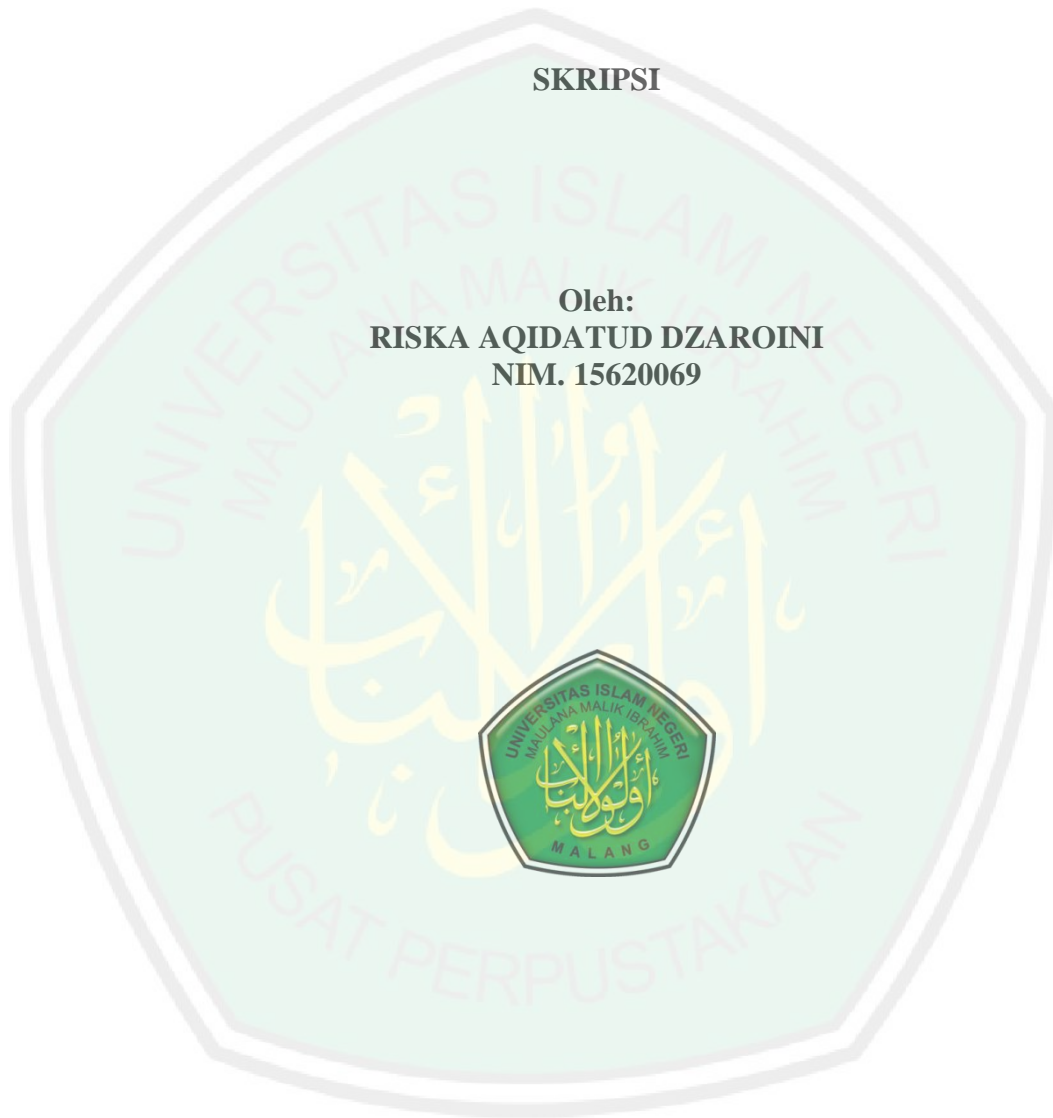


**INDUKSI KALUS DAUN MANGKOKAN (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
MENGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Acetic
Acid*) DAN BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

**RISKA AQIDATUD DZAROINI
NIM. 15620069**



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

**INDUKSI KALUS DAUN MANGKOKAN (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
MENGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Acetic
Acid*) DAN BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
RISKA AQIDATUD DZAROINI
NIM.15620069

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)

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

**INDUKSI KALUS DAUN MANGKOKAN (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
MENGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Acetic
Acid*) DAN BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
RISKA AQIDATUD DZAROINI
NIM.15620069

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 14 November 2019

Dosen Pembimbing I

Suyono, M.P
NIP. 19710622 200912 2 002

Dosen Pembimbing II

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

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

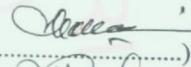

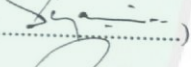

**INDUKSI KALUS DAUN MANGKOKAN (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
MENGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH NAA (*Naphtalene Acetic
Acid*) DAN BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
RISKA AQIDATUD DZAROINI
NIM.15620069

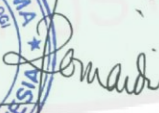
telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Skripsi dan
dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 November 2019

Penguji Utama : Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 1999903 1 001
Ketua Penguji : Ruri Siti Resmisari, M.Si
NIDT. 19790123 20160801 2 063
Sekretaris Penguji : Suyono, M.P
NIP. 19710622 200312 1 002
Anggota Penguji : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409


.....

.....

.....

.....

Mengetahui,
Kepala Jurusan Biologi




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

MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah: 286)

“Usaha tanpa do’a adalah sombong. Do’a tanpa usaha adalah sia-sia. Maka padukan keduanya lalu akhirilah dengan Tawakkal (Berserah diri kepada Allah)”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah, tiada kata lain selain mengucapkan syukur yang sebesar-besarnya kepada Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW atas nikmat, rahmat dan karunianya serta atas terselesaikannya karya sederhana ini yang saya persembahkan untuk yang tercinta:

Kedua orang tuaku, Bapak Ahmad Bawani (Alm) dan Ibu Djunainatul Himmah yang memberi dukungan, motivasi, semangat, nasihat, bantuan moril dan materil yang tiada henti, dan juga do'a yang selalu dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Serta saudara kandungku Mas Arif dan Adikku Fikri yang menjadi salah satu motivasi dan penyemangatku.

Dosen-dosen yang sudah membimbing Bapak Suyono M.P, Ibu Ruri Siti Resmisari, M. Si , Bapak Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd, Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I. dan dosen-dosen yang lain terimakasih atas waktu, kesabaran, pengalaman yang telah diberikan, bimbingan dan motivasi selama kuliah dan proses pengerjaan skripsi.

Terimakasih kepada laboran-laboran khususnya laboran lab Kultur Jaringan, Mbak Lil terimakasih atas bantuan, bimbingan, motivasi, dan nasihatnya.

Teruntuk teman-teman KJT Squad pengabdian lab. Kultur Jaringan khususnya Safira, Alfi, Andini, Lila, Annas, Devirga, Umi, Adela, Muna dan juga seluruh teman-teman seperjuanganku Biologi 2015, terimakasih yang sebanyak-banyaknya telah memberikan semangat, motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung. Semoga langkah kita dalam mencari ilmu senantiasa di permudah oleh Allah SWT.

Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk sahabat-sahabatku, Andini, Nur Alfiani, Safira Rachmadani Nur Effendi, dan Indah Nur Alifa yang telah menjadi keluarga kecilku saat suka maupun duka dan selalu memberikan support maupun motivasi kepadaku.

Tak lupa juga untuk penghuni Kost Boyo' khususnya Sinar, Putri, Emil, Adin, Kiki, Erdina, iiq. Terimakasih atas semangat, motivasi, canda tawa, dan hal-hal gak jelas selama ini :D

Serta semua pihak yang tidak bisa kusebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua. Aamiin Ya Robbal 'Alamin....

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



**Induksi Kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan
BAP (*Benzyl Amino Purine*) Melalui Teknik *In Vitro***

Riska Aqidatud Dzaroini, Suyono, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus daun mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang bersifat eksperimental dengan 25 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini terdapat dua faktor yakni konsentrasi NAA (0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, dan 2 mg/l) dan konsentrasi BAP (0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, dan 4 mg/l). Data hasil penelitian berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif terdiri dari warna, tekstur, dan anatomi kalus. Data kuantitatif terdiri dari hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, persentase eksplan hidup, dan berat kalus. Analisis data yang digunakan yaitu analisis varian (ANOVA). Jika terdapat pengaruh, maka dilanjutkan dengan DMRT 5% dan regresi korelasi. Hasil dari penelitian menunjukkan konsentrasi 1 mg/l NAA efektif terhadap hari muncul kalus 27,80 HST, persentase eksplan tumbuh 72,00%, luas kalus 5,99 mm², dan berat kalus 0,51 gram. Konsentrasi 3 mg/l BAP efektif terhadap hari muncul kalus 26,47 HST, persentase eksplan tumbuh 82,67%, luas kalus 7,24 mm², persentase eksplan hidup 97,33%, dan berat kalus 0,61 gram. Konsentrasi 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP efektif terhadap hari muncul kalus 24,00 HST. Konsentrasi 1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP efektif terhadap luas kalus 7,78 mm². Warna dan tekstur kalus yang dihasilkan yaitu berwarna coklat, kuning kecoklatan dengan tekstur kompak.

Kata kunci: BAP, kalus daun mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.), kultur *in vitro*, NAA

Callus Induction of Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Leaves Using Naphtalene Acetic Acid (NAA) and Benzyl Amino Purine (BAP) Plant Growth Regulator Through In Vitro Techniques

Riska Aqidatud Dzaroini, Suyono, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRACT

The aims of this study is to determine the effect of giving concentrations of NAA and BAP on callus induction of mangkokan(*Nothopanax scutellarium* Merr.) leaves. The study is experimental research and it uses a Completely Randomized Design (CRD) with 25 treatments and 3 repetitions. The treatment in this study consist of two factors, such as: NAA concentration (0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, and 2 mg/l) and BAP concentration (0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, and 4 mg/l). The data of this study consist of qualitative and quantitative data. Qualitative data are color, texture, and anatomy of the callus. Quantitative data are day of emerging callus, percentage of growing explant, callus area, percentage of life explants, and weight of callus. Analysis of the data using Analysis of Variance (ANOVA). If there is a significant influence, then proceed with DMRT 5% and correlation regression test. The results of the study showed that the concentration of 1 mg / 1 NAA is effective on the day of emerging callus 27.80 Day After Planting (DAP), percentage of explants grow 72.00%, callus area is 5.99 mm², and weight of callus is 0.51 gram. The concentration of 3 mg / 1 BAP is effective on the day of emerging callus 26.47 Day After Planting (DAP), percentage of explants grow 82.67%, callus area is 7.24 mm², percentage of explants lived 97.33%, and weight of callus 0.61 gram. The concentration of 0.5 mg / 1 NAA + 2 mg / 1 BAP is effective on the day of callus 24.00 Day After Planting (DAP). The concentration of 1 mg / 1 NAA + 3 mg / 1 BAP is effective for callus area is 7.78 mm². The color and texture of the resulting callus are brown, brownish yellow with a compact texture.

Keywords: BAP, callus of mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) leaves, in vitro culture , NAA

تحريض الكالس لأوراق المنغكان (*Nothopanax scutellarium Merr.*) باستخدام حمض النفثالين أسيتيك (NAA) ومنظم نمو النبات البنزويل أميني بيورين (BAP) من خلال تقنيات المختبر

ريسكا عقيدة الذراين وسويون ومحمد مخلص فخر الدين

الملخص

الغرض من هذه البحث العلمي معرفة تأثير إعطاء تركيزات NAA و BAP على تحريض الكالس لأوراق (*Nothopanax scutellarium Merr.*). هذا تصميم البحث العلمي باستخدام تصميم عشوائي كامل (CRD) التجريبي مع خمسة وعشرين علاجًا وثلاث تكرارات. يتكون العلاج في هذا البحث العلمي من عاملين، مثل: تركيز NAA (0 متيغرام / لتر، 0.5 متيغرام / لتر، 1 متيغرام / لتر، 1.5 متيغرام / لتر، و 2 متيغرام / لتر) وتركيز (0 BAP متيغرام / لتر، 1 متيغرام / لتر، 2 متيغرام / لتر، 3 متيغرام / لتر، و 4 متيغرام / لتر). تتكون بيانات هذا البحث العلمي من بيانات نوعية وكمية. البيانات النوعية هي اللون والملمس وتشريح الكالس. البيانات الكمية هي يوم الكالس الناشئ، والنسبة المئوية لنمو المستكشف، ومنطقة الكالس، والنسبة المئوية من المستكشفات الحية، ووزن الكالس. تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين (ANOVA). إذا كان هناك تأثير، فسوف يستمر في اختبار DMRT 5% وانحدار الارتباط. نتائج هذا البحث العلمي يدل التأثير (NAA 1 متيغرام / لتر) فعال في يوم الكالس الناشئ 27.80 يوما بعد الزراعة (DAP)، تنمو نسبة يزدرع بنسبة 72.00%، واسع الكالس 5.99 مم 2، ووزن الكالس 0.51 غرام. يكون تركيز (BAP 3 متيغرام / لتر) من فعال في يوم الكالس الناشئ. 26.47 يومًا بعد الزراعة (DAP)، تنمو نسبة المستكشفات بنسبة 82.67%، وتبلغ مساحة الكالس 7.24 مم 2، وتعيش نسبة المستكشفة بنسبة 97.33%، ويزن وزن الكالس 0.61 جرام. يكون تركيز (NAA 0.5 متيغرام / لتر + BAP 2 متيغرام / لتر) فعال في يوم الكالس 24.00 يومًا بعد الزراعة (DAP). تركيز (NAA 1 متيغرام / لتر + BAP 3 لمتيغرام / لتر) فعال لمنطقة الكالس 7.78 مم 2. لون وملمس الكالس الناتج يكون لونه بني، أصفر بني مع نسيج مدمع.

الكلمات الرئيسية: BAP، الكالس مانغوكان (*Nothopanax scutellarium Merr.*) أوراق، في ثقافة المختبر (In Vitro)، NAA

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum, Wr.Wb.

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT atas kasih sayang dan pertolongan-Nya, penulis mampu menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Induksi Kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) Melalui Teknik *In Vitro*”**. Shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa pancaran cahaya pengetahuan dan jalan kebenaran di muka bumi.

Seiring dengan terselesainya skripsi ini, penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah memberikan arahan, bimbingan dan dukungan baik moril ataupun materil. Untuk itu, iringan do'a dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suyono, M.P dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing agama yang dengan penuh kesabaran selalu membimbing, mengarahkan dan memberikan dukungan moril maupun materil sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang senantiasa memberikan motivasi, nasihat, dan pengarahan.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Keluarga besar tercinta Bapak Ahmad Bawani (Alm) dan Ibu Djunainatul Himmah yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan moril maupun spiritual serta ketulusan do'anya serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Laboran dan staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh teman-teman Genetist 2015 atas kerja sama, dukungan, motivasi, dan bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

10. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang memberikan do'a, semangat, dukungan, saran dan pemikiran sehingga penulisan menjadi lebih baik dan terselesaikan.

Tiada kata yang patut diucapkan selain ucapan *jazakumullahu Ahsanal Jaza'* dan semoga amal baik mereka mendapat ridho dari Allah SWT. Dan diberi balasan yang setimpal atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini bermanfaat dan dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 5 November 2019



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
المخلص	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	8
1.3. Tujuan	8
1.4. Manfaat	9
1.5. Hipotesis.....	9
1.6. Batasan Masalah.....	10
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1. Daun Mangkokan dalam Perspektif Islam	11
2.2. Klasifikasi dan Deskripsi Tanaman Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.).....	14
2.3. Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Daun Mangkokan.....	16
2.4. Kultur jaringan Tumbuhan.....	17
2.5. Kultur Kalus Metabolit Sekunder	21
2.6. Zat pengatur Tumbuh.....	25
2.7. Pengaruh NAA (<i>Naphtalene Acetic Acid</i>) terhadap Pertumbuhan Kalus secara <i>In Vitro</i>	26
2.8. Pengaruh BAP (<i>Benzyl Amino Purine</i>) terhadap Pertumbuhan Kalus secara <i>In Vitro</i>	27
2.9. Interaksi NAA (<i>Naphtalene Acetic Acid</i>) dan BAP (<i>Benzyl Amino Purine</i>) terhadap Pertumbuhan Kalus secara <i>In Vitro</i>	28
BAB III. METODE PENELITIAN	31
3.1. Rancangan Percobaan	31
3.2. Waktu dan Tempat.....	31
3.3. Alat dan Bahan.....	31

3.3.1. Alat.....	31
3.3.2. Bahan	32
3.4. Prosedur Penelitian	32
3.4.1. Persiapan Alat dan Bahan	32
3.4.1.1. Sterilisasi Ruangan	32
3.4.1.2. Sterilisasi Alat.....	32
3.4.1.3. Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh	33
3.4.1.4. Pembuatan Medium.....	33
3.4.1.5. Sterilisasi Eksplan.....	33
3.4.2. Penanaman Eksplan	34
3.4.3. Pemeliharaan.....	34
3.4.4. Pengambilan Data	34
3.4.5. Analisis Data	36
3.1.Desain penelitian.....	37
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>In Vitro</i>	38
4.2.Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi BAP pada Media Dasar MS terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>In Vitro</i>	45
4.3.Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi <i>1-Naphtalene Acetic Acid</i> (NAA) dan <i>6-Benzyl Adenin Purine</i> (BAP) terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>In Vitro</i>	52
4.4. Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi <i>1-Naphtalene Acetic Acid</i> (NAA) dan <i>6-Benzyl Adenin Purine</i> (BAP) terhadap Warna dan Tekstur Kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>In Vitro</i>	59
4.5.Anatomi Kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.)	62
4.6.Dialog Hasil Penelitian dalam Integrasi Sains dan Islam	64
BAB V. PENUTUP.....	71
5.1. Kesimpulan	71
5.2. Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN.....	86

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1. Perlakuan kombinasi antara NAA dan BAP	31
4.1. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	38
4.2. Hasil DMRT 5% pengaruh NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	39
4.3. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh konsentrasi BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	45
4.4. Hasil DMRT 5% pengaruh BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	45
4.5. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	53
4.6. Hasil DMRT 5% pengaruh penambahan berbagai perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.) secara <i>in vitro</i>	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Tanaman Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium</i> Merr.).....	16
2.2. Variasi warna kalus Kacang Tanah varietas Kelinci.....	23
2.3. Tekstur kalus Stevia	24
2.4. Struktur kimia NAA (Berat Molekul: 186,21 g/mol).....	27
2.5. Senyawa kimia BAP (Berat Molekul: 225,2492 g/mol)	28
2.6. Keseimbangan auksin dan sitokinin.....	29
3.1. Desain penelitian.....	37
4.1. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel hari muncul kalus Daun Mangkokan	41
4.2. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel persentase eksplan tumbuh Daun Mangkokan	42
4.3. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel luas kalus Daun Mangkokan.....	43
4.4. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel berat kalus Daun Mangkokan.....	44
4.5. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel hari muncul kalus Daun Mangkokan	48
4.6. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel persentase eksplan tumbuh Daun Mangkokan	49
4.7. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel luas kalus Daun Mangkokan	50
4.8. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel persentase eksplan hidup Daun Mangkokan	51
4.9. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel berat kalus Daun Mangkokan.....	52
4.10. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP dengan variabel hari muncul kalus	57
4.11. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP dengan variabel luas kalus	58
4.12. Morfologi kalus daun Mangkokan.	59
4.13. Anatomi kalus Daun Mangkokan perbesaran 400x	63

DAFTAR LAMPIRAN

1. Tabel Data Hasil Pengamatan	86
2. Perhitungan Statistika Analisis Variansi (ANAVA) dan Uji lanjut DMRT 5%	91
3. Perhitungan dan Pengambilan Latutan Stok Hormon	98
4. Gambar Hasil Pengamatan Morfologi dan Anatomi Kalus	99
5. Alat-alat Penelitian	105
6. Bahan-bahan Penelitian	106
7. Foto Kegiatan Penelitian	107
8. Bukti Konsultasi Skripsi	109
9. Surat Determinasi Tanaman Daun Mangkoka	111



DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
NAA	<i>1-Naphtalene Acetic Acid</i>
BAP	<i>6-Benzyl Amino Purine</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
%	Persen
mg	Miligram
L	Liter
g	Gram
ppm	<i>Part Per Million</i>
MS	<i>Murashige and Skoog</i>
ZPT	Zat Pengatur Tumbuh
cm	Centimeter
UPT	Unit Pelaksana Teknis
mdpl	Meter diatas Permukaan Laut
ASI	Air Susu Ibu
IU	<i>International Unit</i>
B5	Gamborg
VW	<i>Vacin & Went</i>
NN	<i>Nitsch & Nitsch</i>
SH	<i>Schenk & Hildebrand</i>
WPM	<i>Woody Plant Medium</i>
pH	Power of Hydrogen
±	Kurang Lebih
°C	Derajat Celcius
mM	Milimolar
IBA	<i>Indolebutyric Acid</i>
2,4 D	<i>2,4-Dichlorophenoxy Asetic Acid</i>
IAA	<i>Indole-3-Acetic Acid</i>
TDZ	Thidiazuron
HSI	Hari Setelah Inisiasi
RAL	Rancangan Acak lengkap
LAFC	<i>Laminar Air Flow Cabinet</i>
AC	<i>Air Conditioner</i>
atm	Atmosfer Standart
HCL	Asam Klorida
HMK	Hari Muncul Kalus
ANAVA	Analisis Variansi
DMRT`	<i>Duncan Multiple Range Test</i>
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
HST	Hari Setelah Tanam
mm ²	Milimeter Persegi
µg`	Mikro gram

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia menjadi salah satu negara tropis yang memiliki sumber kekayaan spesies tumbuhan yang sangat melimpah dan bermanfaat, misalnya tumbuhan obat. Tumbuhan obat merupakan tumbuhan yang salah satu atau seluruh bagian pada tumbuhan tersebut mengandung zat aktif yang berkhasiat bagi kesehatan dan dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh penyakit (Wijayakusuma, 2008). Menurut Jumiarni (2017), terdapat 7000 tanaman herbal dari 30.000 jenis tanaman yang ada di Indonesia yang memiliki khasiat untuk pengobatan. Namun, hanya 1.200 yang sudah digunakan sebagai obat atau jamu (PT. Sido Muncul, 2015).

Terkait dengan tumbuhan obat, sejak jaman nenek moyang tumbuhan sudah dijadikan sebagai sumber pengobatan, bahkan pada masa sekarang 60% penduduk dunia sudah bergantung diri pada tumbuhan untuk merawat kesehatan. WHO (*World Health organization*) melaporkan sekitar 80% penduduk di negara berkembang menggantungkan diri pada tanaman herbal untuk menjaga kesehatan dan sekitar 85% digunakan sebagai ekstrak tumbuhan yang berasal dari tanaman herbal (Nainwal, 2011).

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur-an Surah Asy-Syu'araa' [26] ayat 7 yang berbunyi:

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS, Asy Syu'araa [26]: 7).

Kata *كم أمبتنا فيها من كل زوج كريم* (*betapa banyaknya Kami tumbuhkan dibumi itu berbagai macam tumbuhan yang baik*) yang berguna dan dapat dimakan oleh manusia ataupun binatang ternak. Asya'bi berkata: Manusia berasal dari tumbuh-tumbuhan bumi. Barangsiapa yang masuk surga, dialah orang mulia. Barang siapa

yang masuk neraka, dialah yang tercela. Menurut Shihab (2007) dalam tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa ayat ini telah mengingatkan manusia untuk berpikir karena demikian itu sangat bermanfaat bagi manusia. Al-Quthubi (2009) dalam tafsirnya menyatakan bahwa yang termasuk dalam tumbuhan yang baik yaitu memiliki bentuk, warna dan manfaat. Manfaat tanaman baik tersebut diantaranya sebagai sumber pokok kehidupan manusia, penopang kehidupan, dan sebagai tanaman obat yang berguna untuk mengobati beraneka macam penyakit. Salah satu spesies tanaman obat yang bermanfaat adalah tanaman Mangkokan.

Tumbuhan Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) merupakan tumbuhan yang berasal dari famili *Araliaceae* dan genus *Nothopanax*. Tumbuhan ini mempunyai nama sinonim yaitu *N.cochleatum*, *Panax cochleatum*, dan *Polyscias scutellaria*. Tumbuhan ini selain hidup sebagai tumbuhan liar, banyak pula yang digunakan sebagai tanaman hias dan tanaman pagar. Tumbuhan ini hidup di ketinggian 1-1200 meter di atas permukaan laut (Marina, 2012). Revina (2011) menyatakan bahwa daun Mangkokan berkhasiat untuk melancarkan pengeluaran ASI, antiinflamasi (anti-radang), dan antioksidan. Hariana (2008) menambahkan bahwa banyak masyarakat menggunakan daun Mangkokan untuk penyembuhan luka, bau keringat, rambut rontok, dan sebagai diuretik.

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman Mangkokan yaitu lemak, fosfor, protein, amygdalin, perokdase, besi, serta vitamin A, B1, dan C (Marina, 2012). Eden (2010) melaporkan bahwa daun Mangkokan memiliki metabolit sekunder berupa *tanin*, *saponin*, dan *flavonoid*. Menurut Nuri (2009), secara kimia daun Mangkokan memiliki kandungan senyawa aktif berupa flavonoid yang tinggi. Jenis kandungan flavonoid yang terdapat di dalam daun Mangkokan yaitu flavonol seperti *kaemferol*, *quersetin*, *mirisetin*, dan *flavon* seperti *apigenin* dan *luteolin* (Dalimartha, 1999). Herawati (2004) melaporkan bahwa tanaman mangkokan diduga memiliki kandungan kimia *antrakuinon* dan *kumarin* yang tidak ada pada tanaman suku *Araliaceae*. *Antrakuinon* menurut Rukmana (2002) merupakan senyawa turunan *kuinon* yang berfungsi sebagai antibakteri dan antikanker. Sedangkan *Kumarin* menurut Isnawati (2008) merupakan senyawa

golongan *fenil propanoid* yang memiliki aktivitas biologis diantaranya dapat menstimulasi pembentukan pigmen kulit, mempengaruhi kerja enzim, antikoagulan, darah, antimikroba, dan menunjukkan aktifitas menghambat efek karsinogen.

Kesadaran masyarakat di dunia akan pentingnya tanaman obat bagi kesehatan semakin meningkat. Permintaan tanaman obat berasal dari pasar dalam negeri dan pasar ekspor (Pribadi, 2009). Permintaan tanaman obat untuk dalam negeri terdiri dari perusahaan industri obat dan industri farmasi mencapai 63%, sedangkan konsumen rumah tangga mencapai 23%, sementara untuk tujuan ekspor sekitar 14% (Gunawan, 2014). Peningkatan permintaan tanaman obat akan menyebabkan kelestarian tanaman obat di alam menjadi terancam bila tidak diimbangi dengan langkah konservasi atau membatasi eksplorasi tanaman dari alam. Kendala dalam memenuhi kebutuhan akan tanaman obat adalah kemampuan alam semakin rendah dalam memuliakan populasi tanaman obat disisi lain lahan yang khusus untuk budidaya tanaman obat juga semakin sempit. Tanaman obat yang diambil langsung dari habitatnya seperti tanaman yang tumbuh liar di pinggir sungai ataupun di pinggir jalan berpotensi memiliki kandungan logam berat yang berbahaya bagi yang mengkonsumsinya. Salah satu solusi yang dapat menangani permasalahan tersebut yaitu dibutuhkan teknologi yang dapat memenuhi kebutuhan tanaman obat secara optimum dan berkualitas, tanpa mengganggu populasi tumbuhan di alam (Sriyanti, 1994).

Teknik kultur jaringan atau *in vitro* menurut Santoso (2003) merupakan salah satu teknik menanam bagian organ suatu tanaman kemudian ditanam dalam media buatan dalam keadaan yang aseptis dan lingkungan yang terkendali. Vickery (1981) menyatakan teknik kultur jaringan dewasa ini fungsinya telah berkembang, selain untuk memproduksi tanaman juga difungsikan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Harahap (2012) menyatakan teknik kultur jaringan digunakan sebagai alternatif dalam memproduksi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman. Keuntungan dari kultur jaringan yaitu memproduksi metabolit sekunder dapat

dikembangkan dengan jumlah yang besar dan waktu yang relatif cepat, tidak membutuhkan lahan yang luas, dan dapat menghasilkan senyawa metabolit secara kontinyu, selain itu tidak dipengaruhi oleh iklim dan waktu. Ningsih (2014) menambahkan bahwa kelebihan dari teknik kultur jaringan dalam memproduksi senyawa obat yakni mengendalikan suplai produk dengan tetap menjaga ketersediaan sumber tanaman, produktivitasnya meningkat dan biaya produksi menurun, perbaikan strain menggunakan cara analog sebagaimana yang digunakan pada sistem mikroba, sel yang dikultur berada dalam kondisi bebas mikroba dan serangga, kemungkinan mensintesis senyawa baru dan menghasilkan senyawa yang analog dengan senyawa alami, tidak membutuhkan pestisida dan herbisida berbahaya. Harahap (2005) juga menambahkan biasanya kualitas yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder lebih baik dan sistem produksinya dapat diatur. Kualitas kalus metabolit yang baik dapat dilihat dari ciri warna kalus yang gelap dan tekstur kalus yang kompak (*non-friable*).

