0.0241	0.0285	0.0299	0.0825	0.0275
4		1.5	0.0377	0.0331	0.0295	0.1003	0.033433
5	0.5	0	0.2111	0.2284	0.2441	0.6836	0.227867
6		0.5	0.2301	0.2286	0.2375	0.6962	0.232067
7		1	0.3195	0.3098	0.3241	0.9534	0.3178
8		1.5	0.0525	0.0593	0.0572	0.169	0.056333
9	1	0	0.2901	0.3014	0.3044	0.8959	0.298633
10		0.5	0.3636	0.3596	0.3605	1.0837	0.361233
11		1	0.391	0.3805	0.3896	1.1611	0.387033
12		1.5	0.099	0.1084	0.0914	0.2988	0.0996

13	1.5	0	0.2781	0.2737	0.2859	0.8377	0.279233
14		0.5	0.3205	0.33	0.3323	0.9828	0.3276
15		1	0.3471	0.3376	0.3732	1.0579	0.352633
16		1.5	0.0882	0.1196	0.0932	0.301	0.100333
17	2	0	0.245	0.2333	0.2319	0.7102	0.236733
18		0.5	0.2195	0.2167	0.2205	0.6567	0.2189
19		1	0.3546	0.3421	0.3384	1.0351	0.345033
20		1.5	0.103	0.1295	0.1124	0.3449	0.114967
Total Ulangan			4.0284	4.0824	4.1114	12.2222	4.074067

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

1. Hari Muncul Kalus (HST)

1a. Hasil Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable : HMK

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1054.183 ^a	19	55.483	50.439	.000
Intercept	15584.817	1	15584.817	1.417E4	.000
TwoFourDi	635.767	4	158.942	144.492	.000
BA	133.517	3	44.506	40.460	.000
TwoFourDi * BA	284.900	12	23.742	21.583	.000
Error	44.000	40	1.100		
Total	16683.000	60			
Corrected Total	1098.183	59			

a. R Squared = .960 (Adjusted R Squared = .941)

1b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

HMK

Duncan

TwoFour Di	N	Subset		
		1	2	3
1.5	12	13.5833		
1	12	13.6667		
2	12		15.4167	
0.5	12		15.5000	
0	12			22.4167
Sig.		.847	.847	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.100.

- BA

HMK

Duncan

BA	N	Subset	
		1	2
0.5	15	14.3333	
1	15	15.0000	
1.5	15		17.2000
0	15		17.9333
Sig.		.089	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.100.

- Kombinasi 2,4-D dan BA

HMK

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
D1B1	3	12.000												
D2B1	3	12.333												
D2B2	3	12.333												
D3B0	3	13.000	13.000											
D3B2	3	13.000	13.000											
D3B1	3	13.333	13.333	13.333										
D4B2	3	13.666	13.666	13.666	13.666									
D4B1	3		14.333	14.333	14.333	14.333								
D2B0	3		14.666	14.666	14.666	14.666								
D3B3	3			15.000	15.000	15.000								
D2B3	3				15.333	15.333	15.333							
D4B0	3				15.333	15.333	15.333							
D1B0	3					15.666	15.666	15.666						
D1B2	3						17.000	17.000	17.000					
D1B3	3							17.333	17.333	17.333				
D4B3	3								18.333	18.333	18.333			
D0B2	3									19.000	19.000			
D0B1	3										19.666			
D0B3	3										20.000			
D0B0	3												31.000	
Sig.		.099	.094	.089	.094	.181	.082	.072	.149	.072	.082	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: Presentase

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	39152.317 ^a	19	2060.648	325.366	.000
Intercept	172699.350	1	172699.350	2.727E4	.000
TwoFourDi	24654.400	4	6163.600	973.200	.000
BA	11449.650	3	3816.550	602.613	.000
TwoFourDi * BA	3048.267	12	254.022	40.109	.000
Error	253.333	40	6.333		
Total	212105.000	60			
Corrected Total	39405.650	59			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .991)

2b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

Presentase tumbuh kalus pada eksplan

Duncan

TwoFourDi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	12	15.8333				
2	12		53.7500			
0.5	12			57.5000		
1.5	12				66.3333	
1	12					74.8333
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) = 6.333.

