PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AUKSIN (IAA DAN 2,4-D) DAN SITOKININ (BAP) TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN FLAVONOID TANAMAN ILER (*Plectranthus scutellarioides*) SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

Disusun Oleh:

ZIYADATUL MAHMUDAH

NIM: H71217064

PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN SAINS
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama	: Ziyadatul Mahmudah
NIM	: H71217064
Program Studi	: Biologi
Angkatan	: 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AUKSIN (IAA DAN 2,4-D) DAN SITOKININ (BAP) TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN FLAVONOID TANAMAN ILER (*Plectranthus scutellarioides*) SECARA *IN VITRO*". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, *09 Agustus 2021*
Yang menyatakan,

Ziyadatul Mahmudah
NIM. H71217064

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan Sitokinin (BAP) Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Flavonoid Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides*) Secara *In Vitro*

Diajukan oleh:

Ziyadatul Mahmudah

NIM: H71217064

Telah diperiksa dan disetujui

di Surabaya, 02 Agustus 2021

Dosen Pembimbing Utama	Dosen Pembimbing Pendamping
Saiku Rokhim, M.KKK.	Hanik Faizah, S.Si., M.Si.
NIP.198612212014031001	NUP.201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Ziyadatul Mahmudah ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 09 Agustus 2021

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I

Saiku Rokhim, M.KKK.
NIP.198612212014031001

Penguji II

Hanik Faizah, S.Si., M.Si.
NUP.201409019

Penguji III

Atiqoh Zummah, M.Sc.
NIP.199111112019032026

Penguji IV

Funsu Andiarna, M.Kes.
NIP.198710142014032002

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya

Dr. Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag.
NIP.197322272005012003

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN
Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Ziyadatul Mahmudah

NIM : H71217064

Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI

E-mail address : ziyadatulmahmudah14@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

▬ Sekripsi ☐ Tesis ☐ Desertasi ☐ Lain-lain (……)

yang berjudul :

PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AUKSIN (IAA DAN 2,4-D) DAN SITOKININ (BAP) TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN FLAVONOID TANAMAN ILER (*Plectranthus scutellarioides*) SECARA *IN VITRO*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara ***fulltext*** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 09 Agustus 2021
Penulis

(Ziyadatul Mahmudah)

ABSTRAK
PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AUKSIN (IAA DAN 2,4-D) DAN SITOKININ (BAP) TERHADAP INDUKSI KALUS DAN KANDUNGAN FLAVONOID TANAMAN ILER (*Plectranthus scutellarioides*) SECARA *IN VITRO*

Plectranthus scutellarioides atau tanaman iler merupakan tanaman obat yang mempunyai aktivitas farmakologis seperti anti-inflamasi, antioksidan, dan antibakteri. Aktivitas tersebut berkaitan dengan kandungan flavonoid yang terdapat pada tanaman iler. Kultur jaringan menjadi salah satu alternatif dalam produksi metabolit sekunder dengan menambahkan ZPT baik auksin maupun sitokinin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap induksi kalus dan kandungan flavonoid tanaman iler. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan yang dilakukan 3 kali ulangan. Eksplan yang digunakan yaitu bagian daun muda. Eksplan ditanam pada media MS, sukrosa 30 g/L, dan tambahan zat pengatur tumbuh IAA dan 2,4-D (0,5; 4; 0,1 ppm), serta BAP (0,5; 0,1 ppm). Setelah 4 minggu, dilakukan pemanenan dan pengamatan morfologi kalus, berat segar dan berat kering kalus, serta analisis kadar flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data waktu pembentukan kalus, berat segar, dan berat kering kalus dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann-Whitney*. Sedangkan data morfologi dan kandungan flavonoid dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus yang dihasilkan berwarna putih, putih kehijauan, putih kecoklatan hingga coklat dengan tekstur kompak. Hasil uji *Mann-Whitney* memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada waktu pembentukan kalus, berat segar dan berat kering kalus. Nilai rata-rata tertinggi pada perlakuan (B) kombinasi 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yaitu 8,3 HST pada waktu pembentukan kalus, 0,3301 gr pada berat segar kalus, dan 0,0535 gr pada berat kering kalus. Kadar kuersetin terbaik pada perlakuan (J) kombinasi 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 33,7 mg/gram.

Kata kunci: 2,4-*dichlorophenoxyacetic*, *benzyl amino purine*, flavonoid, *indole acetic acid*, induksi kalus, tanaman iler

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ABSTRACT
THE EFFECT OF THE COMBINATION OF GROWTH REGULATORS AUXIN (IAA AND 2,4-D) AND CYTOKININS (BAP) ON CALLUS INDUCTION AND FLAVONOID CONTENT OF ILER PLANTS (*Plectranthus scutellarioides*) *IN VITRO*

Plectranthus scutellarioides or iler plant is a medicinal plant that has pharmacological activities such as anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial. This activity is related to the flavonoid content found in iler plants. Tissue culture is an alternative in the production of secondary metabolites by adding growth regulators, both auxins and cytokinins. The purpose of this study was to determine the effect of the combination of growth regulators auxin (IAA and 2,4-D) and cytokinins (BAP) on callus induction and flavonoid content of iler plants. This study used a completely randomized design method with 9 treatments with 3 replications. The explants used were the young leaves. Explants were grown on MS media, sucrose 30 g/L, and additional growth regulators IAA and 2,4-D (0,5; 4; 0,1 ppm) and BAP (0,5; 0,1 ppm). After 4 weeks, harvesting and observation of callus morphology, fresh weight, and dry weight of callus, and analysis of flavonoid content were carried out using UV-Vis Spectrophotometer. Data on callus formation time, fresh weight, and dry weight of callus were analyzed using the *Kruskal Wallis* test and the *Mann-Whitney* test. Meanwhile, morphological data and flavonoid content were analyzed descriptively. The results showed that the callus produced was white, greenish white, brownish white to brown with a compact texture. The results of the *Mann-Whitney* test had a significant difference ($p < 0,05$) on callus formation time, fresh weight and dry weight of callus. The highest average value in treatment (B) a combination of 4 ppm IAA and 0,5 ppm BAP, namely 8,3 HST at the time of callus formation, 0,3301 gr at callus fresh weight, and 0,0535 gr at callus dry weight. The best levels of quercetin in the treatment (J) combination of 4 ppm 2,4-D and 0,5 ppm BAP that is equal to 33,7 mg/gram.

Keywords: 2,4-*dichlorophenoxyacetic*, *benzyl amino purine*, flavonoid, *indole acetic acid*, callus induction, iler plant

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR ISI

Halaman Pernyataan Keaslian ii
Halaman Persetujuan iii
Halaman Pengesahan iv
Halaman Persetujuan Publikasi v
Abstrak vi
Abstract vii
Kata Pengantar viii
Daftar Isi ix
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 8
1.3 Tujuan Penelitian 8
1.4 Manfaat Penelitian 8
1.5 Batasan Penelitian 9
1.6 Hipotesis Penelitian 9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 10
2.1 Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides*) 10
2.2 Kultur Jaringan 13
2.3 Induksi Kalus 14
2.4 Media Kultur Jaringan 15
2.5 Zat Pengatur Tumbuh 16
2.6 Auksin 17
2.6.1 ZPT IAA 18
2.6.2 ZPT 2,4-D 29
2.7 Sitokinin 20
2.7.1 ZPT BAP 21
2.8 Flavonoid 22
2.9 Ekstraksi 24
2.10 Uji Kandungan Flavonoid 25
BAB III METODE PENELITIAN 27
3.1 Rancangan Penelitian 27
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 28
3.3 Alat dan Bahan Penelitian 28
3.4 Variabel Penelitian 29
3.5 Prosedur Penelitian 29
3.6 Analisis Data 35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 36
4.1 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan Sitokinin (BAP) Terhadap Induksi Kalus

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tanaman Iler (*Pletranthus scutellarioides*) 36
4.1.1 Waktu Pembentukan Kalus 38
4.1.2 Morfologi Kalus 44
4.1.3 Berat Segar Kalus 50
4.1.4 Berat Kering Kalus 56
4.2 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan Sitokinin BAP Terhadap Kandungan Flavonoid pada Kalus Tanaman Iler (*Pletranthus scutellarioides*) 60
BAB V PENUTUP..... 69
5.1 Kesimpulan 69
5.2 Saran 69
DAFTAR PUSTAKA 70
LAMPIRAN

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah termasuk flora dan fauna yang dimilikinya. Salah satu keanekaragaman hayati di Indonesia yaitu keanekaragaman tanaman. Berbagai jenis tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan oleh manusia salah satunya yaitu tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*). Tanaman iler (*P. scutellarioides*) merupakan tanaman yang ditemukan di Asia dan tersebar di Amerika, Afrika Selatan, dan Eropa. Tanaman iler adalah anggota spesies dari Famili Lamiaceae yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman hias karena memiliki keindahan pada daunnya. Selain itu, masyarakat di berbagai negara telah lama memanfaatkan tanaman iler sebagai obat tradisional (Tungmunnithum *et al*., 2019).

Tanaman iler (*P. scutellarioides*) dijadikan sebagai obat tradisional karena dapat mengobati berbagai penyakit seperti wasir, gatal-gatal, diare, demam, disentri, bisul, radang telinga, dan juga sebagai penambah nafsu makan. Tanaman iler memiliki aktivitas farmakologis seperti anti-inflamasi, antikanker, antioksidan, antidiabetik, dan antibakteri. Hal tersebut dikarenakan tanaman iler memiliki kandungan kimia yang terdapat pada bagian daun dan akar tanaman iler meliputi saponin, polifenol, minyak atsiri, dan flavonoid (Mustarichie *et al*., 2017).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang umumnya

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

tersebar pada tanaman. Flavonoid memiliki manfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan memiliki bioaktifitas sebagai obat (Rohyami, 2008). Pada tanaman, senyawa flavonoid terkandung pada akar, daun, buah, dan kulit luar batang (Lumbessy *et al*., 2013). Menurut penelitian, daun iler mengandung beberapa senyawa golongan flavonoid, diantaranya kelompok flavon (apigenin), isoflavon, dan flavonol (quersetin) (Kubinova *et al*., 2018; Lenny dan Marpaung, 2016). Kelompok isoflavon bermanfaat untuk fitoaleksin yang merupakan senyawa pelindung yang tebentuk pada tumbuhan sebagai pertahanan terhadap serangan penyakit (Robinson, 1995). Jenis flavon (apigenin) memiliki fungsi biologis seperti *antimutagenic, antiinflammatory, anticarcinogenic,* dan *antiviral* (Al-Snafi, 2014). Sedangkan jenis quersetin ini mampu menghambat kematian sel melalui mekanisme penghambatan peroksidasi lipid, sebagai antiinflamasi, dan memiliki aktivitas antioksidan (Moelyono *et al.*, 2016).

Berdasarkan manfaat yang dimiliki flavonoid, maka diperlukan adanya perbanyakan tanaman untuk meningkatkan produksi flavonoid, salah satunya melalui teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan teknik yang digunakan dalam pertumbuhan sel atau jaringan tanaman dalam botol kultur yang mengandung media nutrisi dalam keadaan yang steril. Teknologi ini merupakan cara terbaik untuk memperbanyak tanaman dalam kualitas tinggi, bebas dari penyakit, dan menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dengan waktu yang singkat dibandingkan dengan metode tradisional yang memakan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

waktu cukup lama (Baday, 2018).

Melalui teknik kultur jaringan, metabolit sekunder yang dihasilkan dalam jaringan tanaman utuh dapat dihasilkan dalam sel yang dipelihara pada media buatan yang aseptik (Baldi and Dixit, 2008). Produksi senyawa metabolit sekunder melalui kultur jaringan memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan cara konvensional, antara lain tidak dipengaruhi oleh iklim, hama dan penyakit, musim, serta beberapa faktor lingkungan lainnya, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan lebih konsisten dalam waktu yang singkat, dan memiliki mutu yang lebih baik serta sistem produksi yang dapat diatur (Purnamaningsih dan Ashrina, 2011).

Berbagai teknik kultur jaringan yang telah digunakan dalam memproduksi metabolit sekunder, yaitu kultur suspensi sel, kultur organ, dan kultur kalus. Salah satu teknik kultur jaringan yang berpotensi dalam produksi metabolit sekunder yaitu kultur kalus (Manthell and Smith, 1983). Teknik kultur jaringan seperti kultur kalus selain digunakan untuk memperbanyak tanaman juga merupakan salah satu cara untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder (George and Sherington, 1994). Beberapa penelitian menunjukkan keberhasilan produksi metabolit sekunder melalui kultur kalus (Utomo, 2015; Mahmuda, 2018; Nurokhman *et al.*, 2018).

Dalam kultur jaringan, terdapat faktor-faktor yang mendukung keberhasilan kultur jaringan, yaitu genotip tanaman, media kultur, lingkungan tumbuh, dan kondisi eksplan (Basri, 2016). Keberhasilan kultur jaringan salah satunya dipengaruhi oleh pemilihan media tanam yang cocok untuk pertumbuhan tanaman tersebut. Pentingnya pemilihan jenis media tanam yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

digunakan akan mempengaruhi pertumbuhan dan regenerasi eksplan yang dikulturkan, sebagaimana dalam Q.S. Al-A'raaf ayat 58 yang berbunyi:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۖ وَالَّذِي خَبُثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا ۚ كَذَٰلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ

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."* (Al- A'raaf: 58).

Menurut tafsir Al Aisar dalam Q.S. Al-A'raaf ayat 58 mengenai permisalan yang diberikan oleh Allah kepada hamba yang mukmin dan yang kafir, setelah sebelumnya Allah menjelaskan kekuasaanya yaitu menghidupkan kembali orang yang telah mati. "*Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah*" yaitu setelah Allah menurunkan air padanya. Hal tersebut merupakan perumpamaan bagi orang mukmin yang berhati baik apabila mendengar ayat yang telah diturunkan imannya akan bertambah dan amal shalihnya bertambah baik. "*Dan tanah yang tidak subur*" yaitu tanah yang buruk dan berkikil. Ketika hujan turun, tanaman-tanamannya hanya tumbuh tidak terawat, merana, tidak subur, susah, dan tidak bagus. Hal tersebut menjadi perumpamaan orang-orang kafir ketika mendengar ayat Al-Qur'an mereka tidak mau menerima dan tidak memberikan manfaat bagi sikap dan tindakannya, ia tidak berbuat baik dan tidak juga meninggalkan yang buruk (Al-Jaziri, 2007).

Berdasarkan ayat diatas, telah dijelaskan bahwa tanaman akan tumbuh baik jika ditanam pada tanah yang baik, artinya tanaman tersebut mengandung beberapa unsur yang dibutuhkan oleh tanaman. Sedangkan tanaman akan tumbuh merana jika media tanam atau tanahnya tidak mengandung unsur yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dibutuhkan oleh tanaman. Berdasarkan hal tersebut, tanah yang dimaksud pada ayat diatas yaitu media kultur sebagai tempat tumbuh eksplan. Pemilihan media yang tepat dan mengandung unsur yang dibutuhkan oleh tanaman nantinya akan membantu proses pertumbuhan eksplan yang ditanam pada media tanam. Selain itu, penambahan zat pengatur tumbuh dalam media juga mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan.

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang diberikan pada tanaman yang bertujuan untuk mempengaruhi proses fisiologis di dalam organ tanaman (Surtinah, 2017). Semua sistem kultur jaringan memanfaatkan adanya zat pengatur tumbuh baik alami maupun buatan. Tanpa adanya zat pengatur tumbuh, sebagian besar jaringan tidak dapat hidup maupun tumbuh sesuai dengan apa yang diinginkan. Penggunaan zat pengatur tumbuh harus sesuai dengan tujuan atau arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan. Zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin merupakan suplemen paling penting untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman (Evans *et al*., 1981). Penggunaan auksin dan sitokinin dapat merangsang pembentukan kalus, tetapi optimalnya harus dengan variasi konsentrasi yang sesuai (Zaerr and Mapes, 1982). Pemberian auksin dan sitokinin pada konsentrasi seimbang akan menghasilkan pertumbuhan yang optimal terhadap pembentukan kalus (George, 1993). Sedangkan jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin maka akan terbentuk tunas, dan jika konsentrasi auksin lebih tinggi dari sitokinin, maka akan membentuk kalus dan akar (Intias, 2012).