Kalus merupakan sekumpulan sel-sel *amorphous* (tidak berbentuk dan belum terdiferensiasi) yang berasal dari pertumbuhan sel-sel parenkim yang membelah secara terus menerus di dalam media buatan dan lingkungan yang steril (Surini, 2009). Teknik kultur kalus ini dapat digunakan untuk memproduksi dan meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder daripada produksi tanaman secara utuh, sebab dengan kultur kalus penyediaan nutrisi makro maupun mikro yang teratur sehingga dijamin atau dimungkinkan dapat mengatur proses metabolisme dan mendapatkan hasil yang optimum (Kurz, 1991). Menurut Sitorus (2011), kandungan metabolit sekunder tanaman yang diambil langsung dari alam lebih rendah dibandingkan dengan metabolit sekunder hasil kultur kalus. Hal ini disebabkan karena dalam teknik *in vitro* bisa memodifikasi media tanam yang cocok dengan jenis eksplan yang ditanam dalam botol dan lebih steril jika dibandingkan dengan hasil tanaman yang ditanam secara *in vivo* (konvensional). Pandiangan (2009) menambahkan bahwa produksi metabolit sekunder secara konvensional dilakukan dengan mengekstraksi langsung dari organ tanaman. Penggunaan tanaman dalam produksi senyawa yang diinginkan secara terus menerus dapat mempengaruhi ketersediaan spesies tanaman tersebut apabila tidak

diikuti dengan langkah konservasi. Selain itu menurut Chattopadhyay (2002) diperlukan budidaya tanaman dalam skala besar, disamping itu proses ekstraksi, isolasi, dan pemurniannya membutuhkan biaya yang cukup mahal. Pada senyawa-senyawa tertentu yang diperoleh dari sintesis, harganya menjadi mahal karena struktur aktifnya sangat kompleks. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode alternatif dalam ekstraksi tanaman untuk produksi senyawa bioaktif.

Latunra (2004) melaporkan bahwa kultur kalus tanaman kopi (*Coffea arabica* L.) yang ditambahkan L-metionin dapat meningkatkan kadar kafein seiring dengan pertumbuhan kalus. Aslam (2008) juga melaporkan bahwa terjadi peningkatan kandungan senyawa *vincristine* dari hasil embriogenesis tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) dibandingkan dengan daun konvensional. Siregar (2006) melaporkan penelitian pada kalus pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) menghasilkan kandungan metabolit sebanyak 9 kali dari tanaman yang diambil dari alam. Park (1992) menambahkan bahwa kultur *in vitro* kalus ginseng (*Panax ginseng*) menghasilkan senyawa saponin sebesar 500 mg/l/hari. Penelitian Darwati (2007), menghasilkan kandungan stigmasterol sebesar $\pm 0,0510$ ppm dari analisis uji kalus purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.).

Tekstur kalus yang baik dalam kultur metabolit sekunder diantaranya memiliki tekstur yang kompak. Hal ini dapat dilihat dari segi morfologi dan anatomi kalus. Morfologi kalus kompak memiliki warna putih kehijauan atau kuning kecoklatan, strukturnya padat atau kompak, dan berat kalus yang besar. Sedangkan secara anatomi kalus metabolit memiliki vakuola yang besar, ukuran selnya kecil dengan sitoplasma yang padat, mengandung pati yang tinggi (karbohidrat). Tekstur kompak pada kalus dikatakan baik karena mampu mengumpulkan senyawa metabolit sekunder lebih banyak (Indah, 2013).

Keberhasilan dari kultur kalus tidak terlepas dari beberapa faktor, yaitu sumber dan jenis eksplan, jenis dan komposisi nutrisi dalam media, keadaan aseptis, dan jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) (Santoso, 2003). Media kultur berfungsi sebagai penyuplai nutrisi terhadap tanaman yang dikulturkan dan sebagai pengarah pertumbuhan kultur melalui zat pengatur tumbuh

(Elimasni,2006). Salah satu media dasar yang sering digunakan dalam kultur jaringan yakni media *Murashige dan Skoog* (MS). Menurut Suryowinoto (1996), media kultur yang memiliki unsur hara dan persenyawaan yang lebih kompleks dari media kultur yang lain yaitu media MS. Staba (1988) menyatakan bahwa mineral-mineral ini umumnya dapat membantu proses pertumbuhan sel-sel tumbuhan dalam kultur jaringan. Hayati (2010) melaporkan bahwa pembentukan kalus diakibatkan karena perlukaan eksplan dan kombinasi antara hormon endogen dan hormon eksogen, sehingga dibutuhkan kombinasi hormon yang sesuai supaya dapat membentuk kalus metabolit secara optimal. Hendaryono (1994) menambahkan selain itu zat pengatur tumbuh pada media dapat mempengaruhi proses akumulasi senyawa metabolit sekunder tertentu dari kultur kalus ataupun kultur sel.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) sangat berpengaruh terhadap pembentukan kalus. Pemilihan ZPT dengan dosis yang tepat dapat menjadi penentu pertumbuhan dan pembentukan kalus. Faktor yang harus diketahui dalam penggunaan ZPT yaitu jenis ZPT yang akan digunakan, urutan penggunaan, dan konsentrasi (Gunawan, 1995). Jenis zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan sebagai induksi kalus adalah auksin dan sitokinin. Davies (1990) menyatakan bahwa antara auksin dan sitokinin dengan konsentrasi tertentu dapat menghasilkan eksplan yang tumbuh kalus. Auksin berfungsi sebagai proses terjadinya induksi kalus pada eksplan, pembentangan sel, dan respirasi. Menurut Wetherel (1982) sintesis auksin terjadi pada pucuk-pucuk tanaman, apabila auksin ditambahkan dengan jumlah konsentrasi yang besar atau lebih stabil akan cenderung terjadinya pembentukan kalus pada eksplan dan dapat menghambat proses regenerasi pada pucuk tanaman.

NAA menurut Harahap (2011) merupakan golongan auksin sintetik yang paling banyak digunakan untuk kultur kalus karena bersifat stabil tidak mudah rusak pada temperatur tinggi saat sterilisasi, aktif dalam waktu yang lama dan konsentrasi rendah, dan tidak mudah terurai oleh senyawa yang dikeluarkan oleh sel tumbuhan serta tidak mudah rusak karena oksidasi enzimatis seperti halnya IAA sehingga dapat bertahan lebih lama. NAA juga dapat membentuk kalus

dengan tekstur kompak. Auksin berperan dalam perkembangan sel yang ditunjukkan dengan sintesa protein yang meningkat. Meningkatnya sintesa protein berfungsi sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan.

Peranan sitokinin dalam kultur jaringan menurut Karjadi (2007) yaitu dapat merangsang proses pembelahan sel dan pembesaran sel. Jenis sitokinin yang sering ditambahkan dalam media kultur jaringan yakni zeatin, kinetin, dan BAP. BAP (*Benzyl Amino Purin*) merupakan jenis sitokinin yang paling aktif karena memiliki turunan adenin yang berperan dalam proses pembelahan sel. Menurut Wattimena (1992) BAP bersifat stabil karena memiliki respon yang baik dalam induksi pembelahan sel. Noorrohman (2017) menyatakan BAP dan Kinetin mempunyai peran dalam pembelahan sel dan proliferasi kalus pada kultur *In Vitro*. Fitrianti (2006) menyatakan bahwa konsentrasi BAP dan auksin yang seimbang dapat menyebabkan pertumbuhan kalus. Menurut Bhaskaran (1990) kegunaan zat pengatur tumbuh eksogen antara auksin dan sitokinin dipengaruhi oleh konsentrasi hormon endogen dari suatu jaringan tanaman.

Penelitian tentang kalus metabolit sekunder pernah dilakukan sebelumnya. Hasil penelitian Dharmapal (2017) melaporkan bahwa kombinasi 0,2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP dari eksplan daun tanaman brotowali (*Tinospora formanii*) dihasilkan kalus yang berwarna kuning kecoklatan, bertekstur kompak, dan kalus muncul pada hari ke 19 hsi. Puteri (2014) melaporkan bahwa konsentrasi NAA 1 mg/l + 3 mg/l BAP mampu menginduksi kalus daun sirsak (*Annona muricata*) dengan rata-rata kecepatan induksi kalus yaitu 10 HST dan memiliki berat kalus sebesar 0,410 gram. Junairiah (2018) melaporkan bahwa 0,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP dapat membentuk kalus cabai jawa (*Piper retrofractum*) dari eksplan daun dengan tekstur kompak, berwarna kecoklatan, dan hari muncul kalus 15 hsi. Penelitian Rahman (2012) melaporkan bahwa kombinasi 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP pada eksplan daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis*) dihasilkan kalus dengan tekstur kompak dan berwarna hijau. Hasil penelitian Sudrajad (2015) pada kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) bahwa konsentrasi NAA 1 mg/l + BAP 4 mg/l dapat menginduksi kalus paling cepat yaitu 29 HST dengan kalus berwarna

hijau dan jumlahnya banyak. Subandi (2016) juga melaporkan bahwa kombinasi antara 0,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP dapat menginduksi kalus tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) dengan tekstur kompak, berwarna hijau kekuningan, dan hari muncul kalus yaitu 9 hsi.

Tumbuhan Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) sebagai tanaman yang berpotensi sebagai tumbuhan obat yang penting dengan tingkat populasi di alam yang semakin menurun. Teknik kultur jaringan diperlukan sebagai langkah konservasi dan peningkatan kandungan senyawa metabolit sekunder secara *in vitro*. Dalam penelitian ini teknik kultur jaringan dilakukan untuk menginduksi kalus metabolit sekunder *Nothopanax scutellarium* Merr. dengan mengkombinasikan perlakuan ZPT NAA dan BAP secara *in vitro*.

1.1. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini berdasarkan latar belakang diatas adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh antara kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*?

1.2. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.

2. Mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh antara kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.

1.3. Manfaat

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk dapat dijadikan sebagai dasar penelitian selanjutnya mengenai pertumbuhan kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.).
2. Untuk mendapatkan kalus metabolit sebagai sumber produksi senyawa metabolit sekunder.
3. Untuk dijadikan alternatif dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder yang seragam, efisien, dan cepat.
4. Untuk memberikan informasi tentang formula ZPT paling optimum dalam pembentukan kalus dan senyawa metabolit Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam teknik kultur jaringan.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini antara lain:

1. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.
2. Ada pengaruh pemberian berbagai konsentrasi BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.
3. Ada pengaruh antara kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) dalam media MS secara *in vitro*.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini antara lain:

1. Tanaman Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) yang digunakan berasal dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Bagian eksplan yang digunakan yaitu daun muda nomor 2 dari pucuk berwarna hijau muda.
3. Ukuran eksplan yang ditanam yaitu 0,5 cm x 0,5 cm.
4. Media dasar yang digunakan dalam penelitian yaitu media MS (*Murashige dan Skoog*).
5. Jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu NAA dan BAP.
6. Konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA adalah 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l, dan 2 mg/l.
7. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP adalah 0 mg/l; 1mg/l; 2 mg/l; 3 mg/l; dan 4 mg/l.
8. Parameter kuantitas kalus *Nothopanax scutellarium* Merr. yang diamati meliputi hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, persentase eksplan hidup, dan berat kalus.
9. Parameter kualitas kalus *Nothopanax scutellarium* Merr. yang diamati meliputi warna kalus dan tekstur kalus.
10. Parameter anatomi kalus *Nothopanax scutellarium* Merr. diamati secara mikroskopis berdasarkan bentuk dan susunan sel.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan (Mangkokan) dalam Perspektif Islam

Allah SWT telah menurunkan air dari langit untuk menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang dihamparkan dimuka bumi. Tumbuhan ini digunakan semua makhluk hidup sebagai sumber kehidupan. Hal ini menunjukkan bahwa Allah SWT telah memberikan nikmat yang sangat besar bagi makhluk-Nya. Al-Qur'an telah menyebutkan bahwa beberapa tumbuhan memiliki banyak manfaat dan kegunaan. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surat:

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 berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS, Asy Syu'araa [26]: 7).

Shihab (2002) dalam tafsirnya menyatakan bahwa kata (أولم يروا إلى) pada awal surat memiliki makna “apakah mereka tidak memperhatikan ke bumi”. Makna tersebut mengandung arti *batas akhir*, yakni manusia diperintahkan untuk memperluas wawasan tentang isi bumi termasuk air, tanah, serta tanaman yang memiliki berbagai keajaiban. Kata (زوج) memiliki makna pasangan, maksudnya tumbuhan mempunyai pasangan karena di tumbuhan memiliki alat kelamin betina yakni putik dan alat kelamin jantan yaitu benang sari. Apabila terjadi penyerbukan dimana benangsari jatuh diatas kepala putik maka akan terjadi pembuahan yang mana akan berkembang menjadi bakal buah kemudian buah dan biji. Makna dari kata (كريم) yaitu baik, menunjukkan bahwa segala objek yang disifatinya itu baik termasuk tumbuhan.

Ayat di atas menurut Al-Quthubi (2009) yaitu Allah SWT telah memperlihatkan kekuasaan dan keagungan-Nya untuk memperingatkan kepada manusia dibumi untuk memperhatikan dengan mata dan hati sehingga niscaya dapat mengetahui bahwa Allah SWT Maha Kuasa atas segala ciptaan-Nya dan

berhak untuk disemai. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kultur *in vitro* terjadi karena kehendak dan kuasa Allah SWT yang telah memberi kehidupan pada tanaman tersebut. Teknik kultur *in vitro* memiliki keuntungan yaitu dalam produksi metabolit sekunder lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman utuh karena kecepatan pertumbuhan dan biosintesis sel dalam kultur yang diinisiasi dari eksplan yang sangat tinggi dalam periode yang sangat singkat, dan lebih ekonomis. Kita sebagai manusia hanya bisa membantu mengupayakan dengan memberi nutrisi hara makro dan mikro, vitamin, serta zat pengatur tumbuh. Upaya dalam mendapatkan metabolit sekunder merupakan salah satu bagian dalam memikirkan ciptaan Allah SWT.

Makna kalimat dari “*tumbuh-tumbuhan yang baik*” menurut Al-Quthubi (2009) yang termasuk dalam tumbuhan yang baik yaitu memiliki bentuk, warna dan manfaat. Manfaat tanaman baik tersebut diantaranya sebagai sumber pokok kehidupan manusia, penopang kehidupan, dan sebagai tanaman obat yang berguna untuk mengobati beraneka macam penyakit. Salah satu spesies tanaman obat yang bermanfaat adalah tanaman Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). Tanaman ini berasal dari Jawa dan termasuk famili *Araliaceae* dan genus *Nothopanax*. Menurut Revina (2011) menyatakan bahwa daun Mangkokan berkhasiat untuk melancarkan pengeluaran ASI, antiinflamasi (anti-radang), dan antioksidan. Hariana (2008) menambahkan bahwa banyak masyarakat menggunakan daun Mangkokan untuk penyembuhan luka, bau keringat, rambut rontok, dan sebagai diuretik.

Segala macam tumbuhan memiliki karakteristik dan keunikannya sendiri. Bukan dari sisi morfologinya saja, melainkan dari sisi anatomi tumbuhan satu dengan yang lainnya. Karakteristik ini dapat berupa susunan tubuh maupun bentuk tanaman tersebut. Hal tersebut dapat mempengaruhi fungsi dan kandungan dari masing-masing bagian dalam tumbuhan tersebut. Di Indonesia, tanaman Mangkokan biasa digunakan sebagai tanaman hias, tanaman pagar, dan obat tradisional. Daun dan akarnya dapat digunakan sebagai antioksidan dan

antimikroba (Ramayulis, 2015), dan memberi efek analgesik pada berat badan menciit (Triguspita, 2000).

Imam Bukhari meriwayatkan dalam shahihnya, dari sahabat Abu Hurairah bahwasanya Nabi SAW, bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula ‘obatnya” (H.R. Bukhari).

Hadits diatas menunjukkan pengertian kepada kita bahwa penyakit yang menimpa manusia maka Allah turunkan obatnya. Hal ini menunjukkan betapa Maha Besar dan Maha Pengasih Allah SWT, terhadap seluruh makhluk-Nya, hendaknya manusia senantiasa bersyukur atas karunia dan kesehatan yang telah diberikan-Nya. Rasa syukur tersebut dapat diimplementasikan dengan mengkaji dan memikirkan berbagai ciptaan-Nya yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, antara lain tanaman yang bermanfaat bagi obat.

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur’an Surat Al-Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰٓئِكَةِ اِنِّىْ جَاعِلٌ فِى الْاَرْضِ خَلِيْفَةً ۗ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِىْهَا مَنْ يُّفْسِدُ فِيْهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ اِنِّىْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ



Artinya: “Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: “Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang Khalifah di muka bumi.” Mereka berkata: “Mengapa Engkau hendak menjadikan (Khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?” Tuhan berfirman: “Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.”” (QS. Al-Baqarah : 30).

Menurut Ibnu Katsir dalam tafsirnya menyatakan bahwa sesungguhnya mereka (para malaikat) memahami bahwa di antara jenis makhluk ini ada orang-orang yang melakukan hal tersebut (berbuat kerusakan), seakan-akan mereka mengetahui hal tersebut melalui ilmu yang khusus, atau melalui apa yang mereka pahami dari watak manusia. Manusia diciptakan oleh Allah SWT sebagai khalifah di muka bumi. Khalifah ialah bahwa manusia itu diciptakan untuk menjadi penguasa yang mengatur apa-apa yang ada di bumi, seperti tumbuhan, hewan, hutan, air, sungai, gunung, laut, dan lain sebagainya yang seharusnya manusia mampu memanfaatkan dan menjaga segala apa yang ada di bumi ini untuk kemaslahatannya. Oleh karena itu, tugas manusia yang tinggal di bumi harus menjaga alam serta memahami bahwa tanaman obat itu sangat bermanfaat.

2.2. Klasifikasi dan Deskripsi Tanaman Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.)

Klasifikasi dari tanaman Mangkokan menurut Cronquist (1981) yaitu:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosiadae
Ordo	: Apiales
Family	: Araliaceae
Genus	: <i>Nothopanax</i>
Spesies	: <i>Nothopanax scutellarium</i> Merr. (Synonim <i>N.cochleatum</i> , <i>Panax cochleatum</i> , dan <i>Polyscias scutellaria</i>).

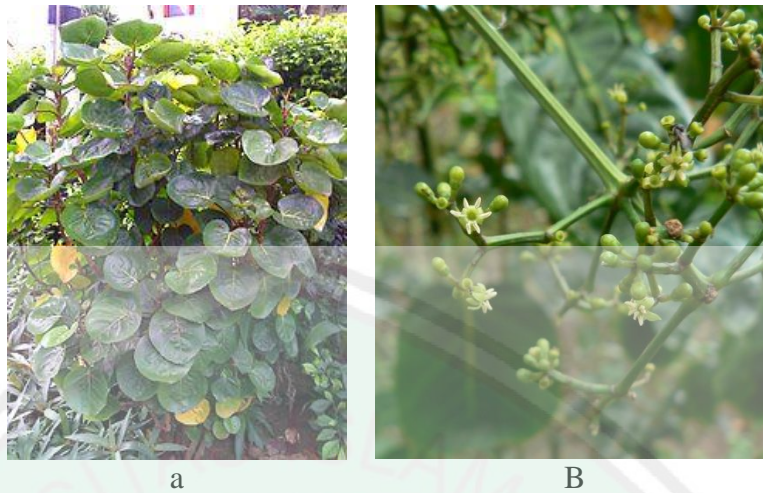
Tanaman Mangkokan diperkirakan berasal dari Kepulauan Jawa. Tanaman ini memiliki nama lokal disetiap daerahnya, seperti godong Mangkokan (jawa); mamanan, maMangkokan, pohon mangkok (Sunda); puring (Madura); daun koin, daun papeda (Ambon); daun koin (Madura); mangko-mangko (Makassar); tuwa mangku (Sulawesi Utara); mangko-mangko (Ujung Pandang); bobokang

(Banten); rau paron (Ternate); daun mangkok (Manado); *saucer leaf, shell leaf* (Inggris) (Hariana, 2008). Tanaman Mangkokan berada satu family dengan ginseng (*Panax ginseng*), daun gurita (*Boerlagiodendron moluccanum*), *Aralia ferox*, kedondong laut (*Polyscias fruticosa*), dan lain sebagainya (Dasuki, 1991).

Tanaman Mangkokan merupakan tanaman semak atau perdu tahunan, tumbuh tegak yang memiliki tinggi 1-3 meter. Daun tanaman ini terdiri dari helai daun, tangkai daun, dan upih daun. Daunnya termasuk daun tunggal, lengkap, *folia sparsa* (daun tersebar). Helai daun agak tebal, bertangkai, berbentuk bulat (*orbiklaris*) dengan diameter 6-12 cm, tepi berlekuk keatas menyerupai mangkok, pangkal daun berbentuk jantung (*emarginatus*), ujung daun tumpul (*obtusus*), tepi daun bergerigi (*servatis*), permukaan daun agak kasar tidak berbulu, pertulangan menyirip dengan ibu tulang daun menonjol jelas pada bagian bawah, dan warnanya hijau tua mengkilat. Tangkai daun panjang sekitar 2-8 cm, terdapat buku (nodus), bagian atas berwarna hijau ada bintik-bintik coklat kemerahan, bawah coklat kehitaman, berbentuk silinder (Herawati, 2004).

Batang tanaman Mangkokan termasuk batang berkayu (*lignous*), berbentuk bulat/silindris (*teres*), memiliki percabangan monopodial, lurus, dan panjang, arah tumbuhnya tegak ke atas, permukaannya memiliki bekas –bekas daun, berwarna ungu jika masih muda dan berwarna coklat keputihan jika sudah tua, kulit batang tipis dan lunak, (Dalimartha, 1999). Akar dari tanaman Mangkokan termasuk akar tunggang, memiliki rambut akar dengan jumlah yang banyak berukuran kecil, dan berwarna putih coklat (Herawati, 2004).

Tanaman Mangkokan jarang berbunga, apabila berbunga tanaman ini memiliki bunga majemuk, berbentuk payung, dan warna bunganya hijau tua, kelopak bergigi pendek (rompang), lima daun mahkota, lima benang sari duduk berseling dengan mahkota, dan tingginya ± 1.5 mm. Buah dari tanaman ini yaitu buni, pipih dan berwarna hijau. Bijinya berukuran kecil, tekstur keras dan berwarna coklat (Dalimartha, 1999).



Gambar 2.1. Tanaman Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) a. Semak (Jahari, 2013) b. Bunga Mangkokan (Valke, 2007)

Tanaman Mangkokan biasa hidup di daerah yang terbuka dan terkena sinar matahari atau sedikit terlindungi di ketinggian 1-200 mdpl. Tanaman ini biasa digunakan sebagai tanaman pagar ataupun tanaman hias. Teknik budidaya dari tanaman Mangkokan termasuk mudah, secara vegetatif dapat dilakukan dengan stek batang yaitu dengan memotong batang lalu ditanam didalam tanah sampai masuk beberapa cm. Sedangkan budidaya secara generatif berupa biji dan bunga, namun munculnya biji ataupun bunga ini sangat jarang dijumpai sehingga masyarakat lebih memilih perbanyak tanaman Mangkokan secara vegetatif (Mukhlisah, 1999).

2.3. Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Mangkokan

Tanaman Mangkokan biasa dimanfaatkan oleh masyarakat selain sebagai tanaman hias juga digunakan sebagai obat untuk melancarkan keluarnya ASI, antidiuretik (peluruh kencing), antiinflamasi, merangsang pertumbuhan rambut, menghilangkan bau badan, penyembuh luka, radang payudara (Hariana, 2008). Daun Mangkokan juga dapat digunakan sebagai bumbu dapur karena daun mudanya enak dimakan dan memiliki aroma yang khas. Pada zaman dahulu, tanaman ini dijadikan mangkok atau piring jika dalam keadaan darurat (Dalimartha, 1999). Penelitian Sa'diah (2015) melaporkan bahwa ekstrak daun Mangkokan dengan formula konsentrasi 7,5% merupakan formula paling

optimum dan berpengaruh sama dengan kontrol positif terhadap pertumbuhan rambut. Selain itu Suryani (2014) juga menyatakan bahwa ekstrak metanol daun Mangkokan dalam bentuk losio (cair) mempunyai aktivitas pelindung dari sinar matahari dengan perlindungan maksimal 10%.

Tanaman Mangkokan memiliki beberapa kandungan gizi diantaranya, fosfor, peroksidase, besi, protein, lemak, kalsium, vitamin A, B1, dan C (Hariana, 2008). Komposisi kandungan gizi tertinggi yang terdapat pada Mangkokan yaitu karbohidrat sebesar 11,8 g; fosfor 49 mg; kalsium 474 mg; zat besi 4 mg; dan vitamin A 5450 IU (Ramayulis, 2015). Tanaman ini juga mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, polifenol, tanin, triterpenoid, dan flavonoid (Khare, 2007). Jenis kandungan flavonoid pada tanaman Mangkokan antara lain kaemferol, kuersetin, mirisetin, dan flavone seperti apigenin dan luteolin (Nuri, 2009). Umumnya flavonoid berguna sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas, sedangkan saponin digunakan sebagai antimikroba (Ramayulis, 2015). Penelitian Triguspita (2000) melaporkan bahwa ekstrak metanol dari daun Mangkokan memberi efek analgesik (pereda nyeri) pada dosis 400 dan 800 mg/kg terhadap berat badan mencit. Hal ini diduga karena kandungan senyawa *polifenol*, *tanin*, dan *flavonoid* termasuk dalam senyawa aktif analgesik.

2.4. Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan atau *in vitro* merupakan suatu teknik dalam memperbanyak suatu tanaman dengan memotong bagian-bagian tertentu tanaman misalnya sel, jaringan, organ, dan protoplas yang di tanam dalam media buatan didalam gelas kaca dengan keadaan aseptik dan lingkungan yang terkontrol sehingga dari satu sel tanaman tersebut dapat membentuk tanaman yang utuh. Selain itu teknik *in vitro* juga dapat memproduksi senyawa bioaktif dalam tanaman secara besar-besaran untuk kepentingan industri obat yang disebut kultur kalus (Zulkarnain, 2009).

Ernawati (1992) menyatakan bahwa keuntungan kultur kalus menggunakan teknik *in vitro* yaitu terdapat senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman secara massal dalam lingkungan yang terkontrol, terhindar dari

deraan lingkungan, menghasilkan tanaman yang bebas hama, dapat memproduksi senyawa bioaktif secara spesifik, periode waktu relatif cepat, produksi tanaman sepanjang tahun, kualitas tanaman lebih baik, tidak membutuhkan lahan yang luas, dan mengurangi upah jasa pekerja.

Prinsip dasar kultur jaringan yaitu teknik perbanyak tanaman yang dilakukan dalam keadaan aseptik dan memanfaatkan sifat totipotensi sel tumbuhan (Zulkarnain, 2009). Menurut Lestari (2008), prinsip kultur jaringan dapat dipaparkan sebagai teknik perbanyak tanaman menggunakan bagian vegetatif tanaman misalnya mata tunas, daun, akar, batang yang diletakkan dalam suatu media yang banyak mengandung nutrisi serta zat pengatur tumbuh (ZPT) pada gelas kaca dalam keadaan steril dengan lingkungan yang terkontrol. Metode kultur jaringan harus dilakukan dalam keadaan yang aseptik baik media tanam didalam botol maupun keadaan aseptik peralatan dan ruangan tempat kerja. Totipotensi memiliki arti kemampuan sel dalam berkembang biak menjadi tanaman baru yang lengkap dalam kondisi lingkungan yang terkontrol. Hal ini dapat terjadi karena bagian tanaman memiliki jaringan hidup yang dapat berkembang dan tumbuh menjadi tanaman baru yang sama dengan indukannya.

Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan suatu kultur jaringan antara lain pemilihan eksplan, teknik sterilisasi, media tanam yang sesuai, jenis ZPT, serta lingkungan tumbuh suatu tanaman (Santoso, 2003). Eksplan yang digunakan dalam kultur jaringan biasanya berasal dari jaringan muda (*juvenil*) karena bersifat meristematik. Jaringan muda pada tanaman memiliki kemampuan regenerasi lebih tinggi, sel-selnya bersifat meristematik, dan lebih sedikit mengandung bahan kontaminan. Bahan eksplan yang mudah dikulturkan berasal dari organ tanaman misalnya daun muda, tunas muda, ujung akar, batang, hipokotil, antera, bunga, dan biji (Yusnita, 2003). Eksplan yang diambil dari alam atau lapangan biasanya mengandung kotoran, debu, dan berbagai jenis kontaminan hidup lainnya. Untuk menghilangkan berbagai macam kontaminan, maka perlu dilakukan sterilisasi pada eksplan (Gunawan, 1988).

Prinsip dasar dari sterilisasi yaitu mensterilkan eksplan dari berbagai mikroorganisme atau sumber kontaminan, namun tidak membunuh eksplan tersebut (Gunawan, 1988). Menurut Hendaryono (1994), terdapat 2 jenis dari sterilisasi eksplan yaitu sterilisasi eksplan baik melalui sterilisasi mekanik maupun kimiawi. Teknik sterilisasi secara mekanik, digunakan pada eksplan bertekstur keras atau berdaging dengan cara dilewatkan diatas api spiritus sebanyak tiga kali. Sedangkan teknik sterilisasi kimiawi, digunakan pada eksplan bertekstur lunak (jaringan muda) seperti daun muda , tangkai daun, anther, serta lain-lain.

