

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*)
DAN BAP (*Benzil Amino Purine*) PADA MEDIA MS TERHADAP
INDUKSI KALUS DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)**

SKRIPSI

Oleh :

UUN NURDIANSYAH

NIM. 11620034



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

2015

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) DAN BAP
(*Benzil Amino Purine*) PADA MEDIA MS TERHADAP INDUKSI KALUS
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains Biologi**

**Oleh :
UUN NURDIANSYAH
NIM. 11620034**

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

2015

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D (*Dichlorophenoxyaetic Acid*) DAN BAP
(*Benzil Amino Purine*) PADA MEDIA MS TERHADAP INDUKSI KALUS
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)**

SKRIPSI

Oleh :

UUN NURDIANSYAH

NIM. 11620034

Telah Disetujui Oleh:

Pembimbing I

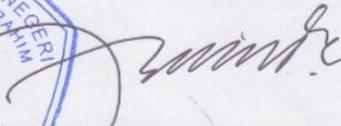
Pembimbing II


Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19209011998032001


Ach. Nasichuddin, M.A
NIP. 19730705 200003 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi




Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002

**PENGARUH KONSENTRASI 2,4-D (*Dichlorophenoxyaetic Acid*) DAN BAP
(*Benzil Amino Purine*) PADA MEDIA MS TERHADAP INDUKSI KALUS
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)**

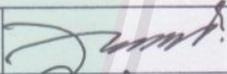
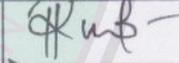
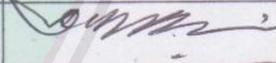
SKRIPSI

Oleh:

**UUN NURDIANSYAH
NIM. 11620034**

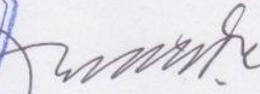
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Tanggal: Nopember 2015

Penguji Utama:	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji:	<u>Ruri Siti Resmisari, M.Pd</u> NIP. 2104 0201 2423	
Sekretaris Penguji:	<u>Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd</u> NIP. 19630114 199903 1 001	
Anggota Penguji:	<u>Ach. Nasichuddin, M.A</u> NIP. 197307052000311 002	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi




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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Uun Nurdiansyah

NIM : 11620034

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul penelitian : Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyaetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) Pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.)

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

Malang, November 2015

Yang membuat pernyataan,



Uun Nurdiansyah
NIM. 11620034

MOTTO

“ Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan...”,

“ Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan...”

(QS. Al-Insyirah [94]: 5-6)



“Hidup Berdampingan Dengan Passion itu Menyenangkan, Apalagi Dengan kita Menghargai Passion Orang Lain”

Lembar Persembahan

Segala puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat serta Hidayah-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang syafaatnya selalu hamba nantikan.

Dengan setulus hati ku persembahkan karya ini kepada:

Kedua orang tuaku Bapak Mohammad Najam dan Ibu Rini Astuti yang telah mencurahkan segala kasih sayangnya, dan dengan kesabaran serta keikhlasannya selalu menasehati, memotivasi, dan mendo'akan agar di berikan kelancaran dalam menuntut ilmu.

Nenekku tersayang Ibu Sukaini, Orang tuaku Bapak Abdul Majid dan Ibu Sri Ningsih, Adikku Nanda dan Pamanku Sri Wahyudi yang telah memberi inspirasi dalam melakukan penelitian ini, keluarga besarku yang selalu memberikan dorongan semangat, serta doanya agar tidak mudah putus asa.

Dosen pembimbing Dr. H. Eko Budi Minarno M.Pd, dan Ach. Nasichuddin M.A yang selalu memberikan saran dan nasehat dalam menyusun skripsi.

My Dear Tri Rahma Dina Yanti yang senantiasa memberikan semangat, nasehat, serta waktunya selama menuntut ilmu di Malang ini.... ☺

Teman-Teman seperjuangan di Laboratorium Kultur Jaringan yang selalu berbagi susah senang bersama Yogi, Umik, Agustin, Windi. Dan dulur kontrakan ku Saiful, Sumanto, Dani, Arif, Febri, wahyudi dan Syafi, Sukses terus semoga di beri lindungan dariNya.

Semua teman-teman biologi angkatan 2011 khususnya yang tercinta Idris, Fikar, Rahman, Mufti, Agus, Ali, Rudin, Hamdan dan yang lainnya yang tidak dapat disebutkan satu-persatu terima kasih atas motivasinya tetaplah berjuang menggapai cita-cita kalian. Masih banyak orang-orang yang sangat berarti dalam hidup semoga silaturahmi diantara kita tetap terjaga.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarokatuh

Syukur *Alhamdulillah* penulis haturkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyaetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) Pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) “ ini. Shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

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

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, Selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd, selaku Dosen Pembimbing Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

5. Ach. Nashichuddin, M.A, selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan bimbingan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Segenap sivitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh Bapak atau Ibu Dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Abdul Majid dan Ibu Sri Ningsih serta adik Nanda tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.
8. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2011 terima kasih atas kerja sama, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya.

Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca. *Amin Ya Robbal 'Alamiin.*

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
ملخص	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Hipotesis	8
1.5. Manfaat Penelitian	8
1.6. Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	10
2.1.1. Deskripsi Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	10
2.1.2 Manfaat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	12
2.1.3 Kandungan Kimia Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	14
2.2. Kultur Jaringan Tumbuhan	15
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan	15
2.2.2 Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan	17
2.2.3 Media	17
2.2.4 Teknik kultur kalus	18
2.2.5 Nutrisi dalam Media pada Kultur Kalus	21
2.2.6 Zat Pengatur Tumbuh	22
2.2.6.1 ZPT 2,4 D (2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid)	23
2.2.6.2 ZPT BAP (Benzil Amino Purin)	25
2.3 Kajian Keislaman Tentang Perkembangan dan Pertumbuhan Tanaman	27

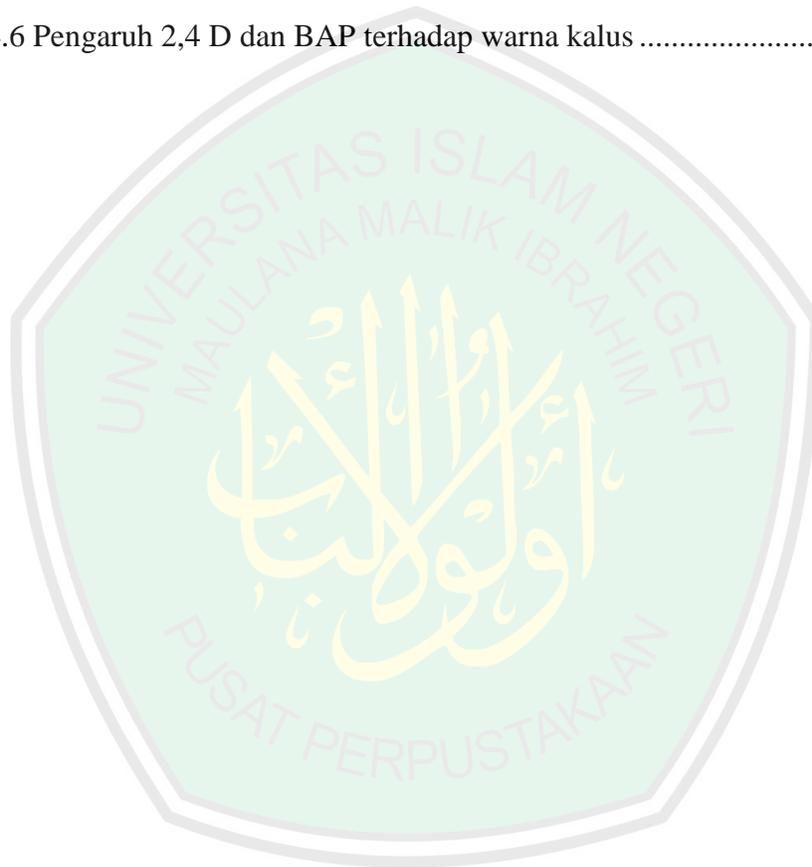
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Rancangan Penelitian	31
3.2. Variabel Penelitian	32
3.3. Waktu dan Tempat	32
3.4. Alat dan Bahan	33
3.4.1 Alat	33
3.4.2 Bahan	33
3.5. Langkah Kerja	33
3.5.1 Persiapan Bahan Ekplan	33
3.5.2 Sterilisasi Ala-alat	35
3.5.3 Pembuatan Media	36
3.5.4 Sterilisasi Media	37
3.5.5 Sterilisasi Ruang Tanam	37
3.5.6 Tahap Inisiasi	38
3.5.7 Tahap Pengamatan	38
3.6. Analisis Data	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Stek daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) sebagai bahan eksplan.....	40
4.2. Pengaruh Konsentrasi 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) Pada Media MS.....	41
4.2.1 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Hari Muncul Kalus	45
4.2.2 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Persentase Pertumbuhan Kalus	48
4.2.3 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Berat Kalus ...	51
4.2.4 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Tekstur Kalus	53
4.2.5 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Warna Kalus .	56
4.3. 4.3 Perlakuan Terhadap Tanaman Dalam Pandangan Islam.....	58
BAB V PENUTUP	
5.1. Kesimpulan	63
5.2. Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman daun afrika.....	11
Gambar2.2 Struktur beberapa kandungan kimia yang ditemukan di daun <i>Vernonia amygdalina</i> Del	15
Gambar 2.3 Tekstur kalus	20
Gambar 2.4 Warna kalus.....	20
Gambar 2.5 Struktur kimia 2,4 D (2,4- diklorofenoksiasetat)	25
Gambar 2.6 Struktur kimia BAP.....	27
Gambar 3.1 Bibit daun afrika.....	34
Gambar 4.1 Gambar eksplan daun afrika.....	40
Gambar 4.2 Hasil pengamatan visual pada media 2,4 d dan BAP.....	46
Gambar 4.3 Diagram Hari Muncul Kalus.....	50
Gambar 4.3 Diagram persentase pertumbuhan kalus.....	53
Gambar 4.4 Diagram rata rata berat basah kalus	54

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil pengamatan visual pada media 2,4 d dan BAP berumur 30 hari.	42
Tabel 4.2 Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap Hari Muncul Kalus	45
Tabel 4.3 Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap persentase pertumbuhan kalus.....	49
Tabel 4.4 Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap berat basah kalus.....	52
Tabel 4.5 Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap tekstur kalus	54
Tabel 4.6 Pengaruh 2,4 D dan BAP terhadap warna kalus	57



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis data Perhitungan	73
Lampiran 2. Gambar hasil penelitian	75
Lampiran 3. Perhitungan Larutan Stok	77
Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok	77
Lampiran 5. Diagram Alir Pembuatan Media	78
Lampiran 6. Alat-alat Penelitian	79
Lampiran 7. Bahan-bahan Penelitian	80
Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian	81
Lampiran 9. Bukti Konsultasi Biologi	82
Lampiran 10. Bukti Konsultasi Agama	83



ABSTRAK

Nurdiansyah, Uun. 2005. **Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing : (I) Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd. (II) Ach. Nashichuddin, M.A

Kata Kunci: 2,4-D, BAP, Kalus Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Tanaman daun afrika merupakan sayuran yang umum dan populer di Afrika Barat. Selain sebagai bahan makanan bagi penduduk di peradaban Afrika tanaman ini juga di manfaatkan sebagai obat. Peran tanaman ini dalam penggunaannya sebagai obat tradisional dan pemenuhan nutrisi sangatlah besar dan telah banyak dibuktikan, adanya beberapa manfaat tersebut tersebut dikarenakan terdapat beberapa senyawa seskuiterpen (*vernolida*, *vernodalol*, *vernolepin*, *vernodalin*, dan *vernomygdin*). Metode untuk dapat mengoptimalkan kandungan tersebut adalah dengan kultur kalus dengan cara penambahan konsentrasi 2,4-D dan BAP sehingga mengakibatkan produksi kalus meningkat dan nantinya dapat dijadikan acuan konsentrasi ZPT yang paling optimal dalam peningkatan metabolit sekunder. Tujuan dari penelitian ini adalah 1.) untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine*. 2.) Untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap kualitas kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini menggunakan 2 faktor yaitu pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS eksplan daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) faktor 2,4-D dengan 3 taraf dan faktor BAP dengan 4 taraf sehingga di dapatkan 12 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan diulang 3 kali, total terdapat 36 percobaan.. Data yang di peroleh di analisis dengan menggunakan *one way* (ANOVA). Apabila perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter maka dilanjutkan dengan Uji Duncan Multiple Test (DMRT) pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh nyata pada parameter hari muncul kalus, parameter persentase pertumbuhan kalus dan parameter berat basah kalus. Dari hasil pengamatan konsentrasi 2 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4-D adalah konsentrasi yang paling optimal karena pada konsentrasi tersebut mempunyai nilai hari muncul kalus 18 HST, pada parameter persentase pertumbuhan kalus menghasilkan nilai 53,3% dan pada parameter berat basah kalus menghasilkan nilai 0,08 gram dan selalu menghasilkan nilai signifikan dalam setiap parameter serta pada konsentrasi tersebut mempunyai hasil kenampakan visual kalus yang optimal. Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh pada tekstur kalus yaitu rata rata kalus mempunyai tekstur intermediet, sedangkan pada media kontrol bertekstur kompak. Kombinasi 2,4 D dan BAP juga berpengaruh pada warna kalus, warna kalus yang dominan adalah putih kehijauan.

ABSTRACT

Nurdiansyah, Uun. 2005. **Effect of 2,4-D Concentration (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) and BAP (*Benzyl Amino Purine*) on MS medium Against Leaf Callus Induction Africa (*Vernonia amygdalina Del.*)**. Thesis. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisors: (I) Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd. (II) Ach. Nashichuddin, M.A.

Keywords: 2,4-D, BAP, Africa Leaf Callus (*Vernonia amygdalina Del.*)

African leaf plant is a vegetable that is a commonly found and popular in West Africa. Besides as a foodstuff for African society, the plant is also consumed as a drug. The role of this plant in its use as a traditional medicine and nutrition is very large and has a lot to prove, the existence of some of these benefits is because there are several sesquiterpene (vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin, and vernomygdin). The Methods to optimize the compound is the callus cultures by the addition concentration of 2,4-D and BAP resulting in increased callus production and can later be used as a reference for the most optimal concentration of PGR in improvement of secondary metabolites. The purpose of this research is 1) to investigate the effect of 2,4-D dichlorophenoxyaetic benzyl BAP amino acid and purine. 2.) To determine the effect of 2,4-D and BAP *dichlorophenoxyaetic benzyl amino acid purine* MS medium for callus quality of African leaf (*Vernonia amygdalina Del.*) Keywords: 2,4-D, BAP, Africa Leaf Callus (*Vernonia amygdalina Del.*)

This research included in experimental studies using RAL (completely randomized design). This study employs two factors, namely the provision of a wide range of concentrations of 2,4-D and BAP *dichlorophenoxyaetic benzyl amino acid purine* MS medium leaf explants Africa (*Vernonia amygdalina Del.*) Factor of 2,4-D with 3 levels and BAP factor with 4 levels so that in get 12 combinations of treatment and each treatment was repeated 3 times, a total of 36 trials. The data obtained was analyzed using one way (ANOVA). If the treatment is significantly affecting the parameters then it is continued with Duncan Multiple Test (DMRT) at 5%.

The results showed that 1. Combination 2,4D and BAP real effect on the day appears callus parameter, parameter percentage callus growth and callus wet weight parameters. From observations concentration of 2 mg / L BAP and 2 mg / L 2,4-D is the most optimal concentration because at these concentrations has a value of 18 days appears callus HST, the percentage of callus growth parameters resulted in 53.3% and the value of the parameter wet weight of 0.08 grams callus generate value and always generate significant value in every parameter and at these concentrations have results callus optimal visual appearance. 2.4 D and BAP combinations affect the texture of callus which is an average of callus having intermediate texture, whereas in the control medium textured compact. 2.4 D and BAP combinations also affect the color of callus; callus dominant color is greenish-white.

الملخص

نورديانسة, أوأون. 2005. أثار الاكتراث D 2,4 (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) و *Benzil Amino* (*BAP*) في وسيلة MS عن تكوين كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del.*). بحث العلمى. قسم علم الحياة في كلية العلوم والتكنولوجيا في جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: الدكتور الحاج إيكو بودى مينارنو الماجستير وأحمد ناصح الدين الماجستير.

الكلمة الرئيسية: D 2,4, BAP, كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del*)

ورقة الأفريقية هي النباتية العامة والمشهورة في الأفريقية الغربية. الفوائد من هذه النباة هي طعام الواجبات والدواء في الأفريقية. في فائدتها من الدواء السلفى وتحيق القوت كبير جدا وقد دلت هذه الفائدة. كانت الفوائد من هذا الدواء يسبب وجود مستحضر (*vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin, danvernomygdin seskuiteperen*). المنهج لأمثل العنصر *seskuiteperen* هو ثقافة كالوس بطريقة زيادة الاكتراث D 2,4 و *BAP* حتى يسبب الحصيلة كالوس الارتفاع ويستطيع أن يجعل الدليل الاكتراث ZPT الأمثال في زيادة ميتابوليت الفرعى. الأهداف من هذا البحث لمعرفة الاثار D 2,4 *dichlorophenoxyacetic acid* و *BAP benzil amino purine*. والثانية لمعرفة *D 2,4 dichlorophenoxyacetic acid* و *BAP benzil amino purine* في وسيلة MS عن تكوين كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del.*).

هذا البحث هو البحث التجريبي الذى يستعمل المنهج RAL (*RancanganAcakLengkap*). ويستعمل العاملان, الأول تعذية الاكتراث D 2,4 *dichlorophenoxyacetic acid* و *BAP benzil amino purine* في وسيلة *MS eksplandaunafrika (Vernoniaamygdalina Del.)*. العامل D 2,4 بثلاث مراحل و العامل *BAP* بأربع مراحل حتى يحتصل اثني عشرة المتحدة المعاملات. وكل المعاملة كترت ثلاث مرات, ونتيجتها ثلاثة وثلاثون تجريبية. البيانات الحاصلة قد حلت باستعمال طريقة واحدة. إذا كانت المعاملة تؤثر عن المفعول فاستمرار البحث بالتجريب (*Duncan Multiple Test (DMRT)* في مستوى 5%.).

النتيجة هذا البحث أنّ المتحدة D 2,4 و *BAP* تؤثر في المفعول هو في كالوس, في الناحية نشأته وورنه. في نتيجة ملاحظة الاكتراث *BAP mg/L 2* و *D 2,4 mg/L 2* الاكتراث الجيدة لأنه كانت النتيجة نشأ كالوس *HST 18*, في نسبة مئوية نتيجته 53,3% و وورنه *0,08 gram* وقد احتصل النتيجة الجيدة في كل التجريب وفيه يحتصل كالوس الجيدة. المتحدة D 2,4 و *BAP* تؤثر في صيغة كالوس, بالغال كالموس صيغته إنتيرى دييد, أما بواسطة المراقبة صيغتها المحكم. المتحد D 2,4 و *BAP* قد تؤثر عن لون كالوس. لون كالوس بالغال أبيض المخضر.