Hormon auksin yang biasanya digunakan dalam kultur kalus yaitu *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan juga 2,4-*Dichlorophenoxyacetic* (2,4-D). Hormon

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

IAA merupakan hormon golongan auksin yang dapat mempengaruhi proses fisiologi tanaman seperti pembelahan sel, pemanjangan sel, pertumbuhan akar, dormansi apikal, pembungaan, absisi daun, dan gerak tropisme (Di *et al*., 2016). Menurut penelitian, hormon IAA terbukti efektif digunakan dalam induksi kalus (Zulraufianti dan Paserang, 2019; Zuraidassanaaz, 2016). Selain itu, zat pengatur tumbuh 2,4-D adalah hormon turunan dari auksin yang biasa digunakan untuk menginduksi kalus karena sifatnya yang lebih stabil karena sulit terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun pemanasan pada proses sterilisasi (Sorentina *et al*., 2013). Penggunaan zpt 2,4-D telah berhasil digunakan dalam menginduksi kalus (Bustami, 2011; Indah dan Ermavitalini, 2013).

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam induksi kalus, selain pemberian auksin, pemberian sitokinin juga berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus. Salah satu golongan sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan yaitu *Benzyl Amino Purine* (BAP). BAP merupakan sitokinin yang berfungsi dalam pembelahan sel (Kusumawati *et al*., 2015). BAP hampir sama dengan kinetin jika dilihat dalam strukturnya, namun BAP jauh lebih efektif dibandingkan dengan kinetin. Penggunaan BAP juga menjadi sitokinin yang paling banyak digunakan karena lebih stabil, murah, dan selalu tersedia. BAP juga telah dilaporkan oleh banyak peneliti dalam penggunaannya untuk menginduksi kalus (Zaerr and Mapes, 1982).

Pemberian zat pengatur tumbuhan baik auksin dan sitokinin dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, hal ini dikarenakan zat pengatur

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

tumbuh yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tanaman melalui pengaturan kerja enzim. Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini yang akan mengaktifkan enzim dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru ini mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi sekunder salah satunya yaitu pembentukan metabolit sekunder (Wardani *et al*., 2004).

Penggunaan ZPT IAA, 2,4-D, dan BAP telah digunakan dalam penelitian Maya (2019), yang menunjukkan bahwa pemberian kombinasi konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D dan 2,5 mg/L BAP serta 1,0 mg/L 2,4-D dan 2,5 mg/L BAP menghasilkan kalus dengan tekstur remah dan berwarna hijau muda, serta hasil analisis metabolit sekunder kalus dan daun tapak liman yaitu mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Selain itu, penelitian Sudrajad dan Saryanto (2011) menunjukkan bahwa pemberian hormon BAP pada konsentrasi 3 dan 4 mg/L dapat membentuk kalus *Echinacea purpurea* L. sebesar 80% dengan rata-rata waktu induksi kalus 4,7– 5,6 hari, serta penambahan 3 mg/L BAP terjadi peningkatan kadar flavonoid total yaitu sebesar 0,29%.

Penggunaan hormon IAA, 2,4-D, dan BAP sejauh ini sudah pernah dilakukan pada beberapa penelitian untuk menginduksi kalus dan profil metabolit sekunder, seperti penggunaan IAA untuk menginduksi kalus dan produksi metabolit sekunder kalus sirih hitam (*Piper betle* L.) (Zuraidassanaaz, 2016; Junairiah *et al*., 2019), serta 2,4-D dan BAP dalam menginduksi kalus dan profil metabolit sekunder kalus tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber*

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

L.) (Maya, 2019). Namun, penggunaan hormon IAA, 2,4-D, dan BAP untuk menginduksi kalus dan produksi flavonoid tanaman iler masih belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) untuk menginduksi kalus dan produksi flavonoid tanaman iler (*P. scutellarioides*).

1.2 Rumusan Masalah

a. Bagaimana pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap induksi kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*)?
b. Bagaimana pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap kandungan flavonoid pada kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*)?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap induksi kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*).
b. Mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap kandungan flavonoid pada kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) yang tepat dalam induksi kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*) dan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dapat digunakan sebagai dasar dalam meningkatkan produksi flavonoid dari tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*).

1.5 Batasan Penelitian

a. Eksplan yang digunakan adalah bagian daun muda iler (*Plectranthus scutellarioides*) yang berumur 10 hari.

b. Pengujian total flavonoid dibatasi dengan pengujian total kuersetin.

1.6 Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini, dapat disusun hipotesis yaitu terdapat pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap induksi kalus dan kandungan flavonoid pada kalus tanaman iler (*Plectranthus scutellarioides*).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB II

TINJAUAN PENELITIAN

2.1 Tanaman Iler (*Plectranthus scutellarioides*)

Tanaman Iler (*P. scutellarioides*) merupakan tanaman hias dan juga termasuk tanaman obat tradisional yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Tanaman ini dikenal dengan nama "Kentangan" di daerah Jawa, "Si Gresing" di daerah Batak, "Jawer kotok" di daerah Sunda, dan "Polohungo moyitomo" di daerah Sulawesi. Tanaman iler disebut juga sebagai "*Painted Nettle*" atau "*Rainbow Plant*" karena memiliki daun dengan warna yang cerah dan menarik (gambar 2.1) (Vikayanti, 2015).

Gambar 2.1 Tanaman Iler (*P. scutellarioides*)(Moektiwardoyo *et al*., 2011)

Adapun klasifikasi tanaman iler menurut Brown (1810) dalam Backer and Brink (1962) adalahsebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Lamiales
Family	: Lamiaceae
Genus	: *Plectranthus*
Species	: *Plectranthus scutellarioides*

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tanaman iler memiliki daun berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman. Daun tanaman ini termasuk daun tunggal yang memiliki helaian daun berbentuk bulat telur, ujung meruncing, tepi beringgit, tulang daun menyirip jelas, permukaan daunnya mengkilap, dan berambut halus. Tanaman iler memiliki batang bersegi empat dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya. Batang tanaman iler berambut dan memiliki percabangan yang banyak. Tinggi batang tanaman iler sekitar 0,5 – 15 m (gambar 2.1) (Qalbi *et al*., 2017).

Tanaman iler merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah Asia Tenggara. Tanaman iler dapat tumbuh secara liar di ladang atau di kebun dan dapat hidup pada ketinggian 1300 m diatas permukaan laut. Tanaman ini memiliki keistimewaan yaitu jenis dan warna daun yang beraneka ragam. Iler dapat ditemukan di sekitar sungai atau pematang sawah dan juga di pinggir-pinggir jalan sebagai tumbuhan liar. Namun saat ini tanaman iler dijadikan sebagai tanaman hias dengan berbagai variasi yang indah (gambar 2.1) (Heyne, 1987:1699).

Tanaman iler memiliki kandungan minyak atsiri, steroid, tanin, dan saponin. Kadar tanin merupakan kandungan tertinggi yang tersebar pada tanaman iler (Mutiatikum *et al*., 2010). Selain itu, daun iler mengandung sterol dan triterpen dan juga memiliki kandungan diterpen (Ragasa *et* al., 2001). Kandungan terpenoid (mono-, sesqui, did an tri), fenol misalnya asam fenol dan asam rosmarinat, serta kandungan flavonoid yaitu flavon juga terkandung dalam tanaman iler (David and Chariton, 2014).

Tanaman dari famili Lamiaceae ini memiliki kandungan flavonoid yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

tinggi dan banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat wasir, peluruh haid, penambah nafsu makan, serta dapat dijadikan sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Pakadang *et al*., 2015). Selain itu, tanaman iler memiliki aktivitas antibakteriterhadap *Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa,* dan *Candida albicans* (Ragasa *et al*., 2001).

Berdasarkan manfaat yang dimiliki tanaman iler sebagaimana dalam Q.S. As-Syu'ara ayat 7-8 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْاْإِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَافِيْهَامِنَ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ (7)إِنَّ فِيْ ذَالِكَ لَأَيَةُ وَمَاكَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِيْنَ(8)

Artinya: *"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?. Sungguh, pada yang demikian itu terdapat tanda (kebesaran Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman".*

Menurut tafsir Al-Qurthubi (2009), زوج كريم yang artinya jenis yang baik, lafadz كريم yang artinya baik maupun mulia, berasal dari *al karam* dalam bahasa arab الفضل (keutamaan) yang digunakan untuk sesuatu yang baik, unggul, dan mulia. Menurut tafsir Ibnu Katsir (2007), *"Sungguh, pada yang demikian itu terdapat tanda"*. Allah SWT menunjukkan bahwa kebesaran, kekuasaan-Nya, dan keagungan-Nya dalam menciptakan dan menumbuhkan tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan, dan hewan.

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT mengajak umat manusia agar selalu bersyukur atas apa yang telah Allah berikan termasuk tumbuh-tumbuhan yang baik, artinya tumbuh-tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat dan dapat digunakan oleh manusia seperti obat tradisional. Tanda-tanda kebesaran Allah SWT yang telah menghidupkan tanah gersang hingga

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menciptakan berbagai macam tanaman dan manfaat yang terkandung di dalamnya. Hal tersebut hanya diketahui oleh orang yang beriman dan berakal yang selalu bertafakkur terhadap kekuasaan Allah SWT.

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan pemisahan bagian atau jaringan tanaman dari tanaman asal untuk ditumbuhkan dalam keaadan yang steril pada suatu media yang nantinya sel-sel mampu tumbuh dan mengalami pembelahan. Kultur yang dihasilkan dapat berupa kultur organ yang telah terdiferensiasi dan sel- sel meristematik yang belum terdeferensiasi atau biasa disebut kultur kalus (Indrayanto, 1986).

Menurut Lawalata (2011), kultur jaringan dapat didefinisikan sebagai suatu metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian tanaman dan ditumbuhkan dalam keadaan steril sehingga bagian tanaman mampu memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali. Melalui teknik ini, bibit yang diproduksi lebih banyak, seragam, bebas hama dan penyakit. Dengan adanya teknik kultur jaringan ini memungkinkan manipulasi sel dan molekul untuk memperbaiki sifat tanaman serta mempertinggi produksi dan kualitasnya.

Eksplan merupakan bagian tanaman yang dijadikan sebagai bahan inokulum awal yang ditanam dalam media dan nantinya akan mengalami perkembangan dan pertumbuhan tertentu. Eksplan menjadi bahan dasar pembentukan kalus yaitu bentuk awal calon tunas yang kemudian mengalami proses perlengkapan tanaman seperti daun, batang, dan akar. Pada kultur jaringan, eksplan yang digunakan harus yang masih muda (primordia) karena

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sel-selnya masih bersifat meristematis dan sudah mengalami proses diferensiasi (Yuliarti, 2010).

Kecepatan tumbuh kalus juga dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. Eksplan yang ditanam umumnya bagian daun muda karena bersifat meristematik dan diharapkan dapat menumbuhkan kalus lebih cepat. Hal ini selaras dengan pernyataan Wulandari *et al* (2004) bahwa penggunaan eksplan dari jaringan muda lebih berhasil karena memiliki sel-sel yang masih aktif membelah, dinding sel yang tipis karena belum terjadi penebalan lignin dan selulose yang menyebabkan kekakuan pada sel.

2.3 Induksi Kalus

Induksi kalus merupakan tahapan penting dalam hibridisasi somatik melalui fusi protoplas sehigga dihasilkan tanaman hibrida serta pembentukan embrio dalam embriogenesis somatik. Kalus yang bertekstur lemah dapat distimulasi dengan konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi sitokinin. Dalam induksi kalus terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya, seperti komposisi media, kondisi lingkungan kultur, jenis dan genotipe eksplan, serta zat pengatur tumbuh (Waryastuti *et al*., 2017).

Salah satu teknik kultur jaringan yang berperan dalam produksi metabolit sekunder yaitu melalui induksi kalus. Menginduksi terbentuknya kalus merupakan langkah penting yang mengusahakan rangsangan agar berdiferensiasi membentuk tunas dan akar. Jika suatu eksplan ditanam dalam media padat atau media cair yang sesuai, maka akan terbentuk kalus yang merupakan massa amorf yang tersusun atas sel-sel parenkim berdinding sel

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

tipis yang berkembang dari hasil poliferasi sel jaringan induk akibat adanya pelukaan pada jaringan dalam waktu 2-4 mingu tergantung pada tanamannya Jaringan tanaman yang dapat digunakan untuk membentuk kalus yaitu akar, batang, dan daun dengan cara menyterilkan eksplan dan menyayat bagian tanaman yang akan ditanam (Zuraidassanaaz, 2016).

Kalus biasanya dapat diinduksi dengan menambahkan zat pengatur tumbuh auksin seperti 2,4-D, NAA, 2,4,5 T, picloram yang dikombinasikan dengan sitokinin. Kalus akan terbentuk secara langsung atau melalui subkultur berulang baik pada perlakuan yang sama maupun pada perlakuan yang berbeda. Pada proses induksi kalus biasanya terjadi permasalahan yang mempengaruhi proses pertumbuhan kalus seperti pencoklatan. Pencoklatan merupakan suatu keadaan yang menyebabkan tidak terjadi pertumbuhan atau kalus mengalami kematian yang ditandai dengan munculnya warna coklat atau hitam pada eksplan. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh akumulasi senyawa fenolik yang teroksidasi akibat stress mekanik atau pelukaan pada eksplan (Angraeni, 2018).

2.4 Media Kultur Jaringan

Salah satu faktor keberhasilan suatu kultur jaringan yaitu adanya media tumbuh. Komposisi media tumbuh telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Pemilihan media ini disesuaikan dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Terdapat dua macam media kultur secara fisik yaitu dapat berbentuk cair atau padat (Yusnita, 2003). Salah satu media yang dapat digunakan dalam menginduksi kalus yaitu media Murashige and Skoog (MS).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Media MS merupakan media kultur paling cocok karena terdiri dari vitamin, karbohidrat, dan garam anorganik. Amonium nitrat dan kalium nitrat berfungsi sebagai sumbe nitrogen, sedangkan penambahan sukrosa digunakan sebagai sumber karbohidrat (Trivedi *et al*., 2015). Media tanam yang digunakan harus mengandung unsur seperti mikronutrien (<0,5 mM/L), makronutrien (>0,5 mM/L), asam amino, suplemen nitrogen, vitamin, sumber karbon, zat organik, pengatur tumbuh tanaman, dan pemadat seperti agar (George *et al.,* 2008).

Media yang dikembangkan oleh Murashige and Skoog digunakan secara luas untuk kultivasi kalus pada agar demikian juga kultur suspensi sel dalam media cair. Media MS memiliki keistimewaan yaitu kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi. Berbagai komposisi dasar dari media ini biasanya dibuat modifikasi, misalnya hanya menggunakan setengah dari konsentrasi garam-garam makro yang digunakan atau menggunakan komponen garam-garam makro berdasarkan MS yang disesuaikan. Selain media MS, terdapat beberapa contoh media lainnya seperti komposisi Knudson C (1964), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg B5 (1976), Linsmaier dan Skoog-LS (1965), serta Woody Plant Medium-WPM (1980) (Zuraidassanaaz, 2016).

2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh atau yang biasa disebut dengan ZPT merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dapat mendorong, menghambat, atau secara kualitatif mampu mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Terdapat 5 tipe zat pengatur tumbuh yaitu auksin, sitokinin, giberelin, asam

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

absisat, dan etilen. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan dalam perbanyakan tanaman yaitu auksin dan sitokinin dikarenakan berperan dalam proses pembelahan sel (Baihaqi, 2017).

Zat pengatur tumbuh dalam tanaman dapat mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada setiap tingkat pertumbuhan dan perkembangan. Di dalam tanaman terdapat fitohormon yang menghambat, zat pengatur tumbuh (pendorong) ini akan bekerja secara sinergis dengan fitohormon yang menghambat. Interaksi inilah yang dapat menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh dapat dibedakan menjadi dua, yaitu ZPT endogen dan ZPT eksogen (Wattimena, 1991).

Dalam menggunakan zat pengatur tumbuh, diperlukan adanya pengetahuan tentang cara menghitung dosis pada saat menentukan zat pengatur tumbuh yang akan digunakan. Hal ini sangat penting dilakukankarena jika perhitungannya tidak sesuai maka akan berakibat fatal bagi pertumbuhan jaringan. Pemberian zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat (Andaryani, 2010). Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam menginduksi pembentukan kalus adalah auksin. Penambahan sitokinin juga berperan penting dalam memicu pembelahan dan pemanjangan sel sehingga dapat mempercepat perkembangan dan pertumbuhan kalus (Indah dan Ermavitalini, 2013).