Beberapa jenis media dasar yang sering digunakan dalam kultur jaringan tumbuhan yaitu media dasar B5 (Gamborg), VW (*Vacin & Went*), White, NN (*Nitsch & Nitsch*), SH (*Schenk & Hildebrand*), N6, Knop, WPM (*Woody Plant Medium*), dan MS (*Murashige & Skoog*). Media dasar B5 digunakan sebagai subkultur suatu suspensi sel (cairan) sel kedelai; alfafa; dan legume lain, medium VW digunakan sebagai media khusus anggrek , media White digunakan sebagai kultur akar karena garam mineralnya rendah, media NN digunakan untuk kultur sel dan tepungsari (pollen), media SH digunakan untuk media kultur tanaman monokotil berkayu, media N6 digunakan untuk kultur tanaman jenis sereal (padi), media Knop digunakan untuk menumbuhkan kalus wortel, media WPM digunakan untuk kultur tanaman yang berkayu , dan media MS merupakan media dasar banyak digunakan karena memiliki nutrisi paling lengkap dibandingkan jenis media lainnya. (Hendaryono, 1994). Media yang digunakan pada setiap tanaman tidak semua sama, tergantung dari tujuan kultur jaringan yang dilakukan oleh seorang peneliti. Media ini berfungsi sebagai penyedia makanan yang mengandung senyawa organik dan anorganik nutrisi baik makro maupun mikro bagi tanaman kultur (Santoso, 2004).

Berdasarkan bentuk fisiknya, media tanam dibagi menjadi dua jenis media yaitu media padat dan media cair, masing-masing memiliki kekurangan dan kelebihan. Pada media padat memiliki keunggulan yaitu pertumbuhan tunas yang dihasilkan lebih cepat, pertumbuhan kalus yang lebih baik, cocok untuk

pengakaran. Sedangkan kekurangannya yaitu lambat dalam menyerap nutrisi karena potensial air rendah. Pada media cair memiliki keuntungan yaitu cepat menyerap nutrisi karena potensial air yang tinggi, sedangkan kekurangannya yaitu eksplan yang ditanam tenggelam (George, 1984). Secara umum media dasar yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu *Murashige dan Skoog* (MS). Media MS memiliki komponen yang lebih kompleks dari media tanam yang lain karena media MS mengandung senyawa nitrat dan garam amonium yang tinggi. Kandungan tersebut sangat diperlukan untuk regenerasi suatu sel, dan juga media dasar MS banyak mengandung unsur kalium yang berperan penting dalam proses fotosintesis (Santoso, 2004).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) sebagai faktor terpenting dalam teknik kultur jaringan. Penggunaan jenis zpt dalam kultur jaringan sangat menentukan arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan (Nursetiadi, 2016). Menurut Gunawan (1995), dua golongan ZPT yang berperan penting dalam kultur jaringan yakni auksin dan sitokinin. ZPT ini menentukan arah pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman, serta morfogenesis sel, jaringan, hingga organ. Jika ingin menumbuhkan tunas diperlukan media dengan kandungan sitokinin yang tinggi dan auksin yang rendah, sedangkan jika ingin menumbuhkan akar diperlukan media dengan kandungan auksin yang tinggi dan sitokinin yang rendah. Apabila auksin dan sitokinin dalam kadar yang seimbang maka arah pertumbuhan kultur akan membentuk kalus.

Lingkungan tumbuh merupakan faktor keberhasilan dalam kultur jaringan sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam botol kultur. Keadaan yang dapat mempengaruhi proses pertumbuhan tanaman kultur yaitu intensitas cahaya, suhu (temperatur), pH, dan kelembapan. Cahaya dibutuhkan dalam kultur jaringan karena bertujuan dalam mengatur proses morfogenesis tertentu, misalnya pertumbuhan kalus, pembentukan tunas dan akar, bukan sebagai fotosintesis karena sumber energi didapat dari media yang mengandung sukrosa. Suhu (temperatur) yang biasa digunakan untuk kultur tanaman yaitu $\pm 20^{\circ}\text{C}$ (Santoso, 2004). pH yang dibutuhkan tanaman dalam

morfogenesis berkisar antara 5,0-6,0. pH dalam kultur akan semakin tinggi seiring dengan pertumbuhan eksplan karena nutrisi habis terpakai. Senyawa yang dapat menstabilkan pH yaitu senyawa fosfat (Gunawan, 1995).

2.5. Kultur Kalus Metabolit Sekunder

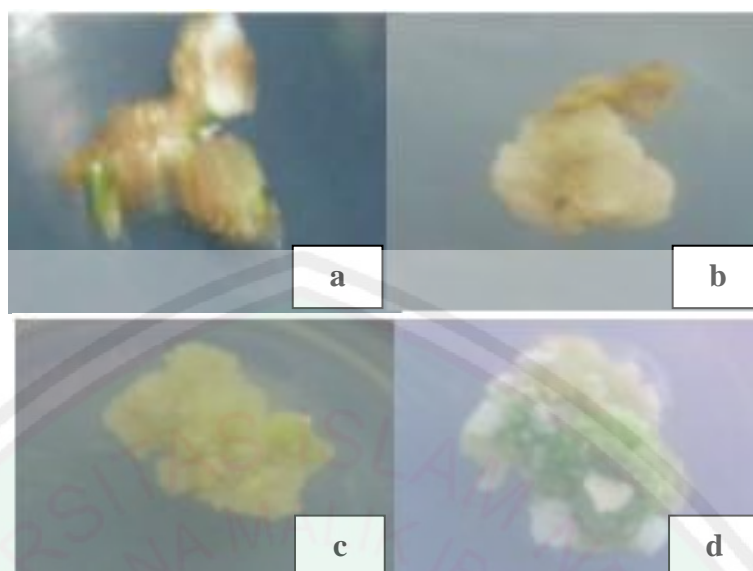
Salah satu teknik dalam kultur jaringan berupa kultur kalus. Tujuan dari kultur kalus ini yaitu mempelajari beberapa aspek dalam proses metabolisme dan perubahan pada tumbuhan, seperti mengamati bagian aspek unsur hara tanaman, morfogenesis dan diferensiasi sel-sel suatu organ tanaman, dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder tertentu (Yuwono, 2006). Kalus merupakan sel amorphous (belum terbentuk serta belum terdiferensiasi), terbentuk dari sel-sel yang terus menerus membelah didalam tabung secara *in vitro*. Ketika tanaman dilukai, terjadi respon proaktif tanaman untuk menutup jaringan yang sudah rusak dengan membentuk kalus. Penelitian tentang pembentukan kalus sudah banyak dilakukan (Tyagi, 2006). Kultur kalus dalam pertumbuhannya relatif lambat dibandingkan dengan kultur suspensi sel (Andaryani, 2010). Menurut Tyagi (2006), pembentukan dan proliferasi kalus secara *in vitro* dapat ditingkatkan dengan adanya penambahan zat pengatur tumbuh pada media yang dapat mendorong pemanjangan dan pembelahan sel.

Berdasarkan diferensiasi ukuran sel, proses fisiologi dan bentuk suatu kalus, morfogenesis dari eksplan menjadi kalus dibedakan menjadi tiga tahap yakni tahap induksi, pembelahan dan diferensiasi. Tahap induksi berupa sel-sel yang siap membelah, proses metabolisme aktif dan memiliki ukuran sel yang tetap (sama). Fase pembelahan, sel bersifat aktif membelah (meristematik) serta ukuran sel menjadi lebih kecil (penurunan ukuran). Fase akhir yaitu diferensiasi, kalus yang tumbuh akan mengalami perubahan dengan ciri yaitu pembesaran sel, terdapat vakuola pada sel, dan laju pembelahan menurun (Alitalia, 2008).

Kalus terbagi menjadi dua macam kategori, yakni kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus yang berpotensi dalam beregenerasi menjadi suatu organ tanaman lewat embryogenesis atau organogenesis disebut dengan kalus

embrionik. Sedangkan kalus yang memiliki daya sedikit atau tidak memiliki daya dalam beregenerasi menjadi organ suatu tanaman disebut kalus non embriogenik. Struktur dari kalus non embriogenik yaitu kompak, tidak transparan terhadap cahaya, dan relatif lambat dalam pertumbuhannya. Hal ini merupakan kriteria yang diinginkan dalam seleksi tanaman secara *in vitro* (Sutjahjo, 1994). Kalus yang memiliki kriteria seperti ini disebut dengan kalus tipe-I, sedangkan kalus yang *friable*, kurang kompak, dan relatif cepat pertumbuhannya disebut kalus tipe-II (Armstrong, 1985). Seiring dengan berjalannya waktu, daya regenerasi kalus yang dikulturkan akan semakin menurun, namun terdapat kultur kalus yang memiliki daya regenerasi dengan waktu yang relatif lama. Tekstur kalus kompak memiliki susunan sel berbentuk nodular, berstruktur padat, dan memiliki kandungan air cukup banyak (Hayati, 2010). Sedangkan kalus remah memiliki susunan sel yang panjang berbentuk tubular, berstruktur renggang, mudah rapuh dan tidak teratur. Struktur kalus remah (embriogenik) sangat berhubungan dengan laju kecepatan tumbuh kalus sehingga metabolit sekunder yang dikehendaki dapat di produksi lebih cepat (Syahid, 2010).

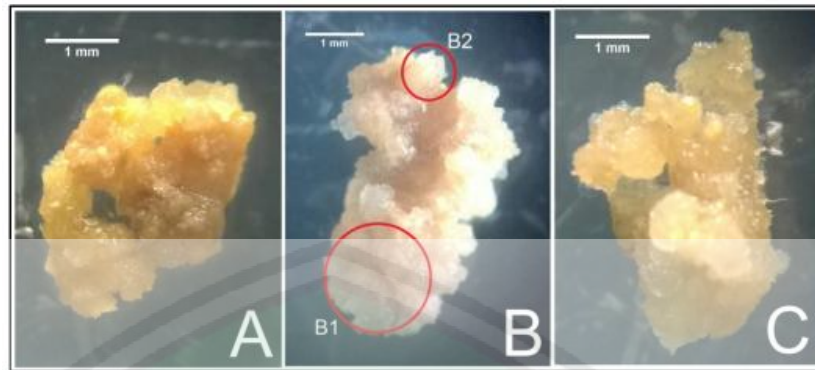
Kualitas pertumbuhan kalus dapat dilihat dengan beberapa indikator seperti: warna kalus, tekstur kalus, dan berat kalus. Para peneliti kultur kalus banyak memakai parameter pengamatan antara lain: warna kalus, tekstur kalus, dan berat basah kalus untuk menilai pertumbuhan suatu kalus pada eksplan tumbuhan (Arianti, 2015). Indikator pertama pertumbuhan kalus dapat dilihat dari warna kalus. Kalus yang bagus memiliki warna putih yang menunjukkan bahwa sel-sel kalus dalam keadaan aktif membelah. Warna kalus menandakan kandungan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus menunjukkan banyaknya kandungan klorofil dalam suatu kalus (Dwi, 2012). Warna hijau pada kalus diakibatkan karena besarnya konsentrasi sitokinin yang diberikan. Penambahan sitokinin dalam media dapat memperlambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin dapat mempercepat proses metabolisme dalam sintesis protein (Wardani, 2004).



Gambar 2.2. Variasi warna kalus Kacang Tanah varietas Kelinci a. Coklat, b. Putih kecoklatan, c. Putih kekuningan, d. Putih kehijauan (Royani, 2015)

Gambar 2.2. menunjukkan variasi warna dari kalus. Perbedaan warna kalus menurut Hendaryono (1994) akibatkan adanya pigmentasi, pengaruh intensitas cahaya serta bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Regenerasi kalus yang dapat membentuk tunas dengan adanya perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi putih kekuningan yang selanjutnya kalus berubah menjadi kehijauan, adanya perubahan warna sebagai indikator terjadinya morfogenesis (Lestari, 2003).

Indikator yang digunakan dalam menilai kualitas kalus ialah tekstur kalus. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam yaitu kompak (*non friable*), intermediet, dan remah (*friable*) (Andaryani, 2010). Kalus bertekstur kompak terdiri dari sel-sel yang rapat dan sulit untuk dipisahkan karena sel-selnya bertekstur padat dan keras. Sedangkan kalus remah memiliki sel-sel yang longgar dan mudah untuk dipisahkan karena teksturnya lunak (Pandiangan, 2011). Kalus dengan keadaan yang baik digunakan sebagai penghasil metabolit sekunder dengan tekstur kompak (*non friable*), kalus yang bertekstur kompak dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan kalus jenis lain (Indah, 2013).



Gambar 2.3. Tekstur kalus Stevia (A) Kalus kompak, (B) Kalus intermediet (B1: kompak, B2: remah), (C) Kalus remah (Putri, 2015)

Gambar 2.3. menunjukkan tekstur kalus yaitu kalus kompak, kalus intermediet, dan kalus remah. Ariati (2012) menyatakan bahwa tekstur kalus yang kompak umumnya terdiri dari sel yang berukuran kecil, memiliki sitoplasma yang padat, berinti besar, dan banyak mengandung karbohidrat. Andri (2012) menambahkan bahwa struktur kalus bertekstur kompak memiliki nodul. Nodul adalah masa proembrionik yang digunakan sebagai inokulum untuk induksi embrio somatik. Menurut Sitorus (2011), kalus remah merupakan kalus yang baik untuk perbanyak jaringan. Kalus remah yakni kalus yang tumbuh secara terpisah-pisah menjadi bagian-bagian yang kecil, mudah lepas, dan memiliki banyak kandungan air. Rahayu (2003) menyatakan bahwa kalus bertekstur remah didapatkan dengan cara sub kultur berulang-ulang pada media padat. Kalus yang terbentuk dipengaruhi oleh zat-zat tertentu yang terdapat dalam media seperti ZPT. Pemberian 2,4-D dan ekstrak khamir dengan konsentrasi tinggi dapat menginduksi kalus bertekstur remah (*friable*).

Pembentukan kalus pada media kultur umumnya ditentukan dari berat kalus (Yokota, 1999). Berat basah kalus secara fisiologis memiliki dua kandungan yaitu air dan karohidrat. Berat basah kalus yang besar disebabkan karena banyak terdapat kandungan air. Induksi berat basah kalus bergantung pada kecepatan sel-sel kalus membelah diri, memperbanyak diri yang dapat memperbesar ukuran sel kalus Ruswaningsih (2007). Muryati (2005) menyatakan bahwa berat kering kalus sebagai parameter pertumbuhan melalui ukuran global pertumbuhan tanaman. Berat kering didapatkan dengan cara pengeringan. Hal ini dilakukan agar kadar air

yang terdapat dalam kalus hilang sehingga dapat menghentikan aktivitas metabolisme dan diperoleh berat yang tetap (konstan).

2.6. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa organik bukan hara yang dalam konsentrasi sedikit (10^{-6} - 10^{-5} mM) dapat menghambat (*inhibit*), mendukung (*promote*), dan dapat mengubah proses fisiologi dan organogenesis suatu tanaman. Terdapat lima golongan zpt pada tanaman yang terdiri dari auksin, sitokinin, giberelin, etilen, dan inhibitor dengan karakteristik yang khas juga berpengaruh pada proses fisiologi. Golongan yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan yakni golongan auksin dan sitokinin. Golongan zpt ini memiliki peran dalam perkembangan dan pertumbuhan tanaman yang dikulturkan (Abidin, 1985).

Gunawan (1995) menambahkan bahwa faktor yang berpengaruh dalam perkembangan dan pertumbuhan suatu organ tanaman adalah keseimbangan zat pengatur tumbuh yang diberikan dan kandungan hormon endogen didalam tumbuhan. Nursetiadi (2016) menyatakan pemberian zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan hara dimana dalam konsentrasi rendah (<1 mM) dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Auksin dalam kultur jaringan berperan dalam suspensi sel dan organ serta dapat merangsang pertumbuhan kalus. Golongan auksin sintetik yang biasa dimasukkan dalam media tanam yaitu IBA (*Indolebutyric Acid*), 2,4 D (*2,4-Dichlorophenoxy Asetic Acid*), NAA (*Naphtalene Acetic Acid*). Sedangkan auksin alami pada tumbuhan yaitu IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) (Gunawan, 1988).

Sitokinin dalam kultur jaringan berfungsi dalam mendorong pembelahan sel dan organogenesis suatu eksplan. Golongan sitokinin alami yang terdapat dalam tanaman yaitu jenis kinetin dan zeatin, dan sitokinin sintetik yaitu BAP, TDZ, dan kolkisin. Sitokinin endogen diproduksi oleh jaringan yang masih aktif tumbuh

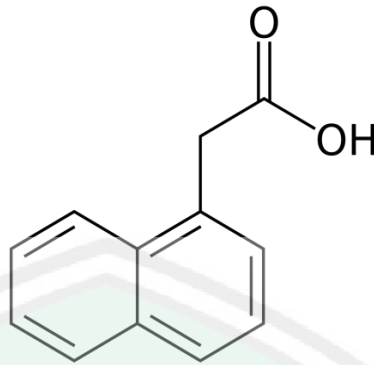
misalnya pada buah, akar, dan embrio. Produksi sitokinin yang terjadi di akar akan di angkut melalui xylem menuju sel-sel target pada batang (Abidin, 1985).

2.6.1. Pengaruh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) terhadap Pertumbuhan Kalus secara *In Vitro*

Auksin merupakan hormon yang yang dikenal berperan dalam induksi terbentuknya kalus, meningkatkan pemanjangan sel, mengarahkan proses morfogenesis kalus membentuk tunas atau akar, mempengaruhi kestabilan genetik tanam, dan mendorong proses embriogenesis (Santoso, 2003). Auksin pada dinding sel dapat menurunkan pH dengan mengaktifkan beberapa enzim. Enzim tersebut disintesis untuk menguraikan ikatan polisakarida dinding sel dan mempercepat pertumbuhan. Bagian epidermis merupakan bagian utama teresponnya auksin. Auksin akan bekerja mengaktifkan gen di epidermis kemudian dinding sel akan mengembang, terjadi pemanjangan yang cepat pada sel epidermis, pemanjangan ini mengakibatkan sel subepidermis yang menempel pada epidermis ikut memanjang (Salisbury, 1995).

Menurut Wetter (1991), 2,4-D dan NAA merupakan auksin sintetik yang tidak mudah rusak apabila mengalami proses pemanasan didalam autoklaf karena bersifat stabil. Selain itu NAA tidak mudah teroksidasi secara enzimatis seperti pada IAA. Senyawa ini ditambahkan pada media kultur jaringan pada konsentrasi yang rendah yakni sekitar 0,1 – 2,0 mg/l.

Hasil penelitian Bhagya (2013) menyatakan bahwa penambahan 2 mg/l NAA pada media MS dapat menginduksi kalus cincau (*Cyclea peltata*) dengan tekstur kompak dan berwarna hijau kecoklatan. Seyyedyousefi (2013) menyatakan bahwa konsentrasi 2 mg/l NAA dapat menginduksi kalus bertekstur kompak pada tanaman teratai peru (*Alstroemeria*). Mohajer (2012) menyatakan bahwa 0 mg/l BAP + 1,5 mg/l NAA dapat menginduksi kalus dari eksplan daun *Onobrychis sativa* dengan tekstur kompak. Kawochar (2017) melaporkan bahwa NAA konsentrasi 2 mg/l dapat menginduksi kalus kentang (*Solanum tuberosum*) dengan tekstur kompak sebesar 90,53% dengan waktu 1 bulan.



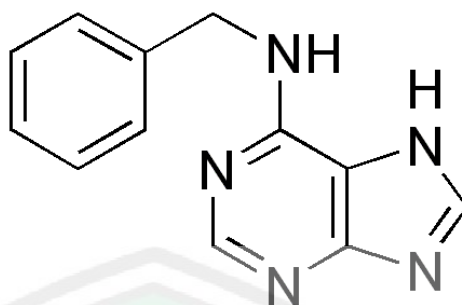
Gambar 2.4. Struktur kimia NAA (Berat Molekul: 186,21 g/mol) (Alitalia, 2008)

2.6.2. Pengaruh BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Pertumbuhan Kalus secara *In Vitro*

Sitokinin memiliki beberapa peran dalam pembelahan sel, pemanjangan sel, sintesis protein, serta memicu terjadinya pembentukan kalus (Indah, 2013). Sitokinin memiliki bentuk dasar yaitu *Adenin (6-amino purine)*. Adenin berperan sebagai penentu aktivitas dari sitokinin. Senyawa kimia sitokinin memiliki rantai panjang dan terdapat suatu *double band* pada rantai tersebut, menyebabkan zat pengatur tumbuh ini mengalami peningkatan aktifitas (Abidin, 1985).

Golongan sitokinin sintesis yang memiliki efektifitas cukup tinggi dalam proses pembelahan sel salah satunya yakni BAP. BAP memiliki peran dalam morfogenesis dan pembelahan sel. Dalam kultur jaringan tumbuhan, auksin dan sitokinin berinteraksi yang dapat mempengaruhi deferensiasi jaringan (Sriyanti, 1994).

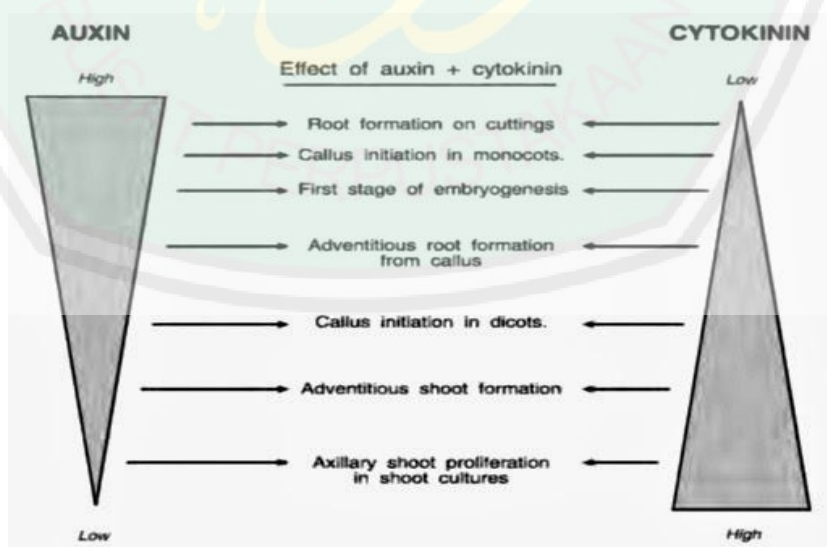
Penelitian Ardiana (2009) melaporkan bahwa 1 mg/l BAP mampu menginduksi kalus dari eksplan kotiledon melon dalam media MS. Selanjutnya Indah (2013) melaporkan bahwa kombinasi 0,5 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP menghasilkan pembentukan kalus nyamplung paling cepat yakni 13 hsi dengan berat basah kalus 197,8 mg. Selanjutnya Sudarmadji (2003) melaporkan bahwa pemberian 2 mg/l BAP dapat memberi hasil kalus kapas dengan pertumbuhan yang paling cepat dan kuantitas kalus yang paling banyak.



Gambar 2.5. Senyawa kimia BAP (Berat Molekul: 225,2492 g/mol) (Gaspar, 1991)

2.6.3. Interaksi NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Pertumbuhan Kalus secara *In Vitro*

Pemberian zat pengatur tumbuh yang tepat pada media dapat memicu pertumbuhan tunas, akar, maupun kalus. Hal ini dipengaruhi oleh jenis ZPT yang digunakan. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan dalam mempercepat morfogeneisi yaitu golongan auksin dan sitokinin. Interaksi antar keduanya yang diberikan dalam media buatan dan kandungan fitohormon endogen tanaman dapat menjadi arah pertumbuhan dan perkembangan suatu kultur (Karjadi, 2008). Menurut Azizah (2017), dibutuhkan adanya rasio pemberian auksin dan sitokinin. Pemberian kombinasi antara auksin dan sitokinin dengan konsentrasi tertentu tergantung dari tujuan kultur jaringannya.



Gambar 2.6. Keseimbangan auksin dan sitokinin (George, 1984)

Berdasarkan gambar 2.6. dapat diketahui bahwa interaksi antara auksin dan sitokinin sangat mempengaruhi pertumbuhan suatu eksplan. Jika konsentrasi auksin terlalu tinggi dibandingkan dengan konsentrasi sitokinin maka akan terjadi pembentukan akar. Jika konsentrasi sitokinin terlalu tinggi dibandingkan dengan konsentrasi auksin maka akan terjadi pertumbuhan tunas. Jika konsentrasi antara auksin dan sitokinin seimbang maka terjadi pembentukan kalus.

Mekanisme pembentukan kalus berawal saat sitokinin bertindak dalam proses transkripsi dan translasi RNA di dalam sel. Proses transkripsi dan translasi berlangsung dalam tahapan metafase. Ketika berlangsungnya proses transkripsi RNA, maka auksin berperan dalam metabolisme RNA dan mengatur proses sintesis protein, karena sintesis protein akan naik dan dapat mengakibatkan sumber tenaga bertambah yang berfungsi untuk pertumbuhan (Rahayu, dkk, 2003). Selanjutnya, proses translasi RNA dimulai dengan pembentukan asam-asam amino yang merupakan komponen dasar protein. Protein tersebut akan membentuk enzim-enzim yang berperan dalam pembelahan sel. Enzim-enzim yang terbentuk antara lain enzim polymerase DNA yang berperan dalam pemanjangan rantai DNA dan memperbaiki kesalahan dalam penyusunan basa nitrogen pada DNA dan enzim ligase yang berperan dalam menghubungkan fragmen-fragmen DNA yang putus-putus pada saat replikasi. Ketersediaan enzim ini di dalam sel akan menyebabkan proses pembelahan sel berlangsung lebih efektif (Hayati, 2010).

Hasil penelitian sebelumnya Sudrajad (2015) melaporkan bahwa pada tanaman pegagan (*Centella asiatica*) kombinasi NAA 3 mg/l + BAP 4 mg/l pada eksplan daun dihasilkan kalus yang berwarna hijau, bertekstur kompak, dan kalus muncul pada hari ke 25 hsi. Aslikhah (2017) melaporkan bahwa 0,6 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP dapat menginduksi kalus Ashitaba (*Angelica keiskei*) dari eksplan daun dengan tekstur kompak, berwarna putih kehijauan, dan hari muncul kalus 10 hsi. Staniszevska (2003) menyatakan bahwa media MS yang ditambah dengan 2,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP dapat menginduksi kalus *Ammi Majus*. Penelitian Purnamaningsih (2011) melaporkan bahwa kombinasi NAA 0,5 mg/l + BAP 1

mg/l dapat menginduksi kalus dari eksplan daun *Artemisia annua* dengan berat basah kalus 844,4 mg dan kandungan *Artemisisnin* sebesar 0,73%.

Emil (2018) melaporkan bahwa eksplan hipokotil delima hitam mengalami pembentukan kalus dengan kombinasi 0,25 mg/l NAA + 1 mg/l BAP dalam media MS. Trimulyo (2004) menyatakan bahwa induksi kalus nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Bth.) dihasilkan pertumbuhan kalus yang optimum pada kombinasi 2 mg/l NAA + 1,5 mg kinetin. Penelitian Junairiah (2018) melaporkan eksplan Sirih (*Piper retrofractum*) dengan kombinasi 0,5 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP dapat membentuk kalus paling cepat yaitu 11,5 hsi, tekstur kompak, dan berwarna putih kecoklatan. Kemudian Wahyuningtiyas (2014) melaporkan bahwa kombinasi 4 mg/l 2,4 D + 0,5 mg/l BAP mampu menginduksi kalus Akasia dengan waktu 33 hari dan persentase 77,78%. Mohajer (2012) menyatakan bahwa 2,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA dapat menginduksi kalus dari eksplan daun *Onobrychis sativa* dengan tekstur kompak dan berwarna hijau.

Hasil penelitian Patel (2013) melaporkan bahwa kombinasi BAP dan NAA dengan konsentrasi 2 mg/l dan 0,5 mg/l dapat menginduksi kalus *Tecomella undulata* (Sm.) dari eksplan daun dengan tekstur kompak dengan warna kuning kehijauan dan berat basah kalus sebesar 0,89 gram.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Percobaan

Penelitian eksperimental ini didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama yaitu auksin berupa *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) yang terdiri dari lima taraf yaitu: 0 mg/l (N0); 0,5 mg/l (N1); 1 mg/l (N2); 1,5 mg/l (N3); 2 mg/l (N4). Sedangkan faktor kedua yaitu sitokinin berupa *Benzyl Amino Purin* (BAP) yang terdiri dari lima taraf yaitu: 0 mg/l (B0); 1 mg/l (B1); 2 mg/l (B2); 3 mg/l (B3); 4 mg/l (B4). Perlakuan kombinasi antara NAA dan BAP dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1. Perlakuan kombinasi antara NAA dan BAP

Perlakuan		BAP (mg/l)				
		0	1	2	3	4
NAA (mg/l)	0	N0B0	N0B1	N0B2	N0B3	N0B4
	0,5	N1B0	N1B1	N1B2	N1B3	N1B4
	1	N2B0	N2B1	N2B2	N2B3	N2B4
	1,5	N3B0	N3B1	N3B2	N3B3	N3B4
	2	N4B0	N4B1	N4B2	N4B3	N4B4

3.2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober 2019 di laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, pengaduk kaca, spatula, neraca analitik, botol kultur, *mocropipet*, *hotplate stirer*, tip, pipet tetes, kompor gas, panci, plastik tahan panas petromax, karet pentil, pH meter, alumunium foil, kertas label, tisu, *autoclaf*, oven, gelas ukur, lemari es, alat diseksi (pinset, blade, scapel), *laminar air flow cabinet* (LAFC), cawan petri, erlenmeyer, korek api,

bunsen, kamera, penyemprot alkohol, AC (*Air conditioner*), rak kultur, dan *safety tools*.

3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksplan daun muda nomor 3 dari ujung tanaman Mangkokan. Bahan untuk sterilisasi yaitu aquades, larutan desinfektan, alkohol 70%, larutan clorox 20%, dan fungisida 0,3% (Juarna, 2016). Media dasar yang digunakan yaitu media *Murashige dan Skoog* (MS). Zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP). Bahan tambahan yang digunakan yaitu, alkohol 96%, spiritus, agar-agar, dan gula.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Persiapan Alat dan Bahan

3.4.1.1. Sterilisasi Ruangan

Ruangan disterilisasi dengan cara alat untuk menanam meliputi pinset, scalpel, tisu, cawan petri, dan bunsen disiapkan di meja LAFC. Selanjutnya meja LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*) disemprot menggunakan alkohol 70% kemudian LAFC ditutup dan lampu UV dinyalakan selama satu jam. Setelah satu jam, lampu UV dimatikan dan blower dinyalakan. Sebelum dilakukan inisiasi, meja LAFC disemprot kembali menggunakan alkohol 70%.

