

**PENGARUH ELISITOR KITOSAN DAN NATRIUM KLORIDA (NaCl)
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR SENYAWA FENOLIK
TOTAL TANAMAN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MELALUI
STEK BATANG**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh :
RENA ROSDIANA
H91218053**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN SAINS
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2023**

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN
PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Rena Rosdiana

NIM : H91218053

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2018

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul **"PENGARUH ELISITOR KITOSAN DAN NATRIUM KLORIDA (NaCl) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR SENYAWA FENOLIK TOTAL TANAMAN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MELALUI STEK BATANG"**. 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, 10 Januari 2023

Yang menyatakan,


Rena Rosdiana
NIM H91218053

HALAMAN PERSETUJUAN

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

**PENGARUH ELISITOR KITOSAN DAN NATRIUM KLORIDA (NaCl)
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR SENYAWA FENOLIK
TOTAL TANAMAN SAMBUNG NYAWA (*GYNURA PROCUMBENS*)
MELALUI STEK BATANG**

Diajukan oleh :

Rena Rosdiana

H91218053

Telah diperiksa dan disetujui

Di Surabaya, 10 Januari 2023

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



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

HALAMAN PENGESAHAN

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Rena Rosdiana telah dipertahankan di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 11 Januari 2023

Mengesahkan,
Dewan penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si.
NIP. 198908302014032008

Penguji II



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

Penguji III



Dr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL.
NIP. 198604242014031003

Penguji IV



Esti Novi Andyarini, M.Kes.
NIP. 198411172014032003

Mengetahui,

Dean Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Jember
Surabaya



Maepul Hamdani, M. Pd.
NIP. 196507312000031002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpustakaan@uinsbv.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 : Rena Rosdiana
NIM : H91218053
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
E-mail address : rosdianarena88@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 ELISITOR KITOSAN DAN NATRIUM KLORIDA (NaCl) TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN KADAR SENYAWA FENOLIK TOTAL TANAMAN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MELALUI STEK BATANG**

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif 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, 25 Januari 2023

Penulis

(Rena Rosdiana)

ABSTRAK

PENGARUH ELISITOR KITOSAN DAN NATRIUM KLORIDA (NaCl) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR SENYAWA FENOLIK TOTAL TANAMAN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MELALUI STEK BATANG

Salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia yaitu tanaman sambung nyawa. Potensi tanaman sambung nyawa sebagai obat menyebabkan permintaan pasoknya di pasaran semakin meningkat. Penggunaan metode stek batang menjadi salah satu perbanyakan terbaik untuk mendapatkan tanaman sambung nyawa dengan jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat. Selain upaya dalam penyediaan pasokan, kadar kandungan senyawa dalam sambung nyawa juga perlu mendapat perhatian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi konsentrasi elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) terhadap pertumbuhan dan kadar senyawa fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) melalui stek batang. Penelitian ini menggunakan metode experimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perlakuan dalam penelitian ini yaitu perlakuan elisitor biotik kitosan, elisitor abiotik NaCl, dan kombinasi (kitosan dan NaCl) dengan masing-masing 3 variasi konsentrasi. Data hasil penelitian mencakup pertumbuhan dan kadar fenolik total yang dianalisis dengan uji statistik melalui aplikasi SPSS 16.0. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui variasi konsentrasi dari kitosan, NaCl, dan kombinasi berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kadar fenolik total (KTFe) tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*). Konsentrasi elisitor kitosan tertinggi (0,06%) memperoleh hasil parameter pertumbuhan tertinggi dengan jumlah tunas 5, panjang tunas 31,87 cm, jumlah daun 85,50, jumlah akar 19,75, panjang akar 45,75 cm, biomassa segar 131,75 gr, dan biomassa kering 12,62 gr. Konsentrasi elisitor kombinasi tertinggi (kitosan 0,06% dan NaCl 1,5%) memperoleh hasil kadar fenolik total (KTFe) tertinggi pada tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dengan KTFe 153,09 mg GAE/gr .

Kata Kunci: *Gynura procumbens*, elisitor, kitosan, natrium klorida (NaCl), pertumbuhan, kadar senyawa fenolik total.