2.6 Auksin

Auksin merupakan senyawa yang memiliki kemampuan dalam mendukung terjadinya pemanjangan sel pada pucuk yang berstruktur kimia indole ring. Banyaknya kandungan auksin dalam tanaman sangat

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Struktur molekul dari auksin sangat menentukan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, meliputi: 1) adanya struktur cincin yang tidak jenuh, 2) adanya rantai keasaman, 3) adanya gugus karboksil (COOH) dari struktur cincin, 4) adanya pengaturan ruangan antara struktur cincin dengan rantai keasaman (Suprapto, 2004).

Aktifitas auksin dalam kultur jaringan mampu memacu perakaran dari kalus yang tidak berdiferensiasi. Bersamaan dengan hormon sitokinin yang menginduksi pembentukan tunas, auksin memungkinkan regenerasi tanaman dari kalus yang dikultur. Auksin sangat mempengaruhi morfologi akar, menghambat pemanjangan akar, dan meningkatkan produksi akar lateral (Woodward and Bartel, 2005). Selain itu, auksin juga digunakan untuk mempertahankan kultur kalus (Zaerr and Mapes, 1982).

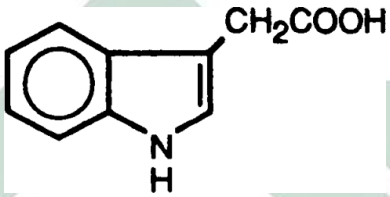
Peran auksin yaitu mempengaruhi pembesaran, pemanjangan, dan pembelahan sel, serta mempengaruhi metabolisme protein dan asam nukleat. Selain itu, auksin dapat mempengaruhi fisiologis tanaman yaitu dapat menghambat tunas lateral akibat peran auksin dalam dormansi apikal yang bergerak dari bagian apikal secara basipetal. Taraf auksin dalam sel tergantung pada bagian tanaman yang diambil seperti jenis tanaman dan umur tanaman (Lawalata, 2011). Jenis hormon auksin yang biasa digunakan dalam perbanyakan tanaman yaitu IAA dan 2,4-D.

2.6.1 ZPT IAA

Indole-3-acetic acid (IAA) merupakan komponen penting dari kelompok auksin sebagai hormon pertumbuhan endogen yang dapat merangsang proses pemanjangan sel. Jika diberikan bersamaan dengan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sitokinin, IAA dapat menjadi faktor yang mengatur diferensiasi sel dan morfogenesis tanaman (Mertens *et al*., 1985). IAA dapat merangsang pertumbuhan sel dalam konsentrasi tertentu, karena jika konsentrasinya terlalu tinggi IAA akan menghambat pemanjangan sel (Khuril'ain, 2017). Menurut Park *et al.* (2013), fitohormon IAA dapat meningkatkan pertumbuhan, pembesaran sel, dan pembelahan sel. Adapun struktur kimia dari IAA dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur *Indole-3-acetic Acid*
(Lomax *et al*., 1995)

Jalur biosintesis IAA dimulai dari gugus amino bergabung dengan sebuah asam alpa-keto melalui reaksi transaminasi menjadi asam indolpiruvat, kemudian dekarboksilasi indolpiruvat membentuk indolasetaldehid, akhirnya indolasetatldehid dioksidasi menjadi IAA (Salisburry dan Ross, 1995).

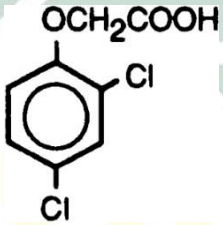
2.6.2 ZPT 2,4-D

2,4 Dichlorophenoxyacetic atau yang biasa disingkat 2,4-D merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yang dapat merangsang pembentukan kalus, mempengaruhi pertumbuhan dan morfologi sel, jaringan, dan organ. 2,4-D memiliki sifat yang stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel dan pemanasan pada proses sterilisasi (Siregar, 2006).

Zat pengatur tumbuh 2,4-D telah lama digunakan dalam sistem

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kultur jaringan, dimana 2,4-D mampu menginduksi poliferasi sel. Selain itu, 2,4-D menyebabkan dediferensiasi dan pertumbuhan sel atau kalus yang tidak terorganisir (Zaerr and Mapes, 1982). Pemberian 2,4-D dalam media kultur akan memacu pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan, sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia flavonoid (Bekti *et* al., 2003). Adapun struktur dari 2,4-D dapat dilihat pada gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur 2,4 *Dichlorophenoxyacetic*
(Lomax *et al*., 1995)

Zat pengatur tumbuh 2,4-D mengandung bahan aktif 2,4 D serta unsur makro yang meliputi N, P, K dan unsur mikro yang meliputi Mg, Mn, S, Zn, dan Cu. Balai Riset dan Standarisasi Industri Surabaya telah melakukan Uji Nitrogen pada zat pengatur tumbuh 2,4-D yaitu konsentrasi nitrogennya sebanyak 8,9 mg/ml (Parmana, 2015).

2.7 Sitokinin

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang memacu pembelahan (sitokinesis), pertumbuhan, dan perkembangan kultur sel tanaman. Sitokinin juga berperan dalam proses penuaan daun, bunga, dan buah dengan cara mengontrol dengan baik proses kemunduran yang menyebabkan kematian sel-sel tanaman. Efek sitokinin pada tumbuhan seringkali dipengaruhi oleh keberadaan auksin. Peningkatan konsentrasi sitokinin akan menyababkan

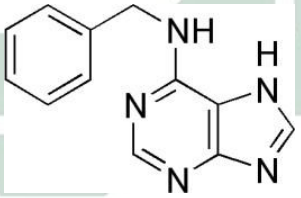
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sistem tunas membentuk cabang dalam jumlah lebih banyak (Lawalata, 2011).

Sitokinin alami dihasilkan pada jaringan yang tumbuh aktif terutamapada akar, embrio, dan buah. Sitokinin yang diproduksi di akar akan diangkut oleh xilem menuju sel-sel target pada batang. Beberapa zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yaitu kinetin, zeatin, ribosil, 2-iP, thidiazuron, dan benzyl amino purine (BAP) (Hendaryano dan Wijayani, 1994).

2.7.1 ZPT BAP

Zat pengatur tumbuh 6-*Benzylaminopurin* atau yang biasa disingkat BAP merupakan salah satu hormon sitokinin sintetik yang aktif dan memiliki daya rangsang lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman. Struktur yang dimiliki BAP mirip dengan struktur kinetin yang aktif dalam pertumbuhan dan poliferasi kalus, sehingga BAP merupakan sitokinin yang paling aktif (Suheb, 2018).Adapun struktur kimia dari BAP dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Struktur 6-*Benzylaminopurine*(Silva, 2012)

Menurut Wattimena (2006), BAP berperan dalam memperlambat proses senesensi sel dengan menghambat perombakan butir-butir klorofil dan protein dalam sel. Santoso dan Nursandi (2002), mengatakan bahwa sitokinin dalam pembelahan sel berperan dalampembentukan benang gelendong pada tahap metafase, selain itu juga berperan dalam menunda penuaan dengan mempertahankan keutuhan membran protoplasma.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Berdasarkan hal tersebut, sitokinin mampu mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh pada membran yang merusak membran.

Pemberian zat pengatur tumbuh baik auksin dan sitokinin dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, hal ini dikarenakan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tanaman melalui pengaturan kerja enzim. Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini yang akan mengaktifkan enzim dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru ini mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi sekunder salah satunya yaitu pembentukan metabolit sekunder (Wardani *et al*., 2004).

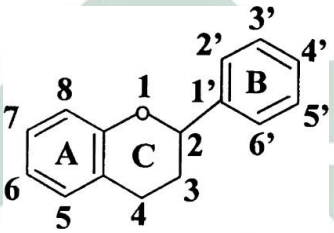
2.8 Flavonoid

Metabolit merupakan serangkaian proses transformasi enzimatis molekul organik dalam sel yang meliputi karbohidrat, asam nukleat, protein, dan lemak (Rao, 2002). Salah satu metabolit sekunder yang dapat dihasilkan dari hasil kultur jaringan yaitu Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki 15 atom karbon yang tersebar pada tumbuhan. Flavonoid tersebar luas di tanaman memiliki banyak fungsi. Flavonoid adalah pigmen tanaman yang digunakan untuk memproduksi warna bunga merah, biru, kuning pada kelopak untuk menarik hewan penyerbuk. Bagian tanaman yang memiliki kandungan flavonoid yaitu akar, daun, buah, dan kulit luar batang (Lumbessy *et al*., 2013).

Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Flavonoid adalah turunan dari benzo-γ-pyrone yang terdiri dari cincin fenolik dan pyrane (Heim *et al.,* 2002). Flavonoid memiliki struktur kimia dengan susunan C_6- C_3-C_6. Kerangka flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen (Cook and Samman, 1996). Struktur dari flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.5



Gambar 2.5 Struktur Flavonoid(Heim *et al.,* 2002)

Berbagai jenis kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid merupakan salah satu kelompok antioksidan alami yang dapat ditemukan pada sayur, sereal, dan buah-buahan. Peran flavonoid sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelatlogam, berada dalam bentuk glukosida yang mengandung rantai samping glukosa atau dalam bentuk aglikon (bentuk bebas) (Redha, 2010). Flavonoid memiliki kandungan sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga mampu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Doloksaribu, 2009).

Flavonoid memiliki beberapa manfaat diantaranya untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Kurniasari (2006) menunjukkan bahwa beberapa tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker.

2.9 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses yang memisahkan kandungan senyawa kimiadari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Sedangkan ekstrak dapat didefinisikan sebagai sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Hambali *eta*., 2014).

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Proses ekstraksi komponen kimia pada sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang didalamnya mengandung zat aktif, kemudian zat aktif ini akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan yang pekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan terus berulang hingga terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (Hambali *et al*., 2014).

Dalam Mukhriani (2014), pemilihan metode ektraski harus berdasarkan pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum menentukan metode ekstraksi, terdapat beberapa target ekstraksi yang harus ditentukan, antara lain:

a. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
b. Senyawa yang dketahui ada pada suatu organisme
c. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah lama dan suhu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ekstraksi, ukuran bahan, jenis dan konsentrasi pelarut. Metode ekstraksi yang menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin seperti maserasi dan perkolasi, serta dengan cara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti,infus, dan dekok (Alwi, 2017). Metode ekstraksi dingin yang biasa digunakan yaitu maserasi.

Maserasi merupakan suatu proses merendam sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur dan kelembaban ruang. Proses ini memiliki keuntungan dalam mengisolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Peryoga *et al*., 2015). Selain itu, metode maserasi memeiliki kerugianyaitu membutuhnkan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan terdapat kemungkinan beberapa senyawa hilang. Namun disisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2.10 Uji Kandungan Flavonoid

Uji kandungan flavonoid dapat dilakukan dengan uji warna, penentuan kelarutan, bilangan Rf, dan ciri spectrum UV. Identifikasi yang biasa digunakan secara luas yaitu pengukuran spektrum serapan dengan menggunakan spektrofotometer. Pengukuran dengan spektrofotometer ini tidak akan merusak senyawa dan dapat digunakan lagi untuk uji yang lain (Mukhriani, 2014).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan menggunakan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

spektrofotometer UV-VIS. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid memiliki kandungan sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat daerah UV-VIS (Rohyami, 2008). Standar yang digunakan yaitu flavonoid rutin (quersetin) (Slimestad *et al.*, 2005). Panjang gelombang yang digunakan dalam pengukuran spektrofotometer UV adalah panjang gelombang 200-400nm. Spekrum UV disebut juga spektrum elektronik karena terjadi akibat hasil interaksi radiasi UV terhadap molekul sehingga molekul mengalami transisi elektronik (Mulja, 1990).

Secara eksperimental, mengukur banyaknya radiasi yang diserap oleh suatu molekul sebagai fungsi frekuensi radiasi sangatlah mudah. Suatu grafik yang menghubungkan antara banyaknya sinar yang diserap dengan frekuensi (atau panjang gelombang) sinar yang merupakan spektrum absorpsi. Dengan demikian, spectra dapat digunakan untuk bahan informasi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif. Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi, sehingga spectra absorpsi juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2007).

Gandjar dan Rohman (2007), beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam analisis menggunakan spektrofotometri ultraviolet:

a. Pemilihan panjang gelombang maksimum
b. Pembuatan kurva kalibrasi
c. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan yang terdiri dari 1 perlakuan kontrol, 4 kombinasi konsentrasi IAA dan BAP serta 4 kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan berdasarkan rumus Fedeerer (1963):

$(n-1)\ (t-1) \geq 15$

$(n-1)\ (9-1) \geq 15$

$(n-1)\ (8) \geq 15$

$n-1 \geq 1{,}87$

$n \geq 2{,}87$

Rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1 Rancangan penelitian

Ulangan	Perlakuan								
	A	B	C	D	I	J	K	L	M
1	A1	B1	C1	D1	I1	J1	K1	L1	M1
2	A2	B2	C2	D2	I2	J2	K2	L2	M2
3	A3	B3	C3	D3	I3	J3	K3	L3	M3

Keterangan:
A : 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP
B : 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP
C : 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP
D : 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP
I : 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP
J : 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP
K : 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP
L : 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP
M: 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP (kontrol)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 hingga Mei 2021 yang bertempat di Laboratorium Terintegrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya. Adapun rincian waktu penelitian dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Jadwal pelaksanaan penelitian

No	Kegiatan	Bulan (2020)									Bulan (2021)							
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8
1	Pembuatan proposal																	
2	Seminar proposal																	
3	Persiapan																	
4	Aklimatisasi tanaman																	
5	Pembuatan media																	
6	Sterelisasi																	
7	Penanaman eksplan																	
8	Pengamatan waktu terbentuknya kalus, morfologi kalus, dan berat kalus																	
9	Analisis kandungan flavonoid																	
10	Analisis data																	
11	Pembuatan draft skripsi																	
12	Sidang skripsi																	

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat-alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol kultur, erlenmeyer, gelas ukur, pengaduk, cawan petri, tabung reaksi, corong, tabung cuvet, pinset, scalpel, gunting, *hotplate*, bunsen, korek api, autoklaf, *laminar air flow* (LAF), *Spektrofotometer UV-Vis*, oven, neraca analitik, spatula, pipet, cawan porselin, mortar, kertas saring, penyemprot alkohol, kertas pH, tissue, aluminium foil, *plastikwrap*, kertas label, bolpoin.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.3.2 Bahan-bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan daun iler (*Plectranthus scutellarioides*), kalus daun iler, media Murashigeand Skoog (MS) (Merck®), sukrosa, agar, aquades, *indole-3-acetic acid* (IAA), 2,4-D, *benzyl amino purine* (BAP), HCl, NaOH, $NaNO_2$, AlCl3, kuersetin, alkohol 70%, metanol, metanol p.a., n-heksan, etil asetat dan spirtus.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

a. Variabel bebas, berupa kombinasi zat pengatur tumbuh auksin meliputi IAA dan 2,4-D, serta sitokinin yaitu BAP.
b. Variabel terikat, meliputi berat segar dan berat kering kalus, serta kandungan flavonoid jenis flavonol (quersetin) kalus tanaman iler.
c. Variabel kontrol, meliputi ukuran dan jenis eksplan, media kultur, pH media, suhu, dan intensitas cahaya.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap Sterilisasi Alat dan Ruang Kerja

Pada tahap ini, dilakukan sterilisasi alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti botol kultur, cawan petri, scalpel, gunting, dan pinset. Sebelum disterilisasi dengan autoklaf, alat-alat tersebut dicuci terlebih dahulu dengan sabun cuci dan dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan. Setelah kering, botol kultur ditutup menggunakan aluminium foil, membungkus cawan petri, pinset, scalpel, gunting dengan kertas payung yang kemudian dimasukkan ke dalam

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

plastik. Setelah semua terbungkus, alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilisasi pada suhu 121ºC selama 15 menit.

Selain alat-alat tersebut, ruang kerja juga harus disterilkan dengan cara membersihkan dinding dan lantai ruangan dengan desinfektan. Selain itu, *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai tempat penanaman eksplan juga harus disterilkan menggunakan tissu yang sudah dibahasialkohol 70% kemudian diratakan ke meja dan dinding kaca LAF. Setelah itu semua alat yang sudah disterilkan dengan autoklaf dimasukkan ke dalam LAF dengan membersihkannya terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Kemudian lampu UV dinyalakan dandibiarkan selama 30 menit. Setelah itu, lampu UV dimatikan dandiganti dengan lampu neon dan *blower*.