ABSTRACT

Nurdiansyah, Uun. 2005. **Effect of 2,4-D Concentration (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) and BAP (*Benzyl Amino Purine*) on MS medium Against Leaf Callus Induction Africa (*Vernonia amygdalina Del.*)**. Thesis. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisors: (I) Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd. (II) Ach. Nashichuddin, M.A.

Keywords: 2,4-D, BAP, Africa Leaf Callus (*Vernonia amygdalina Del.*)

African leaf plant is a vegetable that is a commonly found and popular in West Africa. Besides as a foodstuff for African society, the plant is also consumed as a drug. The role of this plant in its use as a traditional medicine and nutrition is very large and has a lot to prove, the existence of some of these benefits is because there are several sesquiterpene (vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin, and vernomygdin). The Methods to optimize the compound is the callus cultures by the addition concentration of 2,4-D and BAP resulting in increased callus production and can later be used as a reference for the most optimal concentration of PGR in improvement of secondary metabolites. The purpose of this research is 1) to investigate the effect of 2,4-D dichlorophenoxyaetic benzyl BAP amino acid and purine. 2.) To determine the effect of 2,4-D and BAP *dichlorophenoxyaetic benzyl amino acid purine* MS medium for callus quality of African leaf (*Vernonia amygdalina Del.*) Keywords: 2,4-D, BAP, Africa Leaf Callus (*Vernonia amygdalina Del.*)

This research included in experimental studies using RAL (completely randomized design). This study employs two factors, namely the provision of a wide range of concentrations of 2,4-D and BAP *dichlorophenoxyaetic benzyl amino acid purine* MS medium leaf explants Africa (*Vernonia amygdalina Del.*) Factor of 2,4-D with 3 levels and BAP factor with 4 levels so that in get 12 combinations of treatment and each treatment was repeated 3 times, a total of 36 trials. The data obtained was analyzed using one way (ANOVA). If the treatment is significantly affecting the parameters then it is continued with Duncan Multiple Test (DMRT) at 5%.

The results showed that 1. Combination 2,4D and BAP real effect on the day appears callus parameter, parameter percentage callus growth and callus wet weight parameters. From observations concentration of 2 mg / L BAP and 2 mg / L 2,4-D is the most optimal concentration because at these concentrations has a value of 18 days appears callus HST, the percentage of callus growth parameters resulted in 53.3% and the value of the parameter wet weight of 0.08 grams callus generate value and always generate significant value in every parameter and at these concentrations have results callus optimal visual appearance. 2.4 D and BAP combinations affect the texture of callus which is an average of callus having intermediate texture, whereas in the control medium textured compact. 2.4 D and BAP combinations also affect the color of callus; callus dominant color is greenish-white.

ABSTRAK

Nurdiansyah, Uun. 2005. **Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing : (I) Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd. (II) Ach. Nashichuddin, M.A

Kata Kunci: 2,4-D, BAP, Kalus Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Tanaman daun afrika merupakan sayuran yang umum dan populer di Afrika Barat. Selain sebagai bahan makanan bagi penduduk di peradaban Afrika tanaman ini juga di manfaatkan sebagai obat. Peran tanaman ini dalam penggunaannya sebagai obat tradisional dan pemenuhan nutrisi sangatlah besar dan telah banyak dibuktikan, adanya beberapa manfaat tersebut tersebut dikarenakan terdapat beberapa senyawa seskuiterpen (*vernolida*, *vernodalol*, *vernolepin*, *vernodalin*, dan *vernomygdin*). Metode untuk dapat mengoptimalkan kandungan tersebut adalah dengan kultur kalus dengan cara penambahan konsentrasi 2,4-D dan BAP sehingga mengakibatkan produksi kalus meningkat dan nantinya dapat dijadikan acuan konsentrasi ZPT yang paling optimal dalam peningkatan metabolit sekunder. Tujuan dari penelitian ini adalah 1.) untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine*. 2.) Untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap kualitas kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini menggunakan 2 faktor yaitu pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D *dichlorophenoxyacetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS eksplan daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) faktor 2,4-D dengan 3 taraf dan faktor BAP dengan 4 taraf sehingga di dapatkan 12 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan diulang 3 kali, total terdapat 36 percobaan.. Data yang di peroleh di analisis dengan menggunakan *one way* (ANOVA). Apabila perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter maka dilanjutkan dengan Uji Duncan Multiple Test (DMRT) pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh nyata pada parameter hari muncul kalus, parameter persentase pertumbuhan kalus dan parameter berat basah kalus. Dari hasil pengamatan konsentrasi 2 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4-D adalah konsentrasi yang paling optimal karena pada konsentrasi tersebut mempunyai nilai hari muncul kalus 18 HST, pada parameter persentase pertumbuhan kalus menghasilkan nilai 53,3% dan pada parameter berat basah kalus menghasilkan nilai 0,08 gram dan selalu menghasilkan nilai signifikan dalam setiap parameter serta pada konsentrasi tersebut mempunyai hasil kenampakan visual kalus yang optimal. Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh pada tekstur kalus yaitu rata rata kalus mempunyai tekstur intermediet, sedangkan pada media kontrol bertekstur kompak. Kombinasi 2,4 D dan BAP juga berpengaruh pada warna kalus, warna kalus yang dominan adalah putih kehijauan.

الملخص

نورديانسة, أوأون. 2005. آثار الاكتراث D 2,4 (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) و *Benzil* (*BAP*) في وسيلة MS عن تكوين كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del.*). بحث العلمى. قسم علم الحياة في كلية العلوم والتكنولوجيا في جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: الدكتور الحاج إيكو بودى مينارنو الماجستير وأحمد ناصح الدين الماجستير.

الكلمة الرئيسية: BAP, D 2,4, كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del.*)

ورقة الأفريقية هي النباتية العامة والمشهورة في الأفريقية الغربية. الفوائد من هذه النباة هي طعام الواجبات والدواء في الأفريقية. في فائدتها من الدواء السلفى وتحيق القوت كبير جدا وقد دلت هذه الفائدة. كانت الفوائد من هذا الدواء يسبب وجود مستحضر *seskuitepen* (*vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin, seskuitepen*) المنهج لأمثل العنصر *seskuitepen* هو ثقافة كالوس بطريقة زيادة الاكتراث D 2,4 و *BAP* حتى يسبب الحصيلة كالوس الارتفاع ويستطيع أن يجعل الدليل الاكتراث ZPT الأمثال في زيادة ميتابوليت الفرعى. الأهداف من هذا البحث لمعرفة الاثار D 2,4 *dichlorophenoxyaetic acid* و *BAP benzil amino purine* والثانية لمعرفة D 2,4 *dichlorophenoxyaetic acid* و *BAP benzil amino purine* في وسيلة MS عن تكوين كالوس في ورقة الأفريقية (*Vernonia Amygdalina Del.*).

هذا البحث هو البحث التجريبي الذى يستعمل المنهج RAL (*RancanganAcakLengkap*). ويستعمل العاملان, الأول تعذية الاكتراث D 2,4 *dichlorophenoxyaetic acid* و *BAP benzil amino purine* في وسيلة MS (*Vernoniaamygdalina Del.*) *eksplandaunafrika*. العامل D 2,4 بثلاث مراحل و العامل *BAP* بأربع مراحل حتى يحصل اثني عشرة المتحدة المعاملات. وكل المعاملة كرتت ثلاث مرات, ونتيجتها ثلاثة وثلاثون تجرية. البيانات الحاصلة قد حلت باستعمال طريقة واحدة. إذا كانت المعاملة تؤثر عن المفعول فاستمرار البحث بالتجريب (*Duncan Multiple Test (DMRT)*) في مستوى 5%.

النتيجة هذا البحث أنّ المتحدة D 2,4 و *BAP* تؤثر في المفعول هو في كالوس, في الناحية نشأته وورنه. في نتيجة ملاحظة الاكتراث *BAP mg/L 2* و *D 2,4 mg/L 2* الاكتراث الحيدة لأنه كانت النتيجة نشأ كالوس *HST 18*, في نسبة مئوية نتيجته 53,3% و وورنه *gram 0,08* وقد احتصل النتيجة الحيدة في كل التجريب وفيه يحصل كالوس الحيدة. المتحدة D 2,4 و *BAP* تؤثر في صيغة كالوس, بالغالاب كالوس صيغته إنتيرميدييد, أما بواسطة المراقبة صيغتها المحكم. المتحد D 2,4 و *BAP* قد تؤثر عن لون كالوس. لون كالوس بالغالاب أبيض المخضر.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dahulu kala. Penggunaan obat tradisional oleh masyarakat pada saat ini semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah masyarakat telah menerima dan membuktikan manfaat dan kegunaan tumbuhan obat dalam pemeliharaan kesehatan. Menurut *World Healthy Organization* (WHO), hampir 80% umat manusia, menggantungkan dirinya pada tumbuh-tumbuhan sebagai bahan obat dalam memelihara kesehatannya (Kartasapoetra, 1992). Semua itu tidaklah kebetulan, melainkan dengan benar, dalam hal ini terdapat tujuan dan manfaat dalam penciptaan-Nya. Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah SWT yang banyak digunakan oleh manusia.

Sehubungan dengan tumbuhan obat Allah SWT telah berfirman dalam Al-Quran Surat Asy Syuaraa ayat 7 sebagai berikut:

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

Artinya : “*dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh tumbuhan yang baik?*”(Qs. Asy Syuaraa:7).

Terkait tumbuhan obat dapat dikemukakan bahwasanya manfaat bagi manusia sudah dijelaskan dalam Al Qur'an pada surat Asy Syuaraa ayat 7. Dijelaskan dalam tafsir Al-Misbah (Shihab, 2001), betapa banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan yang baik lagi berguna, yang

dapat dimakan oleh manusia dan binatang ternak. Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan-tumbuhan yang baik untuk dimanfaatkan salah satunya dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Tumbuhan memiliki banyak manfaat yang tidak terhitung jumlahnya. Satu diantaranya adalah tumbuhan daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Tanaman daun Afrika merupakan sayuran yang umum dan populer di masyarakat Afrika Barat. Selain sebagai bahan makanan bagi penduduk Afrika tanaman ini juga di manfaatkan sebagai obat. Peran tanaman ini dalam penggunaannya sebagai obat tradisional dan pemenuhan nutrisi sangatlah besar dan telah banyak dibuktikan (Dalazen *et al.* 2005).

Dalam penggunaannya untuk kepentingan pengobatan, daun Afrika dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti demam, malaria, diare, disentri, hepatitis, eksema, batuk, hemoroid dan mempertahankan kadar gula darah yang sehat (Ifeoma *et al.* 2010). Ekstrak akar tanaman daun afrika juga digunakan untuk menangani malaria dan penyakit saluran pencernaan. Salah satu penggunaannya yang paling umum dalam hal pengobatan yaitu sebagai obat cacing usus termasuk cacing nematoda (Farombi 2003). Ekstrak akar dan daunnya menunjukkan adanya aktivitas antimalaria terhadap *plasmodium berghei* (Atangwho *et al.* 2009). Daun afrika mengandung senyawa golongan saponin, flavonoid, sesquiterpen lakton dan glikosida steroid. Daun ini berguna sebagai bahan baku obat (Ijeh dan Ejike, 2010).

Daun Afrika banyak dimanfaatkan pada saat segar, dan sangat jarang dijual dalam bentuk kemasan. Artinya tumbuhan Daun Afrika memerlukan sangat banyak

benih karena produksi dan cara pemanenan tanaman tersebut mirip dengan sayuran. Sekarang masyarakat luas sudah mulai mengenal dan mengetahui cara pemanfaatan daun afrika, sehingga perlu adanya pengadaan benih yang melimpah untuk pemenuhan pasar. Pengembangan budidaya tanaman daun afrika belum banyak dilakukan oleh peneliti di daerah Asia Tenggara. Untuk meningkatkan kualitas benih dan juga peningkatan kandungan obat dalam tanaman ini belum banyak dilakukan.

Daun Afrika mengandung berbagai metabolit sekunder yang sudah diketahui antara lain beberapa lakton seskuiterpen yang diidentifikasi adalah vernolide, vernodalol, vernolepin, vernodalin dan hydroxyvernolide (Erasto *et al.*, 2006). Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh secara konvensional yaitu dengan ekstraksi langsung dari organ tumbuhan. Namun cara tersebut membutuhkan budidaya tanaman dengan skala besar sehingga mengalami kesulitan dalam penyediaan tanaman, dan karena itu diperlukan lahan untuk mengembangkan tanaman tersebut. Disamping itu proses ekstraksi, isolasi dan pemurniannya membutuhkan biaya mahal. Selain itu apabila harus dibuat sintetik, harganya akan mahal karena proses pemurnian dan struktur aktifnya sangat kompleks (Baladrin dan Klocke, 1988). Sehingga usaha usaha untuk mendapatkan metabolit sekunder terus menerus dilakukan dan penelitian penelitian dengan memanfaatkan kultur jaringan tanaman saat ini merupakan pilihan yang tepat untuk dikembangkan (Lenny, 2006).

Kultur jaringan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk memproduksi bahan bioaktif dalam tumbuhan. Baladrin *et al* (1985) menerangkan bahwa keunggulan penggunaan teknik kultur jaringan adalah metabolit sekunder yang dihasilkan mudah dimurnikan karena sel-sel yang dihasilkan tidak banyak mengandung pigmen dan juga terdapat lebih dari 30 metabolit sekunder yang dapat dihasilkan melalui kultur jaringan dengan tingkat konsentrasi yang jauh lebih tinggi dari tumbuhan induknya. Hal ini dapat mengurangi biaya pemurnian menjadi lebih murah. Selain itu dengan teknik kultur jaringan tidak membutuhkan lahan yang luas, bahan yang banyak, dan dapat diproduksi secara terus-menerus dan waktu yang dibutuhkan untuk siklus sel lebih cepat (George dan Sherington, 1984).

Hardiyanto (2004) menambahkan bahwa teknik kultur jaringan untuk mendapatkan metabolit sekunder dari kalus mempunyai keuntungan diantaranya menghemat waktu, tenaga, dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak dengan kondisi yang terkontrol dan dapat diproduksi sesuai dengan kebutuhan. Teknik kultur jaringan yang digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder salah satunya adalah melalui teknik kultur kalus. Kalus adalah sekumpulan sel amorphous (tidak berbentuk atau belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro*. Dengan kultur jaringan produksi metabolit sekunder dapat diperoleh setiap saat karena tidak tergantung kondisi lingkungan seperti iklim dan kondisi tanah (Khaniyah, 2012).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan atau ditambahkan ke dalam medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur *In vitro* kalus. Melalui modifikasi komposisi media, maka terjadi seleksi sel-sel yang mempunyai

sifat khusus. Hal ini berarti bahwa media tumbuh menentukan kuantitas dan kualitas kalus. Sel yang jumlahnya paling banyak merupakan sel-sel yang paling cepat membelah dan sel yang paling sedikit adalah sel yang paling lambat pertumbuhannya. Media seleksi dapat berdasarkan unsur-unsur hara atau zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (Yusnita. 2004).

Pada kebanyakan tumbuhan monokotil media kultur kalus banyak menggunakan zat pengatur tumbuh auksin yang dikombinasikan dengan sitokinin (Rahayu, 2013). Bentuk bentuk auksin yang biasa ditambahkan ke dalam media kultur adalah 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*), IBA (*Indolebutyric Acid*), NAA (*Napthalena Acetic Acid*) dan IAA (*Indole-3 Acetic Acid*) (Gunawan, 1998). Jenis media pertumbuhan kalus sitokinin yang biasa di tambahkan kedalam media kultur adalah BAP (*6 benzyl amino purine*), kinetin, 2iP (*6- δ - δ dimethyl allylaminopurine*), TDZ (*thidiazuron*), Zeatin dan Kinetin.

Penelitian yang dilakukan oleh Lewu (2011), pada induksi kalus tanaman Daun Afrika sebagai penelitian awal untuk pembentukan tunas baru yang berasal dari kalus, menunjukkan bahwa persentase pembentukan kalus maksimum dalam 10 hari setelah tanam, persentase tertinggi produksi kalus dibentuk pada medium yang mengandung 1 mg/L BAP dengan hasil kalus rata-rata 26,7% dari eksplan yang diuji bertekstur remah dan berwarna hijau keputihan. Peningkatan konsentrasi hormon di atas 1 mg/L dan juga perpaduan konsentrasi BAP dan NAA menunjukkan penurunan progresif dalam pembentukan kalus.

Penelitian yang dilakukan oleh Petrova (2011), pada salah satu famili Asteraceae yaitu pada tanaman *Arnica montana* Linn. melaporkan bahwa

perpaduan konsentrasi antara 2,4 D 1mg/L dan BAP 1mg/L mampu menginduksi kalus 50% pada saat subkultur dengan waktu 10 hari setelah inisiasi dan kalus berwarna pucat kehijauan serta bertekstur remah.

Pemberian zat pengatur tumbuh yang tepat akan mempengaruhi kalus yang dibentuk dari suatu eksplan. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah auksin dan sitokinin. Pada penelitian ini hormon auksin yang digunakan adalah 2,4 D dan hormon sitokinin yang digunakan adalah BAP. 2,4-D merupakan auksin sintetis yang sering digunakan untuk menginduksi terbentuknya kalus dari jaringan tanaman (Abidin, 1985). Menurut Santoso dan Nursandi (2002) BAP merupakan salah satu golongan sitokinin yang mempunyai sifat stabil, lebih murah, lebih efektif, BAP juga mendorong pembentukan kalus dan sekaligus dapat merangsang munculnya tunas dari kalus yang terbentuk

Zat pengatur tumbuh auksin yang sering ditambahkan dalam media kultur adalah 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*), Zat pengatur tumbuh ini bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid.