ABSTRACT

THE EFFECT OF CHITOSAN AND SODIUM CHLORIDE (NaCl) ELISITORS ON THE GROWTH AND CONTENT OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS OF SAMBUNG NYAWA PLANTS (*Gynura procumbens*) THROUGH STEM CUTS

One of the medicinal plants that is often used by Indonesian people is the *Gynura procumbens* plant. The potency of this *Gynura procumbens* plant as a medicine causes the demand for its supply in the market to increase. The use of the stem cuttings method is one of the best propagations to get a large number of grafted plants in a short time. In addition to efforts to provide supplies, the levels of compound content in *Gynura procumbens* also need attention. This study aims to determine the effect of varying concentrations of the elicitor Chitosan and Sodium Chloride (NaCl) on growth and levels of total phenolic compounds (*G. prostrate*) via stem cuttings. This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD). The treatments in this study were the biotic elicitor chitosan, the abiotic elicitor NaCl, and the combination (chitosan and NaCl) with 3 concentration variations each. The research data included growth and total phenolic content which were analyzed by statistical tests through the SPSS 16.0 application. Based on the research results, it is known that variations in the concentrations of chitosan, NaCl, and combinations have an effect on growth and total phenolic content (KTFe). The highest concentration of chitosan elicitor (0.06%) yielded the highest growth parameters with the number of shoots 5, shoot length 31.87 cm, number of leaves 85.50, number of roots 19.75, root length 45.75 cm, fresh biomass 131, 75 gr, and dry biomass 12.62 gr. The highest combination elicitor concentration (0.06% chitosan and 1.5% NaCl) resulted in the highest total phenolic content (KTFe) in the *Gynura procumbens* with KTFe 153.09 mg GAE/gr.

Keywords: *Gynura procumbens*, elicitor, chitosan, sodium chloride (NaCl), growth, total phenolic compounds content.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	11
1.3 Tujuan	11
1.4 Manfaat	12
1.5 Batasan Masalah	13
1.6 Hipotesis Penelitian	13
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	14
2.1 Sambung Nyawa.....	14
2.1.1. Klasifikasi.....	14
2.1.2. Morfologi.....	14
2.1.3. Ekologi dan Persebaran	16
2.1.4. Kandungan Tanaman Sambung Nyawa	18
2.2 Stek Batang.....	19
2.2.1 Faktor Pertumbuhan	20
2.2.2 Media Tanam.....	20

2.2.3 Teknik Tanam.....	21
2.3 Elisitasi	22
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	28
2.4.1 Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tanaman	28
2.4.2 Mekanisme Produksi Metabolit Sekunder.....	30
2.4.3 Manfaat Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tanaman	32
2.5 Elisitor Kitosan	34
2.6 Elisitor NaCl	37
2.7 Ekstraksi	40
2.8 Senyawa Fenolik.....	42
2.9 Metode Folin-Ciocalteu	45
BAB III METODE PENELITIAN	47
3.1 Rancangan Penelitian.....	47
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	48
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	49
3.4 Variabel Penelitian.....	50
3.5 Prosedur Penelitian	50
3.5.1 Identifikasi Tumbuhan.....	50
3.5.2 Penanaman.....	51
3.5.3 Pembuatan Larutan Elisitor	52
3.5.4 Pengaplikasian Elisitor	53
3.5.5 Pemanenan.....	53
3.5.7 Analisis Kadar Senyawa Fenolik Total	53
3.6. Analisis Data	57
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	59
4.1 Identifikasi Tumbuhan Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>).....	59
4.2 Pengaruh Elisitor Terhadap Pertumbuhan Tanaman Sambung Nyawa.....	61
4.3 Pengaruh Elisitor Terhadap Kadar Fenolik Total Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>)	76
4.3.1. Ekstraksi Daun Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>).....	76
4.3.2. Uji Kualitatif Fenolik Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>).....	77

4.3.3. Uji kuantitatif kadar fenolik total sambung nyawa (*Gynura procumbens*)
79

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....92
5.1 Kesimpulan.....92
5.2 Saran.....92
DAFTAR PUSTAKA.....94
LAMPIRAN.....114



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nama Vernakular dari <i>G. Procumbens</i>	17
Tabel 2.2 Jalur utama pembentukan senyawa metabolit sekunder	31
Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon.....	43
Tabel 3.1 Rancangan penelitian	47
Tabel 3.2 Waktu penelitian	49
Tabel 4.1 Uji Man-Whitney Biomassa Segar	63