3.5.2 Tahap Pembuatan Media

Pada penelitian ini digunakan media Murashige dan Skoog (MS) yang komposisinya dapat dilihat pada lampiran 1. Media yang diperlukan yaitu 60 ml setiap perlakuannya. Langkah awal yaitu menimbang media MS sebanyak 0,26 gram, kemudian gula sebanyak 1,8 gram. Bahan-bahan yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume larutan mencapai 60 ml. Kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh IAA, 2,4-D, dan BAP sesuai dengan yang telah ditentukan. Selanjutnya, diukur pH larutan media sekitar 5,6 – 5,8, jika pH <5,6 maka ditambahkan NaOH dan jika pH >5,8 maka ditambahkan HCl. Kemudian ditambahkan agar sebanyak 0,48 gram. Setelah itu, larutan media dipanaskan diatas *hot plate* hingga

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mendidih dan dituang ke dalam masing-masing botol kultur yang sudah diberi label sebanyak 20 ml serta ditutup mulut botol menggunakan aluminium foil. Media yang telah dibuat disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121ºC selama 15 menit.

3.5.3 Tahap Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan yaitu bagian daun muda (daun urutan kedua sampai keempat dari bagian pucuk) tanaman iler. Sterilisasi eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan cara membersihkan eksplan dengan merendam eksplan menggunakan detergen selama 5 menit kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya dilakukan perendaman menggunakan *clorox* 10% selama 15 menit. Kemudian eksplan dibilas dengan akuades sterilsebanyak 3 kali setiap 10 menit. Setelah itu eksplan siap untuk ditanam.

3.5.4 Tahap Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di *Laminar Air Flow* (LAF). Penanaman eksplan dilakukan dengan memotong sekeliling daun dengan ukuran 1x1 cm. Sebelum ditanam, mulut botol dipanaskan dengan lampu bunsen untuk mencegah terjadinya kontaminsi. Kemudian eksplan ditanam dalam media dengan pinset steril yang sebelumnya sudah dipaaskan dengan lampu bunse untuk memusnahkan spora dan jamur yang menempel pada pinset. Selanjutnya, botol ditutup dengan aluminium foil dan dilapisi dengan plastik wrap. Semua botol diinkubasi dalam ruang kultur serta diamati setiap hari selama 1 bulan.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.5.5 Tahap Pengamatan Kalus

a. Waktu Pembentukan Kalus

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menghitung hari saat pertama kali terbentuk yang dinyatakan dalam hari setelah tanam (HST). Kalus muncul ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan warna hijau, hijau keputihan, putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat, dan sebagainya pada permukaan eksplan.

b. Morfologi Kalus

Pengamatan morfologi kalus meliputi warna dan tekstur kalus yang dilakukan pada akhir pengamatan. Penentuan warna kalus ditetapkan berdasarkan keterangan warna kalus yaitu hijau, hijau keputihan, putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat, dan sebagainya. Sedangkan penentuan tekstur kalus ditetapkan berdasarkan keterangan kompak atau remah.

c. Penentuan Berat Segar dan Berat Kering Kalus (gram)

Menentukan berat segar kalus dengan cara menimbang kalus setelah akhir pengamatan (selama 4 minggu). Setelah itu dilakukan penimbangan berat kering kalus yang sebelumya telah dioven selama 48 jam dengan suhu 40ºC.

3.5.6 Analisis Kandungan Flavonoid Kalus

a. Ekstraksi

Kalus tanaman iler pada semua perlakuan dikeringkan dalam oven. Setelah kering, kalus dihaluskan dalam cawan porselin menggunakan mortar hinga menjadi serbuk. Serbuk sebanyak 0,05

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

gram diekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu dengan cara merendam serbuk ke dalam 5 ml metanol selama 24 jam. Proses ini diulang sebanyak 2 kali agar senyawa dapat larut sempurna. Kemudian ekstrak disaring dan dipartisi menggunakan *n*-heksan dengan perbandingan 1:1. Setelah ditambahkan *n*-heksan akan terbentuk dua lapisan, lapisan atas diambil dan disimpan dalam tempat yang bersih. Lapisan bawah dipartisi dengan etil asetat dengan perbandingan 1:1 yang bertujuan untuk mengekstrak senyawa flavonoid. Kemudian ekstrak etil asetat diambil sebanyak 5 ml untuk dianalisis kadar flavonoid.

b. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Pembuatan larutan induk dengan cara menimbang kuersetin sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam metanol p.a sebanyak 100 ml, sehingga dihasilkan larutan kuersetin 100 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran seri pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dengan cara mengambil 1; 2; 3; 4; dan 5 ml pada larutan induk dan masing-masing dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a.. Kemudian larutan tersebut dipekatkan dalam suhu ruang. Setelah itu, masing-masing konsentrasi ditambahkan 0,25 ml metanol, 1,25 ml akuades, dan 75 µL larutan $NaNO_2$ 5% dan ditunggu selama 6 menit. Kemudian ditambahkan 150 µL $AlCl_3$ 10% secara perlahan dan ditunggu 5 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 mL NaOH 1 N dan akuades sampai mencapai volume 2,5 ml. Selanjutnya larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 514 nm.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Larutan blanko yang digunakan yaitu metanol.

c. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Pembuatan kurva baku kuersetin dengan cara menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi yang didapatkan dari pengukuran spektrofotometer UV-VIS. Kemudian nilai tersebut diplotkan dan diperoleh persamaan y = bx + a, dimana adalah konsentrasi, y adalah luas area, a adalah intersept (perpotongan dengan garis sumbu y) dan b merupakan slope (kemiringan garis regresi). Kelinier kurva dihitung dengan koefisien korelasi (r).

d. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak

Ekstrak etil asetat kalus pada semua perlakuan sebanyak 5 ml dipekatkan pada suhu ruang sehingga menempel pada dinding botol. Kemudian dilakukan penambahan 0,125 ml metanol, 0,625 ml akuades, 37,5 µL $NaNO_2$ 5% dan ditunggu selama 6 menit. Kemudian ditambahkan 75 µL $AlCl_3$ 10% secara perlahan dan ditunggu 5 menit. Kemudian ditambahkan NaOH 1 N sebanyak 0,25 ml dan akuades hingga volume mencapai 2,5 mL. Selanjutnya, larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 514 nm dengan metanol sebagai larutan blanko. Kemudian hasil yang didapatkan dimasukkan ke dalam kurva standar kuersetin. Konsentrasi flavonoid dalam sampel dihitung melalui plot kalibrasi, sedangkan kadar flavonoid dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar flavonoid total} = \frac{\text{konsentrasi (mg/L)} \times \text{vol. sampel (L)}}{\text{berat sampel (g)}}$$

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.6 Analisis Data

Data kuantitatif meliputi waktu pembentukan kalus, berat segar dan berat kering kalus dianalisis menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*, jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data kualitatif meliputi morfologi kalus dan kandungan flavonoid kalus dianalisis secara deskriptif.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) Terhadap Induksi Kalus Tanaman Iler (*Pletranthus scutellarioides*)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap waktu pembentukan kalus, morfologi kalus, berat segar dan berat kering kalus, serta kandungan flavonoid kalus. Hasil penelitian yang dilakukan diketahui bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh baik IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP dapat menginduksi terbentuknya kalus tanaman iler. Waktu pembentukan kalus, morfologi kalus, berat segar dan berat kering kalus yang dihasilkan dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Penelitian

Perlakuan	Rata-Rata Waktu Pembentukan Kalus (HST)	Warna Kalus	Tekstur Kalus	Persentase Pembentukan Kalus (%)	Rata-Rata Berat Segar ± Standar Deviasi (gram)	Rata-Rata Berat Kering ± Standar Deviasi (gram)
A	10,3 ± 0,57	Putih kehijauan	Kompak	100	0,2785 ± 0,0202	0,0372 ± 0,0012
B	8,3 ± 0,57	Putih kehijauan	Kompak	100	0,3301 ± 0,0510	0,0535 ± 0,0056
C	11,3 ± 1,52	Putih kehijauan, Putih kecoklatan	Kompak	100	0,2258 ± 0,0474	0,0365 ± 0,0049
D	14,3 ± 0,57	Putih kehijauan	Kompak	100	0,1387 ± 0,0047	0,0274 ± 0,0022

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

I	13,3 ± 0,57	Putih kehijauan	Kompak	100	0,1637 ± 0,0404	0,0301 ± 0,0032
J	15,6 ± 0,57	Putih, Putih kecoklatan	Kompak	100	0,1120 ± 0,0227	0,0172 ± 0,0031
K	14,6 ± 0,57	Coklat	Kompak	100	0,1297 ± 0,0236	0,0182 ± 0,0053
L	13,6 ± 0,57	Putih kecoklatan	Kompak	100	0,1556 ± 0,0270	0,0223 ± 0,0046
M	0	-	-	0	-	-

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP

Berdasarkan tabel 4.1, diketahui bahwa penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP dapat menginduksi terbentuknya kalus dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan zat pengatur tumbuh. Pemberian kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP menghasilkan warna kalus putih, putih kehijauan, putih kecoklatan, dan coklat serta menghasilkan kalus yang bertekstur kompak.

Data hasil pertumbuhan kalus yang meliputi waktu pembentukan kalus, berat segar dan berat kering kalus kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji parametrik berupa uji *Kruskal Wallis* karena data tidak berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan (lampiran 2-4). Berdasarkan hasil analisis statistik uji *Mann-Whitney* dengan taraf Asymp.Sig. < 0,05, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada waktu pembentukan kalus, berat segar dan berat kering kalus.

Hasil penelitian yang diperoleh diketahui bahwa perlakuan B yaitu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kombinasi 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP mampu membentuk kalus paling cepat yaitu 8,3 HST dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Selain itu, pada perlakuan B memiliki rata-rata tertinggi pada hasil pengukuran berat segar dan berat kering kalus tanaman iler yaitu sebesar 0,3301 gram dan 0,0535 gram. Sementara itu, perlakuan J menggunakan kombinasi 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP menghasilkan rata-rata berat segar dan berat kering kalus terendah yaitu sebesar 0,1120 gram dan 0,0172 gram. Hasil penelitian yang telah dilakukan diuraikan sebagai berikut:

4.1.1 Waktu Pembentukan Kalus

Waktu pembentukan kalus diperoleh dari pengamatan yang dilakukan setiap hari setelah penanaman eksplan yang dinyatakan dengan HST (Hari Setelah Tanam). Pembentukan kalus pada penelitian ini ditandai dengan melengkungnya eksplan dan pembengkakan eksplan, kemudian munculnya gumpalan berwarna putih pada bagian pelukaan eksplan (bekas irisan) yang kemudian menyebar pada permukaan eksplan (gambar 4.1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Puteri *et al* (2014), bahwa proses induksi kalus diawali dengan melengkungnya eksplan daun yang dilanjutkan dengan munculnya tonjolan-tonjolan berwarna putih pada bagian bekas luka irisan yang akan terus berkembang menjadi kalus. Data hasil rata-rata waktu pembentukan kalus dapat dilihat pada tabel 4.2

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Gambar 4.1 Kalus Tanaman Iler
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020)

Tabel 4.2 Hasil Waktu Pembentukan Kalus dalam HST

Perlakuan	Ulangan	Hari Ke-	Rata-Rata ± Standar Deviasi (HST)	Nilai Uji *Kruskal Wallis*
A	1	10	10,3 ± 0,57	0,002 < 0,05
	2	10		
	3	11		
B	1	8	8,3 ± 0,57	
	2	8		
	3	9		
C	1	10	11,3 ± 1,52	
	2	13		
	3	11		
D	1	15	14,3 ± 0,57	
	2	14		
	3	14		
I	1	13	13,3 ± 0,57	
	2	14		
	3	13		
J	1	16	15,6 ± 0,57	
	2	15		
	3	16		
K	1	14	14,6 ± 0,57	
	2	15		
	3	15		
L	1	13	13,6 ± 0,57	
	2	14		
	3	14		
M	1	0	0 ± 0,00	
	2	0		
	3	0		

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP
0 HST = tidak membentuk kalus

Berdasarkan tabel 4.2, diketahui bahwa rata-rata waktu pembentukan kalus pada perlakuan 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (A)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

yaitu 10,3 HST, perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (B) yaitu 8,3 HST, perlakuan 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP (C) yaitu 11,3 HST, pelakuan 4 ppm IAA + 0,1 ppm IAA (D) yaitu 14,3 HST, perlakuan 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (I) yaitu 13,3 HST, perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (J) yaitu 15,6 HST, perlakuan 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (K) yaitu 14,6 HST, dan perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (L) yaitu 13,6 HST. Sementara itu, pada perlakuan kontrol (M) tanpa pemberian zat pengatur tumbuh tidak terlihat adanya pertumbuhan kalus tanaman iler.

Data yang diperoleh kemudian diuji secara statistik dan diketahui bahwa data waktu pembentukan kalus tidak berdistribusi normal dilihat dari hasil uji normalitas yang memiliki nilai (0,000 < 0,05), sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* karena *p value* kurang dari taraf signifikasi (α=0,05). Hasil uji *Kruskal Wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,002 yang berarti terdapat perbedaan waktu pembentukan kalus tanaman iler karena *p value* < 0,05 (Lampiran 2), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu pembentukan kalus pada beberapa perlakuan yang ditandai dengan nilai Asymp.Sig < 0,05 yang dapat dilihat pada tabel 4.3.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.3 Hasil Uji *Mann-Whitney* Waktu Pembentukan Kalus

Perlakuan	A	B	C	D	I	J	K	L
A		0,043*	0,346	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*
B			0,046*	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*
C				0,046*	0,105	0,046*	0,046*	0,072
D					0,099	0,068	0,456	0,197
I						0,043*	0,068	0,456
J							0,099	0,043*
K								0,099
L								
M	0,034*	0,034*	0,037*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*

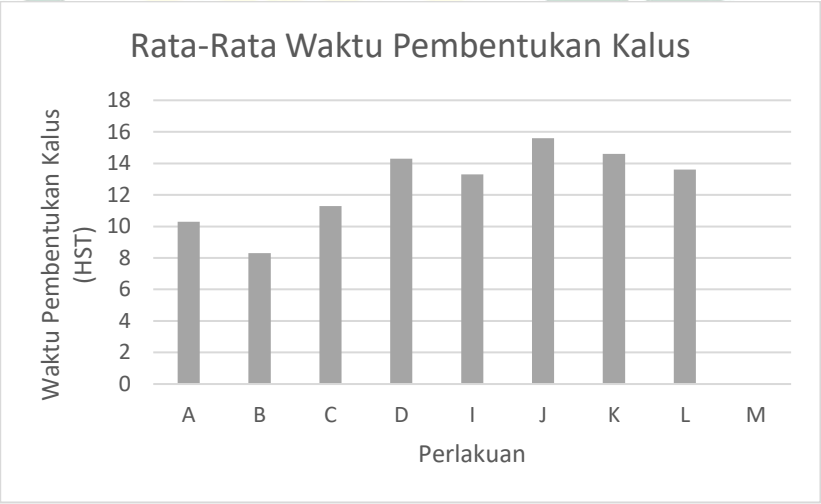
Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP. *= perbedaan signifikan pada uji *Mann-Whitney* (*p value* < 0,05).

Berdasarkan tabel 4.3 diketahui bahwa perlakuan M berbeda signifikan dengan perlakuan A, B, D I, J, K, L (p = 0,034), dan C (p = 0,037), perlakuan A berbeda signifikan dengan perlakuan B, D, I, J, K, dan L (p = 0,043), perlakuan B berbeda signifikan dengan perlakuan C (p = 0,046), D, I, J, K, dan L (p = 0,043), perlakuan C berbeda signifikan dengan perlakuan D, J, dan K (p = 0,046), perlakuan I berbeda signifikan dengan perlakuan J (p = 0,043), dan perlakuan J berbeda signifikan dengan perlakuan L (p = 0,043). Perbedaan yang signifikan pada waktu pembentukan kalus dipengaruhi oleh kecepatan tumbuh kalus setelah penanaman eksplan. Perbedaan tersebut dikarenakan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan berbeda-beda. Leopold (1963) dalam Nurlaeni dan Surya (2015), menjelaskan bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh pada setiap jenis tanaman berbeda-beda. Efektifitas zat pengatur tumbuh pada tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan, karena konsentrasi yang berbeda akan menimbulkan aktivitas yang berbeda pula. Silalahi (2015) menambahkan bahwa jenis zat pengatur tumbuh

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dapat mempengaruhi laju pembentukan kalus.