Berdasarkan paparan masalah di atas, penulis melakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4 D dan BAP terhadap induksi kalus dan kualitas kalus yang nantinya dapat dijadikan sebagai penelitain awal dalam hal peningkatan metabolit sekunder. Maka penelitian yang berjudul pengaruh

konsentrasi 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) ini penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)?
2. Bagaimana pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap kualitas kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)
2. Untuk mengetahui pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap kualitas kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)
2. Ada pengaruh 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap kualitas kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

1.5 Manfaat Penelitian

1. Menambah wawasan ilmu pengetahuan dalam bidang kultur jaringan tumbuhan daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)
2. Memberikan informasi tentang konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam hal peningkatan metabolit sekunder maupun induksi kalus pada tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)
3. Memberikan informasi tentang produksi metabolit sekunder dan juga teknik perbanyakan kultur jaringan melalui kalus

1.6 Batasan Masalah

1. Jenis tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun afrika (*Vernonia amygdalina* Dell.)
2. Benih tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) berasal dari pembenihan tanaman obat Anugerah Natur alami Bogor

3. Bagian tanaman yang dijadikan sebagai eksplan adalah daun nomor 2 dari yang termuda tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) karena tidak mudah rusak apabila dilakukan sterilisasi dan juga relatif lebih cepat membelah.
4. Media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP.
5. Konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D adalah 0 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L.
6. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP adalah 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L
7. Parameter yang diamati adalah kuantitas dan kualitas kalus. Kuantitas kalus meliputi hari muncul kalus, persentase pertumbuhan kalus dan berat basah kalus. Serta kualitas kalus meliputi warna kalus dan tekstur kalus (sebagai penanda adanya klorofil, sel selnya aktif membelah).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

2.1.1 Deskripsi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Vernonia amygdalina Dell. atau yang secara umum disebut dengan *bitter leaf* dan memiliki sinonim *Gymnanthemum amygdalinum* adalah salah satu jenis tanaman dari famili Asteraceae dengan ketinggian 2 sampai 5 meter atau bahkan dapat mencapai 10 meter dan memiliki daun yang berwarna hijau dengan bau yang khas dan rasanya yang pahit (Khalafalla *et al.* 2009).

Berikut adalah sistematika tumbuhan (Ibrahim, *et al.*, 2004).

Kerajaan	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Bangsa	Asterales
Suku	Asteraceae
Marga	Vernonia
Jenis	<i>Vernonia amygdalina</i> Del.



Gambar 2.1 Tanaman Daun afrika (Sumber koleksi pribadi)

Daun Afrika mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: Batang tegak tingginya rata rata 1-3 m dapat mencapai 10 m, lebar kanopi mencapai 40 cm², percabangan banyak, batang bulat, berkayu, berwarna coklat sampai abu abu; daun majemuk, anak daun berhadapan, panjang 15-25 cm, lebar 5-8 cm, tebal 7-10 mm, berbentuk seperti ujung tombak, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal membulat, pertulangan menyirip, berwarna hijau tua, akar tunggang (Ijeh, 2010).

Daun afrika tumbuh secara alami di sepanjang sungai dan danau, di pinggiran hutan dan padang rumput, sampai 2000 m dpl. Daun afrika sering tumbuh di daerah-daerah yang tidak dirawat seperti lahan pertanian ditinggalkan, dan dapat ditemukan tumbuh di hutan sekunder. Namun seiring manfaat dan kandungannya sebagai obat yang telah ditemukan dan dibuktikan kini Daun afrika semakin banyak di budidayakan. Dalam pembudidayaan daun afrika membutuhkan intensitas sinar matahari yang tinggi. Tumbuhan ini lebih menyukai lingkungan yang lembab meskipun cukup toleran kekeringan. Tanaman ini dapat tumbuh pada semua jenis tanah, tetapi pembudidayaan sebaiknya dilakukan pada tanah humus (Katende, 1995).

Daun afrika dapat tumbuh menjadi pohon, namun dalam budidayanya tanaman ini sering dipangkas sehingga sering terlihat seperti semak. Setelah dibudidayakan pada lahan, daun atau tunas muda dapat diambil sampai 7 tahun, tapi untuk produksi komersial petani lebih memilih tanaman yang lebih muda. Tanaman berbunga di musim kemarau (Januari dan awal Februari di Afrika Barat dan Tengah). Pemanenan hanya daun menghambat pertumbuhan kembali, hal tersebut dapat merangsang pertumbuhan tunas baru sehingga memperlambat inisiasi bunga. Menjelang musim kemarau daun baru menjadi lebih kecil dan menjadi hijau keabuan warna gelap; rasanya pahit, terutama daun yang dekat dengan perbungaan (Khalafalla *et, al* 2009).

2.1.2 Manfaat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Daun afrika dikenal secara luas di beberapa negara yaitu Cina, Afrika, Malaysia, Singapura dan Nigeria sebagai sayuran, olahan makanan dan ekstrak aqueous sebagai tonik berbagai penyakit . Memiliki karakteristik aroma, rasa getir dan kandungan kimia sebagai obat. Penelitian mengenai farmakologis menunjukkan ekstrak daun dari tanaman. Daun afrika mengandung *hypoglycemic* dan *hypolipidaemic* yang dapat digunakan sebagai pengontrol kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus. Disamping memperlihatkan aktifitas *hypoglycemic*, daun afrika juga aman dikonsumsi sebagai makanan ataupun obat karena tidak menunjukkan efek berlawanan dengan hati dan ginjal (Katende 1995).

Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat dan kandungan dari daun afrika. Tanaman tersebut juga dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi, radang gusi, rematisme, anti malaria, anti diare, penyakit kelamin, penyakit usus, antioksidan. Selain sebagai pengobatan pada manusia,

tanaman tersebut juga dapat dijadikan sebagai bahan proteksi hama dan penyakit tanaman karena diketahui mengandung zat antimikroba (Ofori *et al*, 2013).

Rasa pahit daun afrika disebabkan oleh lakton seskuiterpen (misalnya vernodalin, vernolepin dan vernomygdin) dan glukosida steroid (vernoniosides). Beberapa senyawa ini memiliki aktivitas antiparasit yang signifikan, terutama vernodalin dan vernonioside B1. Vernodalin dan vernomygdin memiliki aktivitas sitotoksik (Leung, 1968).

Ekstrak air daun amygdalina Vernonia menunjukkan tindakan sitostatik untuk menghambat pertumbuhan sel kanker payudara manusia. Dalam tes dengan tikus ekstrak sesquiterpene dari daun menunjukkan aktivitas antihepatotoksik. Ekstrak daun dan kulit akar menunjukkan aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* dan *Plasmodium falciparum* pada tikus. Kayu Vernonia amygdalina dilaporkan dapat melawan bakteri yang signifikan pada penyakit periodontal (Ifeoma, 2011)

Daun afrika telah terbukti mengandung jumlah yang signifikan dari lipid, protein dengan asam amino esensial yang tinggi, karbohidrat dan serat. Tanaman ini juga telah terbukti mengandung jumlah yang cukup dari asam askorbat dan carotenoids. Serta beberapa kandungan lainnya Kalsium, zat besi, kalium, fosfor, mangan, tembaga dan kobalt (Ejoh *et al*, 2007;. Eleyinmi *et al.*, 2008).

Beberapa penelitian lain tentang daun afrika adalah bahwa akar dan ranting tanaman digunakan untuk pengobatan lambung dan masalah pencernaan di Hausa Nigeria Utara, sementara rebusan dari daun digunakan dalam mengobati demam malaria di Guinea dan batuk di Ghana. Pada beberapa daerah di Nigeria, batang

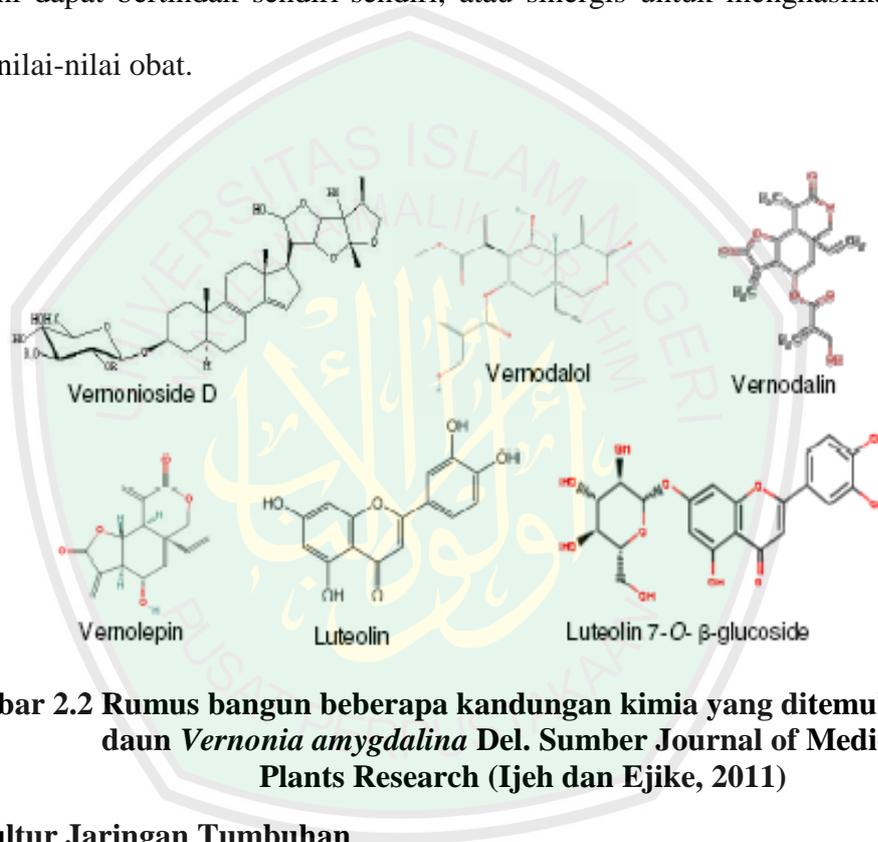
digunakan sebagai tongkat untuk membersihkan mulut dengan cara dikunyah, dan untuk merawat kesehatan gigi. Di Malawi dan Uganda, daun afrika digunakan untuk membantu kontraksi uterus post-partum, menginduksi laktasi dan mengontrol perdarahan post-partum (Mugisha, 2004). Banyak dari penggunaan tradisional dari tanaman ini telah diteliti secara ilmiah.

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Hasil penelitian (Ejoh, *et al.*, 2007; Ijeh, 2010) menunjukkan bahwa tanaman daun Afrika banyak mengandung nutrisi dan senyawa kimia, antara lain adalah sebagai berikut: protein 19,2%, serat 19,2%, karbohidrat 68,4%, lemak 4,7%, asam askorbat 166,5 mg/100 g, karotenoid 30 mg/100 g, kalsium 0,97 g/100 g, besi 7,5 mg/100 g, fosfor, kalium, sulfur, natrium, mangan, tembaga, zink, magnesium dan selenium. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun Afrika antara lain: saponin (vernoniosida dan steroid saponin), seskuiterpen lakton (vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin, dan vernomygdin), flavonoid, koumarin, asam fenolat, lignan, xanton, terpen, peptida, dan luteolin. Daun Afrika telah banyak digunakan untuk obat-obatan dan telah banyak penelitian yang telah dilakukan untuk tumbuhan tersebut seperti antioksidan, antimutagenik, antikanker antidiabetes (Atangwho, *et al.*, 2007) dan analgetik (Njan, *et al.*, 2008).

Beragam kandungan fitokimia telah diteliti, komponen senyawa kimia yang telah ditemukan di dalam daun afrika adalah adanya oksalat dan tanin (Eleyinmi *et al.*, 2008). Rasa pahit Daun afrika adalah karena memiliki kandungan saponin jenis vernoniosides. Selain itu juga terdapat lakton seskuiterpen pada daun. Beberapa lakton seskuiterpen yang diidentifikasi adalah vernolide, vernodalol, vernolepin, vernodalin dan hydroxyvernolide (Erasto *et al.*, 2006). Igile *et al.* (1994)

melaporkan adanya flavonoid luteolin, luteolin 7-O- β -glucuroniside dan luteolin 7-O- β -glukosida, dalam daun afrika. Peneliti lain telah mengkonfirmasi adanya Phytochemical lainnya hadir dalam daun adalah terpen, coumarin, asam fenolik, lignan, xanthones dan antrakuinon (Tona *et al*, 2004.). Izevbigie (2003) telah melaporkan kehadiran bio-aktif peptida yang disebut edotides di daun. Prinsip bio-aktif ini dapat bertindak sendiri-sendiri, atau sinergis untuk menghasilkan hasil untuk nilai-nilai obat.



Gambar 2.2 Rumus bangun beberapa kandungan kimia yang ditemukan di daun *Vernonia amygdalina* Del. Sumber *Journal of Medicinal Plants Research* (Ijeh dan Ejike, 2011)

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur dapat didefinisikan sebagai teknik membudidayakan jaringan agar menjadi organisme yang utuh dan mempunyai sifat yang sama dengan induknya. Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian

tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Kultur jaringan adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk membuat bagian tanaman (akar, tunas, jaringan tumbuh tanaman) tumbuh menjadi tanaman utuh (sempurna) dikondisi *in vitro* (George dan Sherington, 1984).

Yuwono (2006) juga menyatakan bahwa teknik kultur jaringan merupakan alternatif perbanyakan tanaman bukan media tanah, melainkan dalam medium buatan di dalam tabung. Teknik ini sekarang sudah berkembang luas sehingga bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal perbanyakan tidak hanya berupa jaringan melainkan juga dalam bentuk sel sehingga juga dikenal sebagai kultur sel. Oleh karena itu teknik ini secara umum disebut teknik kultur *in vitro*.

Keuntungan dari kultur jaringan lebih hemat tempat, hemat waktu, dan tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan mempunyai sifat sama atau seragam dengan induknya. Contoh tanaman yang sudah lazim diperbanyak secara kultur jaringan adalah tanaman anggrek. Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain: mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan

tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional (George dan Sherington, 1984).

2.2.2 Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan

Dasar teknik kultur jaringan adalah bahwa sel tanaman mempunyai sifat totipotensi yaitu kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang membentuk tanaman lengkap dalam medium aseptik yang mengandung unsur hara dan zat pengatur tumbuh yang sesuai (Abidin, 1982).

Tahapan yang dilakukan dalam perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah Pembuatan media, Inisiasi, Sterilisasi, Multiplikasi, Pengakaran dan Aklimatisasi. Semua tahapan tersebut dilakukan pada kondisi yang aseptik artinya terbebas dari mikroorganisme yang dapat mengakibatkan kontaminasi pada eksplan (Gunawan, 1995).

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam perbanyakan tanaman secara klonal untuk perbanyakan masal. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyakan selanjutnya untuk mendapatkan hasil yang optimum maka penggunaan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat merupakan faktor yang penting (Purnamaningsih dan Lestari, 1998). Kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis.

2.2.3 Media

Keberhasilan dalam penggunaan kultur jaringan tumbuhan sangat bergantung pada media yang digunakan. Media ini tidak hanya menyediakan unsur

hara (makro dan mikro) tetapi juga karbohidrat (gula) untuk menggantikan karbon yang di dapat dari atmosfer melalui fotosintesis. Hasil yang lebih baik akan diperoleh, bila dalam media tersebut ditambahkan vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh (Gunawan, 1998).

Banyak formulasi media yang berbeda dalam hal kuantitas maupun kualitas komponennya. Salah satu formulasi yang banyak digunakan adalah Murashige and Skoog (MS) yang telah ditemukan dan dipublikasikan oleh Thosio Murashige and Skoog pada tahun 1962. Formulasi dasar dari MS ternyata dapat digunakan untuk sejumlah spesies tanaman dalam perbanyakan kultur jaringan (George & Sherrington, 1984).

Umunya media kultur jaringan tersusun atas komponen hara makro, hara mikro, vitamin, gula, asam amino dan N-organik, persenyawaan kompleks alamiah, buffer, arang aktif, ZPT dan bahan pematid. Faktor lain yang tidak kalah penting adalah pengaturan pH media. Tingkat keasaman harus diatur agar tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH sitoplasma. Sel sel tanaman membutuhkan pH yang sedikit asam berkisar antara 5,5 – 5,8 (Alitalia, 2008).

2.2.4 Teknik kultur kalus

Kalus adalah suatu kumpulan sel amorphous yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Penelitian pembentukan kalus pada jaringan terluka pertama kali dilakukan oleh Sinnott pada tahun 1960. Pembentukan kalus pada jaringan luka dipacu oleh zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin endogen (Dodds & Roberts, 1983). Secara *in vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikro organisme seperti *Agrobacterium tumefaciens*, gigitan atau tusukan serangga dan nematoda. Kalus

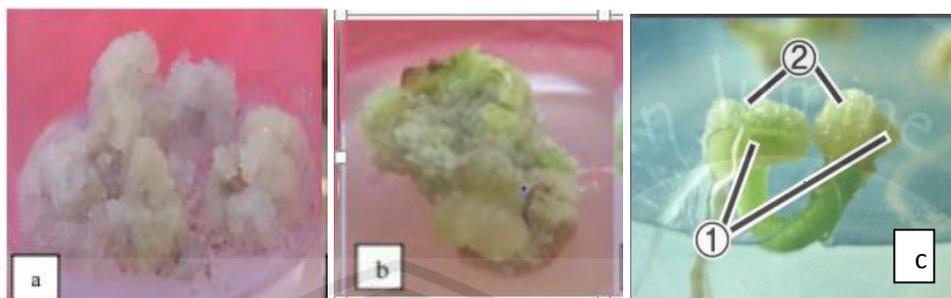
juga dapat terbentuk sebagai akibat stress (George & Sherrington, 1984). Kalus yang diakibatkan oleh hasil dari infeksi bakteri *A. tumefaciens* disebut tumor.

Menurut George dan Sherrington (1984), kultur kalus selain dapat digunakan sebagai teknik perbanyakan tanaman, juga merupakan salah satu cara untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Kalus merupakan massa sel yang belum berdeferensiasi, biasanya terbentuk akibat adanya luka atau akibat kerja hormon auksin dan sitokinin. Sel sel yang membentuk kalus adalah berupa sel parenkim (Pierik, 1987).

Tujuan kultur kalus adalah untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus diharapkan dapat memperbanyak dirinya (massa selnya) secara terus menerus. Sel-sel penyusun kalus berupa sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kultur jaringan, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril, di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin. Organ tersebut dapat berupa kambium vaskular, parenkhim cadangan makanan, perisikle, kotiledon, mesofil daun dan jaringan provaskular. Kalus mempunyai pertumbuhan yang abnormal dan berpotensi untuk berkembang menjadi akar, tunas dan embrioid yang nantinya akan dapat membentuk plantlet (Yuwono, 2006)

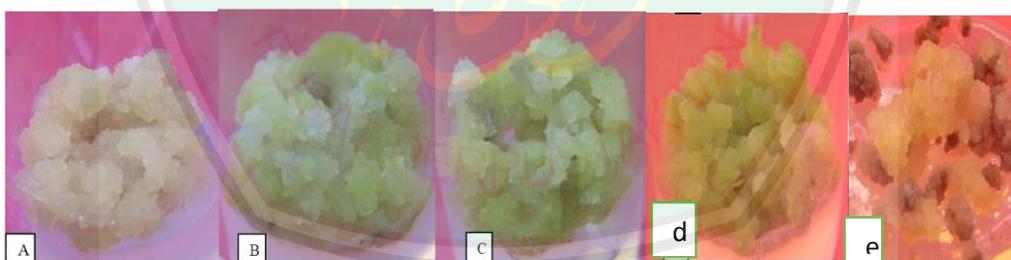
Beberapa kalus ada yang mengalami pembentukan lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang keras dan kompak. Namun ada kalus yang tumbuh terpisah-pisah menjadi fragmen-fragmen yang kecil, kalus yang demikian dikenal dengan kalus remah (friable). Warna kalus dapat bermacam-macam tergantung dari jenis sumber eksplan itu diambil, seperti warna kekuning-kuningan,

putih, hijau, atau kuning kejingga-jinggaan sampai kecoklatan karena adanya pengaruh pigmen pada tanaman tersebut (Andaryani, 2010).