- BA

Presentase tumbuh kalus pada eksplan

Duncan

BA	N	Subset			
		1	2	3	4
0	15	36.3333			
1.5	15		45.3333		
0.5	15			60.7333	
1	15				72.2000
Sig.		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) = 6.333.

- Kombinasi 2,4-D dan BA

Presentase

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
D0B0	3	.0000											
D0B3	3		15.0000										
D0B2	3			21.6667									
D0B1	3				26.6667								
D1B3	3					33.3333							
D4B0	3					33.3333							
D3B0	3						48.3333						
D1B0	3						50.0000	50.0000					
D2B0	3						50.0000	50.0000					
D4B1	3						50.0000	50.0000					
D4B3	3						50.0000	50.0000					
D3B3	3							53.3333					
D1B1	3								66.6667				
D2B3	3									75.0000			

D3B1	3									78.6667	78.6667		
D1B2	3										80.0000		
D2B1	3										81.6667	81.6667	
D4B2	3										81.6667	81.6667	
D3B2	3											85.0000	
D2B2	3												92.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.478	.156	1.000	.082	.191	.133	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: BeratKalus

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.962 ^a	19	.051	639.125	.000
Intercept	2.490	1	2.490	3.144E4	.000
TwoFourDi	.500	4	.125	1.577E3	.000
BA	.347	3	.116	1.461E3	.000
TwoFourDi * BA	.115	12	.010	120.906	.000
Error	.003	40	7.918E-5		
Total	3.454	60			
Corrected Total	.965	59			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

3b. Hasil Uji DMRT 5%

- 2,4-D

Berat Basah Kalus

Duncan

TwoFour rDi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	12	,029517				
0.5	12		,208517			
2	12			,228908		
1.5	12				,264950	
1	12					,286625
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) = 7.92E-005.

- BA

Berat Basah Kalus

Duncan

BA	N	Subset			
		1	2	3	4
1.5	15	,080933			
0	15		,208493		
0.5	15			,239387	
1	15				,286000
Sig.		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) = 7.92E-005.

- Kombinasi 2,4-D dan BA

Berat Basah Kalus

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
D0B0	3	,000000											
D0B2	3		,027500										
D0B3	3		,033433										
D1B3	3			,056333									
D0B1	3			,057133									
D2B3	3				,099600								
D3B3	3				,100333								
D4B3	3				,114967								
D4B1	3					,218900							
D1B0	3					,227867	,227867						
D1B1	3					,232067	,232067						
D4B0	3						,236733						
D3B0	3							,279233					
D2B0	3								,298633				
D1B2	3									,317800			
D3B1	3									,327600			
D4B2	3										,345033		
D3B2	3										,352633	,352633	
D2B1	3											,361233	
D2B2	3												,387033
Sig.		1.000	.419	.913	.051	.094	.257	1.000	1.000	.185	.302	.244	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 3. Gambar hasil penelitian

(D0B0)



(D0B1)



(D0B2)



(D0B3)



(D1B0)



(D1B1)



(D1B2)



(D1B3)



(D2B0)



(D2B1)



(D2B2)



(D2B3)



(D3B0)



(D3B1)



(D3B2)



(D3B3)



(D4B0)



(D4B1)



(D4B2)



(D4B3)

Lampiran 4. Perhitungan larutan stok

Lampiran stok dibuat 100 mg dalam 1000ml aquades dengan perhitungan :

- a. Larutan stok 2,4-D 100 mg dalam 1000 ml

$$\text{Larutan stok 2,4-D 100 mg} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

- a. Larutan stok 2,4-D 100 mg dalam 1000 ml

$$\text{Larutan stok 2,4-D 100 mg} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Lampiran 5. Perhitungan pengambilan stok

1. Perlakuan Pemberian 2,4-D

- a. Konsentrasi 0.5 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 0.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 0.5 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 1 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 1 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

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

- c. Konsentrasi 1.5 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 1.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 1.5 \text{ ml}$$

- d. Konsentrasi 2 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 2 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

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

2. Perlakuan Pemberian BA

a. Konsentrasi 0.5 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 0.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 1 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 1 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

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

c. Konsentrasi 1.5 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 1.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1.5 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 1,5 \text{ ml}$$