Zat pengatur tumbuh yang efektif dalam kecepatan pertumbuhan kalus tanaman iler pada penelitian ini yaitu penambahan 4 ppm IAA yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm BAP. Penggunaan auksin yang tinggi dan sitokinin yang rendah dalam penelitian ini mampu memacu pertumbuhan kalus paling cepat yaitu 8,3 HST yang dapat dilihat pada gambar 4.2. Penelitian ini berbanding terbalik dengan penelitian Zuraidassanaaz (2016) yang menggunakan konsentrasi auksin lebih rendah yaitu 0,5 mg/L IAA dan sitokinin lebih tinggi 2,0 mg/L BAP mampu menghasilkan rata-rata tertinggi terhadap waktu induksi kalus yaitu ±8,5 hari. Perbedaan tersebut dikarenakan konsentrasi zat pengatur tumbuh dan jenis tanaman yang digunakan berbeda.



Gambar 4.2 Grafik Rata-Rata Waktu Pembentukan Kalus

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP.

Berdasarkan gambar 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata waktu pembentukan kalus pertama kali pada perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 BAP (B) yaitu 8,3 HST. Sedangkan waktu pembentukan kalus paling lambat

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pada perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP yaitu 15,6 HST. Kecepatanpembentukan kalus dipengaruhi oleh daya kerja zat pengatur tumbuh yang diberikan dan fitohormon yang terdapat pada eksplan. Penambahan zat pengatur tumbuh eksogen akan mengubah gradien fitohormon dalam sel-sel eksplan. Efektivitas dari zat pengatur tumbuh eksogen (auksin) bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Indah dan Ermavitalini, 2013).

Kecepatan pertumbuhan kalus berbeda-beda juga dipengaruhi oleh kemampuan jaringan menyerap zat hara yang tersedia. Kemampuan jaringan menyerap zat hara disebabkan oleh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media. Kombinasi konsentrasi tersebut menyebabkan konsentrasi antara auksin eksogen dan sitokinin endogen yang terkandung dalam eksplan menjadi seimbang. Pemberian konsentrasi yang seimbang antara auksin dan sitokinin dalam kultur in vitro dapat memacu pembentukan kalus melalui interaksi dalam pembesaran dan pembelahan sel (Massa, 2016).

Pertumbuhan kalus paling lama pada penelitian ini yaitu penambahan 4 ppm 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm BAP. Menurut Massa (2016), waktu induksi kalus yang relatif lama dikarenakan ketidakseimbangan konsentrasi 2,4-D dan BAP, sehingga sejak awal pertumbuhan kalus berlangsung lambat. Penelitian ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Lizawati *et* al. (2012) bahwa penambahan 4 ppm 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm BAP mampu memacu terbentuknya kalus pada eksplan daun

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

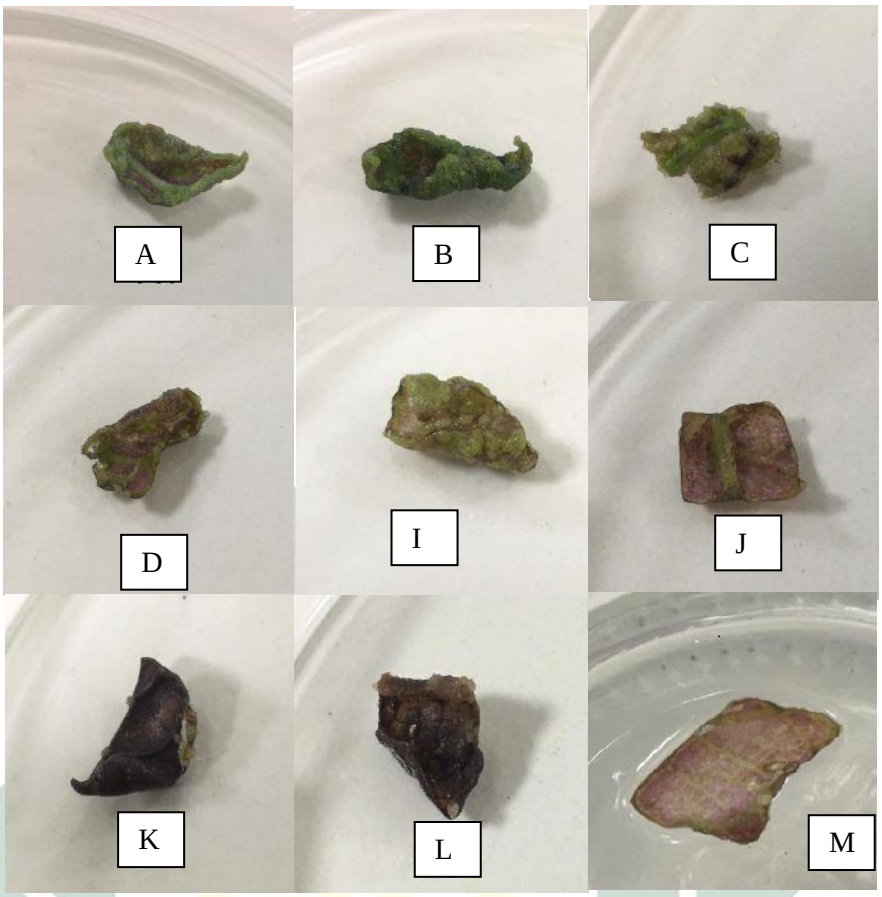
muda durian varietas Selat yang muncul 8 hari setelah tanam. Perbedaanlama waktu eksplan dalam membentuk kalus dipengaruhi oleh komposisi zat pengatur tumbuh dalam media serta kondisi fisiologis dari eksplan yang digunakan (Massa, 2016). Selain itu, penggunaan zat pengatur tumbuh yang berbeda juga berpengaruh terhadap waktu pembentukan kalus. Menurut Lizawati *et al*. (2012), pembentukan kalus sangat dipengaruhi oleh jenis dan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang diberikan dalam media kultur.

Penggunaan zat pengatur tumbuh auksin (IAA) pada penelitian ini lebih efektif dibandingkan dengan zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D). Hal ini dikarenakan zat pengatur tumbuh IAA memiliki sifat kimia yang lebih stabil dan mobilitas dalam tanaman rendah, sehingga penggunannya lebih berhasil (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Selain itu, IAA juga dikenal sebagai zat pengatur tumbuh yang dapat mempercepat pertumbuhan kalus (Zulraufianti dan Paserang, 2019).

4.1.2 Morfologi Kalus

Pada beberapa perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP menujukkan adanya respon yang bervariasi terhadap kalus tanaman iler (*Pletranthus scutellarioides*). Respon yang bervariasi dapat dilihat dari warna kalus yang telah diinkubasi selama 4 minggu (gambar 4.3; tabel 4.4)

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 4.3. Kalus tanaman iler (*P. Scutellarioides*) yang telah berumur 4 minggu.
Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP.
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020)

Tabel 4.4. Hasil Warna dan Tekstur Kalus

Perlakuan	Ulangan	Warna Kalus	Tekstur Kalus
A	1	Putih Kehijauan	Kompak
	2	Putih Kehijauan	Kompak
	3	Putih Kehijauan	Kompak
B	1	Putih Kehijauan	Kompak
	2	Putih Kehijauan	Kompak
	3	Putih Kehijauan	Kompak
C	1	Putih Kehijauan	Kompak
	2	Putih Kecoklatan	Kompak
	3	Putih Kecoklatan	Kompak
D	1	Putih Kehijauan	Kompak
	2	Putih Kehijauan	Kompak
	3	Putih Kehijauan	Kompak
I	1	Putih Kehijauan	Kompak
	2	Putih Kehijauan	Kompak
	3	Putih Kehijauan	Kompak
J	1	Putih	Kompak
	2	Putih Kecoklatan	Kompak

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

	3	Putih Kecoklatan	Kompak
K	1	Coklat	Kompak
	2	Coklat	Kompak
	3	Coklat	Kompak
L	1	Putih Kecoklatan	Kompak
	2	Putih Kecoklatan	Kompak
	3	Putih Kecoklatan	Kompak
M	1	-	-
	2		
	3		

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP

Warna kalus adalah sebuah indikasi adanya respon organogenesis, proliferasi massa sel yang muncul akibat pelukaan. Kalus yang berproliferasi secara terus menerus akan membentuk jaringan dasar yang bersifat meristematik dan berdiferensiasi ke bentuk yang lebih spesifik (Fatmawati *et al.,* 2010). Tabel 4.4 menunjukkan bahwa perlakuan IAA yang dikombinasikan dengan BAP menghasilkan kalus cenderung berwarna putih kehijauan sedangkan kombinasi antara 2,4-D dan BAP menghasilkan warna kalus putih, putih kehijauan, coklat, dan putih kecoklatan.

Warna kalus yang dihasilkan pada penelitian ini berbeda-beda disebabkan karena adanya perubahan pigmentasi. Warna kalus mengindikasikan adanya klorofil dalam jaringan, sehingga semakin hijau warna kalus tersebut, maka semakin banyak pula kandungan klorofilnya (Fatmawati, 2008). Zat pengatur tumbuh IAA yang dikombinasikan dengan BAP lebih efektif dalam penelitian ini dikarenakan warna kalus dari kombinasi tersebut lebih baik yaitu putih kehijauan dibandingkan dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menghasilkan warna kalus cenderung putih kecoklatan. Menurut Wardani *et. al.,* (2004), kalus yang memiliki warna putih menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik, dan warna hijau pada kalus menunjukkan bahwa kalus tersebut mengandung klorofil.

Beberapa warna kalus yang dihasilkan dari kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP mengalami *browning* atau pencoklatan. Browning merupakan perubahan warna eksplan menjadi kecoklatan dan kemudian eksplan tidak dapat berkembang untuk tumbuh kalus. Browning dapat disebabkan karena adanya senyawa fenol dalam jaringan tanaman yang dioksidasi oleh enzim polyfenoloksidase ketika eksplan mengalami pelukaan (Dwiyani, 2015). Pelukaan saat pemotongan eksplan menyebabkan jaringan yang terluka mengalami stres sehingga terjadi pencoklatan (Hendaryono *et al*., 1994). Beberapa kalus pada perlakuan 2,4-D dan BAP tidak mengalami browning. Hal ini dikarenakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan sudah seimbang sehingga kalus dapat tumbuh dengan baik dan masih aktif melakukan metabolisme dalam sel. Menurut Hanifah (2007), penambahan sitokinin yang semakin meningkat cenderung menunjukkan warna kalus hijau, putih (cerah) lebih tahan lama.

Pemberian zat pengatur tumbuh IAA dan BAP pada penelitian ini menghasilkan warna kalus cenderung putih kehijauan. Penelitian yang dilakukan oleh Nisa (2017) yang menggunakan zat pengatur tumbuh IAA dan BAP menghasilkan warna kalus cenderung putih pada tanaman sambung nyawa. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Zuraidassanaaz (2016) menunjukkan bahwa penambahan IAA dan BAP mampu menghasilkan kalus sirih hitam dengan berbagai macam warna seperti putih, putih kehijauan, putih kekuningan dan putih kecoklatan. Sementara itu, pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP menghasilkan warna kalus cenderung putih kecoklatan. Penelitian ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Indah dan Ermavitalini (2013), bahwa penambahan ZPT 2,4-D dan BAP menghasilkan kalus daun nyamplung berwarna kecoklatan pada hampir semua perlakuan.

Penggunaan zat pengatur tumbuh IAA menghasilkan kalus lebih bagus dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D, sehingga tidak terdapat eksplan yang mengalami browning. Pada penggunaan 2,4-D terdapat ekpslan yang mengalami browning, hal tersebut dikarenakan respon 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi yang tidak sesuai akan menyebabkan kemunduran fisiologis eksplan. Andaryani (2010) menyatakan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh pada konsentrasi yang tidak sesuai maka akan berakibat fatal bagi pertumbuhan jaringan. Pemberian zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat.

Selain dilihat dari warna kalus, pertumbuhan kalus juga dapat dilihat dari tekstur kalus. Pada penelitian ini, kalus yang dihasilkan pada kombinasi konsentrasi IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP memiliki tekstur yang sama yaitu bertekstur kompak (tabel 4.1). Kalus yang bertekstur kompak dilihat dari ciri-ciri kalus yang dihasilkan yaitu padat dan keras. Kalus kompak adalah kalus yang tersusun atas sel-sel

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berbentuk nodular dengan struktur padat dan mengandung air yang cukup banyak (Manuhara, 2001). Kalus yang bertekstur kompak adalah efek dari kombinasi auksin dan sitokinin yang mempengaruhi potensial air dalam sel. Hal tersebut menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat sehingga sel menjadi lebih kaku (George, 1993).

Kalus akan menjadi kompak karena sistem transport sitokinin membawa air dan zat hara dari bagian basal ke apeks melalui pembuluh pengangkut dan mempengaruhi potensial osmotik dalam sel. Penambahan sukrosa dalam medium akan mengalir melalui pembuluh floem yang dapat menimbulkan tekanan turgor. Tekanan tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan konsentrasi larutan, sehingga air dan zat hara akan masuk ke dalam sel melalui cara osmosis. Hal tersebut membuat dinding-dinding sel semakin kaku, sehingga kalus tersebut menjadi kompak (Purwaningsih *et al.*, 2007).

Tekstur kalus yang dihasilkan dalam penelitian ini sama yaitu bertekstur kompak, dikarenakan jenis eksplan, umur kalus, komposisi media, dan kondisi pertumbuhannya sama. Mahadi *et al.* (2014) mengatakan bahwa tekstur kalus dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti jenis eksplan, umur kalus, komposisi media, zat pengatur tumbuh yang digunakan, kondisi pertumbuhan seperti cahaya dan suhu, serta waktu pertumbuhan kalus.

Pada penelitian ini, pemberian kombinasi konsentrasi baik IAA dan BAP serta 2,4-D dan BAP menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. Hal ini sebanding dengan penelitian Nisa' (2017) yang menghasilkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kalus daun sambung nyawa (*Gynura procumbes* [Lour]) bertekstur kompak pada perlakuan IAA yang dikombinasikan dengan BAP. Penelitian yang dilakukan oleh Aziz *et al*. (2014) juga mendukung bahwa pemberian kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP mampu menghasilkan kalus umbi iles-iles yang berstektur kompak.

4.1.3 Berat Segar Kalus

Berat segar kalus merupakan salah satu parameter untuk mengetahui adanya pertumbuhan masa sel melalui proses pembelahan dan pembesaran sel (Asmono dan Sari, 2016). Berat segar kalus tanaman iler pada penelitian ini didapatkan dengan menimbang kalus yang telah tumbuh setelah masa inkubasi selama 4 minggu. Data hasil rata-rata beratsegar kalus dapat dilihat pada tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil Berat Segar Kalus

Perlakuan	Ulangan	Berat Segar	Rata-Rata ± Standar Deviasi (gram)
A	1	0.3016	0.2785 ± 0.0202
	2	0.2699	
	3	0.2640	
B	1	0.3838	0.3301 ± 0.0510
	2	0.3244	
	3	0.2821	
C	1	0.1854	0.2258 ± 0.0474
	2	0.2141	
	3	0.2780	
D	1	0.1343	0.1387 ± 0.0047
	2	0.1382	
	3	0.1437	
I	1	0.1436	0.1637 ± 0.0404
	2	0.2103	
	3	0.1372	
J	1	0.1249	0.1120 ± 0.0227
	2	0.1254	
	3	0.0857	
K	1	0.1085	0.1297 ± 0.0236
	2	0.1256	
	3	0.1552	
L	1	0.1413	0.1556 ± 0.0270
	2	0.1387	
	3	0.1868	

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

M	1 2 3	-	-

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP.

Berdasarkan tabel 4.5, dapat dilihat bahwa rata-rata berat segar kalus pada perlakuan 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (A) yaitu sebesar 0,2785 gram, perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (B) yaitu 0,3301 gram, perlakuan 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP (C) yaitu 0,2258 gram, pelakuan 4 ppm IAA + 0,1 ppm IAA (D) yaitu 0,1387 gram, perlakuan 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (I) yaitu 0,1637 gram, perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (J) yaitu 0,1120 gram, perlakuan 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppmBAP (K) yaitu 0,1297 gram, dan perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (L) yaitu 0,1556 gram.

Data berat segar kalus tanaman iler selanjutnya diuji secara statistik dan diketahui bahwa salah satu data berat segar tidak berdistribusi normal yang memiliki nilai (0,021 < 0,05), sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* karena *p value* kurang dari taraf signifikasi (α=0,05). Hasil uji *Kruskal Wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,003 yang berarti terdapat perbedaan berat segar kalus tanaman iler karena *p value* < 0,05 (Lampiran 3), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Mann-Whitney* (tabel 4.6) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan berat segar kalus pada tiap perlakuan karena nilai *Asymp. Sig.* < 0,05.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.6 Hasil Uji *Mann-Whitney* Berat Segar Kalus

Perlakuan	A	B	C	D	I	J	K	L
A		0,127	0,275	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
B			0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
C				0,050	0,127	0,050	0,050	0,127
D					0,513	0,050	0,513	0,275
I						0,050	0,275	0,827
J							0,275	0,050
K								0,275
L								
M	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP. *= perbedaan signifikan pada uji *Mann-Whitney* (*p value* < 0,05).