Gambar 2.3 Tekstur kalus a) kalus remah, b) kalus kompak, c)kalus intermediet (1.remah, 2.kompak) (Ramasami, 2005)

Indikator pertumbuhan eksplan pada budidaya invitro berupa warna kalus. Kondisi warna kalus yang bervariasi disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan bagian bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Esplan yang cenderung kecoklatan disebabkan kondisi eksplan yang secara mempunyai kandungan fenol tinggi (Hendayono dan Wijayani, 1994).



Gambar 2.4 Contoh Visualisasi Warna Kalus a. Putih b. Putih kehijauan c. Hijau d. Hijau kekuningan e. Putih kecoklatan (Lutviana, 2012).

Pada umumnya untuk eksplan yang mempunyai kambium tidak perlu penambahan ZPT untuk menginduksi terbentuknya kalus karena secara alamiah pada jaringan berkambium yang mengalami luka akan tumbuh kalus untuk menutupi luka yang terbuka. Namun pada kasus lain, menurut Kordan (Dodds &

Robert, 1983) keberadaan kambium di dalam eksplan tertentu dapat menghambat pertumbuhan kalus bila tanpa penambahan zat pengatur tumbuh eksogen. Penambahan ZPT tersebut dapat satu macam atau lebih tergantung dari jenis eksplan yang digunakan. Pembelahan sel di dalam eksplan dapat terjadi tergantung dari ZPT yang digunakan, seperti auksin, sitokinin, auksin dan sitokinin, dan ekstrak senyawa organik kompleks alamiah.

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Jenis tanaman yang menghasilkan kalus, meliputi dikotil berdaun lebar, monokotil, gymnospermae, pakis dan moss. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon dan batang muda merupakan bagian yang mudah untuk dediferensiasi dan menghasilkan kalus (Yusnita. 2004).

Eksplan batang, akar dan daun menghasilkan kalus yang heterogen dengan berbagai macam sel. Kadang-kadang jaringan yang kelihatannya seragam histologinya, ternyata menghasilkan kalus dengan sel yang mempunyai DNA yang berbeda yang mencerminkan level yang berbeda. Begitupun pada kultur akar kalus yang dihasilkan dapat berupa campuran sel dengan tingkat yang berbeda (Yusnita. 2004).

2.2.5 Nutrisi dalam Media pada Kultur Kalus

Keberhasilan teknik kultur *in vitro* terutama disebabkan oleh pengetahuan yang baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan (Gamborg, 1991). Nutrisi dalam media mempengaruhi kesehatan, daya hidup, pertumbuhan sel jaringan, organ dan differensiasi planlet. Menurut Dodds dan Roberts (1995), komponen media dalam kultur jaringan tanaman meliputi makro dan mikronutrien,

vitamin, sumber karbon dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Komponen makronutrien dalam media terdiri dari nitrogen (N), fosfor (P), potasium (K), kalsium (Ca), sulfur (S) dan magnesium (Mg). Mikronutrien meliputi besi (Fe), mangan (Mn), seng (Zn), boror (Br), tembaga (Cu), molibnum (Mo) dan klor (Cl). Komponen media tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme sel dalam media kultur (Ramawat, 1999).

Menurut Wetherell (1982), sumber karbon dan sumber energi harus ada dalam media kultur. Karbohidrat adalah salah satu senyawa organik sebagai sumber karbon yang ada dalam media kultur jaringan. Karbohidrat sangat dibutuhkan untuk memacu pertumbuhan sel dan berperan dalam metabolisme sel. Sumber karbon dalam media kultur adalah glukosa, fruktosa, galaktosa dan sukrosa. Sukrosa dan glukosa dengan konsentrasi 2-4% merupakan sumber karbon yang paling cocok diberikan dalam media kultur (Wetter dan Constabel, 1991). Menurut Dodds dan Roberts (1995), jumlah sukrosa dan glukosa yang sering ditambahkan dalam media adalah 20.000-30.000 mg/l. Pemberian variasi konsentrasi sukrosa yang lebih ataupun kurang dari kadar normal (20-30 g/l) dalam media dapat menimbulkan stres pada biosintesis metabolit sekunder dan juga menyebabkan perubahan tekanan osmotik (Manuhara, 1995).

2.2.6 Zat Pengatur Tumbuh

Konsep ZPT diawali dengan konsep hormon tanaman, hormon ini adalah senyawa-senyawa organik tanaman yang dalam konsentrasi yang rendah dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari tanaman. Proses ini seperti pembukaan stomata, translokasi serta penyerapan hara. ZPT sangat dibutuhkan sebagai komponen media bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan ZPT

dalam medium biasanya pertumbuhan tanaman akan sangat lambat. Pembentukan kalus dan organ-organ tanaman ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari ZPT tersebut (Santoso dan Nursandi, 2005).

Zat pengatur tumbuh tanaman adalah senyawa organik selain nutrisi tumbuhan, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, serta dapat mempengaruhi setiap proses fisiologis tumbuhan. Hormon tumbuhan merupakan zat organik yang dihasilkan oleh tumbuhan atau buatan, yang dalam konsentrasi rendah dapat mengatur proses fisiologis. Hormon biasanya bergerak dari bagian tanaman yang menghasilkan menuju kebagian lainnya (Abidin, 1983).

Zat pengatur tumbuh mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan eksplan di dalam kultur. Pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh pada media dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan (George dan Sherrington, 1984). Menurut Gunawan (1987) penambahan zat pengatur tumbuh eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Perimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang sesuai akan sangat besar pengaruhnya untuk menghasilkan plantlet.

Terdapat lima kategori utama zat pengatur tumbuh, yaitu auksin (IAA, NAA, IBA dan 2,4 D), giberelin, sitokinin (kinetin, benziladenil, zeatin), etilen dan penghambat pertumbuhan seperti asam absisat (ABA) (Schrimmer, 2012).

2.2.6.1 2,4 D (2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid)

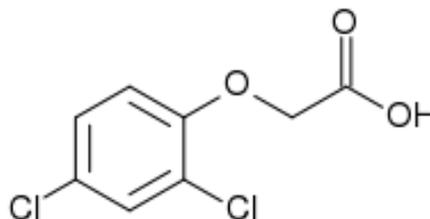
Auksin umumnya berpengaruh terhadap pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif serta menghambat pembentukan tunas aksilar. Dalam konsentrasi rendah auksin akan memacu pembentukan akar adventif, sedangkan

dalam konsentrasi tinggi mendorong pembentukan kalus (Pierik, 1997). Auksin yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah IAA (*Indoleacetic Acid*), 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*), IBA (*Indolebutyric Acid*) dan NAA (*Naphtaleneacetic Acid*) (George dan Sherrington, 1984).

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

Sebagian sel-sel kalus yang terbentuk bersifat embrionik, yaitu kalus yang hanya memiliki kemampuan untuk terus membelah (proliferasi) menghasilkan sel-sel kalus yang baru, sebagian lagi bersifat embriogenik yaitu kalus yang dapat berkembang menjadi embrio somatik setelah kalus tersebut ditransfer ke dalam medium yang sesuai dan tidak mengandung auksin atau 2,4-D (George dan Sherrington, 1984). Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati fase kalus). Keberhasilan akan tercapai apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel

yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Wiendi *et al.*, 1991).



Gambar 2.5 Struktur Kimia 2,4 D (2,4- diklorofenoksiasetat)
(Zulkarnain, 2009)

2.2.6.2 ZPT BAP (Benzil Amino Purin)

Salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan adalah zat pengatur tumbuh yang berasal dari kelompok sitokinin. Menurut Badriah *et al.* (1998), sitokinin berpengaruh terhadap inisiasi tunas. Jenis sitokinin yang yang paling sering dipakai adalah 6-Benzyl AminoPurine (BAP) karena efektivitasnya tinggi (Yusnita, 2003).

Sitokinin merupakan turunan dari adenin. Sitokinin sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin yang pertama ditemukan adalah kinetin. Sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah kinetin, zeatin, 2ip, BAP/BA, PBA, 2C 1-4 PU: N, 2,6-C 1-4 PU: N, dan thidiazuron (Gunawan, 1992). Sitokinin alami banyak terdapat pada akar muda, biji dan buah yang belum masak, dan endosperma (Gardner *et al.*, 1991). Peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pembentukan umbi pada kentang, pemecahan dormansi, pembukaan stomata, pembungaan dan pembentukan buah partenokarpi, serta menghambat senesen dan absisi. Pengaruh sitokinin di dalam kultur jaringan

tanaman antara lain berhubungan dengan proses pembelahan sel, proliferasi tunas ketiak, penghambatan pertumbuhan akar, dan induksi umbi mikro (Armini et al., 1991).

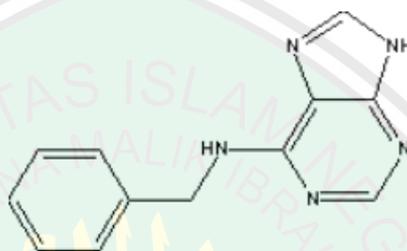
BAP adalah salah satu golongan sitokinin yang mempunyai sifat lebih stabil, lebih murah dan lebih efektif di bandingkan kinetin. BAP mendorong pertumbuhan kalus dan sekaligus merangsang munculnya tunas dari kalus yang terbentuk (Hendaryono, 1994).

Sitokinin telah ditemukan di hampir semua tumbuhan yang lebih tinggi serta lumut, jamur, bakteri, dan juga di banyak tRNA dari prokariota dan eukariota. Saat ini ada lebih dari 200 sitokinin alami dan sintesis serta kombinasinya. Konsentrasi sitokinin yang tertinggi di daerah meristematik dan daerah potensi pertumbuhan berkelanjutan seperti akar, daun muda, pengembangan buah-buahan, dan biji-bijian (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Sitokinin biasanya diaplikasikan untuk merangsang timbulnya tunas pada kultur *in vitro*. Menurut Yusnita (2003) jenis sitokinin yang di gunakan adalah BAP. BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila di berikan pada tunas pucuk dan mendorong pembelahan sel. Selain itu BAP juga dapat digunakan sebagai komposisi media kultur dalam hal induksi kalus.

BAP mempunyai struktur yang sama dengan kinetin, akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin, karena memiliki gugus *benzil* (Alitalia, 2008). Umumnya tanaman memiliki respon yang baik dengan BAP, dibandingkan dengan kinetin sehingga BAP lebih efektif untuk memproduksi tunas *in vitro* maupun induksi kalus *in vitro* (Ramasami, 2005).

Menurut Wattimena (1988) BAP merupakan ZPT yang tergolong sitokinin sintetik yang memiliki berat molekul sebesar 225.26 dengan rumus molekul $C_{12}H_{11}N_5$ (Gambar 2.7), yang dalam penggunaannya dipengaruhi oleh ZPT lainnya. Kosmiatin *et al.* (2005) melaporkan bahwa media kultur yang berisi 1 mg/l BAP menghasilkan induksi dan multiplikasi tunas terbaik pada perbanyakan dan perkecambahan gaharu secara *in vitro*.



Gambar 2.6 struktur kimia BAP (Zulkarnain, 2009)

2.3 Kajian Keislaman Tentang Media atau Tanah yang Subur

Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan merupakan suatu proses yang penting dalam kehidupan suatu spesies. Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan berlangsung secara terus menerus sepanjang hidup, bergantung pada hasil asimilasi serta iklim yang mendukung. Pertumbuhan dalam arti sempit berarti pembelahan sel (peningkatan jumlah) dan perbesaran sel (Peningkatan ukuran). Kedua proses ini adalah proses saling mendukung dan tidak dapat dipisahkan satu sama lain. Dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman perlu adanya lingkungan tumbuh yang sesuai dengan yang di butuhkan oleh tanaman.

Firman Allah SWT dalam surat Al-A'raf ayat 58 berikut mengungkapkan media tumbuh atau tanah yang sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman.

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ

الْآيَاتِ 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.” (QS. Al A’raaf: 58)

Kata وَالْبَلَدُ pada ayat ini adalah dimaksudkan sebagai tanah, dan sifat الطَّيِّبُ menandakan menandakan bahwa tanah tersebut baik dan subur. Sedangkan sifat خَبثَ menandakan bahwa tanah tersebut dipenuhi dengan bebatuanda kerikil, hingga membuatnya subur. Ada yang mengatakan bahwa ayat ini adalah perumpamaan untuk hati, karena hati yang baik akan menerima nasehat dan peringatan, sedangkan hati yang fasik akan menolak semua itu (Qurthubi, 2008).

Firman Allah SWT ”Demikianlah Kami mengulangi tanda tanda kebesaran (Kami) bagi orang orang yang bersyukur.”. arti dai huruf Kaf pada kata كَذَلِكَ adalah sebagaimana. Maksudnya adalah Sebagaimana Kami telah memberikan tanda tanda, Hujjah Hujjah, dan dalil dalil untuk menolak kemusyrikan, Kami juga memberikan tanda tanda atas segala yang dibutuhkan oleh manusia (Qurthubi, 2008).

Abu Ja’far berkata: Allah berfirman, “Negeri yang baik itu tanahnya subur dan airnya segar. Tumbuh tumbuhannya keluar apabila Allah menurunkan hujan dan mengirimkan kehidupan kepadanya dengan izin-Nya. Tumbuh tumbuhan itu mengeluarkan buah-buahan yang baik pada saat itu. وَالَّذِي خَبثَ, Sedangkan tanah

yang tidak subur dan airnya asin. لَا يَخْرُجُ , Maka tumbuh-tumbuhannya tidak keluar إِلَّا نَكِدًا melainkan sangat sulit (Thabari, 2008).

Firman Allah “Demikianlah Kami mengulangi tanda tanda kebesaran (Kami) bagi orang orang yang bersyukur.” Maksudnya adalah: Demikianlah Kami menjelaskan tanda-tanda kebesaran Kami itu satu demi satu. Kami tunjukkan hujjah demi hujjah, dan kami berikan contoh demi contoh, bagi kaum yang bersyukur kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya kepada mereka, yaitu Hidayah. Dia telah perlihatkan jalan yang Dia perintah untuk diikuti, agar mereka menjauhi jalan kesesatan yang diperintah untuk dijauhi. Inilah perumpamaan yang diberikan oleh Allah SWT kepada orang mukmin dan kafir. Negeri yang tanahnya subur, yang mengeluarkan tumbuh-tumbuhan dengan izin Tuhannya adalah perumpamaan orang yang beriman. Sedangkan tanah yang tidak subur, tidak dapat mengeluarkan tumbuh-tumbuhan, kecuali tanaman yang tumbuh akan merata. Itulah perumpamaan orang kafir (Thabari, 2008).

Dalam Tasir Al Maraghi (1993) “Dan negeri yang buruk, tidak keluar tanam tanaman kecuali secara sedikit.” Maksud ayat, sesungguhnya di bumi itu, di antaranya ada yang tanahnya baik dan subur, yang tanaman tanamannya keluar dengan mudah dan tumbuh dengan cepat. Dengan demikian banyak hasilnya dan enak buah buahnya. Ada pula diantaranya yang tanahnya buruk, seperti tanah hitam berbatu, dan tanah tandus yang tanam tanamannya tidak tumbuh karena jumlahnya tidak seberapa, kecuali dengan kesulitan.

Dengan cara penggambaran yang indah seperti itulah kami mengulangi ayat ayat yang menunjukkan atas kekuasaan kami yang nyata. Dan kami mengulanginya kepada kaum yang bersyukur atas nikmat-nikmat kami menggunakan manfaatnya kepada kaum yang bersyukur. Ayat ini diakhiri oleh Allah dengan menyebutkan *Syukur* يَشْكُرُونَ karena sasaran ayat ini adalah agar orang mengambil petunjuk dari ilmu amal dan bimbingan yang lurus (Maraghi, 1993).

Shihab (2010) menyatakan bahwa *“Dan tanah yang baik, tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah”*. Yakni tanah yang baik mengeluarkan tetumbuhannya dengan cepat dan subur. Seperti yang disebut dalam ayat yang lain, yaitu firmanNya Ali Imran 37: *“dan menumbuhkannya dengan pertumbuhan yang baik”*. Adapun firman Allah SWT.: *“dan tanah yang tidak subur, tanaman tanamannya hanya tumbuh merana”*. Menurut Mujahid lainnya, tanah yang tidak subur ialah seperti tanah yang belum digarap dan belum siap untuk ditanami, serta tanah lainnya yang tidak dapat ditanami. Ali ibnu Abu Talhah meriwayatkan dari Ibnu Abbas sehubungan dengan makna ayat ini, bahwa hal ini merupakan perumpamaan yang dibuat oleh Allah untuk menggambarkan keadaan orang mukmin dan orang kafir.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini menggunakan 2 faktor yaitu pemberian berbagai konsentrasi 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS eksplan daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Faktor 2,4-D dengan 3 taraf dan faktor BAP dengan 4 taraf sehingga didapatkan 12 kombinasi perlakuan dan setiap perlakuan diulang 3 kali, total terdapat 36 unit percobaan.

2,4 D BAP	D0	D2	D4
B0	B0D0	B0D2	B0D4
B1	B1D0	B1D2	B1D4
B2	B2D0	B2D2	B2D4
B3	B3D0	B3D2	B3D4

- B0D0 = 0 mg/L BAP+0 mg/L 2,4 D
- B1D0 = 1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
- B2D0 = 2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
- B3D0 = 3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
- B0D2 = 0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
- B1D2 = 1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D

- g. B2D2 = 2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
- h. B3D2 = 3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
- i. B0D4 = 0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
- j. B1D4 = 1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
- k. B2D4 = 2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
- l. B3D4 = 3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D

3.2 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini meliputi:

1. Variabel bebas : konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP pada media MS
2. Variabel terikat : Induksi kalus, yang diukur dengan parameter kecepatan pertumbuhan kalus, persentase pertumbuhan kalus, berat basah kalus, warna kalus dan tekstur kalus
3. Variabel kendali : intensitas cahaya, temperatur suhu dan bagian daun yang dijadikan sebagai eksplan (daun kedua).