3.4.1.2. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dimulai dengan merendam alat-alat menggunakan tipol selama 1 hari (24 jam). Kemudian alat-alat gelas seperti botol kultur, erlenmeyer, cawan petri, serta alat-alat diseksi (pinset, scalpel, gunting) dicuci menggunakan detergen cair kemudian dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya dikeringkan didalam oven dengan suhu 121°C selama 3 jam. Alat gelas seperti cawan petri dibungkus dengan kertas, sedangkan alat-alat diseksi dibungkus dengan aluminium foil. Kemudian disterilkan menggunakan *autoclaf* dengan suhu 121°C dan tekanan 1 psi selama 30-45 menit.

3.4.1.3. Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh

Pembuatan larutan stok digunakan untuk mempermudah dalam pembuatan media. Cara kerja dalam pembuatan larutan stok hormon dengan konsentrasi 100 mg/l dalam 1000 ml aquades yaitu dengan ditimbang serbuk NAA dan BAP sebanyak 0,01 gram kemudian ditambah dengan aquades sebanyak 1000 ml dalam gelas ukur yang berbeda. Selanjutnya larutan dihomogenkan hingga larutan tercampur merata menggunakan *magnetic stirer*. Kemudian dimasukkan kedalam masing-masing botol dan diberi label.

3.4.1.4. Pembuatan Medium

Langkah kerja dalam pembuatan media yaitu dengan agar dan gula ditimbang masing-masing sebesar 29,25 gram dan 9,75 gram, kemudian serbuk media MS ditimbang sebanyak 4,32 gram. Selanjutnya media MS yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 1 liter, kemudian gula dimasukkan dan aquades steril ditambahkan sampai volume larutan mencapai 1 liter, lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer*. Berikutnya agar dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan dengan *hotplate* dan *stirer* sampai mendidih. Setelah mendidih, erlenmeyer diangkat dan dituangkan ke dalam setiap botol perlakuan zpt, selanjutnya larutan media diukur pH nya menggunakan kertas pH. pH yang baik untuk media perlakuan berkisar antara 5,8-5,9. Jika pH terlalu asam maka ditambahkan NaOH dan jika pH terlalu basa maka ditambah larutan HCL. Kemudian larutan media dimasukkan dalam botol kultur dan ditutup menggunakan plastik dan karet gelang. Selanjutnya media disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 psi selama 30-45 menit.

3.4.1.5. Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan dua metode yaitu sterilisasi luar dan sterilisasi dalam. Metode pertama yaitu sterilisasi luar dengan cara daun muda Mangkokan diambil dan dipotong lebih kecil untuk mempermudah proses sterilisasi. Selanjutnya daun dicuci dibawah air mengalir sampai bersih selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan desinfektan 10% selama 2-3 menit,

dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Metode selanjutnya yaitu sterilisasi dalam dengan cara: daun yang sudah bersih direndam dengan alkohol 70% selama 15 detik. Selanjutnya dibilas dengan aquades selama 2 menit, lalu direndam dalam larutan clorox 20% selama 5 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril selama 2 menit. Selanjutnya direndam dalam larutan fungisida 0,3% selama 3 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril selama 2 menit. Selanjutnya direndam dalam alkohol 70% selama 30 detik, lalu direndam dalam aquades steril sebanyak 3 kali dengan waktu masing-masing yaitu 3 menit, 5 menit, dan 10 menit.

3.4.2. Penanaman Eksplan

Eksplan yang sudah di sterilisasi dipotong dengan ukuran $\pm 0,5 \text{ cm} \times 0,5 \text{ cm}$. selanjutnya ditanam pada media perlakuan yang sudah ditambah zpt NAA dan BAP dengan posisi daun bagian abaksial (bawah) menempel pada media. Hal tersebut dilakukan didalam LAFC dan setiap langkah dilakukan didekat api bunsen. Kemudian disimpan dalam ruang inkubasi dengan temperatur 21°C selama 4 minggu.

3.4.3. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan cara botol kultur yang sudah ditanami eksplan disemprot alkohol 70% setiap 3 hari sekali dan diletakkan dalam ruang inkubasi dengan suhu 21°C .

3.4.4. Pengambilan Data

Parameter pengamatan dilakukan terhadap variabel-variabel berikut ini:

1. Pengamatan pertama dilakukan setiap hari untuk melihat hari muncul kalus dan respon eksplan terhadap media, serta melihat ada atau tidaknya kontaminasi pada hasil kultur baik pada media maupun eksplan.
2. Pengamatan kedua dilakukan pada akhir penelitian yakni setelah 6 minggu penanaman (42 HST) yang terdiri dari:
 - a. Pengamatan Kualitatif Kalus

Parameter yang diamati untuk menunjukkan kualitatif kalus meliputi:

i. Hari Muncul Kalus (HMK)

Pengamatan HMK dilakukan setiap hari pada eksplan yang muncul kalus pertama kali ditandai dengan munculnya granula sel (sel amorf) pada permukaan eksplan. Pembentukan kalus pada eksplan menunjukkan adanya respon pertumbuhan dalam kultur *in vitro*.

ii. Warna kalus

Pengamatan warna kalus dilakukan diakhir pengamatan dengan melihat perubahan warna yang terbentuk pada setiap kalus.

iii. Tekstur kalus

Pengamatan tekstur kalus dilakukan di akhir pengamatan secara visual pada setiap kalus dengan cara melihat kalus yang remah (*friable*), kalus intermediet, dan kalus kompak (*non friable*).

iv. Struktur Anatomi Kalus

Pengamatan struktur anatomi kalus dilakukan di akhir pengamatan dengan cara kalus basah disayat tipis kemudian diamati struktur anatomi kalus dibawah mikroskop dengan perbesaran tertentu.

b. Pengamatan Kuantitatif Kalus

Parameter yang diamati untuk menunjukkan kuantitatif kalus meliputi:

i. Berat kalus

Pengamatan berat kalus setiap perlakuan dilakukan di akhir pengamatan dengan menimbang berat kalus basah (hanya yang terbentuk kalus) menggunakan neraca analitik.

ii. Luas kalus

Pengamatan luas kalus dilakukan diakhir pengamatan dengan menghitung luas eksplan yang berkalus menggunakan kertas milimeter. Cara pengukuran luas kalus yakni eksplan diletakkan diatas kertas milimeter kemudian di hitung berapa kotak penambahan luas kalus secara horizontal dan vertikal pada kertas milimeter. Kemudian hasil perhitungan secara horizontal dikalikan dengan hasil perhitungan secara vertikal.

iii. Persentase eksplan tumbuh kalus

Pengamatan persentase eksplan tumbuh kalus dilakukan diakhir pengamatan dengan menghitung jumlah eksplan yang berkalus dengan cara:

$$\text{Persentase tumbuh kalus} = \frac{\Sigma \text{Eksplan yang tumbuh kalus}}{\Sigma \text{Semua eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

iv. Persentase eksplan hidup

Pengamatan persentase eksplan hidup dilakukan diakhir pengamatan dengan menghitung jumlah eksplan yang hidup dengan cara:

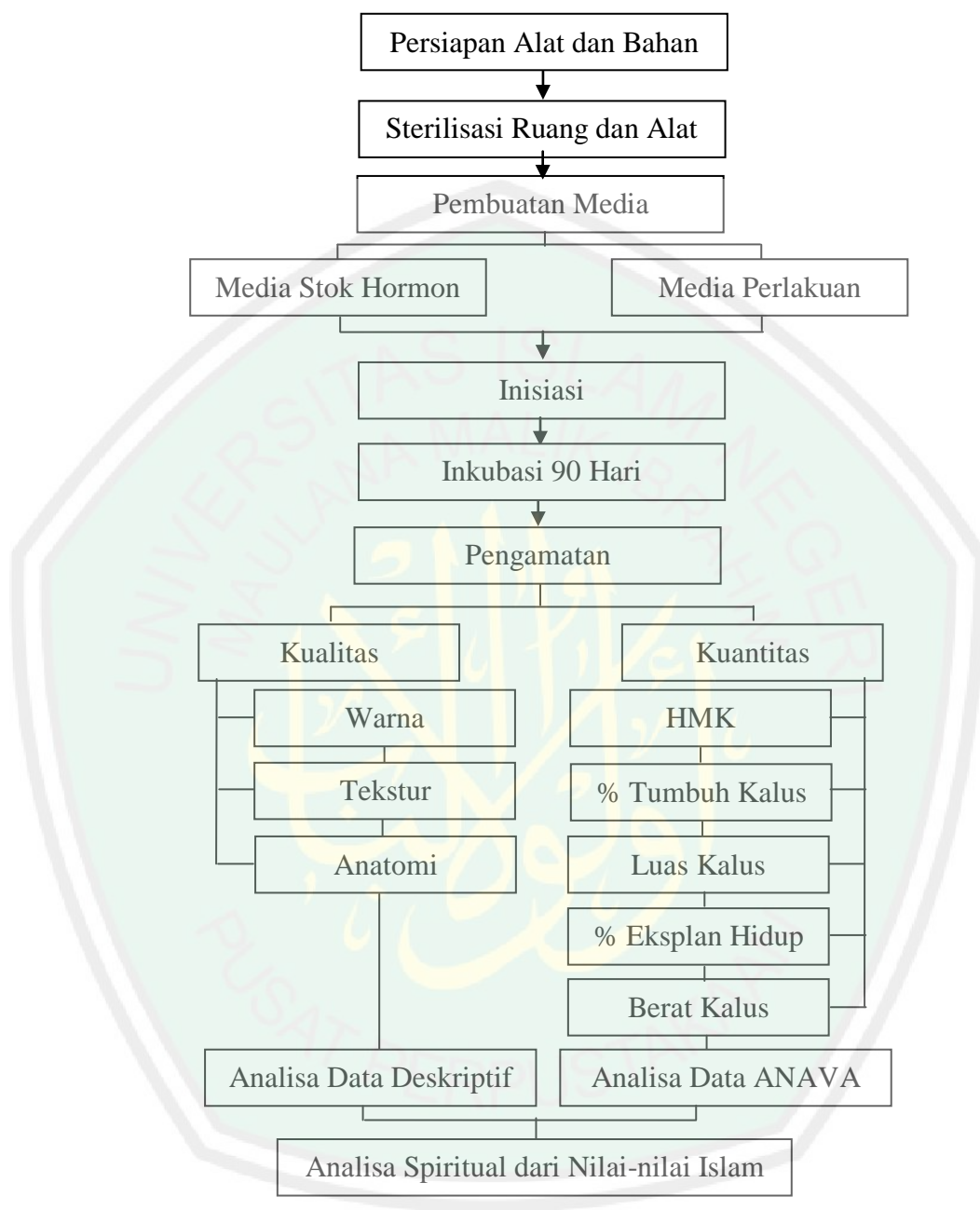
$$\text{Persentase eksplan hidup} = \frac{\Sigma \text{Eksplan yang hidup}}{\Sigma \text{Semua eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

3.4.5. Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif berupa hari munculnya kalus, warna kalus, tekstur kalus, dan struktur anatomi kalus. Data kuantitatif meliputi berat kalus, persentase luasan kalus, persentase eksplan tumbuh kalus, dan persentase eksplan hidup dianalisis menggunakan uji statistik *analysis of variant* (ANOVA). Apabila berpengaruh nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5% untuk mengetahui pengaruh pemberian perlakuan kombinasi ZPT NAA dan BAP terbaik pada media MS terhadap induksi kalus Mangkoka menggunakan SPSS 16.0.

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis variansi serta analisis nalar spriritual Islam. Hasil penelitian dianalisis menggunakan sumber dari beberapa ayat Al-Qur'an dan hadits, serta didukung dengan pemikiran-pemikiran mengenai islam yang terkandung dalam penelitian tersebut, sehingga pemikiran islam dapat menunjukkan khalifah di bumi dan sebagai tanggung jawab sebagai ilmuan islam.

3.5. Desain Penelitian



Gambar 3.1. Desain Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh NAA terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) pada Media MS secara *In Vitro*

Hasil ringkasan varian pengaruh NAA terhadap pertumbuhan kalus daun Mangkokan selama 90 HST disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	59,020*	2,501
Persentase Eksplan Tumbuh (%)	39,080*	2,501
Luas Kalus (mm ²)	35,674*	2,501
Berat Kalus (gram)	30,364*	2,501
Persentase Eksplan Hidup (%)	0,643	2,501

Keterangan: (*) menunjukkan bahwa NAA yang ditambahkan berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis varian ANOVA menunjukkan bahwa penambahan NAA berpengaruh nyata terhadap variabel hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, dan berat kalus karena F hitung lebih besar dari F tabel. Namun NAA tidak berpengaruh terhadap variabel persentase eksplan hidup terlihat F hitung lebih kecil dari F tabel. Variabel-variabel tersebut merupakan indikator terjadinya pertumbuhan kalus pada kultur *in vitro*. Variabel yang berpengaruh nyata perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Ringkasan hasil uji DMRT 5% terangkum dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil DMRT 5% pengaruh NAA terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Konsentrasi NAA (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HMK)	Persentase Eksplan Tumbuh (%)	Luas Kalus (mm ²)	Berat Kalus (Gram)
0	37,33b	22,67a	2,91a	0,22a
0,5	27,80a	60,00b	4,48b	0,37b
1	27,80a	72,00b	5,99c	0,51c
1,5	27,13a	81,33b	6,75c	0,59c
2	26,80a	77,33b	7,13c	0,55c

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

Berdasarkan hasil DMRT 5% pada tabel 4.2, menunjukkan bahwa perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l merupakan perlakuan paling efektif terhadap hari muncul kalus (HMK) dan persentase eksplan tumbuh dengan rata-rata kalus muncul pada hari ke-27,80 HST dan persentase tumbuh sebesar 60%. Penelitian Purnamaningsih (2011) melaporkan bahwa penambahan konsentrasi NAA 0,5 mg/l + BAP 0 mg/l mampu menginduksi kalus dari eksplan daun ganjo lalai (*Artemisia annua*) dengan hari muncul kalus pada hari ke 25 HST dengan persentase pembentukan kalus 100%. Elaleem (2015) menyatakan bahwa konsentrasi NAA 0,5 mg/l mampu menginduksi kalus dari biji jarak (*Ricinus communis* L.) dengan kecepatan kalus tumbuh pada hari ke-7 dan persentase eksplan berkalus yakni 100%.

Hasil DMRT 5% selanjutnya menunjukkan bahwa perlakuan NAA dengan konsentrasi 1 mg/l merupakan perlakuan paling efektif terhadap variabel luas kalus dan berat kalus dengan rata-rata luas kalus yaitu 5,99 mm² dan rerata berat kalus sebesar 0,51 gram. Hardiyanto (2004) melaporkan bahwa NAA dengan konsentrasi 1 mg/l dapat menginduksi kalus daun dewa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) dengan berat basah kalus sebesar 1.026 mg. Penelitian Pandiangan (2006) melaporkan bahwa NAA dalam media MS dengan konsentrasi 1 mg/l dapat menginduksi kalus daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) dengan berat kering kalus 166,60 mg. Arroisi (2016) menyatakan bahwa penambahan 0,5 mg/l

NAA + 0 mg/l BAP dapat menginduksi kalus daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* Merr.) dengan berat basah kalus sebesar 0,3901 gram

Menurut Katuuk (1989) kalus merupakan massa jaringan yang belum terdiferensiasi yang mengalami proliferasi akibat adanya perlukaan atau sayatan pada eksplan sehingga bersifat meristematik karena sel-selnya bersentuhan langsung dengan media. George (2008) menambahkan bahwa kalus yang muncul pada bagian eksplan yang terluka diduga akibat adanya respon penambahan ZPT berupa NAA sehingga terjadi rangsangan untuk menutupi luka pada jaringan eksplan. Hal ini selaras dengan pendapat Permadi (2014) bahwa kalus terbentuk dengan waktu yang cepat disebabkan oleh konsentrasi auksin yang meningkat. Saat kalus muncul pertama kali pada bagian eksplan yang terluka, ZPT eksogen akan berdifusi ke dalam sel dan bersatu dengan ZPT endogen untuk pembentukan kalus dengan memacu pembelahan sel terutama pada bagian eksplan yang luka.

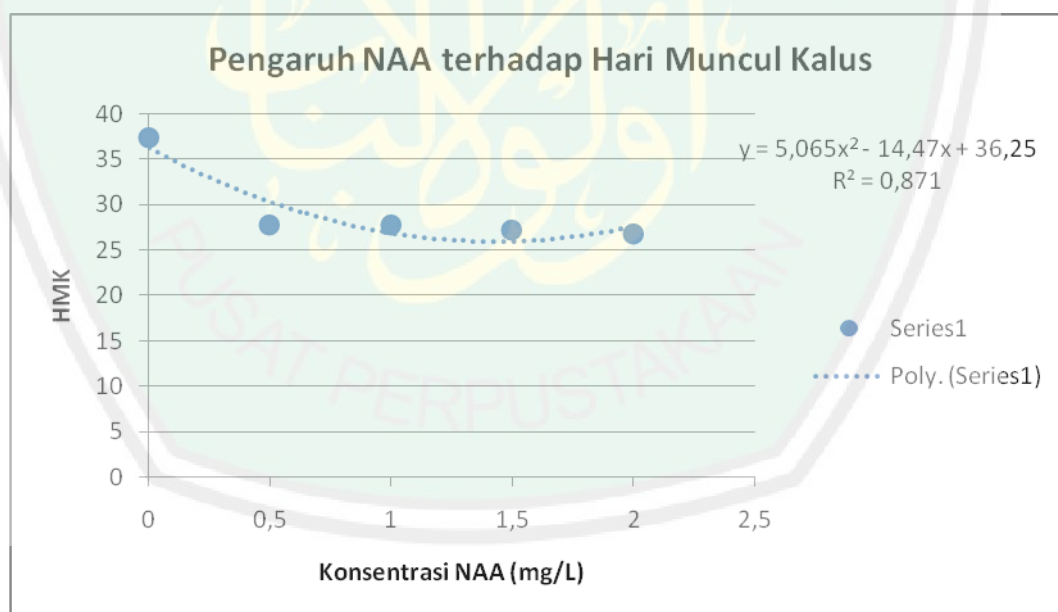
Menurut Sitorus (2011), kalus terbentuk akibat terjadi perlukaan pada bagian eksplan, sehingga sel-sel eksplan tersebut akan memperbaiki diri pada sel-sel yang rusak. Kemudian kalus yang muncul pada tulang daun karena pada tulang daun terdapat jaringan pengangkut. Hal ini juga didukung oleh Intias (2012) bahwa pertumbuhan kalus yang cepat pada tulang daun karena pada tulang daun terdapat kandungan nutrisi yang lebih banyak dibandingkan dengan jaringan daun yang tidak memiliki jaringan pengangkut. Faktor lain dari munculnya kalus yaitu kandungan hormon endogen maupun eksogen yang dimiliki oleh setiap tanaman berbeda-beda.

Menurut Hrazdina (1992), bahwa NAA yang ditambahkan dalam media kultur dapat mendorong pembelahan sel dan sintesis protein sehingga dapat merangsang pertumbuhan kalus. Menurut Salisbury (1995) hormon NAA merupakan jenis auksin yang berperan dalam pembentangan sel dengan mengaktifkan pompa proton (H^+) yang terletak pada membran plasma dan menurunkan pH sehingga terjadi pengenduran dinding sel dan pertumbuhan yang cepat. pH yang rendah dapat mengaktifkan beberapa enzim perusak dinding sel

(selulosa). Hal tersebut memungkinkan dinding sel lebih mudah merenggang akibat adanya enzim yang dapat memutus ikatan pada polisakarida dinding.

Wattimena (1991) menyatakan bahwa auksin menyebabkan terjadi elongasi sel dan pembesaran sel serta dapat meningkatkan berat basah. Penyebab dari meningkatnya berat basah karena sel tersebut banyak menyerap air. Menurut Leon (2001), apabila sel atau jaringan tumbuhan mengalami luka maka jaringan tersebut akan mengaktifkan mekanisme pertahanan diri pada bagian yang terluka maupun yang tidak terluka. Sehingga terjadi perubahan arah jalur metabolisme dan membentuk ekspresi gen-gen tertentu. Pada bagian yang terluka saja yang akan membentuk struktur sel yang tidak beraturan yang nantinya awal munculnya kalus, kemudian mengalami diferensiasi, dan selanjutnya akan mengeluarkan senyawa metabolit sekunder.

Berikut merupakan gambar analisis regresi untuk mengetahui pemberian konsentrasi NAA paling optimum terhadap induksi kalus Daun Mangkogan.

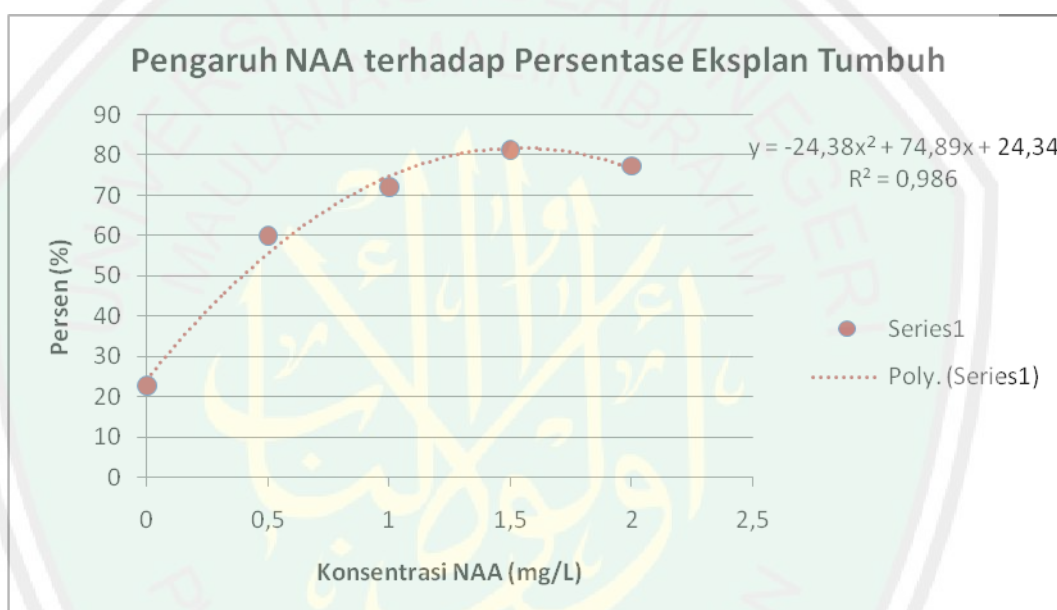


Gambar 4.1. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel hari muncul kalus Daun Mangkogan

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.1 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NAA dengan hari muncul kalus membentuk pola garis kudratik $y = 5,065x^2 - 14,47x + 36,25$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,871$. Nilai

determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi NAA dengan kecepatan hari muncul kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = 5,065x^2 - 14,47x + 36,25$ mencapai titik balik terendah pada koordinat (1,43 ; 25,91). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA 1,43 mg/l menyebabkan hari muncul kalus paling cepat yaitu hari ke-25,91 HST.

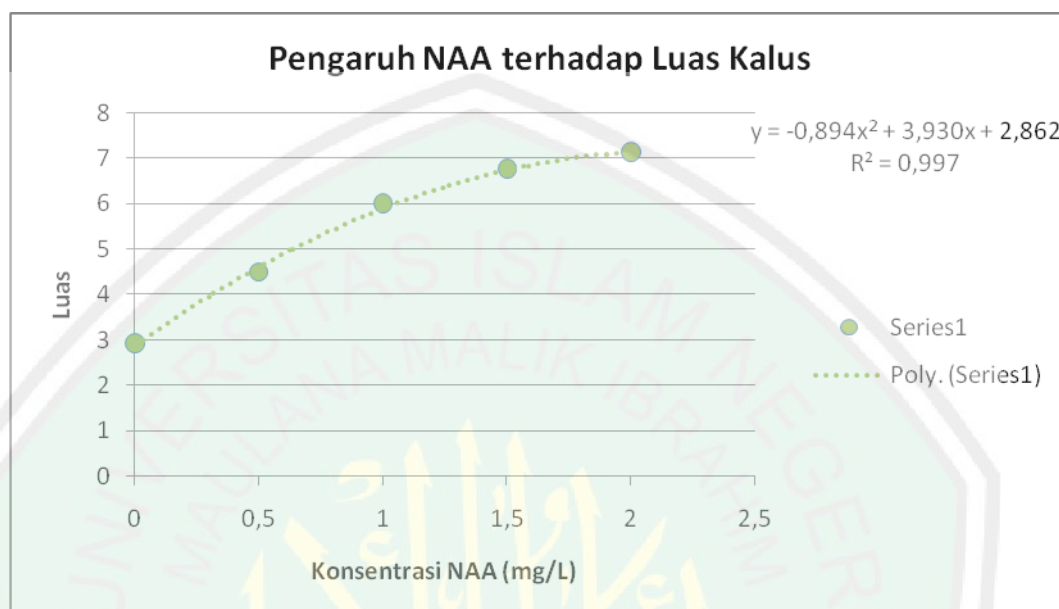
Hasil penelitian Rahmi (2010) melaporkan bahwa konsentrasi 1,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP mampu menginduksi kalus dari eksplan biji jeruk kanci (*Citrus sp.*) dengan persentase eksplan hidup sebesar 88,89%.



Gambar 4.2. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel persentase eksplan tumbuh Daun Mangkokan

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.2 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NAA dengan persentase eksplan tumbuh membentuk pola garis kudratik $y = -24,38x^2 + 74,89x - 24,34$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,986$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi NAA dengan kecepatan persentase eksplan tumbuh. Berdasarkan hasil analisis diferensial persamaan $y = -24,38x^2 + 74,89x - 24,34$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (1,53 ; 81,85). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA 1,53 mg/l menyebabkan rata-rata eksplan tumbuh tertinggi yaitu 81,85%.

Hasil penelitian Rahmi (2010) melaporkan bahwa konsentrasi 1,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP mampu menginduksi kalus jeruk kanci (*Citrus sp.*) dari eksplan biji dengan persentase eksplan membentuk kalus sebesar 87,50%.

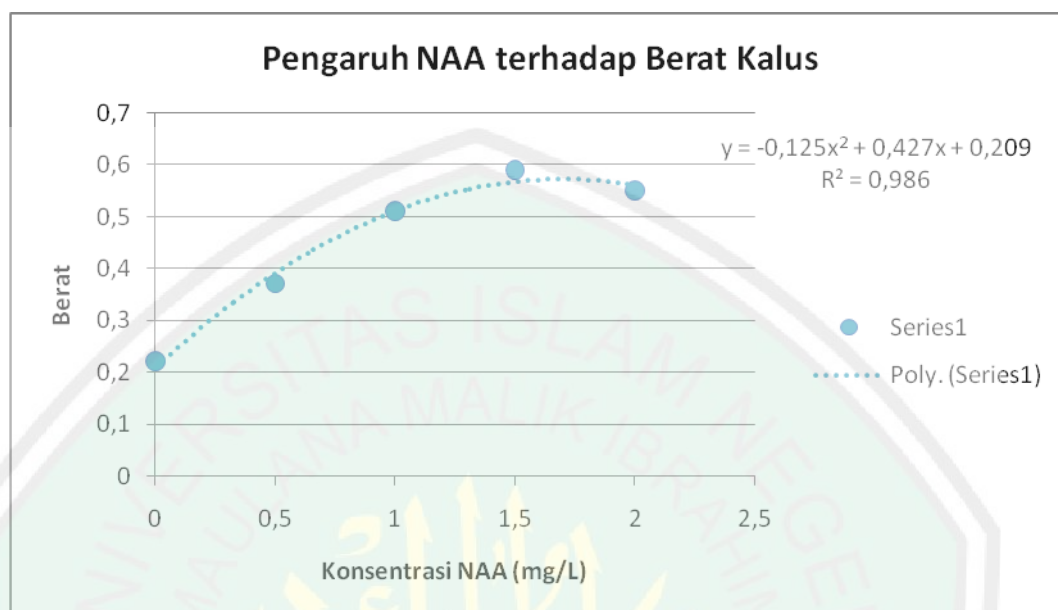


Gambar 4.3. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel luas kalus Daun Mangkokan

Hasil analisis regresi pada gambar 4.3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NAA dengan luas kalus membentuk pola garis kudratik $y = -0,894x^2 + 3,930x + 2,862$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,997$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi NAA dengan kecepatan luas kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -0,894x^2 + 3,930x + 2,862$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (2,19 ; 7,18). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA 2,19 mg/l menyebabkan rata-rata luas kalus tertinggi yaitu 7,18 mm².

Hasil penelitian Hafiizh (2016) pada kalus daun ganjo lalai (*Artemisia annua L.*) bahwa konsentrasi NAA 2 mg/l + BAP 0 mg/l dapat membentuk kalus pada hari ke-7 HST dengan persentase berkalus sebesar 100% , kalus berwarna putih kehijauan. Penelitian Cavusoglu (2013) melaporkan bahwa penambahan NAA dengan konsentrasi 2 mg/l berhasil menginduksi kalus dari biji pepino (*Solanum*

muricatum) dengan persentase berkalus sebesar 94,44% dan memiliki ukuran kalus 0,85 cm.