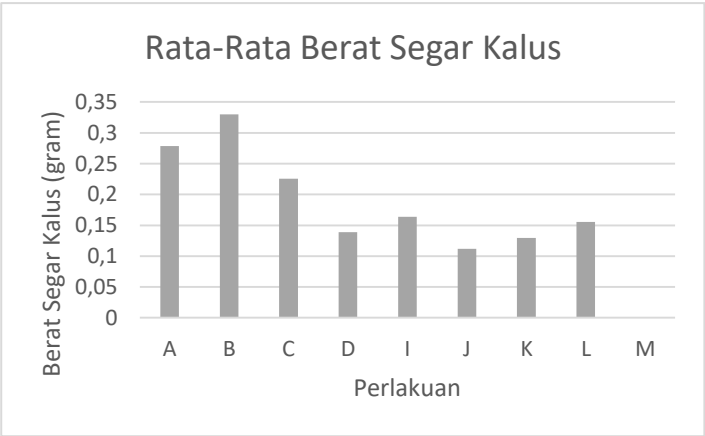
Berdasarkan tabel 4.6 dapat diketahui bahwa berat segar kalus memiliki perbedaan yang signifikan. Perlakuan tanpa pemberian zat pengatur tumbuh (M) memiliki perbedaan dengan perlakuan A, B, C, D, I, J, K, dan L dengan nilai p = 0,037 < 0,05. Perbedaan ini disebabkan oleh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media. Perlakuan tanpa pemberian zat pengatur tumbuh tidak mampu menginduksi kalus dikarenakan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan tidak mampu menginduksi kalus.

Berat segar kalus meningkat dipengaruhi oleh pembesaran sel. Zat pengatur tumbuh auksin menyebabkan pengenduran dinding sel yang mengakibatkan air dapat masuk secara osmosis (Asmono dan Sari, 2016). Auksin dapat mengubah aktivitas enzim yang berperan dalam sintesis komponen-komponen dinding sel dan menyusun kembali dalam satu matriks dinding sel yang utuh sehingga akan berpengaruh terharap berat sel (Abidin, 1990). Auksin juga mendorong terjadinya elongasi sel yang diikuti dengan pembesaran sel dan meningkatnya berat segar. Peningkatan berat segar ini terutama disebabkan karena meningkatnya

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

penyerapan air oleh sel tersebut (Wattimena, 1991). Sementara itu, sitokinin yang ditambahkan berperan untuk memacu pembelahan sel dalam jaringan meristematik. Sitokinin secara langsung berperan dalam proses transkripsi dan translasi RNA dalam proses sintesis protein (Catala *et al*., 2000).

Penambahan zat pengatur tumbuh IAA dan BAP yang paling optimal dalam menghasilkan berat segar tertinggi kalus tanaman iler yaitu pada konsentrasi 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yang dapat dilihat pada gambar 4.4. Hal ini berbeda dengan penelitian Zuraidassanaaz (2016), yang menghasilkan berat segar kalus daun sirih hitam tertinggi pada perlakuan yang diberikan zat pengatur tumbuh auksin lebih rendah (1 mg/L IAA) dibandingkan dengan pemberian sitokinin (1,5 mg/L BAP) yaitu sebesar 0,6596 ± 0,1814 gram. Sedangkan pada penambahan zat pengatur tumbuh 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP menghasilkan berat segar kalus terendah yaitu sebesar 0,1120 gram. Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Andaryani (2010) menghasilkan berat segar kalus jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) tertinggi pada penambahan 0,5 ppm 2,4-D dan 2 ppm BAP yaitu sebesar 2,56 gram.



Gambar 4.4 Grafik Rata-Rata Berat Segar Kalus

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP

Berdasarkan gambar 4.4, dapat dilihat bahwa rata-rata berat segar kalus tertinggi pada perlakuan B yaitu kombinasi antara 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,3301 gram. Sedangkan rata-rata berat segar terendah pada perlakuan J yaitu kombinasi antara 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,1120 gram. Berat segar kalus yang tinggi dapat disebabkan karena memiliki kandungan air yang tinggi. Berat segar yang dihasilkan tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri, dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus (Rahayu *et al.*, 2003).

Perbedaan berat segar yang dihasilkan disebabkan karena jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan juga berbeda-beda. Hal tersebut memengaruhi berat kalus yang dihasilkan karena setiap sel memiliki respon masing-masing terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan. Hal ini selaras dengan pernyataan Lakitan (1996), bahwa setiap sel mempunyai kepekaan tersendiri terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan. Selain itu, waktu setiap sel mengalami pembelahan sel untuk memperbanyak diri juga tidak sama karena siklus selnya akan selalu berbeda. Nurlaeni dan Surya (2015) menambahkan bahwa pengaruh pemberian suatu konsentrasi zat pengatur tumbuh berbeda-beda pada setiap jenis tanaman, bahkan berbeda juga antar varietas dalam suatu spesies. Efektivitas zat pengatur tumbuh pada tanaman dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan, karena konsentrasi yang berbeda akan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menimbulkan aktivitas yang berbeda pula.

Pemberian zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin pada perbandingan yang tepat dapat menginisiasi pembelahan sel dan meningkatkan pertumbuhan sel. Auksin berpengaruh terhadap pertumbuhan jaringan diduga menginduksi sekresi ion H+ keluar melalui dinding sel. Pengasaman dinding sel ini menyebabkan K+ diambil yang dapat mengurangi potensial air dalam sel dan mengakibatkan air mudah masuk ke dalam sel dan kemudian sel akan membesar (Maftuchah dan Joko, 1998). Sitokinin yang ditambahkan berperan dalam pembelahan seldan sintesis protein. Pemacuan pembelahan sel dan sintesis protein oleh sitokinin (BAP) menyebabkan sel berproliferasi yang mengakibatkan bertambahnya berat kalus yang dihasilkan (Wattimena, 1991).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ibrahim *et al*. (2018) mengenai induksi kalus tanaman iler menghasilkan berat segar kalus maksimum pada eksplan kotiledon yaitu sebesar 3,5 gram dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2 ppm NAA + 2,5 ppm BA. Zaer dan Mapes (1982) menyatakan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dapat merangsang pembentukan kalus, tetapi optimalnya harusdengan variasi konsentrasi yang sesuai. Interaksi auksin dan sitokinin akan meningkatkan jumlah dan ukuran sel dalam jaringan. Sitokinin bila berinteraksi dengan auksin dapat merangsang mitosis dalam jaringan meristematik.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

4.1.4 Berat Kering Kalus

Selain dipengaruhi oleh berat segar, pertumbuhan kalus juga dipengaruhi oleh berat kering. Berat kering kalus didapatkan dengan menimbang kalus yang telah dikeringkan dalam oven pada suhu 40ºC hingga tidak ada kandungan air dalam kalus. Pengeringan kalus bertujuan untuk menghentikan aktivitas metabolisme yang ada dalam sampel, hal ini berbeda dengan pengukuran berat segar yang masih dipengaruhi oleh aktivitas metabolisme yang menyebabkan kesulitan dalam pengukuran berat yang konstan (Sitompul dan Guritno, 1995). Data hasil rata-rata berat kering kalus dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Berat Kering Kalus

Perlakuan	Ulangan	Berat Kering	Rata-Rata ± Standar Deviasi (gram)
A	1	0.0384	0.0372 ± 0.0012
	2	0.0359	
	3	0.0375	
B	1	0.0589	0.0535 ± 0.0056
	2	0.0541	
	3	0.0477	
C	1	0.0337	0.0365 ± 0.0049
	2	0.0336	
	3	0.0422	
D	1	0.0271	0.0274 ± 0.0022
	2	0.0298	
	3	0.0254	
I	1	0.0285	0.0301 ± 0.0032
	2	0.0339	
	3	0.0280	
J	1	0.0181	0.0172 ± 0.0031
	2	0.0199	
	3	0.0137	
K	1	0.0142	0.0182 ± 0.0053
	2	0.0163	
	3	0.0243	
L	1	0.0187	0.0223 ± 0.0046
	2	0.0206	
	3	0.0276	
M	1	-	-
	2		
	3		

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP

Berdasarkan tabel 4.7, dapat dilihat bahwa rata-rata berat kering kalus pada perlakuan 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (A) yaitu sebesar 0,0372 gram, perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (B) yaitu 0,0535 gram, perlakuan 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP (C) yaitu 0,0365 gram, pelakuan 4 ppm IAA + 0,1 ppm IAA (D) yaitu 0,0274 gram, perlakuan 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (I) yaitu 0,0301 gram, perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (J) yaitu 0,0172 gram, perlakuan 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (K) yaitu 0,0182 gram, dan perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (L) yaitu 0,0223 gram.

Data berat kering kalus tanaman iler yang dihasilkan diuji secara statistik dan diketahui bahwa salah satu data berat kering tidak berdistribusi normal yang memiliki nilai (0,019 < 0,05) dan (0,008 < 0,05), sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* karena *p value* kurang dari taraf signifikasi (α=0,05). Hasil uji *Kruskal Wallis* memiliki nilai *Asymp. Sig.* sebesar 0,002 (Lampiran 4) yang berarti terdapat perbedaan berat kering kalus tanaman iler karena *p value* < 0,05, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Mann-Whitney* (tabel 4.8) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan berat kering kalus pada tiap perlakuan karena nilai *Asymp. Sig.* > 0,05.

Tabel 4.8 Hasil Uji *Mann-Whitney* Berat Kering Kalus

Perlakuan	A	B	C	D	I	J	K	L
A		0,050	0,513	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
B			0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
C				0,050	0,275	0,050	0,050	0,050

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

D					0,275	0,050	0,050	0,275
I						0,050	0,050	0,050
J							0,827	0,127
K								0,275
L								
M	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*

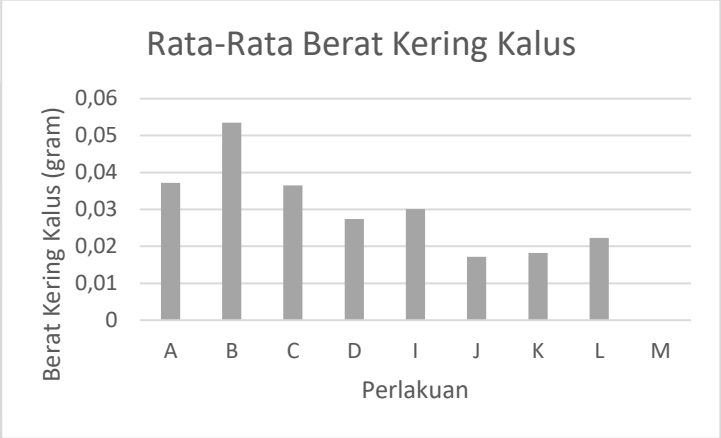
Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP. *= perbedaan signifikan pada uji *Mann-Whitney* (*p value* < 0,05).

Berdasarkan tabel 4.8 dapat diketahui bahwa berat kering kalus memiliki perbedaan yang signifikan. Perlakuan tanpa pemberian zat pengatur tumbuh (M) memiliki perbedaan dengan perlakuan A, B, C, D, I, J, K, dan L dengan nilai p = 0,037 < 0,05. Perbedaan ini dipengaruhi oleh berat kering kalus yang dihasilkan pada kultur kalus tanaman iler. Berat kering kalus dipengaruhi oleh kecepatan sel-sel membelah diri, memperbanyak diri yang dilanjutkan dengan membesarnya sel. Kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media (Setiawati *et al*., 2021). Kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh pemberian kombinasi auksin dan sitokinin dalam konsentrasi tertentu. Selain itu, kecepatan sel membelah diri juga disebabkan oleh jenis tumbuhan dan faktor-faktor lain seperti jenis media, ketersediaan unsur hara makro/mikro, karbohidrat, adanya bahan tambahan lain, serta faktor lainnya seperti cahaya, suhu, dan pH media (Gunawan, 1994).

Penggunaan hormon IAA dan BAP lebih sesuai untuk menghasilkan berat kering kalus yang tinggi. Berat kering kalus tertinggi pada penelitian ini yaitu pada konsentrasi 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yang dapat dilihat pada gambar 4.5. Hal ini didukung oleh penelitian

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Zuraidassanaaz (2016) yang menghasilkan nilai rerata berat kering kalus daun sirih hitam tertinggi pada konsentrasi 0,5 mg/L IAA dan 0,5 mg/L BAP yaitu sebesar 0,0727. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Arofah (2017), yang menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada konsentrasi 1,0 mg/L dan 2,0 mg/L menghasilkan rerata berat kering kalus tertinggi yaitu sebesar 5,92 mg.



Gambar 4.5 Grafik Rata-Rata Berat Kering Kalus

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, M(kontrol)= 0 ppm IAA, 2,4-D + 0 ppm BAP.

Berdasarkan gambar 4.5,dapat dilihat bahwa rata-rata berat kering kalus tertinggi pada perlakuan (B) kombinasi antara 4 ppm IAA dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,0535 gram. Sedangkan rata-rata berat kering terendah pada perlakuan J yaitu kombinasi antara 4 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,0172 gram.

Perbedaan berat kering kalus yang dihasilkan dikarenakan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan juga berbeda-beda. Zat pengatur tumbuh auksin seperti IAA dan 2,4-D berperan dalam pembentangan sel, sedangkan sitokinin berperan dalam merangsang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pembelahan sel (Wareing dan Phillips, 1981). Pemberian auksin dan sitokinin pada konsentrasi seimbang akan menghasilkan pertumbuhan yang optimal terhadap pembentukan kalus (George, 1993). Sedangkan jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin maka akan terbentuk tunas, dan jika konsentrasi auksin lebih tinggi dari sitokinin, maka akan membentuk kalus dan akar (Intias, 2012).

Penambahan zat pengatur tumbuh dalam media diduga dapat mempengaruhi metabolisme RNA yang berperan dalam sintesis protein melalui proses transkripsi molekul RNA. Peningkatan sintesis protein sebagai sumber tenaga dapat digunakan dalam pertumbuhan, sehingga berat kering kalus dapat mengalami peningkatan (Gunawan, 1992). Berat kering dan berat segar kalus pada penelitian ini memiliki korelasi, dimana nilai rerata berat segar kalus yang tinggi menghasilkan nilai rerata berat kering kalus tertinggi pula. Hal ini selaras dengan pernyataan Hardiyanto *et al*. (2004), bahwa antara berat segar dan berat kering kalus merupakan 2 faktor yang berkorelasi positif. Hal ini berarti semakin tinggi berat basah kalus, maka berat kering kalus juga mengalami kenaikan.

4.2 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) Terhadap Kandungan Flavonoid pada Kalus Tanaman Iler (*Pletranthus scutellarioides*)

Salah satu jenis metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman iler yaitu flavonoid. Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik alam yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Flavonoid adalah turunan dari benzo-γ-pyrone yang terdiri dari cincin fenolik dan pyrane (Heim *et al.*, 2002). Salah satu jenis flavonoid yang banyak ditemukan dalam tumbuhan yaitu jenis flavonol. Flavonol sendiri terdiri atas kuersetin, kaemferol, dan mirisetin. Komponen terbanyak dalam suatu tanaman yaitu kuersetin (Koirewoa *et al*., 2012). Kuersetin dapat ditemukan pada berbagai jenis tanaman seperti tanaman iler. Berdasarkan hasil penelitian Lumbessy *et al*. (2013), diketahui bahwa daun iler memiliki kadar kuersetin sebesar 14,246 mg/gram.