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Juni sampai September 2015.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan (Lampiran 6) antara lain oven, gelas ukur, pipet, *beaker glass*, timbangan analitik, lemari es, pH meter, *hot plate and magnetic stirrer*, botol kultur, plastik tahan panas petromax, *autoclaf*, lampu *flouresense*, *laminar air flow* (LAF), alat diseksi (*pinset, blade, scapel*), cawan petri, lampu bunsen, korek api, *alluminium foil*, *wrap plastic*, rak kultur, kertas label dan kertas tisu.

3.4.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah daun nomer 2 dari yang termuda dari tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina* Dell.) sebagai eksplan yang akan ditanam pada media tanah secara vegetatif. Bahan untuk sterilisasi adalah aquades, alkohol 70%, alkohol 90%, desinfektan, aquades steril dan antiseptik. Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige & Skoog). ZPT yang digunakan yaitu 2,4-D yang dikombinasikan dengan BAP. Bahan bahan lain untuk pembuatan media adalah gula dan agar agar

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Persiapan Bahan Ekplan

Teknik yang dilakukan dalam mempersiapkan eksplan adalah dengan perbanyakan vegetatif teknik stek batang, adapun tahapannya adalah sebagai berikut:

1. Digemburkan tanah sesuai prosedur pengolahan tanah.
2. Dimasukkan tanah tersebut ke dalam polybag.

3. Diaduk tanah dengan rata kemudian dibasahi tanah dengan air secukupnya.
4. Dibuat irisan runcing batang bawah pada masing-masing batang tanaman daun afrika.
5. Ditanam batang tersebut pada polybag yang sudah disediakan.
6. Dipelihara dan diamati pertumbuhannya.
7. Daun afrika dapat muncul daun baru pada 16 HST. Setelah tanaman muncul daun muda maka dapat dijadikan sebagai ekplan. Ekplan daun afrika yaitu daun kedua dan ketiga dari daun yang termuda.



Gambar 3.1 Bibit Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang akan dijadikan sebagai eksplan

3.5.2 Sterilisasi Ala-alat

a. Sterilisasi basah

1. Alat-alat dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir bilasan terakhir menggunakan aquades.
2. Dimasukan kedalam oven untuk dikeringkan pada suhu 50°C sampai kering.
3. Dikeluarkan dari oven kemudia satu per satu alat tersebut dibungkus denan *alluminium foil*.
4. Dimasukan kedalam autoklaf untuk disterilkan dengan suhu 121°C tekanan atm selama 30 menit.
5. Dikeluarkan dari autokaf dan dimasukan kembali ke oven untuk dikeringkan denan suhu 50°C sampai kering.

b. Serilisasi Kering

1. Alat alat direndam dengan tipol selama 1 hari (24 jam)
2. Setelah 24 jam alat tersebut dicuci menggunakan detergen.
3. Dibilas dengan air mengalir, bilasan terakhir menggunakan aquades.
4. Dimasukan kedalam oven untuk dikeringkan pada suhu 50°C sampai kering.
5. Dikeluarkan dari oven kemudain dibungkus satu per satu dengan *alluminium foil*.
6. dimasukan kedalam oven untuk disterilkan dengan suhu 125°C selama 3 jam.

3.5.3 Pembuatan Media

Induksi Kalus

1. Dimasukan 4,43 g MS; 30 g gula; ZPT 2,4 D dan BAP ke dalam gelas beaker dan diletakkan diatas *hot plate*. Dengan konsentrasi ZPT pada tiap taraf /L
 - a. B0D0 = 0 mg/L BAP+0 mg/L 2,4 D
 - b. B1D0 = 1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
 - c. B2D0 = 2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
 - d. B3D0 = 3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D
 - e. B0D2 = 0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
 - f. B1D2 = 1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
 - g. B2D2 = 2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
 - h. B3D2 = 3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D
 - i. B0D4 = 0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
 - j. B1D4 = 1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
 - k. B2D4 = 2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
 - l. B3D4 = 3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D
2. Ditambahkan aquades sampai volume 1 L, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*.
3. Diukur pH larutan media dalam beaker glass (pH 5,6-5,8). pH diatur dengan HCl 1 N atau NaOH 1N.
4. Ditambahkan 7 g agar.

5. Larutan media dididihkan dalam panci dengan api sedang sambil terus diaduk selama 15 menit.
6. Larutan media MS dituangkan ke dalam 70 botol kultur masing masing botol sebanyak 14 mL.
7. Botol kultur ditutup dengan plastik tahan panas dan di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit.
8. Botol berisi media MS diinkubasi dalam ruang inkubator selama 1 minggu.

3.5.4 Sterilisasi Media

Media dalam setiap botol kultur disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.5.5 Sterilisasi Ruang Tanam

1. Lantai pada ruang tanam dipel dengan karbol yang telah dicampur dengan air
2. Kapas diberi formalin kemudian diletakkan di pojok ruangan selama 24 jam.
3. *Laminar air flow* disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu.
4. Kemudian alat alat yang dimasukkan ke dalam LAF juga harus di semprot terlebih dahulu dengan alkohol 70%.
5. Selanjutnya ruang tanam disterilisasi dengan sinar UV selama 1 jam sebelum LAF digunakan. Ketika LAF digunakan maka sinar UV harus dimatikan. Saat LAF digunakan maka Blower di hidupkan.

3.5.6 Tahap Inisiasi

a. Sterilisasi Eksplan di dalam LAF

1. Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) direndam dalam alkohaol 70% selama 3 menit. Selanjutnya ekplan direndam kedalam larutan HgCl 1ppm 30% dan 20% masing masing selama 3 menit.
2. Dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali, masing masing 3 menit.

b. Penanaman Eksplan

1. Eksplan ditanam dalam botol kultur berisi media MS yang telah ditambahkan ZPT. Selanjutnya botol ditutup dengan wrap plastik dan plastik yang diikat dengan karet gelang.
2. Diulangi langkah diatas untuk semua unit percobaan dan diinkubasi selama kurang lebih 4 minggu. Penanaman dilakukan secara aseptik di dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

c. Tahap Pemeliharaan

Botol botol yang telah terisi eksplan diletakkan dalam rak kultur dan di semprot dengan alkohol 70% setiap 3 hari sekali.

3.5.7 Tahap Pengamatan

Pengamatn dilakuakn dengan tiga tahap:

1. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan kalus
2. Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke-4 tahap untuk mengetahui perubahan warna kalus, dan tekstur kalus, berat akhir kalus dan persentase pertumbuhan kalus.

Parameter pengamatan :

1. Pengamatan warna kalus dan tekstur kalus yang dilakukan pada akhir pengamatan, untuk mengetahui warna dan tekstur kalus yang terjadi pada setiap kalusnya.
2. Pengamatan berat kalus dilakukan secara destruktif setelah induksi kalus selama 4 minggu untuk mengetahui berat akhir kalus.
3. Tektur kalus dapat diamati secara visual terhadap penampakan kalus yaitu dengan melihat kalus yang remah, kalus kompak, dan kalus intermediet.
4. Pengamatan persentase pertumbuhan kalus dilakukan pada minggu ke empat atau akhir pengamatan, untuk mengetahui persentase pertumbuhan pada setiap percobaan. Persentase pertumbuhan kalus dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$= \frac{\text{Jumlah eksplan yang membentuk kalus}}{\text{Seluruh ekplan yang hidup per satuan percobaan}} \times 100\%$$
5. Kecepatan pertumbuhan kalus dilakukan setiap hari untuk mengetahui pada hari ke berapa setelah tanam kalus muncul.

3.6 Analisis Data

Data pengamatan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa pengamatn secara visual meliputi morfologi kalus meliputi warna kalus dan tekstur kalus, sedangkan data kuantitatif berupa berat kalus, persentase pertumbuhan kalus dan kecepatan pertumbuhan kalus. Data kualitatif dianalisis dengan menggunakan analisis secara deskriptif. Sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakn uji statistik *One Way ANOVA*. Bila terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan uji DMRT pada taraf 5%.

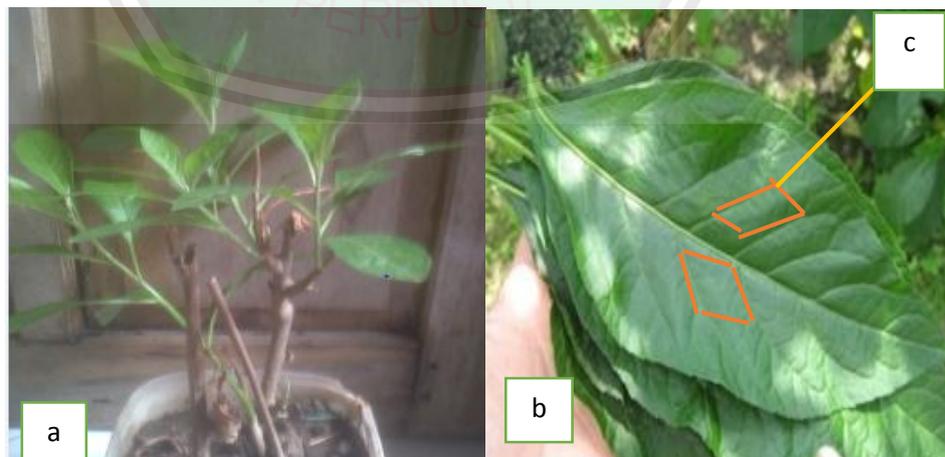
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Stek daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebagai bahan eksplan

Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) atau yang secara umum disebut dengan *bitter leaf* adalah salah satu jenis tanaman dari famili Asteraceae dengan ketinggian 2 sampai 5 meter atau bahkan dapat mencapai 10 meter dan memiliki daun yang berwarna hijau dengan bau yang khas dan rasanya yang pahit. Tanaman ini biasa dibudidayakan dengan cara vegetatif atau stek karena benih dari biji yang dihasilkan sangat terbatas sehingga untuk mendistribusi atau memperbanyak tanaman tersebut dilakukan dengan cara pemotongan atau stek (Leung *et al.* 1968.)

Hasil pengamatan Daun Afrika dapat muncul tunas baru pada hari ke 16 setelah tanam atau setelah di stek. Daun afrika yang dijadikan eksplan adalah daun kedua dan ketiga dari ujung daun atau kuncup. Kerana tekstur yang tidak mudah rusak apabila dilakukan sterilisasi dan juga relatif masih muda sehingga memiliki kemampuan regenerasi dan pembelahan sel tinggi.



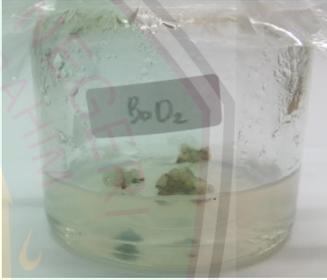
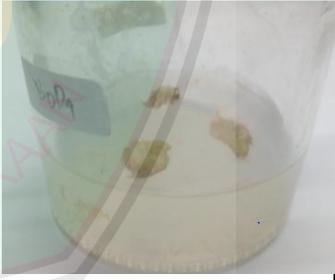
Gambar 4.1 a.) gambar tanaman daun afrika, b.) gambar daun afrika, c.) garis merah adalah bagian daun yang dijadikan sebagai eksplan. Sumber koleksi pribadi 3 oktober 2015

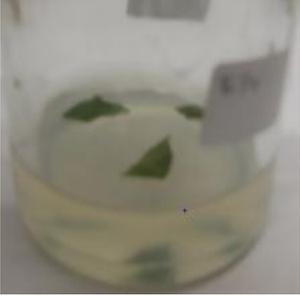
4.2 Pengaruh Konsentrasi 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Pada Media MS

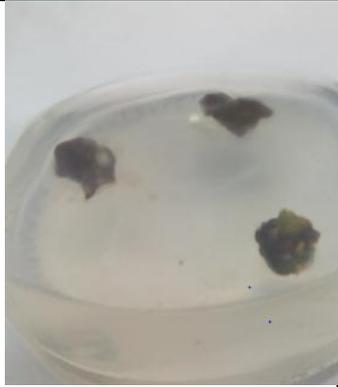
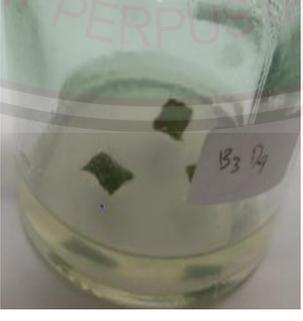
Induksi kalus dalam penelitian ini menggunakan media MS yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh yaitu 2,4-D dan BAP. Dengan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Pemilihan zat pengatur tumbuh tersebut diperoleh dari penelitian terdahulu yaitu pada famili Asteraceae oleh Petrova (2011)

Kalus yang digunakan pada induksi ini berasal dari daun muda yaitu daun nomor dua dari kuncup daun. Induksi kalus dilakukan selama satu bulan dan setiap harinya dilakukan pengamatan agar dapat mengetahui tingkat kecepatan pertumbuhan kalus dan pengamatan morfologinya dilakukan pada saat panen atau setelah satu bulan penanaman. Kalus yang terbentuk pada induksi kalus berwarna putih kehijauan dan putih kecoklatan dengan tekstur kompak. Pertumbuhan kalus kalus ditandai dengan adanya perubahan morfologi eksplan yaitu warna kalus, tektur kalus, persentase pertumbuhan kalus, kecepatan pertumbuhan kalus dan berat basah kalus. Warna dan tekstur menggambarkan secara visual perkembangan kalus sehingga dapat diketahui adanya sel sel yang aktif membelah atau sel sel yang telah mati. Sedangkan berat, persentase dan hari muncul kalus menunjukkan nilai kuantitatif dari pertumbuhan kalus yang ditimbang secara destruktif. Adapun gambar perkembangan kalus dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil pengamatan visual pada media 2,4 d dan BAP, gambar kanan ekplan 0 HST, gambar kiri kalus setelah berumur 30 hari

Perlakuan 2,4D dan BAP	Awal pengamatan	Akhir pengamatan
B0D0		
B0D2		
B0D4		
B1D0		

<p>B1D2</p>		
<p>B1D4</p>		
<p>B2D0</p>		
<p>B2D2</p>		

B2D4		
B3D0		
B3D2		
B3D4		

4.2.1 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Hari Muncul

Kalus

Data hasil uji *one way* ANOVA dan DMRT disajikan pada Lampiran 2. Berdasarkan ANOVA, diketahui bahwa perlakuan 2,4 D dan BAP memberikan pengaruh yang sangat nyata, hal ini ditandai dengan nilai signifikansi 0,006 ($P < 0,05$). Hasil pengamatan terhadap hari muncul kalus dari eksplan yang ditanam pada media dan disajikan pada Tabel 4.1

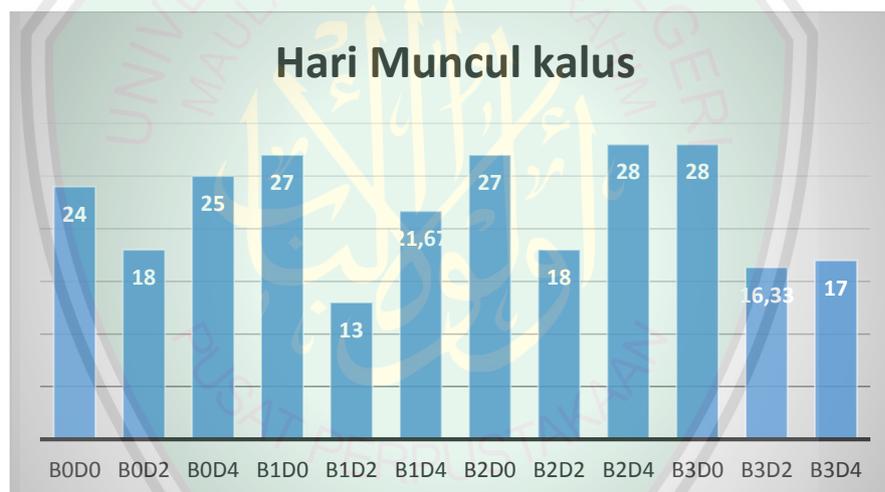
Tabel 4.2 Pengamatan Pengaruh 2,4 D Dan BAP Terhadap Hari Muncul Kalus

Perlakuan BAP dan 2,4-D	Hari muncul kalus
0 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	24bc
0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	18ab
0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	25bc
1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	27cd
1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	13a
1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	21,67ab
2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	27cd
2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	18ab
2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	28d
3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	28d
3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	16,33ab
3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	17ab

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05.

Hasil uji anova menunjukkan data kecepatan pertumbuhan kalus berpengaruh sangat nyata, maka uji lanjut DMRT 5% perlu dilakukan. Jadi pada data tersebut yang mempunyai huruf yang sama atau diikuti oleh huruf yang sama pada hasil rata

rata adalah 1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D, 3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D, 3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D, 0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D dan 2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D. Karena parameter pengamatan adalah untuk menghitung hari munculnya kalus maka yang diambil adalah angka rata rata yang terendah. Selanjutnya menentukan perlakuan terbaik yaitu apabila perlakuan dengan dosis atau komposisi lebih rendah namun mempunyai pengaruh yang sama dengan perlakuan dosis yang lebih tinggi dalam meningkatkan hasil, maka dosis yang lebih rendah tersebut lebih baik dari pada dosis yang lebih tinggi di atasnya. Dalam parameter hari muncul kalus pada perlakuan 1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D ini lebih baik dari pada perlakuan lainnya.



Gambar 4.2 Diagram Hari Muncul Kalus

Gambar 4.3 memperlihatkan Hari muncul kalus pada perlakuan B1D2 (BAP 1ppm dan 2,4 D 2ppm) hari kemunculan lebih cepat yaitu pada hari ke 13, pada perlakuan B0D2 kalus muncul pada hari ke 18, namun seiring dengan penambahan zat pengatur tumbuh, kecepatan pertumbuhan kalus semakin berkurang. Pada perlakuan B2D2 (BAP 2ppm dan 2,4 D 2ppm) mengalami perubahan signifikan yaitu kembali pada hari ke 18, selanjutnya kembali mengalami kenaikan pada

perlakuan B2D4 dan B3D0 yaitu 28, setelah itu kembali mengalami penurunan pada perlakuan B3D2 dan B3D4 yaitu 16,33 dan 17.

Kalus muncul pada permukaan eksplan dan dari luka irisan secara serentak, ditandai dengan membengkaknya eksplan dan munculnya bintik-bintik putih. Pada media B1D2, B3D2 dan B3D4 kalus muncul pada hari ke 13, 16,33 dan 17 setelah dikulturkan, perlakuan tersebut merupakan hari muncul kalus paling cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan diikuti oleh perlakuan B0D2 dan B2D2 kalus muncul 18 hari setelah tanam. Sedangkan eksplan yang paling lama muncul kalus adalah pada media B2D4 dan B3D0 yaitu hari muncul kalus pada 28 hari setelah tanam. Asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) yang merupakan auksin serta BAP yang merupakan sitokinin eksogen mampu merangsang pembelahan sel daun dan melakukan proses dediferensiasi untuk membentuk kalus lebih cepat. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Gati dan Mariska (1992), 2,4-D efektif untuk memacu pembentukan kalus karena aktivitasnya yang kuat untuk memacu proses dediferensiasi sel, menekan organogenesis serta menjaga pertumbuhan kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan BAP dalam media mendukung pembentukan kalus. Hal ini didukung pendapat Dixon dalam Setiti dkk, (1996) yang mengemukakan bahwa media dengan penambahan sitokinin akan menaikkan proliferasi kalus.