Gambar 4.4. Hubungan antara konsentrasi NAA dengan variabel berat kalus Daun Mangkokan

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.4 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NAA dengan berat kalus membentuk pola garis kudratik $y = -0,125x^2 + 0,427x + 0,209$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,986$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi NAA dengan kecepatan berat kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -0,125x^2 + 0,427x + 0,209$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (1,70 ; 0,57). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA 1,7 mg/l menyebabkan rata-rata berat kalus tertinggi yaitu 0,57 gram.

Hasil penelitian Samsumaharto (2010) melaporkan bahwa penambahan NAA dengan konsentrasi 2 mg/l berhasil menginduksi kalus daun lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) sebesar 86,67% dalam waktu tercepat 5,69 hari dan rerata berat kalus kering terbesar yakni 0,070 gram.

4.2. Pengaruh BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) pada Media MS secara *In Vitro*

Hasil analisis varian ANAVA terhadap hasil pengamatan yang dilakukan selama 90 HST, menunjukkan BAP berpengaruh nyata terhadap semua variabel pengamatan yang terdiri dari hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, persentase eksplan hidup, dan berat kalus (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) pengaruh konsentrasi BAP terhadap induksi kalus metabolit Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	52,458*	2,501
Persentase Eksplan Tumbuh (%)	43,125*	2,501
Luas Kalus (mm ²)	32,964*	2,501
Persentase Eksplan Hidup (%)	4,061*	2,501
Berat Kalus (gram)	28,905*	2,501

Keterangan: (*) menunjukkan bahwa NAA yang ditambahkan berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis varian ANAVA menunjukkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel yang artinya BAP berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati yaitu hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, persentase eksplan hidup, dan berat kalus. Sehingga perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Ringkasan hasil uji DMRT 5% terangkum dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil DMRT 5% pengaruh BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Konsentrasi BAP (mg/l)	Hari Muncul Kalus (HMK)	Persentase Eksplan Tumbuh (%)	Luas Kalus (mm ²)	Persentase Eksplan Hidup (%)	Berat Kalus (Gram)
0	35,67d	18,67a	3,20a	76,00a	0,25a
1	30,80c	60,00b	5,21b	93,33b	0,43b
2	29,13bc	76,00bc	4,64ab	94,67b	0,38b
3	26,47ab	82,67c	7,24c	97,33b	0,61c
4	24,80a	76,67bc	6,96c	92,00b	0,58c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan tidak berbeda pada DMRT 5%

Berdasarkan hasil DMRT 5% pada tabel 4.4, menunjukkan bahwa perlakuan BAP dengan konsentrasi 3 mg/l merupakan perlakuan yang paling efektif terhadap variabel hari muncul kalus, luas kalus, dan berat kalus dengan rerata muncul kalus yakni 26,47 HST, rerata luas kalus sebesar 7,24 mm², dan rerata berat kalus yakni 0,61 gram. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa semakin meningkatnya konsentrasi BAP, maka semakin cepat kalus itu tumbuh. Penelitian Indu (2013) melaporkan bahwa konsentrasi 3 mg/l BAP dapat meningkatkan kandungan flavonoid pada kalus jabon putih (*Anthocephalus indicus* A. Rich) dari eksplan daun sekitar 3,6%. Hal ini sesuai dengan penelitian Sudrajad (2015) pada kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) bahwa konsentrasi NAA 0 mg/l + BAP 3 mg/l dapat menginduksi kalus paling cepat yaitu 29 HST dengan kalus berwarna hijau kekuningan.

Menurut Yusnita (2003), sitokinin yang digunakan dengan konsentrasi yang tepat mampu menggandakan dan menumbuhkan kalus, selain itu juga dapat menumbuhkan tunas aksilar atau tunas adventif. Sitokinin menurut Harjadi (2009) berfungsi untuk pembelahan sel atau sitokinesis yang dapat mempercepat pertumbuhan kalus dan tunas.

Hasil DMRT 5% selanjutnya menunjukkan bahwa konsentrasi 2 mg/l BAP merupakan perlakuan yang paling efektif terhadap variabel persentase eksplan tumbuh yakni sebesar 76,00%. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Harisanraj (2008) bahwa semakin tinggi konsentrasi ZPT yang ditambahkan maka akan semakin menambah persentase kalus. Kemampuan eksplan dalam menumbuhkan kalus, selain dari pengaruh ZPT endogen yang dikandung namun juga dipengaruhi oleh umur eksplan, genotip eksplan, daya respon masing-masing kalus, dan lingkungan kultur. Menurut George (1993), BAP yang digunakan dalam konsentrasi yang tepat berhasil merangsang penggandaan kalus dan tunas karena BAP secara alami berperan aktif dalam organogenesis.

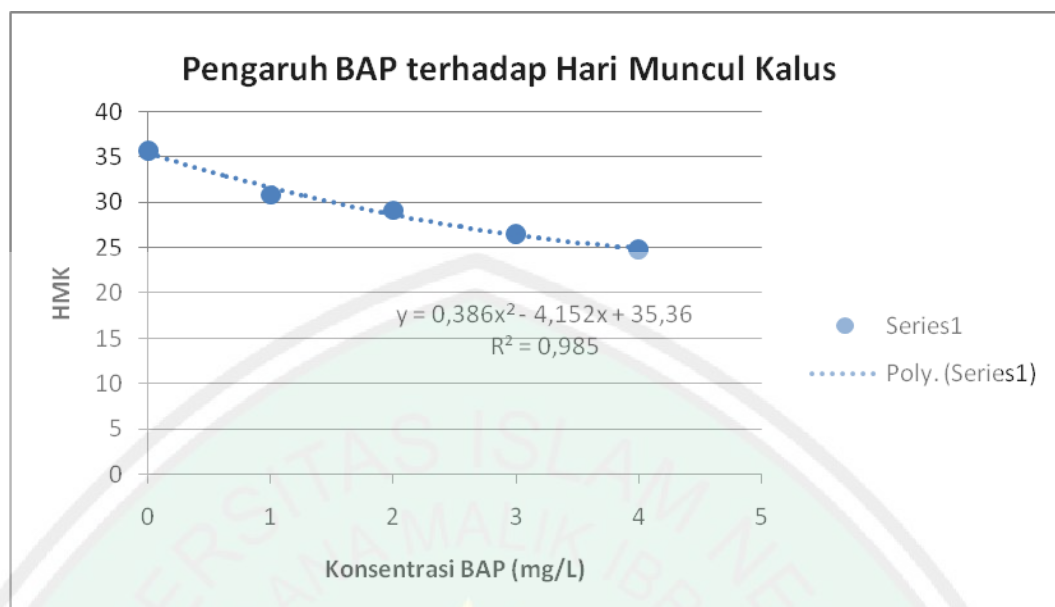
Hasil analisis DMRT 5% selanjutnya menunjukkan konsentrasi 1 mg/l BAP merupakan perlakuan yang paling efektif terhadap variabel persentase eksplan hidup dengan rerata eksplan hidup sebesar 93,33%. Noggle (1983) menyatakan

bahwa BAP merupakan jenis sitokinin yang sangat aktif karena struktur pada BAP hampir sama dengan struktur pada kinetin sehingga sangat aktif pada pertumbuhan ataupun proliferasi kalus. George (1984) menambahkan bahwa BAP merupakan jenis sitokinin yang efektif dalam memacu atau mendorong kelanjutan perkembangan kalus.

Menurut Wijayani (2007) bahwa dalam proses pembelahan sel, sitokinin berperan dalam dua tahapan. Tahap pertama sitokinin dapat memacu sitokinesis dalam siklus sel. Sitokinin mendorong pembelahan sel dengan cara mentransisi fase G1 ke sitokinesis dan fase G2 ke mitosis dengan meningkatkan laju sintesis protein. Protein tersebut merupakan protein pembangun atau enzim yang diperlukan dalam mitosis. Sitokinin juga memperpendek fase S yakni dengan mengaktifkan DNA, sehingga ukuran salinan DNA menjadi dua kali lebih besar kemudian laju sintesis DNA digandakan. Tahap kedua yakni sitokinin dapat mempengaruhi gen KNOX (Knotted Like Homeobox). Gen KNOX mengkode suatu protein yang berperan dalam memacu pertumbuhan dan pemeliharaan meristem ujung batang agr sel-selnya selalu bersifat meristematik.

Perlakuan 4 mg/l BAP mengalami penurunan aktivitas pertumbuhan kalus, luas kalus, persentase eksplan hidup, dan berat kalus. Hal ini disebabkan karena tingginya konsentrasi sitokinin dalam media yang dapat menghambat pertumbuhan. Menurut Mariska (1992) bahwa pertumbuhan dan morfogenesis tanaman dalam kultur *in vitro* akan terhambat apabila menggunakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tinggi. Khaniyyah (2012) menambahkan bahwa konsentrasi ZPT yang terlalu tinggi dapat menghentikan respon eksplan karena bersifat toksik atau beracun bagi eksplan.

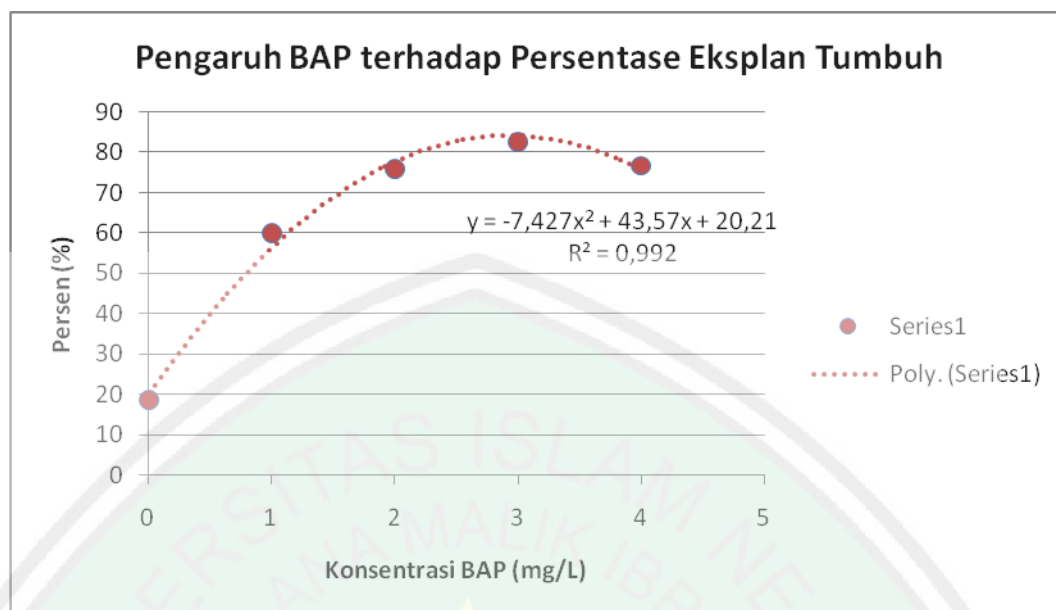
Berikut merupakan gambar analisis regresi untuk mengetahui pemberian konsentrasi BAP paling optimum terhadap induksi kalus Daun Mangkogan.



Gambar 4.5. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel hari muncul kalus Daun Mangkogan

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.5 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP dengan hari muncul kalus membentuk pola garis kudratik $y = 0,386x^2 - 4,152x + 35,36$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,985$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian BAP dengan kecepatan hari muncul kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = 0,386x^2 - 4,152x + 35,36$ mencapai titik balik terendah pada koordinat (5,37 ; 24,19). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 5,37 mg/l menyebabkan hari muncul kalus paling cepat yaitu hari ke-24,19 HST.

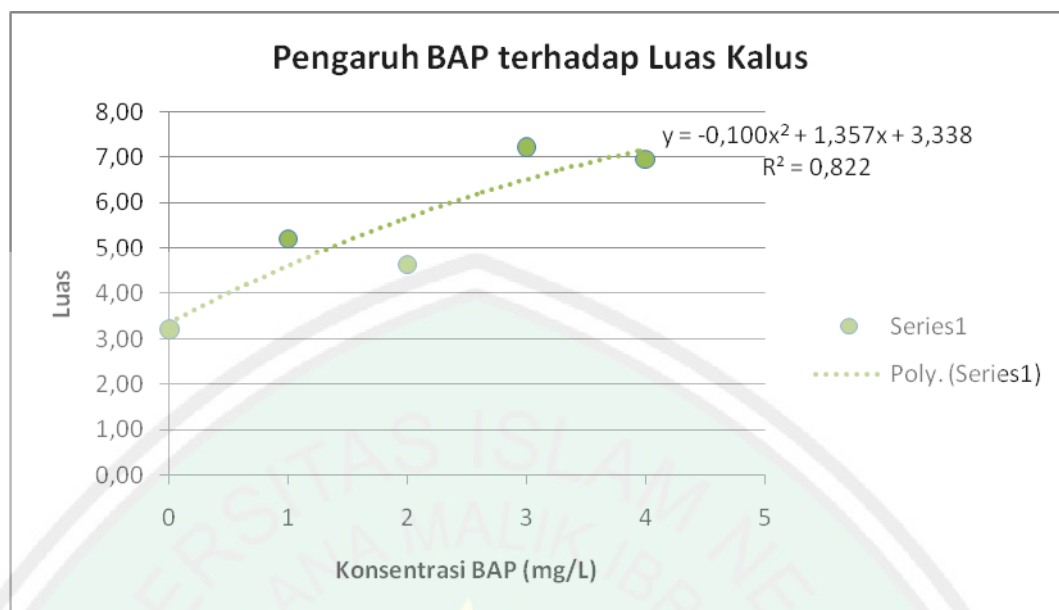
Hasil penelitian Rahmi (2010) melaporkan bahwa konsentrasi 0 mg/l NAA + 5 mg/l BAP mampu menginduksi kalus biji jeruk kanci (*Citrus sp.*) dengan persentase eksplan membentuk kalus sebesar 33,33%. Penelitian Zulfitra (2018) melaporkan bahwa konsentrasi BAP 5 mg/l dapat menginduksi kalus Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dari eksplan pucuk daun dengan waktu pembentukan kalus 41,34 HST.



Gambar 4.6. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel persentase eksplan tumbuh Daun Mangkokan

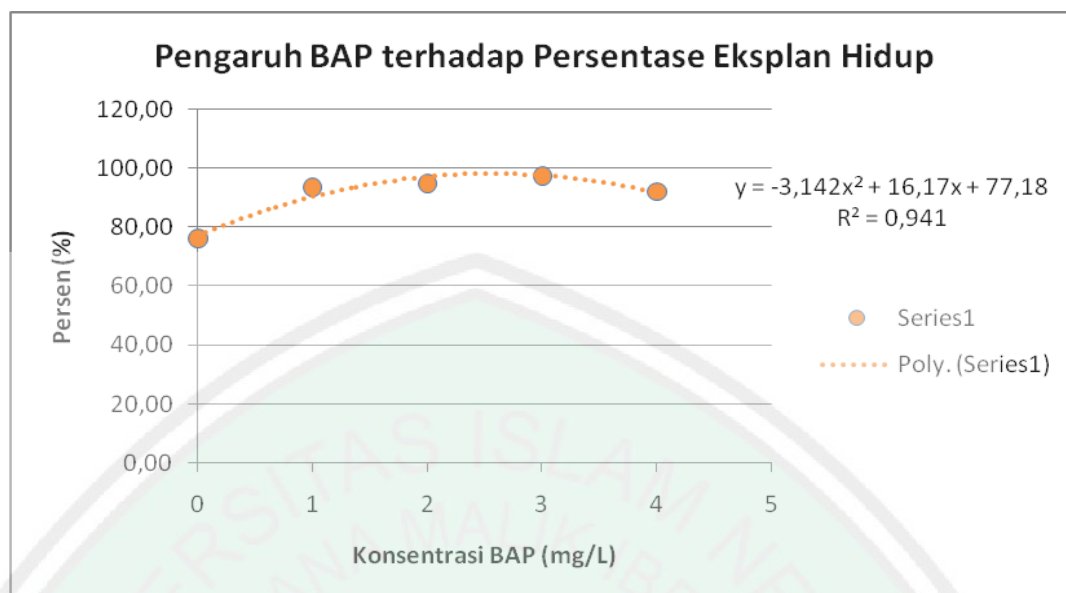
Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.6 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP dengan persentase eksplan tumbuh membentuk pola garis kudratik $y = -7,427x^2 + 43,57x + 20,21$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,992$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian BAP dengan kecepatan persentase eksplan tumbuh. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -7,427x^2 + 43,57x + 20,21$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (2,93 ; 84,11). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 2,93 mg/l menyebabkan rata-rata eksplan tumbuh tertinggi yaitu 84,11%.

Hasil penelitian Sudrajad (2011) melaporkan bahwa konsentrasi 0 mg/l NAA + 3 mg/l BAP mampu menginduksi kalus daun Ekinase (*Echinacea purpurea*) dengan persentase eksplan membentuk kalus sebesar 80%. Penelitian Zulfitra (2018) melaporkan bahwa konsentrasi BAP 3 mg/l dapat menginduksi kalus Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) pada eksplan pucuk daun dengan persentase eksplan membentuk kalus sebesar 72,21%.



Gambar 4.7. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel luas kalus Daun Mangkokan

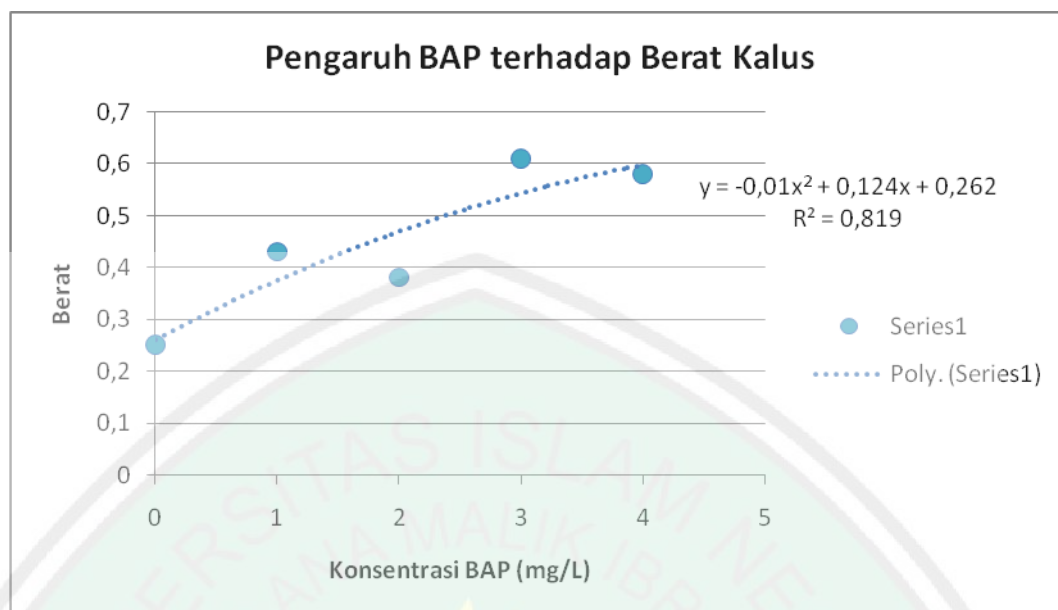
Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.7 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP dengan luas kalus membentuk pola garis kudratik $y = -0,100x^2 + 1,357x + 3,338$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,822$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian BAP dengan kecepatan luas kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -0,100x^2 + 1,357x + 3,338$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (6,78 ; 7,94). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 6,78 mg/l menyebabkan rata-rata luas kalus tertinggi yaitu 7,94 mm².



Gambar 4.8. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel persentase eksplan hidup Daun Mangkokan

Hasil analisis regresi pada gambar 4.8 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP dengan persentase eksplan hidup membentuk pola garis kudratik $y = -3,142x^2 + 16,17x + 77,18$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,941$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian BAP dengan kecepatan persentase eksplan hidup. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -3,142x^2 + 16,17x + 77,18$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (2,57; 97,98). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 2,57 mg/l menyebabkan rata-rata eksplan hidup tertinggi yaitu 97,98%.

Hasil penelitian Rahmi (2010) melaporkan bahwa konsentrasi 0 mg/l NAA + 3 mg/l BAP pada eksplan biji jeruk kanci (*Citrus sp.*) mempengaruhi persentase eksplan hidup sebesar 88,89%. Penelitian Zulfitra (2018) melaporkan bahwa konsentrasi BAP 3 mg/l dapat menginduksi kalus Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dari eksplan daun dengan persentase eksplan hidup sebesar 100%.



Gambar 4.9. Hubungan antara konsentrasi BAP dengan variabel berat kalus Daun Mangkokan

Hasil analisis regresi pada gambar 4.9 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BAP dengan berat kalus membentuk pola garis kudratik $y = -0,040x^2 + 0,221x + 0,020$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,938$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian BAP dengan berat kalus. Hasil analisis diferensial persamaan $y = -0,01x^2 + 0,124x + 0,262$ mencapai titik tertinggi pada koordinat (6,2 ; 0,65). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi BAP 6,2 mg/l menyebabkan rata-rata berat kalus tertinggi yaitu 0,65 gram.

4.3. Pengaruh Kombinasi *1-Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *6-Benzyl Adenin Purine* (BAP) terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *In Vitro*

Hasil induksi kalus Daun Mangkokan yang dilakukan selama 90 HST menunjukkan bahwa kombinasi antara NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap hari muncul kalus dan luas kalus. Ringkasan hasil analisis varian (ANAVA) terangkum dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan hasil analisis varian (ANOVA) pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Variabel	F Hitung	F Tabel 5%
Hari Muncul Kalus (HMK)	4,212*	1,733
Persentase Eksplan Tumbuh (%)	1,648	1,733
Luas Kalus (mm ²)	2,363*	1,733
Persentase Eksplan Hidup (%)	1,128	1,733
Berat Kalus (gram)	1,603	1,733

Keterangan: (*) menunjukkan bahwa kombinasi NAA dan BAP yang ditambahkan berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis varian (ANOVA) menunjukkan bahwa penambahan kombinasi NAA dan BAP berpengaruh nyata terhadap variabel hari muncul kalus dan luas kalus karena F hitung lebih besar dari F tabel. Namun kombinasi NAA dan BAP tidak berpengaruh terhadap variabel persentase eksplan tumbuh, persentase eksplan hidup, dan berat kalus. Terlihat F hitung lebih kecil dari F tabel. Variabel yang berpengaruh nyata perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Ringkasan hasil uji DMRT 5% terangkum dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6. Hasil DMRT 5% pengaruh penambahan berbagai perlakuan kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *in vitro*

Konsentrasi ZPT (mg/l)		Hari Muncul Kalus (HMK)	Luas Kalus (mm ²)
NAA	BAP		
N0 (0)	B0 (0)	40,00k	0,00a
	B1 (1)	37,00jk	3,50bc
	B2 (2)	36,33jk	3,67bcd
	B3 (3)	36,33jk	3,89bcd
	B4 (4)	37,00jk	3,50bc
N1 (0,5)	B0 (0)	35,00ij	3,67bcd
	B1 (1)	31,00ghi	4,17bcde
	B2 (2)	24,00abcd	2,63b
	B3 (3)	26,00cde	6,20efg

	B4 (4)	22,33abc	5,75defg
N2 (1)	B0 (0)	33,33hij	4,33bcde
	B1 (1)	32,00ghi	6,17efg
	B2 (2)	26,33cdef	5,38cdef
	B3 (3)	24,33bcd	7,78gh
	B4 (4)	22,33abc	6,27efg
N3 (1,5)	B0 (0)	33,00hij	4,33bcde
	B1 (1)	28,00defg	6,58fg
	B2 (2)	30,33fgh	5,47cdef
	B3 (3)	22,33abc	9,47h
	B4 (4)	21,00ab	9,80h
N4 (2)	B0 (0)	37,00jk	3,67bcd
	B1 (1)	26,00cde	5,67cdef
	B2 (2)	28,67efg	6,07efg
	B3 (3)	22,33abc	8,87h
	B4 (4)	20,00a	9,47h

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan tidak berbeda pada DMRT 5%

Berdasarkan hasil dari DMRT 5% pengaruh kombinasi antara NAA dan BAP pada tabel 4.6, menunjukkan bahwa kombinasi 2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP merupakan perlakuan paling optimum terhadap variabel hari muncul kalus dengan rata-rata kalus muncul pada hari ke-20,00 HST. Akan tetapi, pada hasil DMRT 5% perlakuan kombinasi 2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi (1,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), dan (0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan yang efektif terhadap kecepatan hari muncul kalus yakni kombinasi 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP dengan rerata kalus muncul pada hari ke-24.00 HST.

Penelitian Junairiah (2018) melaporkan bahwa kombinasi antara 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP mampu menginduksi kalus daun cabai jawa (*Piper retrofractum*) dengan rerata kalus muncul pada hari ke-15 HST dan persentase

eksplan membentuk kalus 100%. Sandra (2002) juga melaporkan bahwa kombinasi antara 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP dalam media MS mampu menginduksi kalus daun pule pandak (*Rauwolfia serpentina*) dan menghasilkan senyawa alkaloid sekitar 0,29% per berat kering. Penelitian Rahman (2012) melaporkan bahwa pemberian konsentrasi 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP mampu menginduksi kalus dari eksplan hipokotil jarak (*Ricinus communis*) dengan respon kalus muncul pada hari ke 5, bertekstur kompak dan berwarna hijau, serta memiliki persentase respon eksplan 100%.

Pemberian berbagai kombinasi NAA dan BAP juga berpengaruh terhadap variabel luas kalus. Dilihat pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa kombinasi 1,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP merupakan perlakuan paling optimum terhadap variabel luas kalus dengan rata-rata luas kalus yakni 9,80 mm². Akan tetapi, pada hasil DMRT 5% perlakuan kombinasi 1,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi (2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan yang efektif terhadap luas kalus yakni kombinasi 1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP dengan dengan rata-rata luas kalus 7,78 mm².

Penelitian dari Puteri (2014) menyatakan bahwa konsentrasi NAA 1 mg/l + 3 mg/l BAP mampu menginduksi kalus daun sirsak (*Annona muricata*) dengan rata-rata kecepatan induksi kalus yaitu 10 HST dan memiliki berat kalus sebesar 0,410 gram. Fitriani (2008) juga melaporkan bahwa kombinasi antra 1 mg/l NAA dan 3 mg/l BAP dapat menginduksi kalus ganjo lalai (*Artemisia annua*) dari eksplan daun dengan rerata kalus muncul pada hari 14 HST. Penelitian Rahman (2012) melaporkan bahwa pemberian konsentrasi 1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP mampu menginduksi kalus dari eksplan hipokotil jarak (*Ricinus communis*) dengan respon kalus muncul pada hari ke 6, kalus berwarna hijau, serta memiliki persentase respon eksplan sebesar 55,7%. Sugiyanti (2008) juga melaporkan bahwa eksplan tunas *Zodia* (*Euodia suaveolens* Scheff.) dapat menginduksi kalus pada

konsentrasi 1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP dengan morfologi kalus kurang sangat remah.

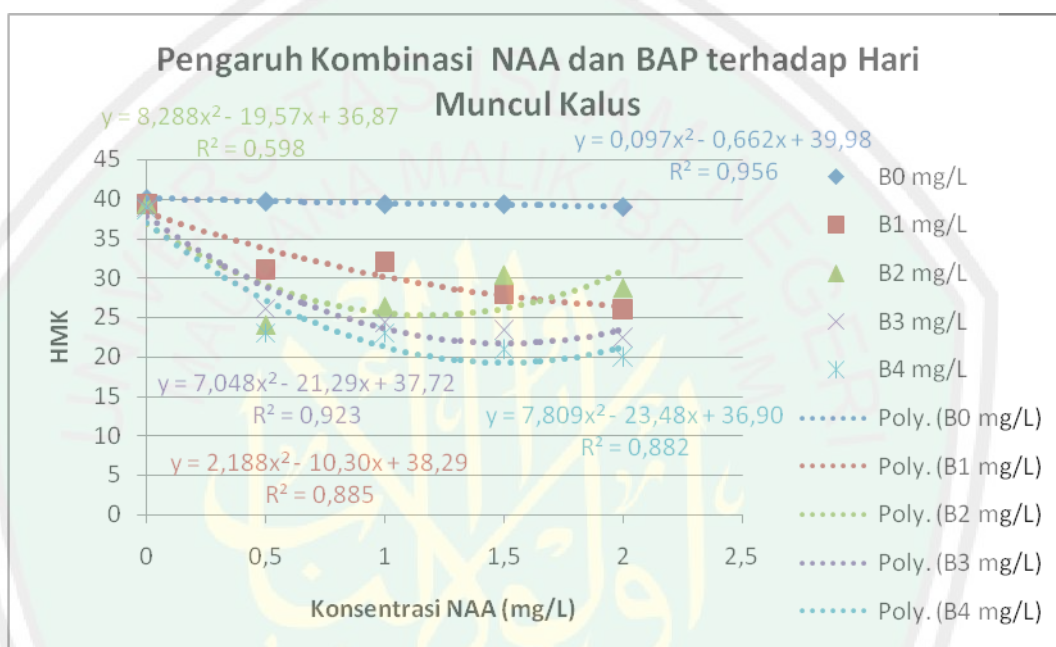
Menurut Allan (1991), pemberian konsentrasi antara auksin dan sitokinin yang seimbang dapat memacu pertumbuhan dan penggandaan kalus melalui interaksi dalam pembesaran dan pembelahan sel. Namun, pemberian konsentrasi yang seimbang bisa berubah sesuai dengan jenis eksplan yang ditaman, zpt, genotip, dan tata letak eksplan. Sebab, setiap jenis eksplan yang digunakan memiliki kandungan hormon endogen yang berbeda sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikulturkan. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini yakni daun muda Mangkokan yang diduga masih mengandung hormon endogen auksin yang tinggi. Hal ini disebabkan karena sintesis hormon auksin terjadi di bagian koleoptil ujung tunas. Hal ini sesuai dengan Abidin (1994), bahwa auksin disintesis di pucuk batang dekat dengan meristem pucuk, jaringan muda (misalnya daun muda), dan ditranslokasikan ke bagian bawah batang (polar), sehingga terjadi perbedaan auksin di ujung batang dan di akar.