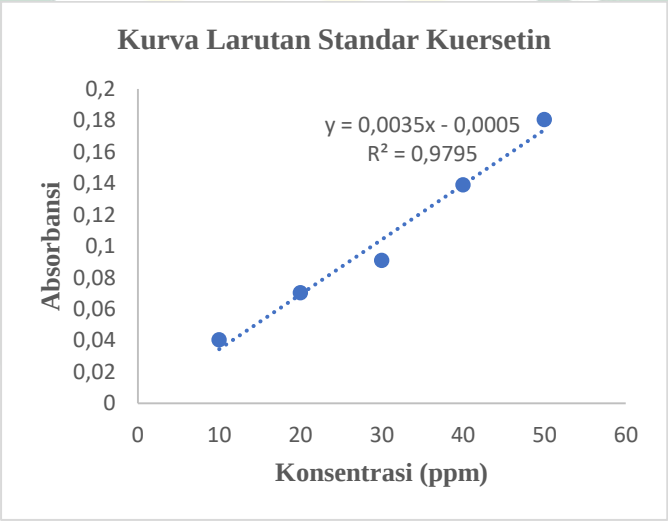
Kandungan flavonoid pada penelitian ini didapatkan dengan mengekstrak kalus tanaman iler yang telah didapatkan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan suatu proses merendam sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur dan kelembaban ruang (Peryoga *et al*., 2015). Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi yaitu pelarut metanol. Maserasidengan metanol karena metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dalam tumbuhan baik dari yang polar hingga non polar (Rahmawati dan Hidajati, 2017). Setelah menggunakan metanol, ekstrak dipartisi menggunakan *n-heksan* yang bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Rahmawati dan Hidajati, 2017). Setelah dipartisi menggunakan *n-heksan*, ekstrak dipartisi menggunakan etil asetat. Hal ini dikarenakan etil asetat merupakan penyari yang dapat menyari senyawa flavonoid dalam konsentrasi yang besar (Stankovic, 2011).

Pengukuran kandungan flavonoid kalus tanaman iler pada penelitian ini

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menujukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Rohyami, 2008). Larutan standar yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larutan standar kuersetin dengan beberapa deret konsentrasi.

Berdasarkan hasil spektrofotometer UV-Vis didapatkan nilai absorbansi larutan standar kuersetin pada masing-masing deret konsentrasi. Dari hasil nilai tersebut dilakukan pembuatan kurva kalibrasi (gambar 4.6). Kurva kalibrasi adalah perbandingan antara konsentrasi dengan nilai absorban. Semakin besar konsentrasinya, maka nilai absorbannya juga semakin besar (Pratiwi *et al*., 2020).



Gambar 4.6 Kurva Larutan Standar Kuersetin pada Panjang Gelombang 514 nm

Berdasarkan gambar 4.6 diketahui bahwa kurva kalibrasi pada panjang gelombang 514 nm memiliki persamaan regresi untuk absorbansi kuersetin pada deret konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm yaitu y = 0,0035x – 0,0005. Konsentrasi senyawa kuersetin pada kalus dapat diketahui melalui persamaan tersebut dengan memasukkan nilai absorbansi sampel pada variabel y,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sehingga didapatkan nilai x yang merupakan jumlah konsentrasi kuersetin dalam ekstrak kalus tanaman iler. Kadar flavonoid total kalus tanaman iler dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Kadar Flavonoid Total Kalus Tanaman Iler

Perlakuan	Kadar Flavonoid Total (mg/gram)
A	18,4
B	16,4
C	15,4
D	23,8
I	32,4
J	33,7
K	13,8
L	17,4

Keterangan: A= 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, B= 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP, C= 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, D= 4 ppm IAA + 0,1 ppm BAP, I= 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, J= 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP, K= 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP, L= 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP

Berdasarkan tabel 4.9, dapat diketahui bahwa kadar flavonoid total kalus tanaman iler pada perlakuan 0,5 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (A) yaitu sebesar 18,4 mg/gr, perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP (B) yaitu 16,4 mg/gr, perlakuan 0,1 ppm IAA + 0,1 ppm BAP (C) yaitu 15,4 mg/gr, pelakuan 4 ppm IAA + 0,1 ppm IAA (D) yaitu 23,8 mg/gr, perlakuan 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (I) yaitu 32,4 mg/gr, perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP (J) yaitu 33,7 mg/gr, perlakuan 0,1 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (K) yaitu 13,8 mg/gr, dan perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,1 ppm BAP (L) yaitu 17,4 mg/gr. Nilai tersebut menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh dalam induksi kalus mampu meningkatkan kandungan flavonoid jika dibandingkan dengan kandungan flavonoid pada daun iler itu sendiri. Hal ini diketahui pada penelitian Lumbessy *et al*. (2013), bahwa daun iler memiliki kadar flavonoid total sebesar 14,246 mg/mL atau 14,246 mg/gram. Menurut Indah dan Emavitalini (2013) pertumbuhan kalus dengan penambahan komposisi auksin dan sitokinin yang optimal baik dari endogen maupun eksogen akan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menghasilkan produksi metabolit sekunder yang tinggi.

Rahayu et al. (2003) menambahkan bahwa auksin berfungsi untuk meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (PAL) yang menghasilkan sinamat dan fenilalanin dalam sintesis flavonoid. Jalur selanjutnya yaitu pembentukan flavonoid dari molanil Co-A, apabila auksin yang diberikan berkurang, maka pembentukan flavonoid juga akan berkurang. Sementara itu sitokinin mampu mengaktifkan proses-proses metabolisme dan sintesis protein. Menurut Wardani et al. (2004), interaksi antara ZPT auksin dan sitokinin dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, dikarenakan zat pengatur tumbuh ini dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tanaman melalui pengaturan kerja enzim. Zat pengatur tumbuh berperan dalam pengikatan membran protein yang berpotensi untuk aktivitas enzim. Hasil pengikatan ini yang akan mengaktifkan enzim dan mengubah substrat menjadi beberapa produk baru. Produk baru ini mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi sekunder salah satunya yaitu pembentukan metabolit sekunder.

Pemberian konsentrasi IAA yang tinggi dan BAP yang lebih rendah menghasilkan kadar flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi IAA lainnya. Sementara itu, pemberian 2,4-D dan BAP yang tinggi juga menghasilkan kadar flavonoid total yang tinggi pula dibandingkan dengan pemberian konsentrasi 2,4-D dan IAA yang lainnya, sehingga pemberian konsentrasi 2,4-D yang tinggi lebih optimal dalam menghasilkan kadar flavonoid total kalus tanaman iler pada penelitian ini. Kadar flavonoid total tertinggi pada penelitian ini yaitu pada perlakuan yang diberikan konsentrasi auksin lebih tinggi yaitu sebesar 33,7 mg/gram dan kadar flavonoid total

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

terendah pada pemberian konsentrasi auksin yang rendah yaitu sebesar 13,8 mg/gram. Penelitian ini sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Wijaya (2012), bahwa kadar flavonoid total tertinggi pada kalus eksplan daun krisan dengan penambahan 4 ppm 2,4-D yaitu sebesar 70,9 mg/gram. Penggunaan ZPT 2,4-D dan BAP dalam induksi kalus dan analisis kandungan flavonoid juga dilakukan oleh Sugiyarto dan Kuswandi (2014) yang menghasilkan kadar flavonoid total dari sampel kalus eksplan daun binahong bertekstur kompak yaitu sebesar 0,019 mg/gram. Penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus, serta dapat meningkatkan senyawa flavonoid (Rahayu *et al*., 2003).

Selain dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh, kadar flavonoid total juga dipengaruhi oleh tekstur kalus yang dihasilkan. Dalam penelitian ini menghasilkan kalus yang bertekstur kompak pada semua perlakuan. Kalus yang bertekstur kompak menghasilkan metabolit sekunder yang tinggi. Hal ini selaras dengan pernyataan Manuhara (2001) bahwa kalus yang memiliki tekstur kompak dan intermediet akan menghasilkan kandungan metabolit sekunder yang tinggi dibandingkan dengan kalus yang memiliki tekstur remah. Kalus yang bertekstur kompak masih dalam fase stasioner sehingga kalus mengalami penghambatan pertumbuhan. Sedangkan kalus yang bertekstur remah memiliki masa pembelahan sel lebih cepat sehingga produksi metabolit sekundernya menurun.

Pada penelitian ini, zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang digunakan memiliki konsentrasi yang berbeda-beda dan menghasilkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pertumbuhan kalus yang berbeda-beda pula. Sebagaimana Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan ukuran tertentu yang terdapat dalam Q.S. Al-Qamar ayat 49 yang berbunyi:

اِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَهُ بِقَدَرٍ (49)

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

Dalam kitab tafsir Jalalain, kalimat خلقنه بقدر "Kami menciptakannya menurut ukuran", yang dimaksud dalam kalimat tersebut yaitu sesuai dengan taqdir (As-Suyuthi, 2010). Menurut Al-Sheikh (1994) dalam kitab tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Dia (Allah SWT) menetapkan suatu ukuran dan memberikan petunjuk terhadap semua makhluk hidup kepada ketetapan tersebut. Selain itu, kata قدر memiliki makna ketentuan, dari segi bahasa kata tersebut memiliki makna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat di atas menjelaskan bahwa segala sesuatu termasuk ketentuan dan system yang ditetapkan adalah kekuasaan dari Allah SWT dan tidak hanya terbatas pada salah satu aspek saja. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk memberi potensi yang sesuai dengan kadar yang cukup yang bertujuan untuk mempertahankan satu keseimbangan (Shihab, 2003).

Berdasarkan ayat di atas, sama halnya dalam penelitian ini bahwa konsentrasi yang efektif dalam pertumbuhan kalus tanaman iler yaitu pada konsentrasi 4 ppm IAA yang dikombinasikan dengan 0,5 ppm BAP menghasilkan laju pertumbuhan paling cepat dan menghasilkan berat segar dan berat kering tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Hal ini membuktikan bahwa kekuasaan Allah SWT sangat luar biasa. Tanaman iler mampu tumbuh dalam lingkungan yang berbeda dengan habitat aslinya yaitu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

melalui kultur jaringan. Eksplan dari tanaman iler mampu tumbuh membentuk kalus pada media yang tepat dengan tambahan zat pengatur tumbuh sesuai dengan kadar yang ditentukan, serta menghasilkan kandungan flavonoid tinggi yang memiliki banyak manfaatnya. Dari hal ini kita sebagai manusia dapat mengambil pelajaran bahwa segala sesuatu di dunia ini berjalan sesuai dengan kehendakNya dan kekuasanNya.

Hasil uji kandungan flavonoid menunjukkan bahwa kalus tanaman iler menghasilkan kadar flavonoid tertinggi sebesar 33,7 mg/gram. Flavonoid sendiri memiliki beberapa manfaat diantaranya untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Hadits riwayat Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah bahwa Nabi Muhammad SAW. bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ, فَإِذَا أُصِيْبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: *"Setiap penyakit ada obatnya. Maka bila obat itu mengenai penyakitnya akan sembuh dengan seizin Allah Azza wa Jalla"* (H.R. Muslim).

Berdasarkan hadist diatas menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan suatu penyakit kepada makhlukNya dan juga menciptakan obat bagi penyakit tersebut. Allah SWT. juga telah memberikan rasa sakit kepada manusia dan juga memberikan kesembuhan bagi orang yang sakit atas kehendakNya. Salah satu obat yang dapat menyembuhkan penyakit yaitu berasal dari tanaman yang dicipitakanNya. Manusia dapat memanfaatkan tanaman tersebut sebagai obat, sebagaimana dalam penelitian ini menggunakan tanaman iler yang memiliki berbagai manfaat untuk dijadikan sebagai obat tradisional seperti obat wasir, peluruh haid, penambah nafsu makan, serta dapat dijadikan sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Pakadang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

et al., 2015). Sungguh Allah SWT. menunjukkan bahwa kebesaran dan kekuasaan-Nya dalam menciptakan dan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang baik.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) memiliki pengaruh yang signifikan pada variabel waktu pembentukan kalus. Warna kalus yang dihasilkan bervariasi yaitu putih, putih kehijauan, putih kecoklatan, dan coklat. Pada semua perlakuan menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan terhadap berat segar dan berat kering kalus, dimana nilai rata-rata berat segar dan berat kering kalus tertinggi terdapat pada perlakuan 4 ppm IAA + 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 0,3301 gram dan 0,0535 gram.
2. Kombinasi zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan 2,4-D) dan sitokinin (BAP) berpengaruh terhadap kadar flavonoid total ekstrak kalus tanaman iler, dimana kadar flavonoid total tertinggi pada perlakuan 4 ppm 2,4-D + 0,5 ppm BAP yaitu sebesar 33,7 mg/gram.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin terhadap induksi kalus dan kandungan flavonoid kalus tanaman iler dengan menggunakan konsentrasi atau jenis zat pengatur tumbuh yang berbeda. Selain itu, diperlukan analisis mengenai pengaruh zat pengatur tumbuh dalam meningkatkan senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan standar senyawa dan metode uji yang berbeda pada kalus tanaman iler.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Abidin, Z. 1990. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Penerbit Angkasa, Bandung.

Al-Jaziri, S. A. B. 2007. *Aisar At Tafaasir Li Al-Kalaami Al-Aliyyi Al-Kabir*. Terjemahan Nafi Zainuddin dan Suratman. Darus Sunah, Jakarta.

Al-Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Pustaka Azzam, Jakarta Selatan.

Al-Sheikh, A. B. M. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Mu'assasah Daar Al-Hilal, Kairo.

Al-Snafi, A. E. 2014. The Pharmacology of *Apium graveolens*. A review. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars* 3(1-1): 671-677.

Alwi, H. 2017. Validasi Metode Analisis Flavonoid dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) Secara Spektrofotometri UV-VIS. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.

Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Angraeni, S. P. 2018. Induksi Kalus *Agave sisalana* dengan Menggunakan Kinetin dan 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.

Arofah, J. 2017. Induksi Kalus *Piper retrofactum* Vahl. Dengan Pemberian Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid* dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP). *Thesis*. Universitas Airlangga, Surabaya.

Asmono, S. L. Dan V. K. Sari. 2016. Induksi Kalus dari Beberapa Kultivar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Dataran Medium secara *In Vitro* Menggunakan Variasi Konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Ilmiah Inovasi* 1(2): 116-121.

As-Suyuthi, J. 2010. *Tafsir Jalalain. Terjemahan Bahrun Abu Bakar*. Sinar Baru Algensindo, Jakarta.

Aziz, M. S., E. Ratnasari, dan Y. S. Rahayu. 2014. Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara *In Vitro*. *Lentera Bio* 3(2): 109-114.

Azizah, D. N. Dan Farmayuda, F. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 2(2): 33-37.

Backer, C. A., and Brink, R. C. B. 1962. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. Wolters Noordhoff NVP, The Netherlands.

Baday, S. J. S. 2018. Plant Tissue Culture. *International Journal of Agriculture and Enviromental Research* 4(4): 977-990.

Baldi, A., and Dixit, V. K. 2008. Enhanced Artemisinin Production by CellCultures of *Artemisia annua*. *Current Trends in Biology and Pharmacy* 2(2): 341-348.

Baihaqi, H. 2017. Pengaruh Teknik Penyemaian dan Konsentrasi Benzyl-Adenin (BA) pada Pertumbuhan Bibit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Asal Biji. *Skripsi*. Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Basri, A. H. H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia* 10(1): 64-73.

Bekti, R., Solichatun, dan E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1(1): 1-6.

Bustami, M. U. 2011. Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah. *Media Litbang Sulteng* IV(2): 137-141.

Catala, C., J. K. C. Rose, and A. B. Bennet. 2000. Auxin-Regulated Genes Encoding Cell Wall-Modifying Proteins are Expressed during Early Toato Fruit Growth. *Plant Physiology* 122(2): 527-534.

Cook, N. C., and Samman, S. 1996. Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotectiv Effect, and Dietary Sources. *Journal of Nutritional Biochemistry* 7: 66-76.

David, E. B., and Chariton, J. L. 2014. A Non Enzymatic Synthesis of RosmarinicAcid and A Study of A Biomimetic Route to Rabdosiin. *Canada Journal Chemistry* 75: 1783-1794.

Di, D. W., C. Zhang, P. Luo, C. W. An, and G. Q. Guo. 2016. The Biosynthesis ofAuxin. *Plant Growth Regultion* 78: 275-285.

Doloksaribu, R. 2009. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tementosa* W.Ait.). *Skripsi*. UniversitasSumatera Utara, Medan.

Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawasari, Denpasar Barat.

Evans D.A., Sharp W.R. and Flick C.E. 1981. *Growth and Behavior of Cell Cultures: Embryogenesis and Organogenesis*. Academic Press, New York.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Fatmawati, A. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Tanaman *Artemisia annua* L. Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Negeri Surakarta, Surakarta.

Fatmawati, T. A., T. Nurhidayati, dan N. Jadid. 2010. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotina tabacum* L. VAR. Prancak 95. *Jurnal Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam*.

Fauzy, E., Mansyur, dan A. Husni. 2016. Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna, dan Berat Kalus Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma pada Dosis LD50 (In Vitro). *Students e-Journal* 5(4): 1-22.

Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

George, E. F. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition*. Exegetics Limited, England.