Pada media B0D0 yaitu perlakuan kontrol meskipun tanpa penambahan zat pengatur tumbuh eksplan mampu membentuk kalus. Kalus yang muncul diduga disebabkan jaringan yang dikultur mempunyai auksin endogen yang cukup untuk membentuk kalus, meskipun tanpa penambahan auksin dari luar, Hal ini diperkuat

dengan pernyataan Katuuk (1989) bahwa jumlah auksin endogenus yang terkandung di dalam eksplan tergantung pada tanaman induk sumber eksplan. Bila sel dapat tumbuh tanpa penambahan auksin eksogenus, dikatakan bahwa sel itu adalah auksin endogen. Selain itu juga disebabkan jaringan mempunyai kambium. Hal ini sesuai dengan pendapat Gunawan dalam Zulkarnain dan Hadiyono (1997) yang mengemukakan bahwa salah satu faktor penentu pada inisiasi kalus adalah ada atau tidaknya kambium pada eksplan. Bila eksplan mengandung kambium maka kalus dapat terbentuk.

Dari berbagai media dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda, munculnya kalus secara cepat ini diduga karena eksplan daun yang tipis dan tidak memiliki lapisan lilin, sehingga memudahkan eksplan untuk menyerap unsur hara dari media. Dudits *et al.* (1995) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh secara eksogen merupakan faktor eksternal yang berperan dalam reaktifasi siklus sel. Kalus merupakan proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi, sehingga semakin luas permukaan irisan eksplan maka kalus yang terbentuk semakin banyak dan cepat (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

4.2.2 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Persentase Pertumbuhan Kalus

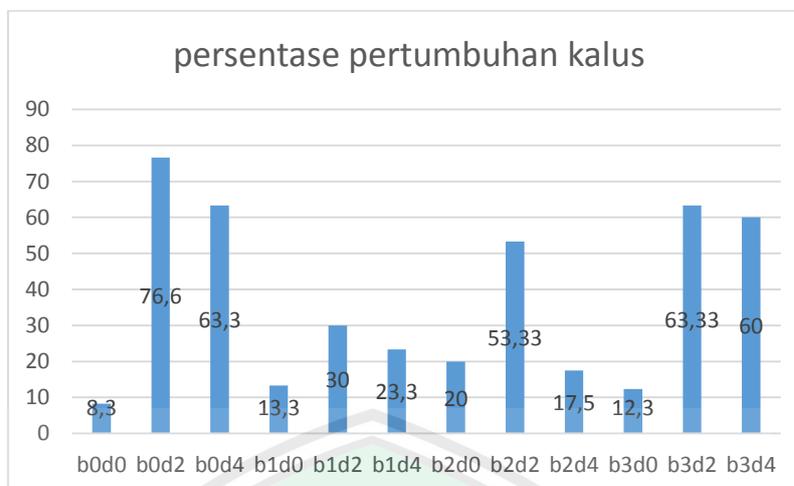
Data hasil uji *one way* ANOVA dan DMRT disajikan pada Lampiran 1. Berdasarkan ANOVA, diketahui bahwa perlakuan 2,4 D dan BAP memberikan pengaruh yang nyata, hal ini di tandai dengan nilai signifikansi 0,005 ($P < 0,05$). Hasil pengamatan persentase pertumbuhan kalus dapat dilihat pada tabel.

Tabel 4.3 Pengamatan Persentase Pertumbuhan Kalus pada Media 2,4 D dan BAP pada 30 setelah Inisiasi

Perlakuan BAP dan 2,4-D	Persentase pertumbuhan kalus (%)
0 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	8,3a
0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	76,6d
0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	63,3cd
1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	13,3a
1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	30ab
1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	23,3a
2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	20ab
2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	53,3cd
2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	17,5a
3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	12,3a
3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	63,3cd
3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	60cd

Keterangan Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05

Analisis hasil uji DMRT 5% menunjukkan bahwasanya pada perlakuan 0mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D; 0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4-D; 2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D; 3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D dan 3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut mengalami peningkatan persentase pertumbuhan kalus yang relatif signifikan, ini ditandai dengan jumlah persentase yang tinggi. Pada perlakuan 0mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D adalah perlakuan yang paling optimal karena memiliki nilai persentase tertinggi di bandingkan perlakuan lain.



Gambar 4.3 Diagram Persentase Pertumbuhan Kalus

Perlakuan BAP 0 mg/L dan 2,4 D 2 mg/L yang menghasilkan persentase terbentuknya kalus tertinggi, dapat dilihat pada gambar, BAP pada konsentrasi rendah sementara 2,4 D pada konsentrasi yang berkisar antara 2-4 ppm. Pada konsentrasi 2,4 D yang lebih rendah cenderung menurunkan terbentuknya kalus apabila ditambahkan dengan konsentrasi BAP yang rendah pula. Skoog dan Miller dalam Bidwell (1979) pada kultur kalus yang menunjukkan bahwa tidak ada ketentuan khusus bagi konsentrasi zat-zat pembentuk organ, konsentrasi auksin dan sitokinin relatif berbeda-beda. Selanjutnya Armini (1991) menyatakan bahwa konsentrasi yang diperlukan dari setiap zat pengatur tumbuh tergantung dari jenis eksplan, genotipe, kondisi kultur serta jenis zat pengatur tumbuh.

Siklus sel berpengaruh terhadap proses pembelahan sel dan sintesis protein, hal ini akan mempengaruhi laju pertumbuhan kalus. Lakitan (1996), setiap sel dapat memiliki siklus sel yang berbeda tidak hanya antar spesies tetapi juga antar individu dari satu spesies tersebut yang sama, hal tersebut dipengaruhi oleh lingkungan atau perlakuan saat perkembangan pohon induknya. Sehingga perlakuan variasi

konsentrasi zat pengatur tumbuh yang di tambahkan kedalam media menunjukkan laju pertumbuhan yang berbeda.

4.2.3 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Berat Kalus

Berat kalus dari hasil pengamatan induksi kalus yang dilakukan pada 30 hari setelah masa tanam berkisar antara 0,005 – 0,08 g yang ditimbang menggunakan timbangan analitik. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan volume sel pada tiap perlakuan dengan pemberian 2,4 D dan BAP.

Data hasil uji *one way* ANOVA dan DMRT disajikan pada Lampiran 3. Berdasarkan ANOVA, diketahui bahwa perlakuan pemberian 2,4 D dan BAP dengan berbagai konsentrasi memberikan pengaruh nyata. Hal ini ditandai dengan nilai signifikansi 0,018 ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada minggu terakhir pengamatan pertumbuhan kalus mengalami penambahan berat. Secara keseluruhan eksplan mengalami pertumbuhan kalus, yang di tunjukan adanya penambahan berat pada masing masing perlakuan.

Hasil uji DMRT 5% menunjukkan bahwasanya terdapat empat perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama yaitu 0mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D; 2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4-D; 3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D dan 3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D dari keempat perlakuan tersebut yang mempunyai hasil berat kalus tertinggi adalah B2D2, karena pada perlakuan ini mempunyai dosis yang relatif rendah yaitu BAP 2ppm dan 2,4 D 2ppm mampu menghasilkan berat kalus 0,08 yang merupakan berat kalus tertinggi. Skoog dan Miller dalam Bidwell (1979) yang menyatakan bahwa dengan penambahan sitokinin dan auksin sampai taraf tertentu dapat menghasilkan

kalus dengan dengan pertumbuhan lebih besar. Adapaun pertumbuhan berat kalus dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Tabel 4.4):

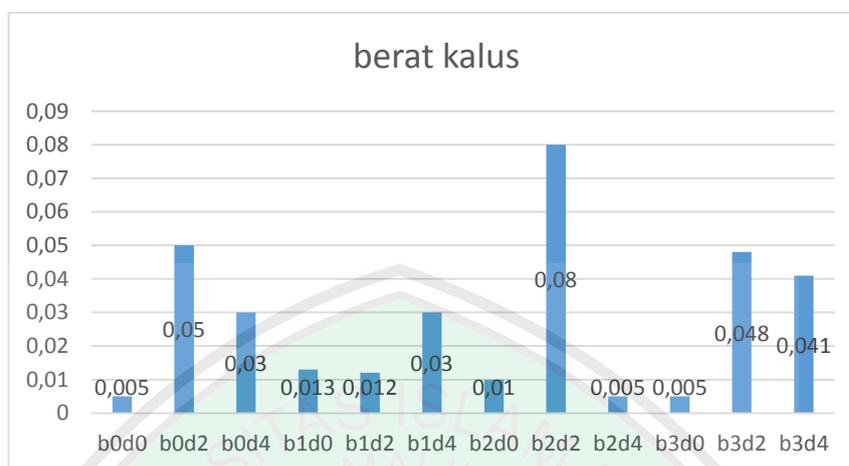
Tabel 4.4 Data Pengaruh Pemberian 2,4 D dan BAP Terhadap Berat Kalus Pada 30 Hari Setelah Inisiasi

Perlakuan BAP dan 2,4-D	Berat kalus
0 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	0,005a
0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	0,05ab
0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	0,03a
1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	0,013a
1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	0,012a
1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	0,03a
2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	0,01a
2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	0,08b
2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	0,005a
3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	0,005a
3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	0,048ab
3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	0,041ab

Keterangan angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 0,05

Perbedaan berat kalus diduga karena eksplan yang dikultur tidak sama kondisi fisiologisnya meski sama sama di ambil dari daun ke dua sehingga memiliki kepekaan dan daya serap pada media yang berbeda serta adanya pengaruh dari zat pengatur tumbuh yang diberikan. Hal ini dibuktikan pada media B2D2 yang di peroleh berat kalus 0,08 gram. Rahayu *et al* (2003), menyatakan bahwa berat segar kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya tinggi, selain itu berat basah yang dihasilkan juga tergantung pada morfologi kalus, kecepatan sel sel membelah

diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesrnya kalus. Adapaun data pertumbuhan kalus dapat dilihat paa gambar 4.4:



Gambar 4.4 Diagram Rata rata Berat Basah Kalus pada 30 HST

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa pertumbuhan kalus mengalami peningkatan pada perlakuan B2D2. Hasil tersebut sesuai dengan Skoog dan Miller (1979) yang menyatakan bahwa pertumbuhan kalus lebih banyak dihasilkan pada konsentrasi zat pengatur tumbuh yang seimbang karena didalam tumbuhan itu sendiri terdapat zat pengatur tumbuh endogen. Indsey dan Yoeman (1983) menyatakan bahwa terhambatnya pertumbuhan pada kultur yang menghasilkan metabolit sekunder kemungkinan di sebabkan adanya kompetisi antara metabolisme primer dan metabolisme sekunder untuk mendapatkan zat dan nutrisi yang sama.

4.2.4 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Tekstur Kalus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tektur kalus pada media kontrol dan perlakuan adalah kompak dan intermediet. Pada permukann bawah eksplan yang tumbuh menjadi kalus terlihat jaringan yang berair. Kalus intermediet merupakan

perpaduan antara kalus kompak dan remah. Hal ini diduga karena pengaruh hormon 2,4D yang disubstitusikan kedalam media bekerja secara sinergis dengan hormon endogen yang dalam eksplan sehingga hormon tersebut dapat merangsang perubahan kalus menjadi intermediet. Widarso (2010) kalus tipe intermediet merupakan masa kalus yang terdiri dari sel sel yang sebagian kompak dan sebagian lagi remah. Hasil pengamatan tentang tekstur kalus dapat dilihat pada tabel 4.5:

Tabel 4.5 Data Pengaruh Pemberian 2,4 D dan BAP terhadap Tekstur Kalus pada 30 hari setelah masa tanam

Perlakuan 2,4 D dan BAP	Tekstur kalus
0 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Kompak
0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Intermediet
0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Intermediet
1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Kompak
1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Intermediet
1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Intermediet
2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Kompak
2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Intermediet
2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Kompak
3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Kompak
3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Intermediet
3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Intermediet

Tekstur kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan. Turhan (2004), menyatakan bahwa secara visual kalus dapat dibedakan menjadi tiga tipe kalus, yaitu kompak intermediet dan remah. Kalus yang memiliki tekstur remah mudah memisahkan diri menjadi sel tunggal.

Kalus remah sangat cocok digunakan untuk pertumbuhan sebagai kalus suspensi (Alitalia, 2008). Kalus remah merupakan kalus yang tersusun atas sel sel tubular dimana struktur sel selnya renggang, tidak teratur dan mudah rapuh (Manuhara, 2001).

Kalus kompak merupakan kalus yang tersusun atas sel sel berbentuk nodular, dengan struktur yang padat dan mengandung banyak air (Manuhara, 2001). Dodd (1993), menyatakan kalus yang mempunyai tekstur kompak umumnya memiliki ukuran sel kecil dengan sitoplasma padat, inti besar dan banyak mengandung pati.

Kalus yang baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder yaitu memiliki tekstur kompak. Tekstur kalus kompak dianggap baik karena dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Dini, 2013). Ramawat (1999), menyatakan bahwa kalus akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada saat sel-sel mengalami penurunan aktifitas pembelahan. Kalus kompak merupakan tekstur kalus yang mengalami pembelahan pada fase stasioner sehingga kalus kompak cenderung mengalami pembelahan yang lambat jika dibandingkan dengan kalus remah yang memiliki daya poliferasi lebih cepat sehingga pada kalus kompak dapat dihasilkan metabolit sekunder yang tinggi.

Pierik (1987) menyatakan tekstur kalus dapat bervariasi dari kompak hingga remah tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, komposisi nutrisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi lingkungan kultur. Pedroso dan Pais (1995) menyatakan tekstur kalus yang remah menunjukkan potensi embriogenik artinya

apabila kalus tersebut terus dipelihara akan diperoleh embrio somatik, sedangkan tekstur kalus yang kompak menunjukkan potensi organogenik.

4.2.5 Pengaruh Kombinasi Antara 2,4-D dan BAP Terhadap Warna Kalus

Kalus yang di peroleh pada tahap induksi kalus secara keseluruhan berwarna putih kehijauan dan putih kecoklatan. Kalus yang berwarna putih kehijauan mengindikasikan bahwa kalus tersebut mempunyai sel sel yang masih aktif membelah dan mengandung klorofil sedangkan kalus yang berwarna putih kecoklatan merupakan kalus yang sel sel nya telah rusak atau sel selnya tidak aktif membelah. Warna kecoklatan pada kalus akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan (Yusnita, 2004). Gejala pencoklatan merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan, selain itu juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol. Perbedaan warna kalus ini disebabkan adanya perubahan pigmentasi (Harjoko, 1999). Menurut Fatmawati (2008), warna kalus mengindikasikan keberadaan klorofil pada jaringan, semakin hijau warna kalus maka semakin banyak kandungan klorofil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan warna kalus pada media induksi kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP. Perbedaan warna kalus disebabkan adanya perbedaan perkembangan pada tiap kalus. Jaringan yang di hasilkan dari setiap eksplan biasanya memunculkan warna yang berbeda beda (Lutviana, 2012). Perbedaan warna kalus dapat disebabkan beberapa hal diantaranya yaitu pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan

dari agian tanaman yang berbeda (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Hasil pengamatan parameter warna kalus dapat dilihat pada tabel 4.6:

Tabel 4.6 Data pengaruh pemberian 2,4 D dan BAP terhadap warna kalus 30 hari setelah masa tanam

Perlakuan 2,4D dan BAP	Warna kalus
0 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
0 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Putih
0 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Putih kehijauan
1 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
1 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
1 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
2 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
2 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Putih kehijauan
2 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
3 mg/L BAP + 0 mg/L 2,4 D	Putih kecoklatan
3 mg/L BAP + 2 mg/L 2,4 D	Putih kehijauan
3 mg/L BAP + 4 mg/L 2,4 D	Putih kehijauan

Berdasarkan data diatas terdapat perbedaan warna antara satu perlakuan dan perlakuan yang lain, terbentuknya bagian putih kehijauan merupakan awal terjadinya morfogenesis (Phisesa, 2008). Wardani dkk., (2004), warna kalus yang hijau disebabkan adanya peningkatan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Sitokinin yang ditambahkan pada media mampu menghambat perombakan butir butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis protein (Wattimena, 1991).

Kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi (Turo, 1998). Selain itu, Fatmawati (2008), menjelaskan bahwa kalus yang berwarna putih atau terang mengindikasikan bahwa pertumbuhan kalus dalam keadaan baik. Perubahan warna yang terjadi dapat disebabkan adanya pigmentasi dari klorofil yang mengalami degradasi.

Faktor komposisi media sangat berpengaruh pada aktivitas enzim yang mempengaruhi pertumbuhan (Merilon *et al.*, 1986). Perubahan warna menjadi kecoklatan diakibatkan adanya aktifitas biosintesis metabolit sekunder. Vickrey (2003), menyatakan bahwa sintesis senyawa fenolik di picu oleh gangguan pada sel tanaman misalnya cekaman, intensitas cahaya dan juga eksplan yang berbeda. Pencoklatan dapat menurunkan kemampuan regenerasi invitro, dan toksisitas medium (Hutami, 2008).

4.3 Perlakuan Terhadap Tanaman Dalam Pandangan Islam

Berdasar pada pendapat dalam perspektif Islam, sebagai mana yang diungkapkan oleh shihab (2002) bahwa Allah SWT telah menyediakan alam beserta isinya ini untuk kemudian dimanfaatkan. (QS. Asy Syu'ara: 7) menjelaskan bahwa di alam Allah SWT telah menyediakan tumbuh tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia, baik sebagai obat bahan bangunan dan lain sebagainya. Dalam setiap ciptaan Allah SWT dibutuhkan proses dalam pembentukannya yaitu pertumbuhan dan perkembangan, seperti halnya tumbuhan yang membutuhkan media berupa tanah dan unsur hara untuk mendukung pertumbuhan sehingga tumbuhan bisa tumbuh dengan normal dan maksimal.