Lampiran 6. Alat-alat penelitian



Oven



Autoklaf



Kompor



Hot Plate



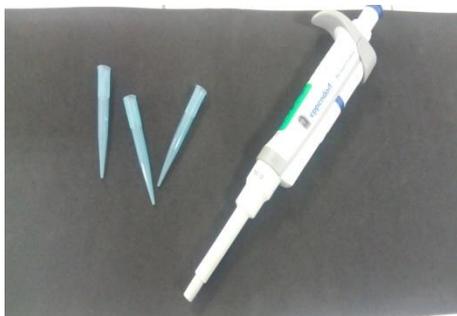
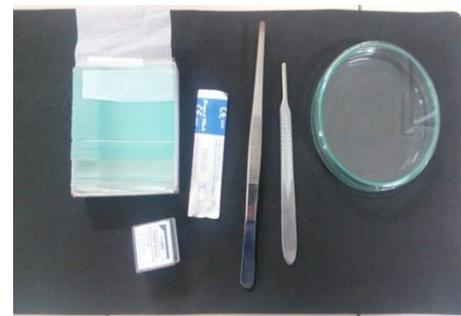
pH meter



Timb. Analitik



Bunsen & Gelas ukur

*Beaker Glass*Mikropipet dan *Blue Tip*

Alat-Alat diseksi dan cawan petri



Karet, label, plastik dan tisu



Laminar air flow

Lampiran 7. Bahan penelitian



MS



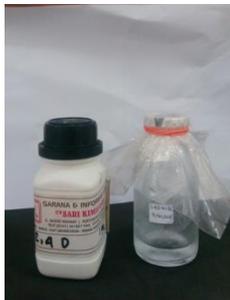
Agar



Gula



BA



2,4-D



HCl dan NaOH



Bayclin



Alkohol



Bakterisida



Fungisida



Tanaman Bidara Upas

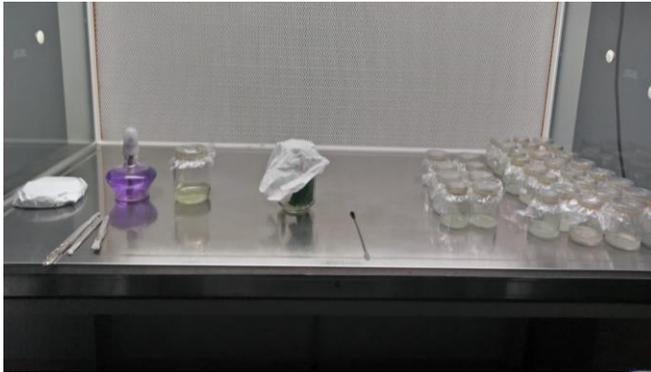
Lampiran 8. Foto kegiatan penelitian



Penimbangan Media



Pengukuran pH



Persiapan Sterilisasi Eksplan dan Inisiasi



Proses Inisiasi



Ruang Kultur



Pengamatan Anatomi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
 Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
 Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Yayang Nia Purnawati
 NIM : 13620074
 Program : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2018/2019
 Pembimbing : Dr Evika Sandi Savitri, M.P.
 Judul Skripsi : Induksi Kalus Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier F.)
 dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BA Pada Media MS
 Secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	17 Juli 2017	Bab I	
2	21 Juli 2017	Bab I	
3	2 Agustus 2017	Bab II	
4	7 Agustus 2017	Bab I, II, dan III	
5	14 Mei 2019	Bab I, II, dan III	
6	16 Mei 2019	Bab IV	
7	20 Mei 2019	Bab IV	
8	22 Mei 2019	Bab I, II, III, IV, V	
9	23 Mei 2019	Bab I, II, III, IV, V	

Pembimbing Skripsi

Dr Evika Sandi Savitri, M.P.
 NIP. 19741018 200312 2 002



Malang, 19 Juni 2019
 Ketua Jurusan

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



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

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : Yayang Nia Purnawati
NIM : 13620074
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : Induksi Kalus Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hallier F.)
dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BA Pada Media MS
Secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	3 agustus 2017	Bab I	
2	6 agustus 2017	Revisi Bab 1	
3	21 Mei 2019	Bab IV	
4	23 Mei 2019	Revisi Bab IV	
5	31 Mei 2019	Bab I, IV	
6	21 juni 2019	Acc Bab I, IV	

Pembimbing Skripsi

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIDT.19860512 20160801 1060



Malang, 19 Juni 2019
Ketua Jurusan

Romaidi M.Si.D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 01