George, E. F., and Sherington, P. D. 1994. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited, England.

George, E. F., M. A. Hall, and G. J. D. Klerk. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects,and Support Systems. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*: 115-173.

Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi IPB, Bogor.

Hambali, M., F. Mayasari, dan F. Noermansyah. 2014. Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar dengan Varian Konsentrasi Solven dan Lama Waktu Ekstraksi. *Teknik Kimia* 20(2): 25-35.

Hardiyanto, A., Solichatun, dan W. Mudyantini. 2004. Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Naftalen Asetat Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Flavonoid Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.]. *Biofarmasi* 2(2): 69-74.

Haris, M. 2011. Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (Lour) DC) dengan Spektrofotometer UV-Visibel. *Skripsi*. Universitas Andalas, Padang.

Heim, K. E., A. R. Tagliaferro, and D. J. Bobilya. 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572-584.

Hendaryano, D. P. S., dan Wijayani, A. 1994. *Kultur Jaringan (Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Media).* Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Jilid III* diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan, Yayasan Sarana Utama Jaya,Jakarta.

Ibrahim, M. M., N. M. Arafa, and U. I. Aly. 2018. Antioxidant Activity, Phenol and

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Flavonoid Contents of Plant and Callus Culture of *Plectranthus barbatus* andrews. *Egyptian Pharmaceutical Journal* 17(1): 32-39.

Indah, P. N., dan Ermavitalini, D. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophylllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi *6-Benzylaminopurine* (BAP) dan *2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4- D). *Jurnal Sains dan Semi Pomits* 2(1): 1-6.

Indrayanto, G. 1986. Prospek Kultur Jaringan Tanaman pada Bidang Farmasi. *Bulletin ISFI Jawa Timur* 17(1): 12-17.

Intias, S. 2012. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) Secara *In-Vitro*. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Junairiah, J., N. S. Amalia, Y. S. W. Manuhara, N. Ni'matuzzahroh, dan L.Sulistyorini. 2019. Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh IAA, BAP, Kinetin Terhadap Metabolit Sekunder Kalus Sirih Hitam (*Piper betle* L. Var Nigra). *Jurnal Kimia Riset* 4(2): 121-132.

Khuril'ain, W. 2017. Pengaruh *Indole Acetic Acit* (IAA) Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipida *Nannochloropsis oculata*. *Skripsi*. UIN Sunan Gunung Djati, Bandung.

Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan W. I. Wiyono. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon* 1(1): 47-52.

Kubinova, R., M. Gazdova, Z. Hanakova, S. Jurkaninova, S. Dall'Acqua, J. Cvacka, and O. Humpa. 2018. New Diterpenoid Glucoside and Flavonoids from *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.. *South African Journal of Botany* 120: 1-5.

Kurniasasari, I. 2006. Metode Cepat Penentuan Flavonoid Total Meniran (*Phyllantus niruri* L.) Berbasis Teknik Spektrofotometri Inframerah dan Kemometrik. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Kusuma, A. T., A. Adelah, Z. Abidin, dan A. Najib. 2018. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). *Ad- Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences* 1(1): 25-31.

Kusumawati, E., Y. P. Sari, dan T. Purnaningsih. 2015. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Inisiasi Tunas Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Budidaya Tanaman Perkebunan* 1(1): 8-17.

Lawalata, I. J. 2011. Pemberian Beberapa Kombinasi ZPT terhadap Regenerasi Tanaman Gloxinia (*Siningia speciosa*) dari Eksplan Batang dan Daun secara In Vitro. *Journal of Experimental Life Science* 1(2): 83-87.

Lenny, S., dan Marpaung, L. 2016. Senyawa Isoflavonoid dari Daun *ColeusAtropurpureus* Benth. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*, Sumatera Utara.

Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. *Bioplantae* 1(2): 75-87.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Lizawati, Neliyati, dan R. Desfira. 2012. Induksi Kalus Eksplan Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat Jambi) pada Beberapa Kombinasi 2,4-D dan BAP. *Indonesian Journal of Agronomy* 1(1): 19-25.

Lomax, T. L., G. K. Muday, and P. H. Rubery. 1995. Auxin Transport. *Plant Hormones*: 509-530.

Lumbessy, M., J. Abidjulu, dan J. J. E. Paendong. 2013. Uji Total Flavonoid pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2(1): 50-55.

Maftuchah, A. H. K., dan Joko, B. S. 1998. Induksi Kalus Artemisia (*Artemisia vulgaris* L.) Melalui Kultur *In Vitro*. *Tropika* 6(2): 135-141.

Mahadi, I., S. Wulandari, dan A. Omar. 2014. Pembentukan Kalus Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) pada Pemberian *Naftalen Acetyl Acid* (NAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP) sebagai Sumber Belajar Konsep Bioteknologi. *Jurnal Biogenesis* 11(1): 1-6.

Mahmuda, A. 2018. Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Terhadap Induksi Kalus dan Profi Metabolit Sekunder Kultur Kalus Sirih Hitam (*Piper betle* L. var. Nigra). *Skripsi.* Universitas Airlangga, Surabaya.

Manthell, S. H., and Smith. 1983. *Cultural Factor that Influence Secondary Metabolites Accumulation in Plant Cell & Tissue Culture. In : Plant Biotechnology.* Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Manuhara, Y. S. W. 2001. Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L.var Morakot) Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA Universitas Airlangga* 6(2): 127-130.

Massa, G. N. O. 2016. Pengaruh Variasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan *Benzyl Adenine* (BA) Terhadap Induksi dan Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Kalus Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.). *Skripsi.* Universitas Airlangga, Surabaya.

Maya, F. D. 2019. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP) Terhadap Induksi Kalus dan Profil Metabolit Sekunder Kultur Kalus Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.). *Skripsi.* Universitas Airlangga, Surabaya.

Mertens, R., J. Eberle, A. Arnscheidt, A. Ledebur, and E. W. Weiler. 1985.Monoclonal Antibodies to Plant Growth Regulators. II. Indole-3-acetic acid. *Planta* 166(3): 389-393.

Moektiwardoyo, M., J. Levita, S. P. Sidiq, K. Ahmad, R. Mustarichie, A. Subarnas, dan Supriyatna. 2011. The Determination of Quercetin in *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. Leaves Extract and its *In Silico* Study on Histamine H4 Receptor. *Majalah Farmasi Indonesia* 22(3): 191-196.

Moelyono, M. W., A. U. H. Rochjana, A. Diantini, I. Musfiroh, S. A. Sumiwi, Y. Iskandar,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dan Y. Susilawati. 2016. Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. *Jurnal Farmasi Indonesia* 8(1):271-276.

Mulja, M. 1990. *Aplikasi Spektrofotometer UV-VIS*. Mecphiso, Surabaya.

Mustarichie, R., M. Moektiwardojo, and W. A. Dewi. 2017. Isolation, Identification, and Characteristic of Essential Oil of Iler (*Plectranthus scutellarioides* L.) R.Br Leaves. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9(11): 2218-2223.

Mutiatikum, D., S. Alegantina, dan Y. Astuti. 2010. Standarisasi Simplisia dari Buah Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L) R.Btrz) yang Berasal dari Tiga Tempat Tumbuh Menado, Kupan, dan Papua. *Buletin Penelitian Kesehatan* 38(1): 1-16.

Nisa', Y. C. 2017. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA, Kinetin, dan BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* [Lour] Merr). *Skripsi*. Universitas Airlangga, Surabaya.

Nurlaeni, Y., dan Surya, M. I. 2015. Respon Stek Pucuk *Camelia japonica* Terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Organik. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversifikasi Indonesia* 1(5): 1211-1215.

Nurokhman, A., N. A. Tahani, H. Faizah, E. S. W. Utami, dan Y. S. W. Manuhara. 2018. Influence of Combination of Sucrose Concentration andImmersion Frequency on Biomass and Flavonoid Production of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr Callus Culture in Temporary Immersion Bioreactor. *Scholars Academic Journal of Biosciences* 6(12): 748-754.

Pakadang, S. E., C. U. Wahjuni, H. B. Notobroto, D. Winarni, R. Dwiyanti, Yadi, M. Sabir, and M. Hatta. 2015. Immunomodulator Potential of Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) in Prevention of Tuberculosis Infection. *American Journal of Microbiological Research* 3(4): 129-134.

Park, W. K., Y. Gursong, M. Myounghoon, W. K. Chul, E. C. Yoon, and Y. Ji- Won. 2013. Phytohormone Supplementation Significantly Increases Growth of *Chlamydomonas reinhardtii* Cultived for BiodieselProduction. *Appl Biochem Biotechnol* 171(5): 1128-1142.

Parmana, D. 2015. Pengaruh Konsentrasi Hormon 2,4-D (2,4- *Dichlorophenoxyacetic acid*) Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotina tabacum* L.) Melalui Kultur *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Jember, Jember.

Peryoga, L. W., Retnowati, dan B. Siswojo. 2015. Pengendalian Suhu Kelembaban Ruang Ekstraksi Metode Maserasi Minyak Atsiri MelatiKontroler PID Berbasis Arduino Mega. *Jurnal Mahasiswa TEUB* 3(1): 1-6.

Pratiwi, A., A. F. Manurung, dan J. Sumitra. 2020. Penetapan Kadar Vitamin C pada Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible Tahun 2018. *Jurnal Farmasimed* 2(2): 56-62.

Purnamaningsih, R., dan Ashrina, M. 2011. Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi* 10(4): 481-489.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Purwaningsih, W., R. Kusdianti, dan Y. Linda. 2007. Anatomi Kalus yang Berasal dari Eksplan Daun *Catharanthus roseous* (L). G. Don (Tapak Dara). *Jurnal Seminar Nasional Bioteknologi*.

Puteri, R. F., E. Ratnasari, dan Isnawati. 2014. Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) Terhadap Induksi Kalus Daun Sirsak (*Annona muricata*) Secara *In Vitro. Lentera Bio* 3(3): 154-159.

Qalbi, A. N., J. Djangi, dan Muhaedah. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Klorofom Daun Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth). *Jurnal Chemica* 18(1): 48-55.

Ragasa, Y., A. Vilma, F. Templora, and J. A. Rideout. 2001. Diastereomeric Diterpenes from *Coleus blumei*. *Bulletin Pharmacy Chemistry* 49(7):927-929.

Rahayu, B., Solichatun, dan E. Anggarwulan. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1(1): 1-6.

Rahmawati, M., dan Hidajati, N. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *UNESA Journal of Chemistry* 6(2): 113-118.

Rao, R. 2002. Biotechnological Production of Phytopharmaceuticals. *J. Biochem. Mol. Bio. Biophys* 4: 73-102.

Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* 9(2): 196-202.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press, Bandung.

Rohyami, Y. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl). *Jurnal Logika* 5(1): 2-16.

Salisbury, F. B., dan Ross, C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid III*. Penerjemah:Kisman S., dan Ibrahim, S. ITB Press, Bandung.

Santoso, U., dan Nursandi, F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM Press,Malang.

Setiawati, T., A. L. Astuti, M. Nurzaman, dan N. Ratningsih. 2021. Analisis Pertumbuhan dan Kandungan Total Flavonoid Kultur Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Pemberian Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Air Kelapa. *Jurnal Pro-Life: Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun* 8(1): 32-34.

Shihab, M. Q. 2003. *Tafsir Al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume 7*. Lentera Hati, Jakarta.

Silalahi, M. 2015. Pengaruh Modifikasi Media Murashige-Skoog (MS) dan Zat Pengatur

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tumbuh BAP terhadap Pertumbuhan Kalus *Centella asiatica* L.(Urban,). *Jurnal Pro Life* 2(1): 14-23.

Silva, J. A. T. 2012. Is BA (6-Benzyladenine) BAP (6-Benzylaminopurine)?. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology* 20(4): 121-124.

Siregar, C. 2006. Penggunaan 2,4-D untuk Inisiasi Kalus Jaringan Nucellus *Mangifera odorata* Griff. Melalui Budidaya Jaringan. *Jurnal Floratek* 2(2): 69-77.

Sitompul, S. M., dan Guritno, B. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman.* Gadjah Mada Unersity Press, Yogyakarta.

Slimestad, R., K. Torskangerpoll, H. S. Nateland, T. Johannessen, and N. H. Giske. 2005. Flavonoid from Black Chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(1): 61-68.

Sorentina, M. S. M., Haliani, Muslimin, dan I. N. Suwastika. 2013. Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu pada Medium MS dengan Penambahan 2,4-D (2,4-Asam Dikloropenoksi Asetat) dan Air Kelapa. *Online Jurnal of Natural Science* 2(2): 55-63.

Stankovic, M. 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extract. *Krajuevac Journal Science*: 63-72.

Sudrajad, H., dan Suryanto. 2011. Pengaruh Penambahan Sitokinin pada Senyawa Flavonoid Kalus (*Echinacea purpurea* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi danFarmasi Klinik*: 102-107.

Sugiyarto, L. Dan Kuswandi, P. C. 2014. Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzyl Aminopurin (BAP) Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta Analisis Kandungan Flavonoid Total. *Jurnal Saintek*:1-5.

Suheb, N. A. 2018. Induksi Kalus *Agave sisalana* pada Media MS dengan Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurin (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Skripsi.* Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.

Suprapto, A. 2004. Auksin: Zat Pengatur Tumbuh Penting Meningkatkan Mutu Stek Tanaman. *Jurnal Penelitian Inovasi* 21(1): 81-90.

Surtinah, 2017. Potensi Hasil Jagung Manis (*Zea mays saccharata*, Strut) dengan Pemberian Paket Teknologi Pupuk dan Zat Pengatur Tumbuh. *Jurnal Bibiet* 2(1): 37-44.

Trivedi, M. K., A. Branton, D. Trivedi, G. Nayak, K. Bairwa, and S. Jana. 2015. Physical, Thermal, and Spectroscopic Characterization of Biofield Energy Treated Murashige and Skoog Plant Cell Culture Media. *Cell Biology* 3(4): 50-57.

Tungmunnithum, D., L. Garros, S. Drouet, S. Renouard, E. Laine, and C. Hano. 2019. Green Ultrasound Assited Extraction of *trans* Rosmarinic Acid from *Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br. Leaves. *Plants* 8(3): 1-15.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Utomo, B. 2015. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan Kinetin Terhadap Pembentukan dan Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.). *Skripsi*. Universitas Airlangga, Surabaya.

Vikayanti. 2015. *Khasiat Iler* (*Coleus scutellarioides* Linn. Benth) *sebagai Pestisida Nabati*. Fungsional POPT BBPPTP, Surabaya.

Wardani, D. P., Solichatun, dan A. D. Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi* 2(1): 35-43.

Wareing, P. F., and Phillips, I. D. J. 1981. *Growth and Differentiation in Plants (3rd edn)*. Pergamon Press, Oxford.

Waryastuti, D. E., L. Setyobudi, dan T. Wardiyati. 2017. Pengaruh Tingkat Konsentrasi 2,4-D dan BAP pada Media MS Terhadap Induksi Kalus Embriogenik Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman* 5(1): 140-149.

Wattimena, G. A. 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman.* Pusat Antar Universitas,ITB Bogor.

Wattimena, G. A. 2006. Kecenderungan Marginalisasi Peran Kultur Jaringan dalam Pemuliaan Tanaman. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman*, Bogor.

Wijaya, M. I. 2012. Penentuan Jenis Eksplan dan Konsentrasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat pada Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) cv. Puspita Pelangi Sebagai Sumber Flavonoid. *Skripsi*. Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.

Woodward, A. W., and Bartel, B. 2005. Auxin: Regulation, Action, and Interaction. *Annals of Botany* 95(5): 707-735.

Wulandari, S., W. Syafii, dan Yossilia. 2004. Respon Eksplan Daun Tanaman Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Secara In Vitro Akibat Pemberian NAA dan BA. *Jurnal Biogenesis* 1(1): 21-25.

Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Lily Publisher, Yogyakarta.

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien.* Agromedia Pustaka, Jakarta.

Zaerr, J. B., and Mapes, M. O. 1982. Action of Growth Regulators. *Tissue Culture in Foresty*: 231-255.

Zulraufianti, L., dan Paserang, A. P. 2019. Induksi Kalus Kentang Asal Desa Dombu (*Solanum tuberosum* L.) dengan ZPT Indole-3-Acetic Acid (IAA). *Journal of Science and Technology* 8(2): 153-158.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Zuraidassanaaz, N. I. 2016. Induksi Kalus Eksplan Daun Sirih Hitam (*Piper betle* L.) dengan Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh *Indole-3-AceticAcid* (IAA) dan *Benzyl Amino Purin* (BAP). *Skripsi.* Universitas Airlangga, Surabaya.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id