Firman Allah SWT Surat Al A'raaf ayat 58 berikut ini:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ

الْآيَاتِ 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.” (QS. Al A'raaf: 58).*

Ayat diatas menunjukkan bahwa tanah yang baik dapat menghasilkan tumbuhan yang baik. Sedangkan tanah yang kurang baik, dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu bahkan mungkin sampai menyebabkan kematian bagi tanaman tersebut. Ayat diatas dapat dijelaskan pada penelitian ini yaitu tentang pembentukan kalus yang berasal dari ekplan daun afrika yang di tumbuhkan pada media MS, dapat di pahami bahwasanya tanah merupakan media bagi suatu tanaman untuk tumbuh yang di dalamnya mengandung berbagai unsur hara makro maupun mikro, sedangkan pada penelitian ini media tanam adalah berupa agar yang diberi formulasi nutrisi yang sesuai dan identik degan media tanaman (tanah) pada umumnya . Dengan seijin Allah SWT tanaman tersebut dapat hidup dengan media Tanaman atau ekplan dapat tumbuh dengan baik apabila berada pada suatu keadaan atau lingkungan yang mendukung dalam hidupnya.

Perkembangan dari bagian tanaman menjadi tanaman lengkap merupakan salah satu bentuk dari kekuasaan Allah SWT. Dalam ilmu botani salah satu teknik yang dapat memaksimalkan pemanfaatan tanaman adalah melalui teknik kultur jaringan tumbuhan. Kultur jaringan tumbuhan adalah suatu teknik isolasi bagian tanaman seperti jaringan, organ atau embrio tanaman, yang di tumbuhkan dalam

media agar sehingga bagian bagian tanaman tersebut mampu berdifferentiasi dan berregenerasi menjadi tanaman lengkap. Dalam kultur jaringan tumbuhan, media kultur sangat berperan penting dalam mempengaruhi hasil dari perkembangan kalus.

Allah SWT menumbuhkan dan mengembangkan eksplan menjadi kalus pada media selain tanah yaitu media agar. Meskipun media kultur jaringan tanaman bukan media tanah tetap media agar, media kultur jaringan mampu menghasilkan tanaman yang lengkap. Di dalam media kultur jaringan terdapat beberapa nutrisi dan zat pengatur tumbuh, apabila konsentrasi zat pengatur tumbuh tidak sesuai dengan konsentrasi zat yang dibutuhkan oleh tanaman maka tanaman tersebut tidak dapat tumbuh dengan baik dengan ditandai dengan perubahan warna kalus menjadi kecoklatan. Bahan kalus tersebut tidak dapat tumbuh. *“Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana”*.

Zat pengatur tumbuh mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan eksplan di dalam kultur. Pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh pada media dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan (George dan Sherrington, 1984). Menurut Gunawan (1987) penambahan zat pengatur tumbuh eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Perimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang sesuai akan sangat besar pengaruhnya untuk menghasilkan kalus.

Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu dengan aturan yang pasti dan dengan ukuran yang tertentu, bukan karena suatu kebetulan. Kadar tersebut juga dituangkan ke dalam bentuk hubungan sebab dan akibat, yang tidak akan berubah dan berselisih. Yang artinya, dari sebab hubungan sesuatu dengan sesuatu yang lain dengan kadarnya masing-masing, disitu ada ukuran dan aturan yang mengakibatkan terwujudnya sesuatu. Adapun secara istilah, kadar dapat dipahami sebagai ilmu (teori) Allah, yang meliputi ukuran dan ketetapan (aturan). Oleh karena itu, tidak ada satupun, baik di langit ataupun bumi, kecil ataupun besar, kecuali akan terjadi atau berlaku sesuai dengan kadar yang telah ditetapkan oleh Allah SWT.

Firman Allah SWT Surat Al-Qamar 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

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

Dalam ayat diatas dijelaskan bahwa “Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya”.. Dan pada ayat ini Allah SWT mengisyaratkan bahwa terdapat rahasia di balik kata “*Ukuran*” yang harus di pelajari dan di kaji lebih dalam.

Ayat diatas menjelaskan bahwasanya Allah SWT menciptakan segala sesuatu menurut ukuran. “*Dan Dia telah menciptakan segala sesuatu dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.*” (Q.S. Al-Furqan: 2). Seperti halnya pada penelitian ini, dalam penelitian ini menggunakan berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh agar mendapat suatu komposisi media MS yang paling optimal untuk pertumbuhan kalus. Zat pengatur tumbuh sitokinin yang

digunakan dalam penelitian adalah BAP (*Benzil Amino Purin*) dengan konsentrasi 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L dan 3 mg/L. dan zat pengatur tumbuh auksin yang digunakan adalah 2,4-D (*2,4- diklorofenoksi asetat*) Dengan konsentrasi 0 mg/L, 2 mg/L dan 4 mg/L. Konsentrasi 0 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4 D (B0D2) adalah konsentrasi yang paling optimal pada persentase pertumbuhan kalus yaitu 76,6%. Konsentrasi 2 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4 D (B2D2) adalah konsentrasi yang paling optimal dalam menghasilkan berat basah kalus yaitu 0,08 g. Konsentrasi 3 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4 D (B3D2) adalah konsentrasi yang paling optimal pada pengamatan kecepatan pertumbuhan kalus yaitu 16,33 hari setelah tanam.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh konsentrasi 2,4-D *dichlorophenoxyaetic acid* dan BAP *benzil amino purine* pada media MS terhadap induksi kalus daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh nyata pada parameter hari muncul kalus, parameter persentase pertumbuhan kalus dan parameter berat basah kalus. Dari hasil pengamatan konsentrasi 2 mg/L BAP dan 2 mg/L 2,4-D adalah konsentrasi yang paling optimal karena pada konsentrasi tersebut mempunyai nilai hari muncul kalus 18 HST, pada parameter persentase pertumbuhan kalus menghasilkan nilai 53,3% dan pada parameter berat basah kalus menghasilkan nilai 0,08 gram dan selalu menghasilkan nilai signifikan dalam setiap parameter serta pada konsentrasi tersebut mempunyai hasil kenampakan visual kalus yang optimal.
2. Kombinasi 2,4 D dan BAP berpengaruh pada tekstur kalus yaitu rata rata kalus mempunyai tekstur intermediet, sedangkan pada media kontrol bertekstur kompak. Kombinasi 2,4 D dan BAP juga berpengaruh pada warna kalus, warna kalus yang dominan adalah putih kehijauan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang peningkatan metabolit sekunder kalus daun afrika dengan menggunakan elisitor
2. Perlu dilakukan penelitian menggunakan jenis eksplan yang berbeda agar dapat diketahui bagian tanaman mana yang dapat menghasilkan pertumbuhan kalus yang lebih cepat.
3. Pengamatan terakhir sebaiknya dilakukan pada 20 HST karena siklus sel atau pertumbuhan kalus tanaman daun afrika relatif cepat.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad bin Abdurrahman, Alu Syaikh, 2008, *Tafsir Ibnu Katsir*, Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abidin, Z. 1982. *Dasar dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung : ANGKASA Bandung.
- Abidin, Z. 1985. *Dasar dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung : ANGKASA Bandung.
- Alitalia, 2008. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan PAU Bioteknologi IPB
- Alitalia, Y. 2008. *Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan unas Mikro Kantong Semar (Nepenthes mirabilis) secara Invitro*. Skripsi tidak dipublikasikan. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian IPB.
- Andaryani, S. 2010. *Kajian penggunaan berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus jarak pagar (Jatropha curcas L.) secara in vitro*. skripsi faperta universitas sebelas maret. Surakarta.
- Armini, N. M., G. A. Wattimena dan L. W. Gunawan. 1991. *Perbanyakan tanaman*. Hal 17-149. Dalam: Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman (Eds.). Bioteknologi Tanaman 1. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Insitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Atangwho IJ, Ebong PE, Eteng MU, Eyong EU, Obi AU 2007. Effect of *Vernonia amygdalina* Del. leaf on kidney function of diabetic rats. *Int. J. Pharmacol.*, 3: 143-148.
- Atangwho IJ, Ebong PE, Eyong EU, Williams IO, Eteng MU, Egbung GE. 2009. Comparative chemical composition of leaves of some antidiabetic medicinal plants: *Azadirachta indica*, *Vernonia amygdalina* and *Gongronema latifolium*. *Afr. J. Biotech.*, 8: 4685- 4689.
- Badriah, D., N. T. Mathius, T. Sutater, 1998. Tanggap Dua Kultivar Gladiol Terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyakan *In vitro*. *J. Hort.* 8(2): 1048-1059
- Balandrin M.F., Klocke J.A., Wartele E.S. and Bollingen W.H. Natural plant chemicals: *sources of Industrial Medicinal materials*. *Science*. 1985; 228: 1154-1160
- Bidwell, 1979. *Plant Physiology*. London: Collier MacMillan Co. Inc.
- Bidwell, R.G.S., 1979. *Plant Physiology*. Mac Millan Publishing Co. Inc.,

- Dalazen P, Molon A, Biavatti MW 2005. Effects of the topical application of the extract of *Vernonia scorpioides* on excisional wounds in mice. *Rev. Bras. Pharmacogn.* 15 (2): 82-85.
- Dodd, B. 1993. *Plant Tissue Culture for Horticulture*. School of Life Science. Queensland University of Technology.
- Dodds & Roberts, 1983. "Production in Culture Optimization". In Ramawat, K. G. and Merillon, J. M. (Eds). *Biotechnology Secondary Metabolites*. Science Publisher, Inc. New Hampshire. p: 193-218.
- Dudits D, Gyorgyey J, Bogre L, Bako L 1995 *Molecular biology of somatic embryogenesis. in In Vitro Embryogenesis in Plants*. ed Thorpe TA (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands), pp 267–308.
- Ejoh RA, Nkong DV, Inocent G, Moses MC 2007. Nutritional components of some non-conventional leafy vegetables consumed in Cameroon. *Pak. J. Nutr.*, 6: 712-717.
- Ejoh RA, Nkong DV, Inocent G, Moses MC. 2007. Nutritional components of some non-conventional leafy vegetables consumed in Cameroon. *Pak. J. Nutr.*, 6: 712-717.
- Eleyinmi AF, Sporns P, Bressler DC 2008. Nutritional composition of *Gongronema latifolium* and *Vernonia amygdalina*. *Nutr. Food Sci.*, 38: 99-109.
- Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ 2006. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J. Ethnopharmacol.*, 106: 117-120.
- Farombi EO 2003. African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *Afr. J. Biotech.*, 2: 662-667.
- Fatmawati, A. 2008. Kajian Konsentrasi BAP Dan 2,4D Terhadap Induksi Kalus Terhadap Tanaman *Artemisia annua* .L secara Invitro. Skripsi. Tidak di publikasikan. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Fowler, M.W. 1983. *Commercial application and economic aspects of mass plant cell culture*. In: *Plant Biotechnology*. Mantell Smith, H (eds). London: Cambridge Univ. Press.
- Gamborg,O.L. J.P. Syiuk, 1981. Nutrient, Media and Characteristic of Plant Tissue Culture. In *Plant Tissue Culture*, Thorpe (ed.): 21 – 44.
- Gangga Wortman RL, Kasper DL et al. Disorders of purine and pyrimidine metabolism, in Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th ed, Vol II, 2005,2308-13.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce, R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. UI-Press. Jakarta. 426 hal.

- Gati, E dan I. Mariska. 1992. *Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap kalus Mentha piperita* Linn. Buletin Littri 3: 1-4.
- George, E.F dan T.D. Sherrington., 1984, *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*, England.
- George, F.P. dan J.P. Sherrington, 1981. *Plant Propagation by Tissue* New York. Culture. Exegetic Ltd. England. 709p.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 165 hal.
- Gunawan, L. W., 1998. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Gunawan. 1995. *Teknik In vitro Dalam Hortikultura*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Handayani, W. 1987. *Principles Of Plant Nutrition*. International Potash Inst. Bern Switzerland.
- Hardiyanto, A. 2004. Pengaruh Variasi Asam Naftalena Asetat Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flovonoid Daun Dewa (*Gynura Procumbens*). Surakarta. *Jurnal Biofarmasi*. Vol. 2 No. 2
- Hendaryono, D.P dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencokltan Pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agro Biogen*. 4(2): 83-88
- Ibrahim NDG, Abdurahman EM, Ibrahim G 2004. Histological studies of the effects of chronic feeding of *Vernonia amygdalina*. del leaves on rats. *Nig. J. Surg. Res*. 2: 68-74.
- Ifeoma I.T, E.E. Chukwunonso, M.N. Obinna, C.N. 2011. Bryan Effect of traditional processing techniques on the nutritional and phytochemical composition of African Bread Fruit (*Treculia africana*) seeds. *J. of Appl. Sci and Envri. Mang.*, 4, pp. 169–173.
- Igile GO, Oleszek W, Jurzysta M, Burda S, Fanfunso M, Fasanmade AA 1994. Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and their antioxidant activities. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 2445-2448.
- Ijeh II, Igwe KK, Ejike CECC 2010. Effect of leaf aqueous extracts of *Vernonia amygdalina* Del. on contraction of mammary gland and uterus of guinea pig dams. *J. Herbs Spices Med. Plants* 16: in press.
- Indah, P. N dan Dini, E. 2013. Induksi Klaus Daun Nyimplung (*Calophyllum inophyllum* .Lin) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine BAP dan 2,4 Dichlorophenoxyiacetic Acid 2,4D. *Jurnal Sains POMITS*. 2(1): 2337- 2343.

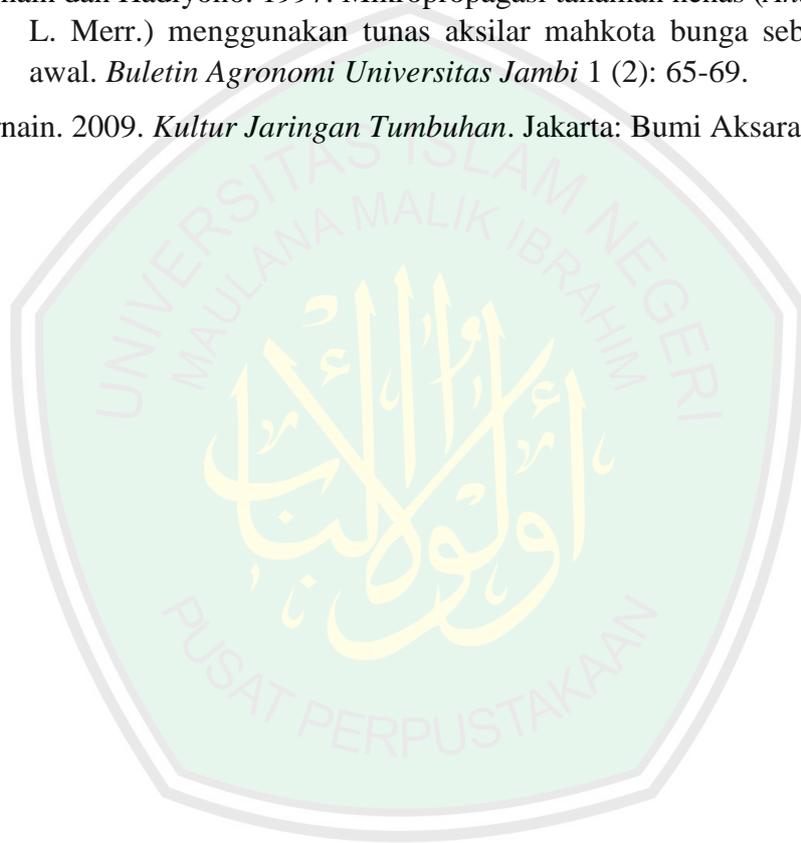
- Izevbigie E.B .2003. Discovery of water-soluble anticancer agents (edotides) from a vegetable found in Benin City, Nigeria. *Exp. Biol. Med.*, 228: 293-298.
- Katuuk, R. P. J .1989. *Tehnik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Departemen P dan K, Jakarta, hal : 45 -64.
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penerbit Rineka Cipta.
- Katende, A.B. 1995. *Useful trees and shrubs for Uganda. Identification, Propagation and Management for Agricultural and Pastoral Communities*. Regional Soil Conservation Unit (RSCU), Swedish International Development Authority (SIDA).
- Khalafalla MM, Abdellatef E, Daffalla HD, Nassrallah AA, Aboul-Enein KM, Lightfoot DA, Cocchetto A, El-Shemy HA 2009. Antileukemia activity from root cultures of *Vernonia amygdalina*. *J. Med. Plants Res.*, 3: 556-562.
- Khaniyah, S. 2012. Pertumbuhan kalus Daun Dewa (*Gynura Prochumbens*) dengan penambahan 2,4-D dan Kinetin secara In vitro. *Biosantifika*. Vol 2 no.4.
- Kosmiatin, M., A. Husni, I. Mariska. 2005. Perkecambahan dan perbanyakan Gaharu secara In Vitro. *Jurnal Agrobiogen* 1(2). Oktober 2005.
- Lakitan, B., 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. PT Raja. Grafindo Persada. Jakarta.
- Lenny, S. 2006. Senyawa terpenoid dan Steroid. *Karya Ilmiah*. Medan: Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Leung Wu, W.T., Busson, F., & Jardin, C. 1968. *Food Composition Table for Use in Africa*. US Department of Health, Education and Welfare. Bethesda and FAO: Rome.
- Lewu F. B. and A. J. Afolayan. 2011. Plant Growth Regulators, Light and Temperature Influenced Micropropagation and Successful Field Establishment of *Vernonia amygdalina* Del. *Journal of Agricultural Science and Technology*. ISSN 1939-1250.
- Lindsey, K. And Youman, M. M. 1983. Novel Experimental System For Studying The Production Of Secobdary Metabolite by Plant Tissue Culture. In *Plant Biotechnology*. Mnatell, SH. And Smith, H. (Eds) Cambrige University Press. London.
- Lutviana A., Y.S.W. Manuhara dan E.S Wida. 2012. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh dan NaCl Terhadap Pertumbuhan Kalus Kotiledon Tanaman Bunga Matahari (Helianthus annus L.)*. Surabaya . Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

- Mantell, S.H. and H. Smith. 1983. *Plant Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Manuhara, Y. S. W. 1995. "Pengaruh Manipulasi Media terhadap Kandungan Alkaloid Vinkristin Kalus Daun *Catharanthus roseus*(L.) G. Don". *Berkala Penelitian Hayati*. 1: 1-7.
- Manuhara, Y.S.W. 2001. Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L. var Marakot). Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA*. Universitas Airlangga 6(2): 127-130.
- Maragi, Ahmad Mustafa. 1993. Tafsir Al Maraghi. Semarang: CV Toha Putra Semarang.
- Maznah I, Norsharina I, Al-Absi A, Al-Naqeeb G. 2011. Thymoquinone rich fraction from *Nigella sativa* and thymoquinone are cytotoxic towards colon and leukemic carcinoma cell lines. *Journal of Medicinal Plants* .
- Mérillon, I.M. Robson .K Carrick. 1986. Indole alkaloid accumulation and thryptophan decarboxylase activity in cells cultures in three different media. *Plant Cell Rep., Berlin*, v. 5, p. 25-26 .
- Mugisha Kamateresi, M., Deng, A.L., Ogendo, J.O., Omolo, E.O., Buyungo and Bett, P.K. 2004. Indigenous knowledge of field insect pests and their management around lake Victoria basin in Uganda. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 2 (8). 342-348.
- Murashige, T. 1974. *Plant Propagation through Tissue Culture*. Annual Review. *Plant Physiology* 25 : 135-166.
- Muryanti, S. Agrawulan, E. 2005. Pertumbuhan dan Produksi Reserpin Kalus Pule Pandak (*Raufofia serpentine* (L.) Urban) yang Tumbuh di Riau. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 1: 11-13.
- Muso Suryawinoto M., 1990. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Fak. Biologi,
- Njan AA, Adza B, Agaba AG, Byamgaba D, Diaz-Llera S, Bansberg DR (2008). The analgesic and antiplasmodial activities and toxicology of *Vernonia amygdalina*. *J. Med. Food*, 11: 574-581.
- Nursandi dan Santoso, U. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang:UMM Press
- Ofori D.A., P. Anjalwalla, R. Jamnadass. 2013. Pesticidal Plant Leaflet *Vernonia amygdalina* Del. World agroforestry center. The University of Greenwich, ISBN 978-92-9059-348-5.
- Ologunde, M. O., Ayorinde, F. O., Shepard, R. K., Afolabi, O. A. and Oke, O. L. (1992). *Sterols of seed oils of Vernonia galanesis, Amaranthus cruentus, Amaranthus caudatus, Amaranthus hybrids and Amaranthus hypochondriacus growth in the humid tropics*. *J. of Food Agri*.58, pp. 221 – 225.