Gunawan (1988) menyatakan bahwa hormon endogen yang terkandung didalam eksplan merupakan faktor yang dapat menstimulasi proses morfogenesis dan pertumbuhan eksplan. Selain itu, nutrisi didalam media juga menjadi faktor yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan. Pada umumnya eksplan dapat tumbuh dalam kondisi yang cukup dan seimbang. Hal ini didukung oleh Rahardja (2007) yang menyatakan respon eksplan dalam pertumbuhan kultur bergantung pada hubungan interaksi serta keseimbangan zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang terdapat pada eksplan.

Menurut Zulfikar (2009), kandungan hormon endogen dalam eksplan yang seimbang dapat mengendalikan morfogenesis dan pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Hal ini didukung oleh Sriskandarajah (2006) bahwa perbedaan eksplan dalam merespon auksin dan sitokinin dalam regenerasi kalus dan tunas tergantung dari tingkat kandungan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan.

Purnamaningsih (2011) menyatakan bahwa meskipun auksin lebih berperan dalam pembentukan kalus, namun apabila auksin dikombinasikan dengan sitokinin juga dapat berperan dalam proses proliferasi dan pembelahan kalus, juga dapat memberikan respon terbaik untuk induksi kalus.

Hasil analisis regresi pengaruh Kombinasi NAA dan BAP terhadap induksi kalus Daun Mangkogan disajikan pada gambar 4.10 dan gambar 4.11.

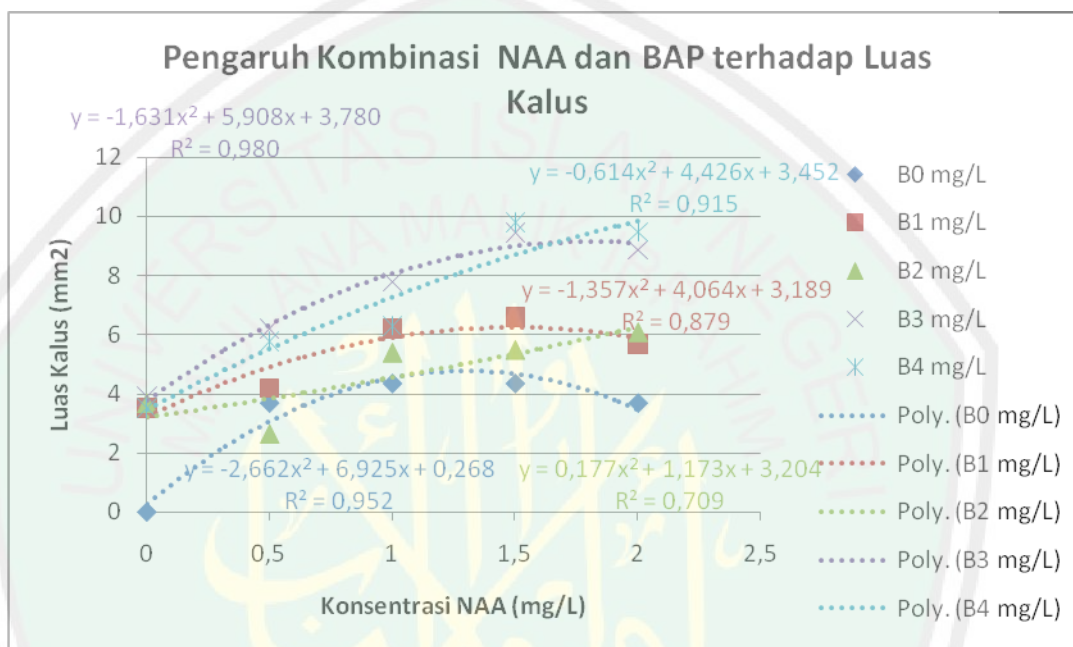


Gambar 4.10. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap hari muncul kalus Daun Mangkogan pada media MS *in vitro*.

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.10 menunjukkan hubungan antara kombinasi NAA dan BAP dengan hari muncul kalus membentuk pola garis kudratik $y = 7,809x^2 - 23,48x + 36,90$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,882$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian kombinasi NAA dan BAP dengan kecepatan hari muncul kalus. Pada hasil analisis diferensial persamaan $y = 7,809x^2 - 23,48x + 36,90$ menyatakan bahwa penambahan NAA dan BAP berpengaruh terhadap hari muncul kalus mencapai titik optimum pada koordinat (1,50 ; 19,25). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi NAA yang efektif terhadap variabel hari muncul

kalus yaitu 1,5 mg/l NAA dan konsentrasi 4 mg/l BAP terhadap variabel hari muncul kalus paling cepat yaitu hari ke-19,25 HST.

Hasil penelitian Sudrajad (2015) pada kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) bahwa konsentrasi NAA 1 mg/l + BAP 4 mg/l dapat menginduksi kalus paling cepat yaitu 29 HST dengan kalus berwarna hijau dan jumlahnya banyak.



Gambar 4.11. Pengaruh kombinasi NAA dan BAP terhadap luas kalus Daun Mangkokan pada media MS *in vitro*

Berdasarkan hasil analisis regresi pada gambar 4.11 menunjukkan hubungan antara kombinasi NAA dan BAP dengan luas kalus membentuk pola garis kudratik $y = -0,614x^2 + 4,426x + 3,452$ dan memiliki nilai determinasi $R^2 = 0,915$. Nilai determinasi menandakan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perlakuan pemberian kombinasi NAA dan BAP dengan kecepatan luas kalus. Pada hasil analisis diferensial persamaan $y = -0,614x^2 + 4,426x + 3,452$ menyatakan bahwa penambahan kombinasi NAA dan BAP berpengaruh terhadap luas kalus mencapai titik optimum pada koordinat (3,60 ; 3,45). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi NAA yang efektif terhadap variabel luas kalus yaitu 3 mg/l NAA dan konsentrasi 4 mg/l BAP dengan rata-rata luas kalus paling tinggi sebesar $3,45 \text{ mm}^2$.

Hasil penelitian Sudrajad (2015) pada kalus daun pegagan (*Centella asiatica*) bahwa konsentrasi NAA 3 mg/l + BAP 3 mg/l dapat menginduksi kalus paling cepat yaitu 25 HST dengan kalus berwarna hijau dan jumlahnya banyak.

4.4. Pengaruh Pemberian Berbagai Perlakuan Kombinasi *1-Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *6-Benzyl Adenin Purine* (BAP) terhadap Warna dan Tekstur Kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.) secara *In Vitro*

Indikator adanya pertumbuhan Kalus Daun Mangkoka pada penelitian ini dapat dilihat dari sisi kualitas kalus yaitu warna dan tekstur kalus yang bervariasi. Warna dan tekstur kalus diamati pada hari terakhir penelitian yaitu 90 HST. Hasil penelitian warna dan tekstur Kalus Daun Mangkoka dapat dilihat pada gambar 4.12.



Gambar 4.12. Morfologi kalus daun Mangkoka. a.) bertekstur kompak dan berwarna kuning kecoklatan (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), b.) bertekstur intermediet, berwarna coklat dan putih (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), c.) bertekstur remah dan berwarna putih (1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)

Berdasarkan hasil pengamatan dari tekstur kalus dapat diketahui bahwa kalus daun mangkoka memiliki tipe kalus remah, intermediet, dan kompak. Tipe kalus remah terdapat pada perlakuan 1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP dan perlakuan 2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP. Selanjutnya tipe kalus intermediet terdapat pada perlakuan NAA dan BAP diantaranya yakni (0 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), dan (2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP). Tipe kalus kompak terdapat pada perlakuan NAA dan

BAP diantaranya yakni (0 mg/l NAA + 1 mg/l BAP), (0 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (0 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), (0,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 0 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), (1,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), (2 mg/l NAA + 0 mg/l BAP), (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), dan (2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP).

Hal ini sesuai dengan Turhan (2004) bahwa kalus secara visual dapat digolongkan menjadi 3 jenis kalus, yaitu intermediet, kompak, dan remah. Menurut Indah (2013) kalus dengan keadaan yang baik digunakan sebagai penghasil metabolit sekunder dengan tekstur kompak (*non friable*), kalus yang bertekstur kompak dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan kalus jenis lain. Rahmawati (1999) menambahkan bahwa kalus yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang tinggi, aktifitas pembelahan selnya akan menurun.

Menurut George (1993) penambahan sitokinin pada media akan menghasilkan kalus kompak dibandingkan dengan tanpa penambahan sitokinin. Kalus yang memiliki tekstur kompak dihasilkan dari efek auksin dan sitokinin yang dapat mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal tersebut dapat menyebabkan peningkatan penyerapan air pada medium kedalam sel yang mengakibatkan sel menjadi lebih kaku.

Kalus bertekstur kompak menurut Purwaningsih (2007) merupakan akibat dari adanya sitokinin yang berperan dalam transport hara. Proses transport sitokinin dimulai pada bagian basal ke apeks yang membawa zat hara dan air melewati pembuluh pengangkut dan potensial osmotik dalam sel akan terganggu. Sukrosa yang ditambahkan dalam medium akan dibawa melalui pembuluh floem yang mengakibatkan tekanan turgor. Hal ini terjadi karena terdapat perbedaan konsentrasi larutan, mengakibatkan zat hara (sukrosa) dan air di medium masuk kedalam sel secara osmosis. Hal tersebut menyebabkan dinding-dinding sel menjadi kaku, selanjutnya akan terbentuk kalus kompak tergantung pada jenis

jaringan, kondisi pertumbuhan, dan umur kalus. Santoso (2004) menambahkan bahwa kalus yang memiliki tekstur kompak diakibatkan oleh aktivitas sel yang awalnya membelah secara terus menerus kemudian mengalami penurunan aktivitas proliferasinya. Dehghani (2011) menyatakan bahwa tekstur dan warna kalus yang dihasilkan dipengaruhi oleh umur kalus, eksplan yang digunakan, dan kondisi lingkungannya.

Hasil pengamatan warna kalus yang dihasilkan dari perlakuan menggunakan NAA dan BAP menghasilkan kalus yang berwarna putih, kuning kecoklatan, coklat, dan hijau kekuningan. George (2008) menyatakan bahwa warna kalus yang bervariasi dikarenakan oleh hasil metabolisme genetik sel pada bagian eksplan tertentu. Menurut Hendaryono (1994) warna kalus yang berbeda disebabkan oleh beberapa faktor yaitu pigmentasi, intensitas cahaya, dan bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan.

Perbedaan tersebut menunjukkan adanya perkembangan kalus dari awal sampai akhir. Biasanya kalus pertama kali muncul memiliki warna cerah seperti putih atau kuning kehijauan. Kemudian bertambahnya umur kalus menyebabkan warna pada kalus berubah sesuai dengan kandungan senyawa yang dimilikinya. Kandungan senyawa tersebut dapat mempengaruhi warna pada kalus, misalnya senyawa turunan dari fenol. Menurut Fitriyani (2003) fenol yang terbentuk terjadi karena adanya cekaman atau ancaman pada sel tanaman akibat dari perlakuan pada jaringan tanaman dan juga cekaman dari media tanam. Untuk menghindari hal tersebut, maka dilakukan subkultur atau pemindahan media sebelum terjadi kematian atau penumpukan senyawa fenol yang menyebabkan pertumbuhan kalus terhambat sampai menyebabkan kematian.

Menurut Dwi (2012), warna putih pada kalus menandakan bahwa sel-sel kalus dalam keadaan aktif membelah. Warna kalus menandakan kandungan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus menunjukkan banyaknya kandungan klorofil dalam suatu kalus. Hal ini didukung Fatmawati (2008) bahwa kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embriogenik yang belum mengandung kloroplas, namun mengandung butir pati yang relatif tinggi. Tsuru

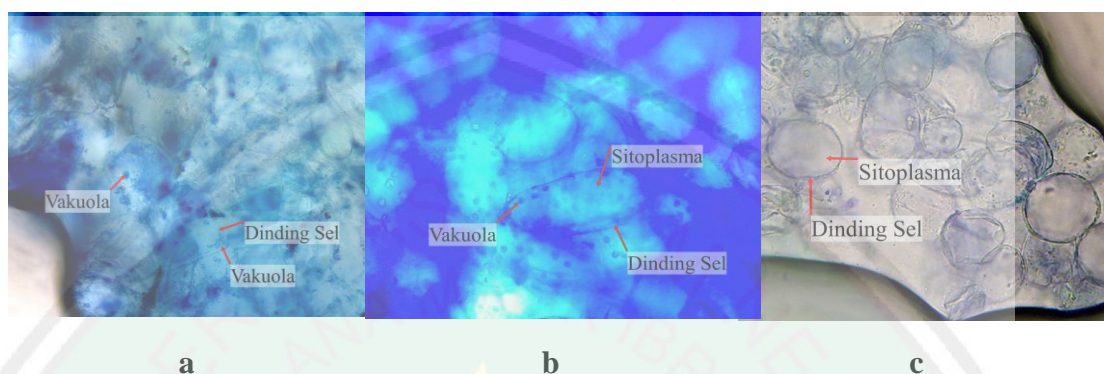
(1998) menyatakan bahwa kalus berwarna putih belum mengandung kloroplas, namun banyak mengandung butir pati, selain itu penambahan zat pengatur tumbuh jenis sitokinin dan stimulus cahaya dapat membentuk kalus warna putih. Warna hijau pada kalus juga menandakan bahwa kalus mengandung klorofil yang berperan dalam tempat munculnya tunas. Wardani (2004) menambahkan bahwa warna hijau pada kalus diakibatkan karena besarnya konsentrasi sitokinin yang diberikan. Penambahan sitokinin dalam media dapat memperlambat perombakan butir-butir klorofil karena sitokinin dapat mempercepat proses metabolisme dalam sintesis protein.

Warna coklat atau gelap pada kalus menurut Azizah (2017) merupakan jenis kalus non-embriogenik yang tidak memiliki kemampuan dalam regenerasi (tidak mengalami perkembangan fase embriogenik). Hal ini didukung oleh pernyataan Hendaryono (1994) bahwa penyebab kalus berwarna kecoklatan yaitu akibat dari pemotongan pada eksplan sehingga terjadi luka. Hayati (2010) menambahkan bahwa kalus yang berwarna kuning diduga mengandung pigmen antosianin. Pigmen tersebut merupakan senyawa turunan fenol dari kelompok flavonoid. Wattimena (1991) menambahkan bahwa senyawa dari turunan fenol dapat menghambat pertumbuhan, pembesaran sel, dan pembelahan sel.

4.5. Anatomi Kalus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.)

Kalus kompak (kalus metabolit) biasanya digunakan untuk menghasilkan senyawa metabolit yang dapat digunakan sebagai bahan dalam pembuatan obat dibidang farmasi. Katakteristik dari kalus metabolit yaitu bertekstur kompak, memiliki susunan sel berbentuk nodular, berstruktur padat, susah untuk dipisahkan, memiliki kandungan air cukup banyak, dan cenderung memiliki warna terang yang disesuaikan dengan jenis senyawa yang dimilikinya (Hayati, 2010). Sedangkan kalus remah memiliki susunan sel yang panjang berbentuk tubular, berstruktur renggang, mudah rapuh dan tidak teratur. Struktur kalus remah (embriogenik) sangat berhubungan dengan laju kecepatan tumbuh kalus sehingga metabolit sekunder yang dikehendaki dapat di produksi lebih cepat (Syahid, 2010).

Berdasarkan hasil pengamatan dari warna dan tekstur kalus dapat diketahui bahwa kalus daun mangkakan memiliki tipe kalus remah, intermediet, dan kompak. Setiap tipe kalus memiliki karakteristik anatomi yang berbeda-beda yang dapat dilihat pada gambar 4.13.



Gambar 4.13. Anatomi kalus Daun Mangkakan perbesaran 400x. a.) kompak (1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP), b.) intermediet (1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), c.) remah (1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)

Hasil pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada gambar 4.13. menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi 1 mg/l NAA + 3mg/l BAP menghasilkan rata-rata kalus yang kompak. Kalus dari hasil pengamatan memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk nodular, selnya rapat, ukuran selnya kecil, terdapat sitoplasma yang padat, vakuola besar, memiliki pati, dan intinya kecil (tidak terlihat). Kalus metabolit atau kalus kompak menurut Dodd (1993) mempunyai bentuk anatomi yakni ukuran selnya kecil, sitoplasma padat, mengandung pati, dan inti kecil. Street (1993) menambahkan bahwa kalus kompak memiliki susunan sel yang rapat sehingga sulit untuk dipisahkan, serta ukuran vakuola yang cukup besar dan jumlahnya banyak, hal ini memungkinkan vakuola untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder dalam jumlah yang besar.

Perlakuan kombinasi 1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP menghasilkan kalus intermediet. Kalus intermediet merupakan gabungan dari kalus kompak dan kalus remah. Kalus dari hasil pengamatan memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk nodular dan tubular, selnya rapat, terdapat sitoplasma yang padat, memiliki vakuola, dan memiliki pati. Menurut Arianto (2013) tipe kalus intermediet merupakan kalus

yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian remah dan sebagian lainnya kompak.

Perlakuan kombinasi 1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP menghasilkan kalus remah. Kalus remah merupakan ciri umum dari kalus embriogenik. Dari hasil pengamatan kalus remah memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk tubular, selnya renggang sehingga mudah di pisahkan, ukuran selnya kecil, terdapat sitoplasma, terdapat inti, dan vakuola kecil. Rusdianto (2012) menyatakan bahwa karakteristik dari kalus embriogenik dapat diketahui dari teksturnya remah, berwarna putih kekuningan atau putih bening, sitoplasmanya padat, terdapat kandungan pati, ukuran vakuola kecil, dan memiliki inti yang besar.

4.6. Dialog Hasil Penelitian dalam Integrasi Sains dan Islam

Berbagai macam tanaman dimuka bumi ini diciptakan oleh Allah SWT dengan kekuasaan-Nya, mulai dari sesuatu yang hidup maupun sesuatu yang mati, segala macam yang Allah SWT ciptakan tidak ada yang sia-sia, termasuk dalam penciptaan tanaman. Tanaman diciptakan melalui proses dimana dibutuhkan unsur hara yang berguna sebagai nutrisi bagi tanaman dan juga media tanam sebagai tempat untuk kelangsungan hidupnya.

Allah SWT menciptakan tanaman karena memiliki manfaat yang banyak sekali dan dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya. Salah satunya dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengobatan. Tanaman memiliki berbagai macam kandungan senyawa yang berguna untuk kesehatan, misalnya kalsium, vitamin, fosfor, minyak, dan lain sebagainya. Tanaman memiliki berbagai macam jenis dan spesies yang tersebar di seluruh penjuru dunia mulai dari yang terkecil maupun yang terbesar. Dalam surah Lukman 31 ayat 10 menjelaskan tentang kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan keanekaragaman jenis tanaman yang baik.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ^ط وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا

مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ^ج وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠١﴾

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.”

Menurut tafsir Ibnu Katsir oleh Al-Sheikh (1994), Al-Hasan dan Qatadah menyatakan bahwa Allah SWT menciptakan langit tidak memiliki tiang, baik yang terlihat maupun yang tidak terlihat. Dia menciptakan gunung yang ditancapkan dengan kokoh, agar bumi tidak bergoncang dan tidak bergerak sehingga kehidupan makhluk hidup tidak rusak. Dia juga menyebarkan di bumi segala macam makhluk bernyawa yang jumlah, bentuk, dan warna yang tidak diketahui kecuali Penciptanya, menurunkan air dari awan, dan Dia menumbuhkan berbagai macam tanaman yang hijau, baik, serta indah dipandang mata.

Menurut Al-Quthubi (2009) yang termasuk dalam tumbuhan yang baik yaitu memiliki bentuk, warna dan manfaat. Manfaat tanaman baik tersebut diantaranya sebagai sumber pokok kehidupan manusia, penopang kehidupan, dan sebagai tanaman obat yang berguna untuk mengobati beraneka macam penyakit. Salah satu spesies tanaman obat yang bermanfaat adalah tanaman Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). Menurut Revina (2011) menyatakan bahwa daun Mangkokan berkhasiat untuk melancarkan pengeluaran ASI, antiinflamasi (anti-radang), dan antioksidan. Hariana (2008) menambahkan bahwa banyak masyarakat menggunakan daun Mangkokan untuk penyembuhan luka, bau keringat, rambut rontok, dan sebagai diuretik.

Setiap bagian tanaman Mangkokan memiliki khasiat yang berbeda-beda. Budidaya untuk memperbanyak tanaman Mangkokan masih dilakukan secara tradisional maupun konvensional. Maka, perlu dilakukan upaya untuk

memperbanyak tanaman dengan waktu yang singkat dan mempunyai kandungan senyawa obat yang tinggi melalui teknik kultur *in vitro*. Dalam kultur *in vitro* terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman kultur yakni media tanam kultur. Media tanam tersebut memiliki kemampuan dalam menghasilkan nutrisi maupun bahan makanan bagi tanaman dan berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman kultur. Allah SWT berfirman dalam surah Al-A'raf 7 ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرِجُ نَبَاتَهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۖ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرِجُ إِلَّا نَكِدًا ۗ كَذَلِكَ

نُصِرْفُ الْأَيْتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

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

Menurut Al Jazairi (2007) menyatakan “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah.” yakni tanah yang baik dan subur akan menumbuhkan tanaman yang baik atas seizin Allah SWT setelah menurunkan air hujan, dengan pertumbuhan yang baik dan sempurna. Sedangkan “Dan tanah yang tidak subur, tanamn-tanamannya hanya tumbuh merana” yaitu tanah yang buruk tidak dapat menumbuhkan tanaman kecuali tanaman yang jelek setelah diturunkan air hujan. Berdasarkan tafsir tersebut dapat diketahui bahwa tanah yang subur biasanya mengandung unsur hara mikro maupun makro yang cukup. Tanaman umumnya tumbuh pada media selain tanah, misalnya dengan teknik kultur *in vitro*.

Teknik kultur *In Vitro* merupakan salah satu teknik menanam bagian organ suatu tanaman kemudian ditanam dalam media buatan dalam keadaan yang aseptis dan lingkungan yang terkendali (Santoso, 2003). Media kultur memiliki pengaruh penting terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman kultur.

Media dalam kultur *in vitro* diibaratkan dengan tanah yang mengandung unsur hara makro maupun mikro yang dapat mempengaruhi pertumbuhan. Pada umumnya terdapat zat tambahan yang digunakan untuk mempercepat ataupun menghambat pertumbuhan tanaman kultur yang disebut zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media kultur sesuai dengan keinginan kita, misalnya untuk induksi pertumbuhan kalus dibutuhkan zat pengatur tumbuh jenis auksin dan sitokinin (Hendaryono, 1994).

Penelitian ini menggunakan zat pengatur tumbuh auksin yakni NAA dan jenis sitokinin yakni BAP untuk menginduksi kalus dari tanaman Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). Zat pengatur tumbuh yang diperlukan dalam kultur *in vitro* mempunyai ukuran yang berbeda-beda sesuai dengan keinginan kita. Kebutuhan setiap tanaman kultur akan zat pengatur tumbuh juga berbeda-beda. Berdasarkan hal tersebut, Allah SWT berfirman dalam surah Al-Qamar 54 ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

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

Menurut Al-Sheikh (2007) dalam tafsir Ibnu Katsir menyatakan bahwa, segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT terhadap semua makhluk sesuai dengan ukuran atau ketetapan dari-Nya. Allah SWT menciptakan segala sesuatu disertai dengan takdir yang telah ditetapkan Allah untuknya. Penelitian ini menggunakan media dan zat pengatur tumbuh untuk menginduksi kalus metabolit Mangkokan yakni media MS yang dikombinasikan dengan NAA dan BAP. Hasil penelitian ini diketahui bahwa perlakuan kombinasi 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP merupakan perlakuan yang efektif terhadap variabel hari muncul kalus dengan rerata 24,00 HST. Perlakuan kombinasi 1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP merupakan perlakuan paling efektif terhadap variabel luas kalus dengan rerata luas kalus yakni 7,78 mm². Dari hal tersebut dapat diketahui bahwa untuk meningkatkan pertumbuhan Kalus Daun Mangkokan, maka dibutuhkan konsentrasi yang sesuai.

Akan tetapi, konsentrasi zat pengatur tumbuh untuk tanaman daun mangkoka akan berbeda dengan jenis tanaman lain.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa Allah SWT telah menunjukkan tahapan dalam kehidupan tanaman. Allah SWT yang telah menumbuhkan tanaman dari potongan daun Mangkoka yang tumbuh menjadi kalus yang nantinya dapat meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder. Hal tersebut merupakan kehendak Allah SWT atas kekuasaan dan kebesaran-Nya. Allah SWT telah menciptakan alam semesta untuk kepentingan dan kesejahteraan semua makhluknya khususnya manusia. Sifat serakah dan perlakuan buruk manusia terhadap alam akan menjerumuskan manusia itu sendiri. Musibah yang muncul seperti tanah longsor, kekeringan, banjir, pembangunan yang tidak karuan, serta udara dan air yang tercemar merupakan akibat perbuatan manusia itu sendiri terhadap alam yang merugikan makhluk lainnya.

Kearifan masyarakat terkait tanaman Mangkoka ini mengakibatkan mereka terus merusak dan menebang tanaman pagar ini, sehingga tanaman ini biasanya diabaikan oleh masyarakat sekitar. Sementara itu, tanaman Mangkoka memiliki kandungan senyawa yang dapat digunakan sebagai pengobatan herbal. Allah SWT melarang umat manusia untuk berbuat kerusakan di muka bumi, karena Allah telah menjadikan manusia sebagai khalifah sehingga manusia wajib untuk menjaga kelestarian alam yang telah dikaruniakan Allah SWT. Firman Allah dalam surah Al-Baqarah 1 ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰئِكَةِ اِنِّيْ جَاعِلٌ فِي الْاَرْضِ خَلِيْفَةً ۗ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِيْهَا مَنْ يُفْسِدُ

فِيْهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ اِنِّيْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ



Artinya: *“Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada Para Malaikat: “Sesungguhnya aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi.” mereka berkata: “Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, Padahal Kami Senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?” Tuhan berfirman: “Sesungguhnya aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.”*

Ayat diatas mengandung makna bahwa Allah SWT sudah menetapkan manusia sebagai khalifah Allah di muka bumi ini. Khalifah disini memiliki arti makhluk Allah yang menerima kepercayaan untuk menjalankan kehendak dan menerapkan ketetapan-ketetapan Allah di muka bumi. Allah SWT melarang makhluknya untuk berbuat kerusakan. Menurut tafsir Al-Maraghi (1985) menyatakan bahwa manusia merupakan makhluk Allah yang diberikan akal fikiran dan kebebasan berkehendak, dimana manusia cenderung berbuat kerusakan di muka bumi. Oleh karena itu, Allah SWT menganugerahkan ilmu pengetahuan kepada manusia agar dapat mengemban amanat Allah SWT sebagai khalifah di muka bumi.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan menjadi pelajaran bagi manusia sebagai khalifah untuk meningkatkan ketaqwaan dan keimanan kepada-Nya dan senantiasa mendekatkan diri kepada Allah SWT. Selain sebagai khalifah di bumi, manusia juga berperan sebagai ilmuwan muslim dimana dalam melakukan suatu tindakan harus sesuai dengan etika di alam dan nilai-nilai keislaman. Perlakuan etis terhadap tanaman misalnya dalam memperbanyak, menanam dan memperlakukan tanaman yang baik. Selanjutnya ketika melakukan penelitian, zat pengatur tumbuh dan air yang diberikan terhadap tanaman harus sesuai dengan etika dan aturan islam, karena setiap makhluk hidup memiliki hak terhadap sumberdaya lingkungan. Berdasarkan penelitian ini, nilai-nilai keislaman yang didapatkan yaitu dalam perbanyak tanaman harus memperhatikan dan memperlakukan tanaman seperti memenuhi nutrisi yang diperlukan oleh tanaman agar tumbuh dengan baik. Hal ini dikarenakan tanaman merupakan makhluk Allah SWT yang diciptakan dari air yang bisa menumbuhkannya, maka manusia sudah

sepatutnya menjaga dan melestarikan bumi, sebab manusia mendapatkan sumber makanan dari tanaman.



BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dari “Induksi Kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) Melalui Teknik *In Vitro*” didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Zat Pengatur Tumbuh NAA berpengaruh nyata terhadap induksi kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.) terlihat pada variabel hari muncul kalus, persentase eksplan tumbuh, luas kalus, dan berat kalus. Konsentrasi NAA 1 mg/l efektif terhadap variabel hari muncul kalus yakni 27,80 HST, persentase eksplan tumbuh sebesar 72,00%, luas kalus yakni 5,99 mm², dan berat kalus sebesar 0,51 gram.
2. Zat Pengatur Tumbuh BAP berpengaruh nyata terhadap induksi kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.) terlihat dari semua variabel pengamatan. Konsentrasi BAP 3 mg/l efektif terhadap variabel hari muncul kalus yakni 26,47 HST, persentase eksplan tumbuh sebesar 82,67%, luas kalus 7,24 mm², persentase eksplan hidup yakni 97,33%, dan berat kalus sebesar 0,61 gram.
3. Pemberian kombinasi NAA dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.) terlihat dari variabel hari muncul kalus dan luas kalus. Konsentrasi yang efektif terhadap variabel hari muncul kalus yaitu 0,5 mg/L NAA + 2 mg/L BAP dengan rata-rata 24,00 HST. Sedangkan konsentrasi yang efektif terhadap variabel luas kalus yaitu 1 mg/L NAA + 3 mg/L BAP dengan luas kalus 7,78 mm². Warna dan tekstur kalus yang dihasilkan yaitu berwarna coklat, kuning kecoklatan dengan tekstur kompak. Anatomi kalus daun mangkoka didapatkan hasil dengan karakteristik memenuhi kalus metabolit yaitu berbentuk nodular, ukuran selnya kecil, terdapat sitoplasma yang padat, vakuola besar, memiliki pati, dan intinya kecil (tidak terlihat).