- Pedroso, M.C. and Pais. 1995. *Factor somatic Controlling Embryogenesis: Cell Wall Change As In Vitro Marker of Embryogenesis Competence*. *Plant Cell, Tiss, and Org. Cult.* 43:147-154.
- Petrova. M, Ely Zayova, Elina Yankova, Georgi Baldzhiev. 2011. Plant regeneration from callus culture of *Arnica montana*. *Romanian Biotechnological Letters*. University of Buchare.
- Phinesa. 2008. Pengaruh Konsentrasi IBA, IAA dan BAP Terhadap Pembentukan Akar Poinsettia (*Euphorbia Pulcherrima* Wild et klotzh) *In vitro*. *Departemen Agronomi Hortikultura*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Pierik. R. L. M. 1987. *In vitro Culture of Higher Plant*. Netherland: Martinus Nijjhof Publisher.
- Purnamaningsih, Lestari. 1998. *Efek pemberian homogenat Verticillium dahliae Rhizoctonia solani sebagai elisitor terhadap kandungan gosipol dalam kultur kalus Gossypium hirsutum*. Thesis tidak diterbitkan. ITB. Bandung
- Qurthubi, Syaikh Imam. 2008. *Tafsir Al Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Qurthubi. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi/Syaikh Imam Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Quthb, S. 2002. *Terjemah Tafsir Fi Zhilallil Qur'an*. Jakarta: Gema Insani Press.
- Rahayu YS, Walch-Liu P, Neumann G, Römheld V, Wiren N, Bangerth F 2003 . Sitokinin Root-diturunkan sebagai sinyal jarak jauh untuk NO 3 -stimulasi diinduksi daun pertumbuhan. *Journal of Experimental Botany* 2005; 56:. 1143-1152.
- Ramasami, 2005. *Biotechnology Secondary Metabolites*. Science Publisher, Inc. New Hampshire.
- Ramawat, K.G. 1999. *Secondary plant product in Nature in Biotechnology secondary Metabolism*. U.S.A: Science Publisher, inc. pp 11-37.
- Salisbury, F. B dan C.W . Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. Bandung: ITB.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang. UMM Press.
- Schrimer, 2012. Completing a Pathway to plant Vitamin Synthesis. *The National Academy of Sciences of the USA*. PNAS journal 104:9190-9110.
- Shihab, M.Q. 2001. *Tafsir Al Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, Quraish. 2001. *Membumikan Al-Qur'an, Fungsi dan Peran Wahyu dalam Kehidupan Manusia*, Bandung: Mizan.

- Skoog, F. And C. O. Miller. 1979. Chemical Regulation Of Growth and Organ Formation In Plant Tissue Cultured *Invitro*. *Symposium Soc. Exp. Biology*, 11: 118-131.
- Suskendriyati, H. 2003. “*Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus Talinum paniculatum Gaertn. dengan Variasi Pemberian Sumber Karbon*”. Skripsi tidak diterbitkan. Jurusan Biologi F MIPA UNS. Surakarta.
- Thabari. 2008. Tafsir Ath Thabari. Jakarta: Pustaka Azam.
- Tona L, Cimanga RK, Mesia K, Musuamba CT, De Bruyne T, Apers S, Hermans N, Van Miret S, Pieters L, Totte J, Vlietink AJ (2004). In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions of seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.*, 93: 27-32.
- Tsuro, M. 1998. *Comparation Effect Of Different Types Of Cytokinin For shoot formation and plant regeneration In Leaf Derivat Callus Of Lavender (Lavandura vera DC)*. Kyoto prefecural Japan. 606-8522.
- Tulukcu, De Sousa 2011. The Influence Of Coating Damage On The ICCP Cathodic Protection Effect. *Luoyang Ship Material Research Institute*, P.R. China.
- Turhan, H. 2004. Callus Induction In Growth Transgenic Potato Genotypes. *African Journal Of Biotechnology*. 3(8): 375-378.
- Vanisree, M., Tsay, H.-S.: Plant cell cultures – an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *Int. J. Appl. Sci. Eng.*, 2, 2004, 29-48.
- Vickrey, M. L. and B. Vickrey. 1981. *Secondary plant metabolism*. The macmillan press LDT. 2: 440-462.
- Wardani, Dian P., Sholicatum., Ahmad D.S. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaerth. Pada Variasi Penambahan 2,4-D dan Kinetin: *Biofarmasi* 2(1):35-43.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. 145 hal.
- Wetherell, D. F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara in Vitro* (diterjemahkan oleh Koensomardiyah). IKIP Semarang Press. Semarang.
- Wetter, L. R. and Constabel, F. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman* (diterjemahkan oleh Mathilda B Widiyanto). Edisi Kedua. ITB. Bandung.
- Widiarso, M. 2010. Kajian Penggunaan BAP dan IBA untung merangsang Pembentukan Tunas Lengkeng (*Dimocharpus longana* .Lour) Varietas Pingpong *Invitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Surakarta: Fakultas pertanian UNS.

- Wiendi, N.A, G.A.Wattimena, dan L.W.Gunawan. 1991. Perbanyak tanaman dalam bioteknologi tanaman. PAU Bioteknologi. IPB Bogor. 507 hal..
- Yusnita, 2003. *Kultur Jaringan, Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia pustaka.
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan Tanaman. Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Yuwono, T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Zulkarnain dan Hadiyono. 1997. Mikropropagasi tanaman nenas (*Ananas comosus* L. Merr.) menggunakan tunas aksilar mahkota bunga sebagai material awal. *Buletin Agronomi Universitas Jambi* 1 (2): 65-69.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Jakarta: Bumi Aksara.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Analisis data Perhitungan

1. Hasil ANAVA *one way* Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap persentase pertumbuhan kalus daun afrika

ANOVA

persentase pertumbuhan kalus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21292.750	11	1935.705	3.481	.005
Within Groups	13346.000	24	556.083		
Total	34638.750	35			

2. Hasil Uji DMRT 5% pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap persentase pertumbuhan kalus

persentase pertumbuhan kalus

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a b0d0	3	8.33			
b2d4	3	11.67			
b3d0	3	12.33			
b1d0	3	13.33			
b2d0	3	20.00	20.00		
b1d4	3	23.33	23.33	23.33	
b1d2	3	30.00	30.00	30.00	
b2d2	3	53.33	53.33	53.33	53.33
b3d4	3		60.00	60.00	60.00
b0d4	3		63.33	63.33	63.33
b3d2	3			66.67	66.67
b0d2	3				76.67
Sig.		.053	.057	.057	.289

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

3. Hasil ANAVA *one way* Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap kecepatan pertumbuhan kalus daun afrika

ANOVA

kecepatan pembentukan kalus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	897.889	11	81.626	3.343	.006
Within Groups	586.000	24	24.417		
Total	1483.889	35			

4. Hasil Uji DMRT 5% pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap Hari muncul kalus

Hari muncul kalus

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a b1d2	3	13.33			
b3d2	3	16.33	16.33		
b3d4	3	17.00	17.00		
bod2	3	18.00	18.00	18.00	
b2d2	3	18.00	18.00	18.00	
b1d4	3	21.67	21.67	21.67	21.67
b0d0	3		24.00	24.00	24.00
b0d4	3		25.00	25.00	25.00
b1d0	3			27.00	27.00
b2d0	3			27.00	27.00
b2d4	3				28.00
b3d0	3				28.00
Sig.		.079	.071	.062	.183

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

5. Hasil ANAVA *one way* pengaruh konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap berat kalus**ANOVA**

berat kalus	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.021	11	.002	2.751	.018
Within Groups	.016	24	.001		
Total	.037	35			

6. Hasil Uji DMRT 5% pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Berat kalus

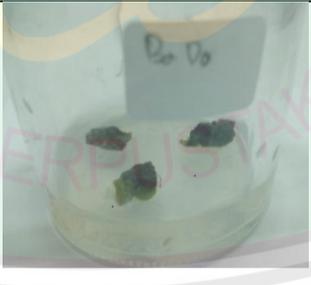
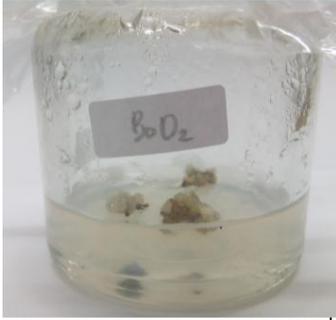
berat kalus

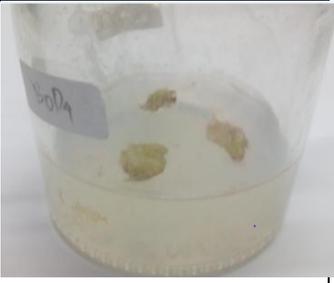
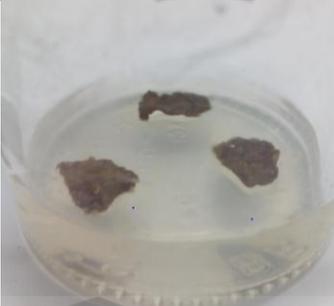
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a b0d0	3	.003333	
b2d0	3	.003333	
b2d4	3	.005333	
b3d0	3	.005333	
b1d0	3	.009767	
b1d2	3	.012200	
b1d4	3	.020633	
b0d4	3	.030000	
b3d4	3	.041667	.041667
b3d2	3	.048333	.048333
b0d2	3	.050000	.050000
b2d2	3		.082667
Sig.		.074	.090

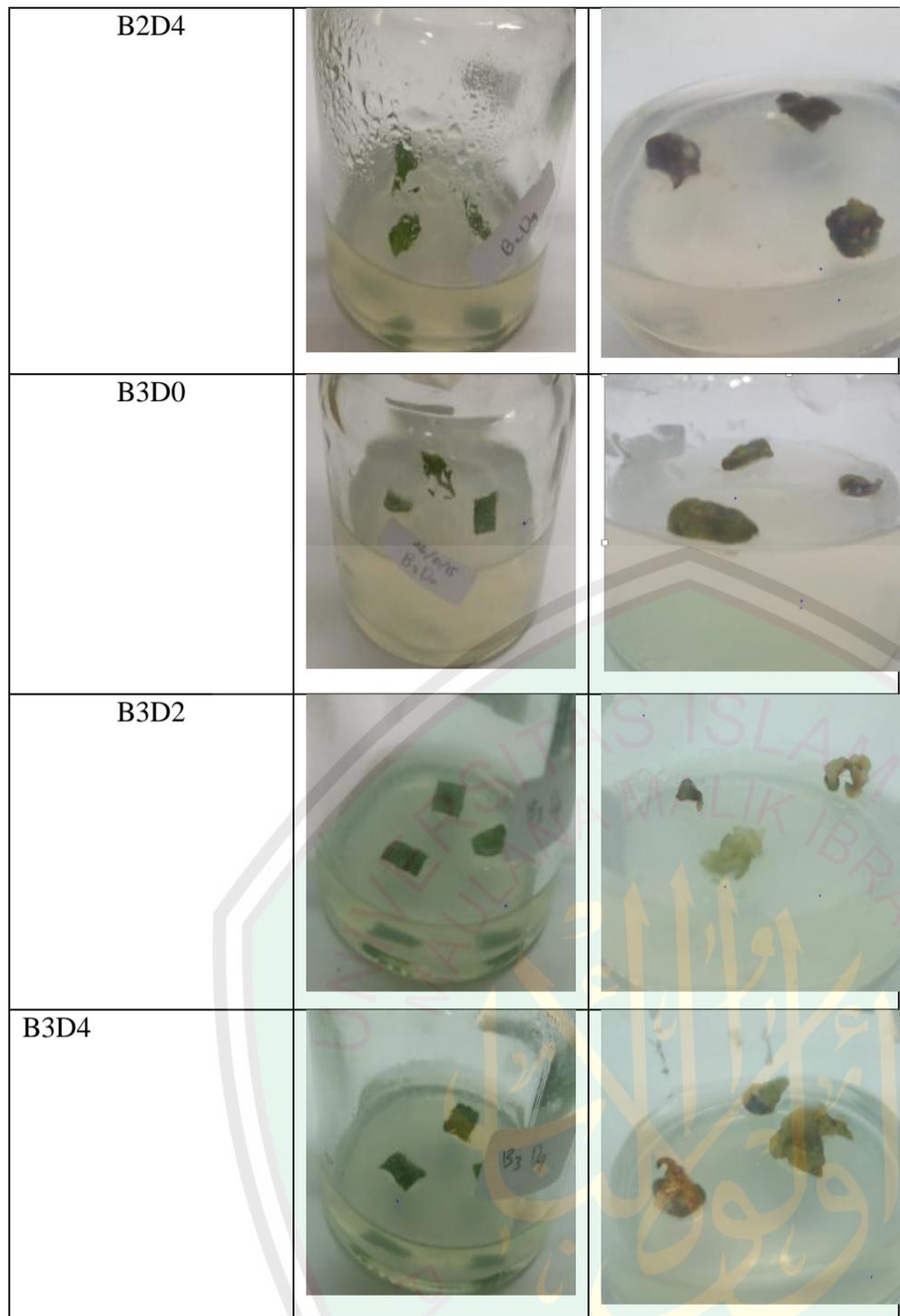
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 2 gambar hasil penelitian

Perlakuan 2,4D dan BAP	Awal pengamatan	Akhir pengamatan
B0D0		
B0D2		

B0D4		
B1D0		
B1D2		
B1D4		
B2D0		
B2D2		



Lampiran 3 . Perhitungan Larutan Stok

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

- a. Larutan Stok 2,4-D 100 ppm dalam 100 ml

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

Dari perhitungan tersebut maka untuk membuat larutan stok 2,4-D 100 ppm dalam 100 ml aquades dibutuhkan 2,4D 10 mg.

- b. Larutan Stok BAP

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

Dari perhitungan tersebut maka untuk membuat larutan stok BAP 100 ppm dalam 100 ml aquades, dibutuhkan BAP 10 mg.

Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Larutan Stok

1. Perlakuan Pemberian

- a. Konsentrasi 1 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}$$

- b. Konsentrasi 0,2 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,2 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 20 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 3 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 3 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{3 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

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

2. Perlakuan Pemberian BAP

a. Konsentrasi 2 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 2 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 20 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 4 ppm

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

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 4 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{4 \text{ ppm} \times 1000 \text{ ml}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 40 \text{ ml}$$

Lampiran 5. Diagram Alir Pembuatan Media



Lampiran 6. Alat-alat Penelitian

Gambar 1. Gelas Beker



Gambar 2. Timbangan Analitik



Gambar 3. Oven



Gambar 4. Autoklaf



Gambar 5. Rak Inkubasi



Gambar 6. Gelas Ukur

Gambar 7. Cawan Petri.
Scalpel, Pinset

Gambar 8. Bunsen



Gambar 9. Botol Sprai

Lampiran 7. Bahan-bahan Penelitian



Gambar 1. (MS) Media Murashige and Skoog



Gambar 2. Fungisida



Gambar 3. Detergent



Gambar 4. Agar-agar



Gambar 5. Alkohol 70%, Alkohol 96%, Spirtus, Bayclean



Gambar 6. Eksplan daun afrika



Gambar 7. Gula Pasir



Gambar 8. Aquades



Gambar 9. Plastik Wrap



Gambar 10. Alumunium Foil

Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian

Gambar 1. Sterilisasi Eksplan dengan Detergent



Gambar 2. Eksplan Dicuci Dengan Air Mengalir



Gambar 3.
Persiapan Sterilisasi Eksplan dengan Clorox



Gambar 4.
Sterilisasi Eksplan dengan Clorox





**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jl. Gajayana No.50 Dinoyo Malang (0341)551345 Fax.(0341)572533

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Uun Nurdiansyah
NIM / Jurusan : 11620034 / Biologi
Pembimbing : Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd
Pembimbing Agama : Ach. Nasichuddin, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina Del.*).

No.	Tanggal	HAL	Tanda Tangan
1.	23 April 2015	Pengajuan Judul	1.
2.	28 Mei 2015	Pengajuan BAB I, II, dan III	2.
3.	30 Mei 2015	Revisi BAB I, II, dan III	3.
4.	10 Juni 2015	Acc. BAB I, II, dan III	4.
5.	15 Juni 2015	Seminar Proposal Skripsi	5.
6.	28 Oktober 2015	Pengajuan BAB IV dan V	6.
7.	31 Oktober 2015	Revisi BAB IV dan V	7.
8.	Nopember	Acc. Skripsi	8.

Mengetahui :
Ketua Jurusan Biologi,



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



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jl.Gajayana No.50 Dinoyo Malang (0341)551345 Fax.(0341)572533

BUKTI KONSULTASI

Nama Mahasiswa : Uun Nurdiansyah
NIM / Jurusan : 11620034 / Biologi
Pembimbing : Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd
Pembimbing Agama : Ach. Nasichuddin, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina Del.*).

No.	Tanggal	HAL	Tanda Tangan
1.	21 Oktober 2015	Konsultasi BAB I dan II	1.
2.	23 Oktober 2015	Revisi BAB II	2.
3.	26 Oktober 2015	Revisi BAB II, dan Konsultasi BAB IV	3.
4.	28 Oktober 2015	Revisi BAB II dan IV	4.
5.	9 Nopember 2015	Revisi BAB II dan IV	5.
6.	Nopember 2015	ACC Skripsi	6.

Mengetahui :
Ketua Jurusan Biologi,



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