5.2. Saran

Saran dari penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kandungan senyawa metabolit pada Kalus Daun Mangkokan dan penambahan prekursor atau elisitor untuk menghasilkan kalus metabolit yang melimpah.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1994. **Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh**. Bandung: Angkasa.
- Alitalia, Y. 2008. **Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantung Semar (*Nepenthes mirabilis*) secara *In Vitro***. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institute Pertanian Bogor. Skripsi
- Al-Jazairi, S. 2007. **Tafsir Al-Qur'an Al-Qurtubi (jilid 2)**. Jakarta: Darus Sunnah.
- Allan, E. 1991. **Plant Cell and Tissue Culture**. Singapore: Wiley Publisher.
- Al-Maraghi, A. M. 1985. **Tafsir Al-Maraghi, (Terjemah), Juz 15**. Semarang: Toha Putra.
- Al-Sheikh, A. diterjemahkan oleh Ghoffar, M. 1994. **Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6**. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilaal.
- Andaryani, S. 2010. **Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In Vitro***. Faperta Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Skripsi.
- Andri, R.F. 2012. **Pengaruh 2,4-D terhadap Pembentukan Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dan Uji Responnya terhadap PEG dalam Upaya Memperoleh Klon Gambir Toleran Cekaman Kekeringan**. Padang: Universitas Andalas. Skripsi.
- 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).
- Arianti, 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).
- Armstrong, C.L., C.E. Green. 1985. Establishment and Maintenance of Friable, Embryogenic Maize Callus and The Involvement of L-Proline. *Planta*. 164: 207-214.
- Arianto, B. Dan M.U Bustamil. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid secara *In Vitro*. *E-J. Agroteknis*. 1(3).

- Arrosi, A. 2016. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh NAA, Kinetin, dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* Merr.). *Jurnal Agronomi Indonesia*.
- Aslam, J., *et al.* 2008. Screening of vincristine yield in ex vitro and in vitro somatic embryo derived plantlets of *Catharanthus roseus* L. (G) Don. *Scientia Horticulturae* (2008) on pdoi. *J. Scientia*. 8(18).
- Aslikhah, I.A. 2017. **Induksi Kalus Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) dengan Penambahan Kombinasi NAA dan BAP secara *In Vitro*.** Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Azizah, R. 2017. **Pertumbuhan Kalus Kopi Liberika Tungkal Jambi (*Coffea liberica* Var. *Liberica* Cv. Tungkal Jambi) dengan Kombinasi 2,4-D dan Kinetin secara *In Vitro*.** Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. Skripsi.
- Bhagya, N., and K.R. Chandrashekar. 2013. Effect of Growth Regulators on Callus Induction From *Cyclea peltata* (Lam.) Hook. F. Thoms. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 6(4).
- Bhaskaran, S. and R.H. Smith. 1990. Regeneration in Cereal Tissue Culture. A Review. *Crop Sci*. 30.
- Cavusoglu, A. and Melekber S. 2013. *In Vitro* Propagation and Acclimatization of Pepino (*Solanum muricatum*). *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 11(1).
- Chattopadhyay, S. *et al.* 2002. Bioprocess Considerations for Production of Secondary Metabolite by Plant Cell Suspension Cultures. *Biotechnol. Bioprocess Eng*, 7: 138-149.
- Cronquist, A. 1981. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. New York: Columbia University Press.
- Dalimartha, S. 1999. **Atlas Tanaman Obat Indonesia. Jilid 1**. Jakarta: PT. Trubus Agriwidya.
- Darwati, I. 2007. **Kultur Kalus dan Kalus Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) untuk Menghasilkan Metabolit Sekunder**. Sekolah Pasca Sarjana ITB Bogor. Disertasi.
- Dasuki, Undang A. 1991. **Sistematika Tumbuhan Tinggi**. Bandung: ITB.
- Davies, P. J. 1990. **Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development**. USA: Kluwer Academic Publiser. Pp. 593-61.

- Dehghani, I., Mostajeran, A., and G. Asghari. 2011. In Vitro and In Vivo Production Of Gingerols and Zingiberene in Ginger Plant (*Zingiber officinale* Roscoe). *Iran. J. Pharm. Sci.* 7(2).
- Dharmapal, S., et al. Callus Induction and Organogenesis From *Tinospora formanii* Udayan and Pradeep: A Rare Endemic Plant. *Tropical Plant Research.* 4(1).
- Dodd, B. 1993. **Plant Tissue Culture for Horticultur.** Schol of Life Science. Queensland University og Technology.
- Dwi, N.M., Waenati, Muslimin, Suwastika. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D pada Medium MS dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.) *Jurnal Natural Science.* Vol 1(1).
- Elaleem, K.G.A., Magda M. A., and Moawiya K.M.N. 2015. Effect of Explants and Plant Growth Regulators on Callus Induction in *Ricinus communis* L. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences.* 4(1).
- Elimasni, I.N. dan S. M. Zainudin. 2006. Inisiasi *In Vitro* Biji Muda Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Berastagi Sumatera Utara pada Komposisi Media dan Zat Tumbuh yang berbeda. *Jurnal Biologi Sumatera.* 1(1).
- Emil, U. 2018. **Pengaruh Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA (Naphthelene Acetic Acid) dan BAP (6-Benzyl Amino Purine) terhadap Kalus Kompak Delima Hitam (*Punica granatum* L. Var.) secara *In Vitro*.** Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Ernawati, A. 1992. Produksi Senyawa-senyawa Metabolit Sekunder dengan Kultur Jaringan Tanaman I didalam Wattimena GA. Gunawan LW, Mattjik NA, Syamsudin E., Wiendi NMA, Ernawati Editor. *Bioteknologi Tanaman I.* Bogor: IPB.
- Fatmawati, T.A. 2008. Pertumbuhan Organ Tanaman Buah Naga *Hylocerus undatus* pada Medium MS dengan Penambahan BAP dan Sukrosa. *Jurnal Natural Science.* 1(1).
- Fitriani, H. 2008. **Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua* L. Secara *In Vitro*.** Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta. Skripsi.
- Fitrianti, A. 2006. **Efektivitas Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun.** Universitas Negeri Semarang. Skripsi.

- Fitriyani, A. 2003. Kandungan Ajmalisin pada Kultur *Catharantus roseus*. L. G. Don. Setelah Dielisitasi Homogenat Jamur *Phythium aphanidermatum*. Edson Fitzp. *Makalah Pengatur Falsafah Sains*.(Online) PPS 702. <http://rudyet.Tripod.comscm2-022/Any> Fitriani htm (22 Oktober 2019).
- Gaspar, T., *et al.* 1996. **Plant Hormones and Plant Growth Regulator In Plant Tissue Culture. Riview.** Society for in vitro Biology.
- George, E. and Sherrington P. 2008. **Plant Propagation by Tissue Culture. England: Handbook and Directory of Commercial Laboratories.** Inggri: Exegetics Limited.
- George, E.F. and Jones. 1984. **Plant Propagation by Tissue Culture.** Dordrecht: Springer.
- George, F.P., Sherrington PD. 1993. **Plant Propagation by Tissue Culture.** Cambridge University Press. London.
- Gunawan, L.W. 1988. **Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan.** Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan PAU Bioteknologi IPB.
- Gunawan, L.W. 1995. **Teknik Kultur Jaringan.** Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Hafiizh, E. A., Dyah R. W., dan Tri M. E. 2016. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purin*) Terhadap Pertumbuhan Eksplan Daun dan Organogenesis *Artemisisa annua* L. Tetraploid. *Prosiding Seminar Nasional XXV (Kimia dalam Industri dan Lingkungan).*
- Harahap, F., dan Hasratuddin, C.S. 2012. Pertumbuhan Tunas Manggis (*Garcinia mangostana* L.) *In Vitro* Hasil Perlakuan Zat Pengatur Tumbuh Benzyl Adenin dan Ukuran Eksplan yang Berbeda. *Jurnal Santika.* 12(1).
- Harahap, R.A., 2005. **Studi Kultur Kalus Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) untuk Menghasilkan Senyawa Asiatikosida.** IPB Bogor. Thesis.
- Hardiyanto, A., Solichatun, dan Widya M. 2004. Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) *Biofarmasi.* 2(2).
- Hariana, H. Arief. **Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Seri 2.** Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harisaranraj, R., Babu S.S. and Suresh K. 2008. Callus Induction and Plant Regeneration of *Vigna mungo* (L.) Hepper Via Half Seed Explant. *Ethnobotanical Leaflets.* 12:57-85.

- Harjadi, S. S. 2009. **Zat Pengatur Tumbuh Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan Pada Tanaman**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hayati, S.K., Nurchayati, Yulita., dan Setiari, Nintya. 2010. Induksi kalus Hipokotil Alfafa (*Medicago sativa* L) secara In vitro dengan penambahan *Benzyl Amino Purin* (BAP) dan *Napthalene Acetid Acid* (NAA). *Bioma*. 12(1): 6-12.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. **Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Media)**. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Herawati, Dewi. 2004. **Studi Makroskopis, Mikroskopis, dan Skrining Fitokimia Daun *Nothopanax scutellarium* Merr.** Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Skripsi.
- Hrazdina, G. 1992. **Compartmentation in Aromatic Metabolism**. In **A. H. Stafford and K. R. Ibrahim (Eds.). Phenolic Metabolism in Plant**. New York : Plenum Press.
- Indah, N., dan Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus Nyamplung (*Calopyllum inophyllum* Linn) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi *6-Benzylaminopurine* (BAP) dan *2,4-Dichlorophenoxyatic Acid* (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1).
- Indu, S., et al. 2013. Produksi Flavonoid dalam Budaya Kalus *Anthocephalus indicus* A. Rich. *Jurnal Ilmu Tanaman Asia*. 12:40-45.
- Intias, S. 2012. **Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) secara In Vitro**. Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta. Skripsi.
- Isnawati, A., Harfia M., Kamilatunisah. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kumarin dari Tanaman *Artemisisa annua* (L.). *Media Litbang Kesehatan*. 18(3).
- Jahari, F. 2013. **Uji Aktivitas Antibakteria Ekstrak Etanol Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) terhadap Bakteri Penyebab Bau Badan dengan Metode Difusi Agar**. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Skripsi.
- Jumiarni, Wa Ode, dan Oom Komalasari. 2017. Eksplorasi Jenis dan Pemanfaatan Tanaman Obat pada Masyarakat Suku Muna di Pemukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*. 22(1).

- Junairiah, Dewi A. S., Yosephine S.W. M., dan Surahmaida. 2018. Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. Dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*. 3(2).
- Karjadi dan Buchory A. 2008. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*. 18(1).
- Karjadi, A.K. dan Buchory, A. 2007. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Jaringan Meristem Bawang Putih pada media B5. *J. Hort*. 17(3).
- Katuuk, JRP. 1989. **Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman**. Jakarta: Departement Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan.
- Kawochar, Md. A., Nizam U.A., MD. Iqbal H., and Jannatul F. 2017. Role of Explant and NAA on Callus Induction of Potato (*Solanum tuberosum*). *American Journal of Life Science*. 5(5).
- Kee, Joyce L. dan Evelyn R. H. 1996. **Farmakologi, Pendekatan Proses Keperawatan**. Jakarta: EGC.
- Khaniyyah, S., Habibah, N.A., dan Sumadi. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa (*Gynura procumbens* L. Merr.) dengan Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid dan Kinetin Secara *In Vitro*. *Jurnal Biosaintifika*. 4(2): 33-40.
- Khare, C. P. 2007. Indian Medicial Plants. USA: Springer Science. Role of Explant and NAA on Callus Induction of Potato (*Solanum tuberosum*). *American Journal of Life Sciences*. 5(5).
- Kurz, W.G.W., dan F. Constabel. 1991. **Produksi dan Isolasi Metabolit Sekunder**, dalam Wetter, L.R. dan F. Constabel (eds.). **Metode Kultur Jaringan Tanaman**. Penerjemah: Widiyanto, M.B. Bandung: ITB Press.
- Latunra, A.I. 2004. Pengaruh L-metionin terhadap Kadar Kafeina Kultur Kalus *Coffea arabica*. L. *Departemen Biologi ITB. Master Thesis*. 2(7).
- Leon, L.L. dan Araujo, C.A.C. 2001. Biologica Activities of *Curcuma longa* L. Mem. Ins. Oswaldo Cruz. *Rio de Janeiro*. 95(5).
- Lestari, E.G. 2008. **Kultur Jaringan. Menjawab Persoalan Pemenuhan kebutuhan akan peningkatan Kualitas Bibit Unggul dan Perbanyakkan secara Besar-besaran**. Akademia.

- Lestari, E.G. dan I. Mariska. 2003. Pengaruh Berbagai Formulasi Media terhadap Regenerasi Kalus pada *Indica*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Bogor.
- Marina, Rina, dan Endang Puji A., 2012. Potensi daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Mangkokan (*Nothopanax scutellarium*) sebagai Repelen Nyamuk *Aedes albopictus*. *Aspirator*. 4(2).
- Mariska, I., dan S.F. Syahid. 1992. Perbanyak Vegetatif Melalui Kultur Jaringan Pada Tanaman Jahe. *Buletin Litri*. 4: 1-5.
- Mohajer, S., Rosna M.T., Arash K., and Jamilah S.Y. 2012. Induction of Different Types of Callus and Somatic Embryogenesis in various Explants of Sainfon (*Onobrychis sativa*). *Australian Journal of Crop Science*. 6(8).
- Mukhlisah, Fauziah. 1999. **Temu-temuan & Empon-empon, Budi Daya dan Manfaat**. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Muryati, S. dan Anggarwulan, E. 2005. Pertumbuhan dan Produksi Reserpin Kalus Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex. Kurz.) pada Pemberian Metil Jasmonat secara *In Vitro*. *Bioteknologi*. 22(2).
- Nainwal, P. 2011. Medicinal Plant Studies Influenced by The Biotechnological Methods: An Updated Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2(2).
- Ningsih, I. Y. 2014. Pengaruh Elisitor Biotik dan Abiotik pada Produksi Flavonoid Melalui Kultur Jaringan Tanaman. *Pharmacy*. 11(2).
- Noggle, G.R. dan G. J. Fritz. 1983. **Introductory Plant Physiology: Second Edition**. New Jersey L Prentice-Hall.
- Noorrohmah, Siti, *et al.* 2017. Pengaruh Kombinasi Auksin 2,4-D dengan Sitokinin BAP dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Eksplan Daun Torbangun. (*Coleus amboinicus*). *Prosiding Seminar Nasional*.
- Nuri, A., *et al.* 2009. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. *Elsevier*.
- Nursetiadi, Eka, *et al.* 2016. Pengaruh Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana*) secara *In Vitro*. *Bioteknologi*. 13(2).
- Pandiangan, D. dan Nelson N. 2006. Peningkatan Kandungan Katarantin pada Kultur Kalus *Catharanthus roseus* dengan Pemberian *Naphtalene Acetic Acid*. *Hayati*. 13(3).

- Pandiangan, K.D., *et al.* 2009. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. **Metode Ekstraksi Silika dari Sekam Padi**. P00200900776.
- Pandiangan, D. 2011. Respon Pertumbuhan Kalus *Catharanthus roseus* yang Diberi Perlakuan Triptofan. *Bioetika*. 5(2).
- Park, J.M and S.Y. Yoon. 1992. Production Of Sanguinarine By Suspension Culture Of *Papaversomniferum* In Bioreactor. *J. Ferm. Bioeng.* 74.
- Patel, M.B., And Rajesh S. P. 2013. Effect of Plant Growth Regulators (PGRs) on Callus Induction From Leaf Segment Explant of *Tecomella undulata* (Sm.) Seem- An Important Medicinal Plant. *International Journal of Scientific and Research Publication*. 3(12).
- Permadi, A.B., Santoso I.B, and Kamsinah. 2014. **Upaya Memacu Pembentukan Kalus dari Eksplan Kacang Tanah (*Arachis hypogea*) dengan 2,4-D dan Kinetin**. Fakultas Biologi UNSOED Purwokerto. Skripsi.
- PT. Sido Muncul. 2015. **Delivering The Vision – Laporan Tahunan PT> Sido Muncul, Tbk Tahun 2015**. Jakarta: PT. Sido Muncul.
- Purnamaningsih, R. Dan Ashrina, M. 2011. The Effect of BAP and NAA on Callus Induction and Artemisinin Content of *Artemisia annua* L. *Berita Biologi*. 10(4).
- Purwaningsih, W., Kusdianti, dan Yuniarti, L. 2007. Anatomi Kalus yang Berasal dari Eksplan Daun *Catharanthus roseus* (L.) (Tapak Dara). *Jurnal Seminar Nasional Bioteknologi*. 1(2).
- Puteri, R. F., Evie R., dan Isnawati. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) secara *In Vitro*. *Lentera Bio*. 3(3).
- Putri, Y.S. 2015. **Pertumbuhan Kalus *Stevia rebaudiana* Bertoni dari Eksplan Daun dan Ruas Batang dengan Periode Subkultur Berbeda**. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Rahadja, P.C. 2007. **Teknik Perbanyakan Tanaman secara Modern**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahayu, B. Solichatun., dan Anggarwulan Endang. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi*. 1(1).

- Rahman, M.A., and M.A. Bari. 2012. Callus Induction and Cell Culture of Castor (*Ricinus communis* L. CV. Shabje). *J. Bio-Sci.* 20: 161-169.
- Rahmawati, K.G. 1999. "Secondary Plant Product in Nature" in *Biotechnology Secondary Metabolites* (Eds. Ramawat, K.G and Merillon, J.M). USA: *Sciences Publisher, Inc.* Pp:11-37.
- Rahmi, I., Irfan S., dan tamsil B. 2010. Pengaruh pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Pucuk Jeruk Kanci (*Citrus* sp.) Secara *In Vitro*. *Jerami.* 3(3).
- Ramayulis, Rita. 2015. **100 Resep dan 20 Khasiat**. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Revina, Rika. 2011. **Uji Efek Antiinflamasi Infus Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) terhadap Udem Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh Karaginan**. Universitas Indonesia Jakarta. Skripsi.
- Royani, Ida, *et al.* 2015. Induksi Kalus Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) Varietas Kelinci dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP. *Journal Penelitian Pendidikan IPA.* 1(2).
- Rukmana, R. 2002. **Mengkudu: Budidaya dan Prospek Agribisnis**. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Rusdianto dan Ari I.2012. Induksi Kalus Embriogenik pada Wortel (*Daucus carota*) Menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature.* 13(2).
- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Amonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisisa annua* L. pada Kultur *In Vitro*. *Skripsi.* Fakultas Pertanian UNS. Surakarta. Sebagai Perangsang Pertumbuhan Rambut. *Fitofarmaka.* 4(1).
- Sa'diah, Siti. 2015. Efektivitas Sediaan Emulsi Ekstrak Etanol 70% Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* (Burm.F.) Merr) sebagai Perangsang Pertumbuhan Rambut. *Fitofarmaka.* 4(1).
- Salisbury, F. B., and C.W. Ross. 1995. **Fisiologi Tumbuhan**. Penerjemah: Lukman, D. R. Dan Sumaryono. Bandung: ITB Prss.
- Samsumaharto, R.A., Fransiska L., Prapita S. W. 2010. Identifikasi Minyak Atsiri dalam Kalus Daun Lavender (*Lavandula officinalis* Chaix) dengan Perlakuan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh NAA pada Medium MS. *Jurnal Farmasi Indonesia.* 7(1).

- Sandra, E., *et al.* 2002. **Kultur *In Vitro* Tumbuhan Obat Langka Pule Pandak.** Bogor: Forum Kultur Jaringan.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2003. **Kultur Jaringan Tanaman.** Malang: Pusbitan UMM.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. **Kultur *In Vitro* Tanaman.** Malang: UMM Press.
- Santoso, U., dan Nursandi. 2004. **Cara Perbanyak Tanaman Secara Efisien.** Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Seyyedyousefi, S. R., Behzed K., Naghi P. D., and Ali S. 2013. Callus Induction in *Alstroemeria* Using NAA and BAP. *European Journal of Experimental Biology.* 3(5).
- Shihab, M. Quraish. 2002. **Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an) Vol. 1.** Jakarta: Lentera Hati.
- Siregar, L.A.M., Chan, L.K., dan Boey, P.L. 2006. Pertumbuhan dan Akumulasi Alkaloid dalam Kalus dan Suspensi Sel *Eurycoma longifolia* Jack. *Jurnal Ilmiah Pertanian Kultura.* 41(1).
- 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).
- Siwabessy. R. 2009. **Tinjauan Tentang Persepsi Masyarakat Mengenai Cara Pemanfaatan Dan Pengolahan Tanaman Obat Sebagai Obat-Obatan Alternatif.** UNPATTI Ambon. Skripsi.
- Sriskandarajah, S. E. *et al.* 2006. Regenerative Capacity of Cacti *Schlumbergera* and *Rhipsalidopsis* in Relation to Endogenous Ohytohormones, Cytokinin Oxidases and Peroxidase Activities. *Journal Plant Growth Regul.* 25: 79-88.
- Sriyanti, D. P., dan Wijayani, A. 1994. **Teknik Kultur Jaringan.** Yogyakarta: Yayasan Kanisius.
- Staba, E.J. 1988. **Plant Culture as Source of Biochemical.** Florida: CRC Press. Boca Raton.
- Staniszewska, I., Aleksandra K., Edmund M. 2003. Elicitation of Secondary Metabolites in *In Vitro* Cultures of *Ammi majus* J. *Enzyme and Microbial Technology.* 33.
- Street, H.E. 1993. **Plant Tissue and Cell Culture.** University of California Press. Los Angeles.

- Subandi, M., Liberty C., dan Abdul W. 2016. Pengaruh 6-Benzil Amino Purin dan Asam Naftalin Asetat terhadap Pertumbuhan Jarak Pagar Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Keislaman*. 3(6).
- Sudarmadji. 2003. Penggunaan Benzil Amino Purin pada Pertumbuhan Kalus Kapas secara In Vitro. *Buletin Teknik Pertanian*. 8(1).
- Sudrajad, H. Dan Saryanto. 2011. Pengaruh Penambahan Sitokinin pada Senyawa Flavonoid Kalus (*Echinacea purpurea* L.). *e-Publikasi Ilmiah Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang*.
- Sudrajad, Heru, Didik S., dan Fauzi. 2015. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Eksplan Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.). *Agrovigor*. 8(1).
- Sugiyanti, E. 2008. **Pengaruh Kombinasi BAP (Benzil Amino Purine) dan NAA (Naphtalene Acetic Acid) terhadap Pertumbuhan Tunas Zodia (*Euodia suaveolens* Scheff.) Secara In Vitro.** Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Skripsi.
- Suryani. 2014. Uji Aktivitas Tabir Surya Formula Sediaan Losio Ekstrak Metanol Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). *Medula*. 2(1).
- Suryowinoto, M. 1996. **Pemuliaan Tanaman secara In Vitro.** Yogyakarta: Kanisius.
- Sutjahjo, S.H. 1994. **Induksi Keragaman Somaklonal ke Arah Ketenggangan terhadap Keracunan Aluminium pada Tanaman Jagung.** Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Disertasi.
- Syahid, S.F., Rostiana, dan M. Rohmah. 2010. Pengaruh NAA dan IBA terhadap Perakaran Pruatjan (*Pimpinella alpine* Molck.) In Vitro. *Jurnal Penelitian Yanaman Industri*.
- Triguspita, A., A. Subarnas, dan Supriyatna. 2000. Efek Analgesik dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Kayu Putih, Kecubung, Mangkok, Pohpohan, dan Turi dengan Metode Geliat pada Mencit. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XVII*. Bandung 28-30 Maret 2000.
- Trimulyono, G., Solichatun dan Dewi, M. S., 2004. Pertumbuhan Kalus dan kandungan Minyak atsiri Nilam (*Pogosnemon cablin* (Blanco) Bth.) dengan Perlakuan Asam a-Naftalen Asetat (NAA) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2(1).
- Tsuro, M. 1998. **Comparative Effect of Different Types of Cytokinin for Shoot Formation and Plant Regeneration in Leaf-derived Callus of Lavender (*Lavandula vera* DC).** Laboratory of Plant Breeding Science, Faculty of

- Agriculture, Kyoto Prefectural University, Shimogamo-Hangi Sakyoku, Kyoto 606-8522: Japan.
- Turhan, H. 2004. Callus Induction in Growth Transgenic Potato Genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 3(8).
- Tyagi, R. And P.R. Yadav. 2006. **Biotechnology of Plant Tissue**. New Delhi: Discovery Publishing House.
- Valke, Dinesh. 2007. https://www.flickr.com/photos/dinesh_valke/819292934/in/photostream/. (Online) Diakses tanggal 13 Februari 2019.
- Vickery, ML, Vickery B. 1981. **Secondary Plant Metabolism**. London: The Macmillan Press.
- Wahyuningtiyas, L., Ruri R., Achmad N. 2014. **Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) dengan Penambahan Kombinasi 2,4-D dan BAP pada Media MS**. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Wardani, D. P., Solichatun dan Setiawan, Ahmad D. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. Pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi*. 2(1).
- Warta Ekspor. 2014. **Obat Herbal Tradisional**. Jakarta: Ditjen Pengembangan Ekspor Nasional, Kementerian Perdagangan.
- Wattimena, G. A. 1991. **Zat Pengatur Tumbuh Tanaman**. Bogor: PAU-IPB.
- Wattimena, G. A. 1992. **Bioteknologi Tanaman**. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan IPB.
- Wetherell, D.F. (Penerjemah: Koensumardiyah) 1982. **Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro***. New Jersey: Avery Publishing Group Inc.
- Wetter, L.R., and Constabel, F. 1991. **Metode Kultur Jaringan Tanaman**. Bandung: ITB Press.
- Wijayakusuma, H. 2008. **Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit**. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Wijayani, Y. Dan Mudyantini, W. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi *Protocorm Like Body* Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) BI dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*. 4(2): 33-40.

- Yokota, T. Tumini, N., and Takashi, K. 1999. Growth Rate Estimation of *In Vitro* Primarily Induced Carrot Callus by a Fractal Based Model. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 3.
- Yusnita. 2003. Cytokinin Auxin Balance in Crown Gall Tumors is Regulated by Specific Loci in The t-DNA. *Journal Pnocc. Nath, Acad Sci*. 80:407-411.
- Yusnita. 2003. **Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien**. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Yuwono, T. 2006. **Bioteknologi Pertanian**. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Zulfikar, B., *et al.* 2009. Effect of Explant Sources and Different Concentrations of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Shoot Proliferation and Rooting of Avocado (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Botani*. 41(5).
- Zulfitra, R., Gustiam, dan Benni S. 2018. Induksi Kalus Embriogenik Kopi Arabica (*Coffea arabica* L.) Secara *In Vitro*. *Prosiding Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIMPI) Komda Sumatera Barat*.
- Zulkarnain, 2014. **Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya Kultur Jaringan Tumbuhan**. Jakarta: PT Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Data Hasil Pengamatan

1. Tabel Parameter Hari Muncul Kalus (HMK)

No.	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	NAA	BAP	1	2	3		
1.	0	0	40	40	40	120	40,00
2.		1	37	38	36	111	37,00
3.		2	36	36	37	109	36,33
4.		3	36	37	36	109	36,33
5.		4	38	38	35	111	37,00
6.	0,5	0	36	34	35	105	35,00
7.		1	30	32	31	93	31,00
8.		2	25	25	22	72	24,00
9.		3	21	29	28	78	26,00
10.	4	20	25	24	69	23,00	
11.	1	0	33	34	33	100	33,33
12.		1	31	33	32	96	32,00
13.		2	28	26	25	79	26,33
14.		3	24	26	23	73	24,33
15.		4	24	24	21	69	23,00
16.	1,5	0	34	32	33	99	33,00
17.		1	28	29	27	84	28,00
18.		2	26	29	36	91	30,33
19.		3	24	23	23	70	23,33
20.	4	22	21	20	63	21,00	
21.	2	0	37	36	38	111	37,00
22.		1	27	28	23	78	26,00
23.		2	23	30	33	86	28,67
24.		3	18	24	25	67	22,33
25.		4	18	20	22	60	20,00

2. Tabel Parameter Persentase Eksplan Tumbuh (%)

No.	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	NAA	BAP	1	2	3		
1.	0	0	0	0	0	0	0,00
2.		1	40	20	20	80	26,67
3.		2	20	40	20	80	26,67
4.		3	60	20	20	100	33,33
5.		4	40	20	20	80	26,67
6.	0,5	0	20	20	20	60	20,00
7.		1	40	60	60	160	53,33
8.		2	40	100	80	220	73,33
9.		3	100	60	100	260	86,67
10.		4	60	60	80	200	66,67
11.	1	0	20	20	60	100	33,33
12.		1	40	40	80	160	53,33
13.		2	100	60	100	260	86,67
14.		3	100	80	100	280	93,33
15.		4	100	80	100	280	93,33
16.	1,5	0	20	20	20	60	20,00
17.		1	100	100	80	280	93,33
18.		2	100	100	100	300	100
19.		3	100	100	100	300	100
20.		4	100	80	100	280	93,33
21.	2	0	20	20	20	60	20,00
22.		1	80	40	100	220	73,33
23.		2	100	100	80	280	93,33
24.		3	100	100	100	300	100
25.		4	100	100	100	300	100

3. Tabel Parameter Luas Kalus (mm²)

No.	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	NAA	BAP	1	2	3		
1.	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2.		1	3,5	3,00	4,00	10,5	3,50
3.		2	4,00	4,00	3,00	11	3,67
4.		3	3,67	4,00	4,00	11,67	3,89
5.		4	3,5	3,00	4,00	10,5	3,50
6.	0,5	0	3,00	4,00	4,00	11	3,67
7.		1	4,50	3,67	4,33	12,5	4,17
8.		2	2,50	3,40	2,00	7,9	2,63
9.		3	3,40	7,00	8,20	18,6	6,20
10.	4	6,00	5,00	6,25	17,25	5,75	
11.	1	0	4,00	6,00	3,00	13	4,33
12.		1	4,00	6,00	8,50	18,5	6,17
13.		2	6,80	4,75	4,60	16,15	5,38
14.		3	7,80	7,75	7,80	23,35	7,78
15.	4	7,20	6,00	5,60	18,8	6,27	
16.	1,5	0	4,00	4,00	5,00	13	4,33
17.		1	8,00	7,00	4,75	19,75	6,58
18.		2	4,40	7,60	4,40	16,4	5,47
19.		3	9,20	8,80	10,40	28,4	9,47
20.	4	11,20	9,00	9,20	29,4	9,80	
21.	2	0	3,00	4,00	4,00	11	3,67
22.		1	4,50	6,50	6,00	17	5,67
23.		2	5,80	5,40	7,00	18,2	6,07
24.		3	10,00	8,40	8,20	26,6	8,87
25.	4	11,00	9,20	8,20	28,4	9,47	

4. Tabel Parameter Persentase Eksplan Hidup (%)

No.	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	NAA	BAP	1	2	3		
1.	0	0	100	100	100	300	100
2.		1	100	100	100	300	100
3.		2	100	100	80	280	93,33
4.		3	80	100	100	280	93,33
5.		4	80	60	100	240	80,00
6.	0,5	0	100	40	60	200	66,67
7.		1	100	100	100	300	100
8.		2	100	100	80	280	93,33
9.		3	100	80	100	280	93,33
10.		4	100	60	80	240	80,00
11.	1	0	40	80	80	200	66,67
12.		1	100	100	100	300	100
13.		2	100	80	100	280	93,33
14.		3	100	100	100	300	100
15.		4	100	80	100	280	93,33
16.	1,5	0	40	100	100	240	80,00
17.		1	100	100	80	280	93,33
18.		2	100	100	100	300	100
19.		3	100	100	100	300	100
20.		4	100	80	100	280	93,33
21.	2	0	40	100	60	200	66,67
22.		1	80	40	100	220	73,33
23.		2	100	100	80	280	93,33
24.		3	100	100	100	300	100
25.		4	100	100	100	300	100

5. Tabel Parameter Berat Kalus (Gram)

No.	Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	NAA	BAP	1	2	3		
1.	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2.		1	0,24	0,21	0,31	0,76	0,25
3.		2	0,31	0,31	0,22	0,84	0,28
4.		3	0,29	0,32	0,30	0,91	0,30
5.		4	0,24	0,22	0,34	0,80	0,27
6.	0,5	0	0,21	0,32	0,30	0,83	0,28
7.		1	0,40	0,27	0,33	1,00	0,33
8.		2	0,18	0,28	0,15	0,61	0,20
9.		3	0,28	0,62	0,74	1,64	0,55
10.		4	0,50	0,42	0,56	1,48	0,49
11.	1	0	0,30	0,51	0,22	1,03	0,34
12.		1	0,31	0,50	0,77	1,58	0,53
13.		2	0,61	0,38	0,35	1,34	0,45
14.		3	0,69	0,68	0,69	2,06	0,69
15.		4	0,68	0,51	0,46	1,65	0,55
16.	1,5	0	0,30	0,33	0,41	1,04	0,35
17.		1	0,70	0,64	0,38	1,72	0,57
18.		2	0,36	0,66	0,36	1,38	0,46
19.		3	0,79	0,79	0,75	2,33	0,78
20.		4	0,85	0,75	0,79	2,39	0,80
21.	2	0	0,20	0,30	0,30	0,80	0,27
22.		1	0,37	0,56	0,51	1,44	0,48
23.		2	0,45	0,42	0,64	1,51	0,50
24.		3	0,72	0,75	0,74	2,21	0,74
25.		4	0,82	0,79	0,74	2,35	0,78

Lampiran 2. Perhitungan Statistika Analisis Variansi (ANOVA) dan Uji Lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%

1. Hari Muncul Kalus (HMK)

a. Perhitungan ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HMK

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2607.547 ^a	24	108.648	21.387	.000
Intercept	64709.453	1	64709.453	1.274E4	.000
NAA	1199.280	4	299.820	59.020	.000
BAP	1065.947	4	266.487	52.458	.000
NAA * BAP	342.320	16	21.395	4.212	.000
Error	254.000	50	5.080		
Total	67571.000	75			
Corrected Total	2861.547	74			

a. R Squared = ,911 (Adjusted R Squared = ,869)

b. Uji Lanjut DMRT 5%

- NAA

HMK

Duncan

NAA	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2 mg/L	15	26.8000	
1.5 mg/L	15	27.1333	
0.5 mg/L	15	27.8000	
1 mg/L	15	27.8000	
0 mg/L	15		37.3333
Sig.		.615	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- BAP

HMK

Duncan

BAP	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4 mg/L	15	24.8000			
3 mg/L	15	26.4667	26.4667		
2 mg/L	15		29.1333	29.1333	
1 mg/L	15			30.8000	
0 mg/L	15				35.6667
Sig.		.371	.154	.371	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

• **Kombinasi NAA dan BAP**

HMK

Duncan

KOMB INASI	N	Subset for alpha = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
N4B4	3	20.0000												
N3B4	3	21.0000	21.0000											
N4B3	3	22.3333	22.3333	22.3333										
N1B4	3	23.0000	23.0000	23.0000										
N2B4	3	23.0000	23.0000	23.0000										
N3B3	3	23.3333	23.3333	23.3333										
N1B2	3	24.0000	24.0000	24.0000	24.0000									
N2B3	3		24.3333	24.3333	24.3333									
N1B3	3			26.0000	26.0000	26.0000								
N4B1	3			26.0000	26.0000	26.0000	26.0000							
N2B2	3			26.3333	26.3333	26.3333	26.3333							
N3B1	3				28.0000	28.0000	28.0000	28.0000						
N4B2	3					28.6667	28.6667	28.6667						
N3B2	3						30.3333	30.3333	30.3333					
N1B1	3							31.0000	31.0000	31.0000				
N2B1	3							32.0000	32.0000	32.0000				
N3B0	3								33.0000	33.0000	33.0000			
N2B0	3								33.3333	33.3333	33.3333	33.0000		
N1B0	3									35.0000	35.0000	35.0000		
N0B2	3										36.3333	36.3333	36.3333	36.3333
N0B3	3										36.3333	36.3333	36.3333	36.3333
N0B1	3										37.0000	37.0000	37.0000	37.0000
N0B4	3										37.0000	37.0000	37.0000	37.0000
N4B0	3										37.0000	37.0000	37.0000	37.0000
N0B0	3											40.0000	40.0000	40.0000
Sig.		.064	.124	.069	.061	.205	.051	.056	.153	.056	.067	.086		

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

2. Persentase Eksplan Tumbuh (%)
a. Perhitungan ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: %EKSPLAN TUMBUH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	80533.333 ^a	24	3355.556	14.299	.000
Intercept	294533.333	1	294533.333	1.255E3	.000
NAA	33866.667	4	8466.667	36.080	.000
BAP	40480.000	4	10120.000	43.125	.000
NAA * BAP	6186.667	16	386.667	1.648	.090
Error	11733.333	50	234.667		
Total	386800.000	75			
Corrected Total	92266.667	74			

a. R Squared = ,873 (Adjusted R Squared = ,812)

b. Uji Lanjut DMRT 5%

- NAA

%EKSPLAN TUMBUH

Duncan			
NAA	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0 mg/L	15	22.6667	
0.5 mg/L	15		60.0000
1 mg/L	15		72.0000
2 mg/L	15		77.3333
1.5 mg/L	15		81.3333
Sig.		1.000	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- BAP

%EKSPLAN TUMBUH

Duncan				
BAP	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0 mg/L	15	18.6667		
1 mg/L	15		60.0000	
2 mg/L	15		76.0000	76.0000
4 mg/L	15		76.0000	76.0000
3 mg/L	15			82.6667
Sig.		1.000	.133	.532

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

3. Luas Kalus (mm²)

a. Perhitungan ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LUAS KALUS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	399.641 ^a	24	16.652	13.015	.000
Intercept	2228.996	1	2228.996	1.742E3	.000
NAA	182.565	4	45.641	35.674	.000
BAP	168.698	4	42.175	32.964	.000
NAA * BAP	48.377	16	3.024	2.363	.011
Error	63.970	50	1.279		
Total	2692.607	75			
Corrected Total	463.611	74			

a. R Squared = ,862 (Adjusted R Squared = ,796)

b. Uji Lanjut DMRT 5%

- **NAA**

LUAS KALUS

Duncan		Subset for alpha = 0.05		
NAA	N	1	2	3
0 mg/L	15	2.9113		
0.5 mg/L	15		4.4833	
1 mg/L	15			5.9867
2 mg/L	15			6.7467
1.5 mg/L	15			7.1300
Sig.		1.000	1.000	.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- **BAP**

LUAS KALUS

Duncan		Subset for alpha = 0.05		
BAP	N	1	2	3
0 mg/L	15	3.2000		
2 mg/L	15	4.6433	4.6433	
1 mg/L	15		5.2167	
4 mg/L	15			6.9567
3 mg/L	15			7.2413
Sig.		.058	.447	.705

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- **Kombinasi NAA dan BAP**

LUAS KALUS

Duncan		Subset for alpha = 0.05							
KOMB INASI	N	1	2	3	4	5	6	7	8
N0B0	3	.0000							
N1B2	3		2.6333						
N0B1	3		3.5000	3.5000					
N0B4	3		3.5000	3.5000					
N0B2	3		3.6667	3.6667	3.6667				
N1B0	3		3.6667	3.6667	3.6667				
N4B0	3		3.6667	3.6667	3.6667				
N0B3	3		3.8900	3.8900	3.8900				
N1B1	3		4.1667	4.1667	4.1667	4.1667			
N2B0	3		4.3333	4.3333	4.3333	4.3333			
N3B0	3		4.3333	4.3333	4.3333	4.3333			
N2B2	3		5.3833	5.3833	5.3833	5.3833			
N3B2	3		5.4667	5.4667	5.4667	5.4667			
N4B1	3			5.6667	5.6667	5.6667	5.6667	5.6667	
N1B4	3				5.7500	5.7500	5.7500	5.7500	
N4B2	3					6.0667	6.0667	6.0667	
N2B1	3					6.1667	6.1667	6.1667	
N1B3	3					6.2000	6.2000	6.2000	
N2B4	3					6.2667	6.2667	6.2667	
N3B1	3						6.5833	6.5833	
N2B3	3							7.7833	7.7833
N4B3	3								8.8667
N3B3	3								9.4667
N4B4	3								9.4667
N3B4	3								9.8000
Sig.		1.000	.127	.054	.063	.061	.279	.053	.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4. Persentase Eksplan Hidup (%)

a. Perhitungan ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: % EKSPLAN HIDUP

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9632.000 ^a	24	401.333	1.536	.100
Intercept	609301.333	1	609301.333	2.332E3	.000
NAA	672.000	4	168.000	.643	.634
BAP	4245.333	4	1061.333	4.061	.006
NAA * BAP	4714.667	16	294.667	1.128	.357
Error	13066.667	50	261.333		
Total	632000.000	75			
Corrected Total	22698.667	74			

a. R Squared = ,424 (Adjusted R Squared = ,148)

b. Uji Lanjut DMRT 5%

- BAP

% EKSPLAN HIDUP

Duncan		Subset for alpha = 0.05	
BAP	N	1	2
0 mg/L	15	76.0000	
4 mg/L	15		89.3333
1 mg/L	15		93.3333
2 mg/L	15		94.6667
3 mg/L	15		97.3333
Sig.		1.000	.225

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

5. Berat Kalus (Gram)
a. Perhitungan ANAVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BERAT KALUS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.023 ^a	24	.126	10.947	.000
Intercept	15.143	1	15.143	1.316E3	.000
NAA	1.398	4	.349	30.364	.000
BAP	1.330	4	.333	28.905	.000
NAA * BAP	.295	16	.018	1.603	.103
Error	.575	50	.012		
Total	18.741	75			
Corrected Total	3.598	74			

a. R Squared = ,840 (Adjusted R Squared = ,763)

b. Uji Lanjut DMRT 5%

- NAA

BERAT KALUS

Duncan		Subset for alpha = 0.05		
NAA	N	1	2	3
0 mg/L	15	.2207		
0.5 mg/L	15		.3707	
1 mg/L	15			.5107
2 mg/L	15			.5540
1.5 mg/L	15			.5907
Sig.		1.000	1.000	.249

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- BAP

BERAT KALUS

Duncan		Subset for alpha = 0.05		
BAP	N	1	2	3
0 mg/L	15	.2467		
2 mg/L	15		.3787	
1 mg/L	15		.4333	
4 mg/L	15			.5780
3 mg/L	15			.6100
Sig.		1.000	.408	.628

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 3. Perhitungan dan Pengambilan Larutan Stok Hormon

Lampiran stok dibuat 100 ppm dalam 100 ml Aquades dengan perhitungan:

- a. Larutan stok NAA 100 ppm dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok NAA 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

- b. Larutan stok BAP 100 ppm dalam 100 ml

$$\text{Larutan stok BAP 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Pengambilan Larutan Stok Hormon

1. Perlakuan Pemberian NAA

- a. Konsentrasi 0,5 ppm

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 65 \text{ ml} \times 0,5 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{65 \text{ ml} \times 0,5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,325 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 1 ppm

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 65 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{65 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,65 \text{ ml}$$

- c. Konsentrasi 1,5 ppm

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 65 \text{ ml} \times 1,5 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{65 \text{ ml} \times 1,5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,975 \text{ ml}$$

- d. Konsentrasi 2 ppm

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 65 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{65 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$V_1 = 1,3 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pemberian BAP

- a. Konsentrasi 1 ppm

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 65 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{65 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,65 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ml} = 65 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{65 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,3 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 3 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ml} = 65 \text{ ml} \times 3 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{65 \text{ ml} \times 3 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,95 \text{ ml}$$

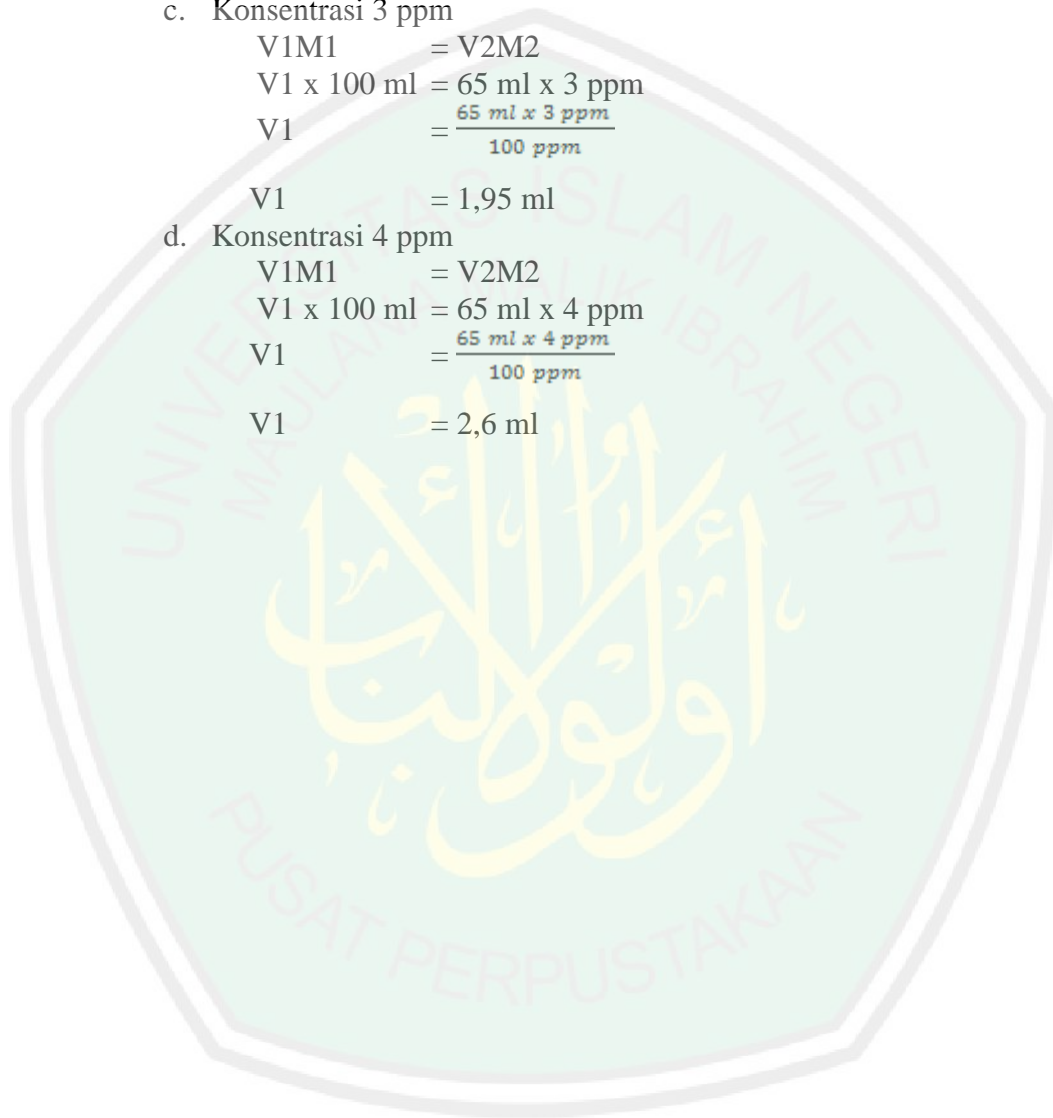
d. Konsentrasi 4 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ml} = 65 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{65 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

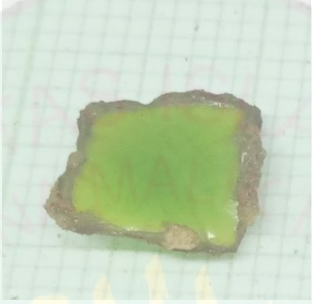
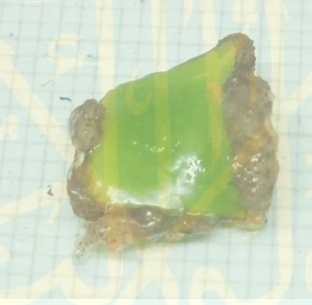
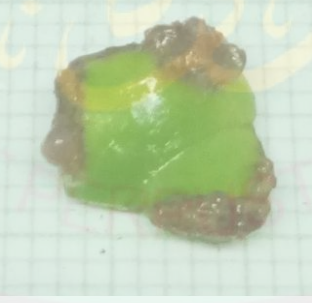
$$V_1 = 2,6 \text{ ml}$$





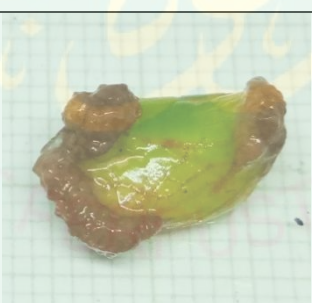

Lampiran 4. Gambar hasil Pengamatan Morfologi dan Anatomi Kalus

a. Morfologi Kalus

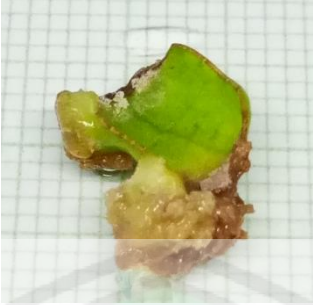
No.	Perlakuan	Foto Pengamatan	Warna kalus	Tekstur Kalus
1.	N0B0 (Kontrol)		-	-
2.	N0B1 (0 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)		Coklat	Kompak
3.	N0B2 (0 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Intermediet
4.	N0B3 (0 mg/l NAA + 3 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak

5.	N0B4 (0 mg/l NAA + 4 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak
6.	N1B0 (0,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP)		Coklat	Kompak
7.	N1B1 (0,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak
8.	N1B2 (0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)		Kuning Kecoklat	Kompak
9.	N1B3 (0,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Intermediet

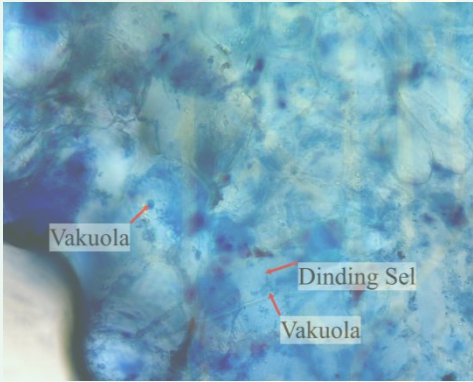
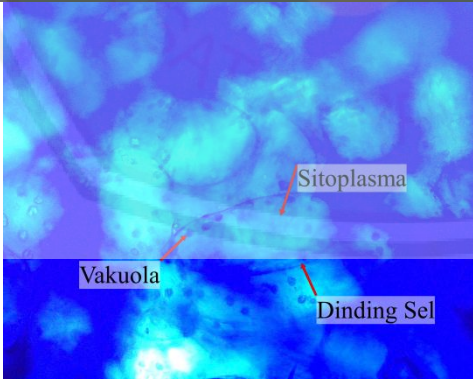
10.	N1B4 (0,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP)		Coklat	Kompak
11.	N2B0 (1 mg/l NAA + 0 mg/l BAP)		Putih Kekuningan	Kompak
12.	N2B1 (1 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)		Putih	Remah
13.	N2B2 (1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)		Putih Kecoklatan	Intermediet
14.	N2B3 (1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP)		Coklat	Kompak


15.	N2B4 (1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak
16.	N3B0 (1,5 mg/l NAA + 0 mg/l BAP)		Coklat	Kompak
17.	N3B1 (1,5 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak
18.	N3B2 (1,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak
19.	N3B3 (1,5 mg/l NAA + 3 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak

20.	N3B4 (1,5 mg/l NAA + 4 mg/l BAP)		Putih Kecoklatan	Intermediet
21.	N4B0 (2 mg/l NAA + 0 mg/l BAP)		Coklat	Kompak
22.	N4B1 (2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP)		Putih Kecoklatan	Intermediet
23.	N4B2 (2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)		Putih	Remah
24.	N4B3 (2 mg/l NAA + 3 mg/l BAP)		Kuning Kecoklatan	Kompak

25.	N4B4 (2 mg/l NAA + 4 mg/l BAP)		Hijau Kekuningan	Kompak
-----	--------------------------------	---	---------------------	--------

**b. Anatomi Kalus
Perbesaran Total 400x**

No.	Fota Pengamatan	Keterangan
1.		N2B3 (1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP) Keterangan: Kalus Kompak Karakteristik: bentuk sel nodular, terdapat vakuola
2.		N2B2 (1 mg/l NAA + 2 mg/l BAP) Keterangan: Kalus Intermediet Karakteristik: bentuk sel nodular dan tubular, terdapat vakuola)

3.		<p>N4B2 (2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP)</p> <p>Keterangan: Kalus Remah</p> <p>Karakteristik: bentuk sel tubular, tidak terdapat vakuola</p>
----	---	---

Lampiran 5. Alat-alat Penelitian



Autoclaf



Oven



Laminar Air Flow



Timbangan Analitik



Hot Plate



Erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, cawan petri, dan botol kultur



Spatula, scalpel, pinset,
mata pisau



Micropipet dan tip



Bunsen dan korek api



Rak Inkubasi



Botol Sprai



Kertas pH

Lampiran 6. Bahan-bahan Penelitian



Daun Mangkogan



ZPT NAA dan BAP



Murashige and Skoog



Agar dan gula



Aquadres Steril



Spirtus



Sabun Cair



Fungisida



Desinfektan



Clorox/Bayclin



Alkohol 96% dan 70%



Tisu, Alumunium foil, kertas label, karet, dan plastik

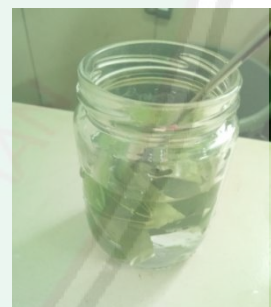
Lampiran 7. Foto Kegiatan Penelitian



Sterilisasi Air mengalir



Sterilisasi Detergen



Sterilisasi Desinfektan



Sterilisasi Alkohol
70%



Sterilisasi Fungisida



Sterilisasi Aquades



Mengambil ZPT



Memasak Media



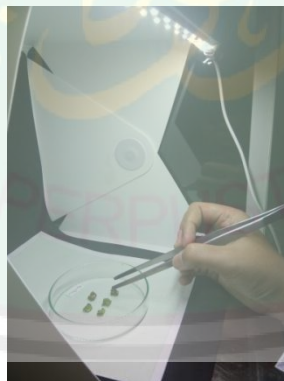
Pengukuran pH



Menutup media yang
sudah Matang



Proses Memotong Eksplan



Proses penanaman eksplan
di LAF



Pengamatan HMK

Pengamatan Luasan Kalus

Pengamatan Berat Kalus



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Riska Aqidatud Dzaroini
NIM : 15620069
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Suyono, M.P
Judul Skripsi : Induksi Kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP
(*Benzyl Amino Purine*) Melalui Teknik *In Vitro*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	4 Desember 2018	Konsultasi Judul Penelitian	1.
2.	8 Januari 2019	Konsultasi BAB I	2.
3.	10 Januari 2019	Konsultasi BAB III, Revisi BAB I	3.
4.	15 Januari 2019	Revisi BAB III	4.
5.	16 Januari 2019	ACC BAB III, Konsultasi BAB II	5.
6.	23 Januari 2019	Revisi BAB I dan BAB II	6.
7.	7 Februari 2019	Revisi BAB II dan BAB I	7.
8.	11 Februari 2019	ACC BAB I dan BAB II	8.
9.	23 Oktober 2019	Konsultasi Data	9.
10.	24 Oktober 2019	Konsultasi BAB IV dan Data	10.
11.	25 Oktober 2019	Revisi BAB IV	11.
12.	28 Oktober 2019	Revisi BAB IV	12.
13.	29 Oktober 2019	Revisi BAB IV	13.
14.	30 Oktober 2019	Revisi BAB IV dan Konsultasi BAB V	14.
15.	4 November 2019	ACC BAB IV dan BAB V	15.
16.	5 November 2019	ACC BAB Keseluruhan	16.

Pembimbing Skripsi,

Suyono, M.P

NIP. 19710622 200912 2 002



Malang, 5 November 2019

Acad. Jurusan,

Suyono, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Riska Aqidatud Dzaroini
NIM : 15620069
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Induksi Kalus Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP
(*Benzyl Amino Purine*) Melalui Teknik *In Vitro*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	22 Januari 2019	Konsultasi Integrasi Ayat BAB I, II, dan III	1.
2.	14 Februari 2019	ACC Integrasi BAB I, II, dan III	2.
3.	29 Oktober 2019	Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV	3.
4.	30 Oktober 2019	ACC Integrasi BAB IV	4.

Malang, 4 November 2019

Pembimbing Skripsi,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 2014201 1 409



Ketua Jurusan,

Romadli, M.Si., D.Sc

NIPT. 19810201 200901 1 019



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 500A / 102.7 /2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Mangkokan**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : RISKA AQIDATUD DZARONI
NIM : 15620069
Perg. Tinggi : UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman mangkokan

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Araliales
Suku : Araliaceae
Marga : Nothopanax
Jenis : *Nothopanax scutellarium* Merr
Sinonim : *N. cochleatum* (Lamk.) Miq. = *N. tricochleatus* Miq = *Polyscias scutellaria* (Burm.f.), Fosb. = *P. tricchleata* (Miq.) = *Panax cochleatum* DC.
Nama Daerah : Mamanukan (Sunda), godhong mangkokan (Jawa), puring (Madura), lanido, ndlido, ranido, ndari (Nusa Tenggara), daun mangkok (Manado), mangko-mangko (Makasar), daun papeda, daun koin, ai lohoi (Maluku).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13a-14bb-17b-18b-19b-20b-21b-22b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802b-803a-804b-805c-806a-807b-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834b-1041b-1042b-1043b-1044b-1045b-1048b-1049b-1050b-1051b-1052b-1053b-1054a-1055b-1057b-1058b-1066b-1067b-1068b-1069b-1070b-1071b-1072b-1073b-1077a-1078b-1079b-11103b-104a-1105a-1b-8b-13b-14b-15b-16a-1

2. Morfologi : Habitus: Perdu tahunan, tumbuh tegak, tinggi 1- 3 m. Batang: Berkayu, bercabang, bentuknya bulat, panjang, dan lurus. Daun: Tunggal, bertangkai, agak tebal, bentuknya bulat berlekuk seperti mangkok, pangkal berbentuk jantung, tepi bergerigi, diameter 6-12 cm, pertulangan menyirip, warnanya hijau tua. Bunga: Majemuk, bentuk payung, warnanya hijau. Buah: Buah buni, pipih, hijau. Biji: Kecil, keras, dan berwarna cokelat.
3. Nama Simplisia : *Nothopanax scutellarii* Folium / Daun mangkokan
4. Kandungan Kimia : Batang dan daun mengandung kalsium-oksalat, peroksidase, amygdalin, fosfor, besi, lemak, protein, serta vitamin A, B1, dan C.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II, N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 05 Agustus 2019
Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu

Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.196111021991031003