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman sambung nyawa atau <i>G. Procumbens</i>	15
Gambar 2.2 Mekanisme molekuler elisitasi.....	24
Gambar 2.3 Klasifikasi elisitor berdasarkan sifat dasar dan asalnya.....	26
Gambar 2.4 Jalur utama biosintesis metabolit sekunder yang berhubungan dengan metabolisme primer.....	32
Gambar 2.5 Struktur kimia kitosan.....	36
Gambar 2.6 Struktur asam galat.....	45
Gambar 2.7 Reaksi senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu.....	46
Gambar 3.1 Tata letak penelitian.....	52
Gambar 4.1. Morfologi Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>).....	59
Gambar 4.2. Grafik Parameter Pertumbuhan Sambung Nyawa.....	62
Gambar 4.3 Ekstrak Etanol Daun <i>Gynura procumbens</i>	77
Gambar 4.4 Hasil Uji Kualitatif Senyawa Fenolik.....	78
Gambar 4.5 Kurva Kalibrasi Asam Galat.....	80
Gambar 4.6 Kadar Fenolik Total Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>).....	82

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil Analisis SPSS Pertumbuhan	114
2. Hasil Analisis SPSS KTFe	139
3. Dokumentasi Pertumbuhan Tanaman	141
4. Dokumentasi Uji KTFe	149



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ilmu pengetahuan dan teknologi di dunia saat ini terus mengalami perkembangan yang semakin pesat. Hal ini juga pasti akan mempengaruhi farmakologi dalam ilmu kesehatan dari masa ke masa. Namun keberadaan obat-obatan modern hingga saat ini belum mampu menggeser ataupun mengesampingkan peranan dari obat-obatan tradisional yang telah digunakan secara turun temurun. Perannya dalam dunia kesehatan justru berdampingan bahkan sebagai pelengkap. Menurut Jennifer dan Saptutyningasih (2015), peningkatan dari penggunaan obat-obatan dipengaruhi oleh adanya perubahan lingkungan hidup, perilaku manusia dan pola penyakit yang melatarbelakanginya. Pengobatan tradisional digunakan sebagai alternatif pengobatan dari berbagai macam penyakit ringan hingga kronis dengan alasan mudah, murah, dan manjur sehingga sesuai dengan gaya hidup masyarakat (Jennifer & Saptutyningasih, 2015). Obat-obatan tradisional umumnya dibuat dari tanaman yang berpotensi sebagai obat. Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang terkenal akan keberagaman jenis tanamannya, khususnya yaitu tanaman obat tradisional. Salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia yaitu tanaman sambung nyawa.

Tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan tanaman obat tradisional dengan karakteristik perdu tegak pada saat masih muda dan sebagian merambat saat sudah tua. *G. procumbens* secara empiris telah digunakan sebagai obat dan telah diteliti kandungannya yang bermanfaat bagi

kesehatan manusia. Penelitian tentang khasiat kesehatannya juga meningkat, selain itu pada tahun 2010 terdaftar sebagai tanaman herbal yang bernilai tinggi di bawah inisiatif *Key Agricultural Economic Area* (NKEA) untuk subsektor herbal (MOA, 2015). Sambung nyawa mengandung senyawa antioksidan alami yang memiliki berbagai macam aktivitas farmakologis. Menurut penelitian Tan *et al.* (2016), tanaman sambung nyawa terbukti memiliki aktivitas farmakologis seperti anti-oksidan, anti-kanker, anti-inflamasi, anti-hiperglikemik dan anti-mikroba. Selanjutnya menurut Ismail (2015), kandungan senyawa antioksidan dalam sambung nyawa digunakan sebagai tes untuk mendeteksi hiperkolesterolemia pada hati. Kandungan antioksidan juga dapat berkhasiat untuk antihipertensi (Firmansyah, 2015). Selain itu tanaman sambung nyawa juga diketahui berkhasiat sebagai antitumor (Maw *et al.*, 2011). Aktivitas farmakologis pada sambung nyawa berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder di dalamnya. Menurut Sinaga, dkk (2017), senyawa antioksidan alami pada tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik seperti flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Sambung nyawa mengandung senyawa metabolit sekunder yang didominasi oleh senyawa fenolik diantaranya triterpenoid, polifenol, saponin, steroid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam kumarat, asam para hidroksi benzoat, flavonoid, dan minyak atsiri (Priamsari dkk., 2016). Hal ini membuktikan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa fenolik dalam sambung nyawa sangatlah penting dalam dunia kesehatan guna untuk

menurunkan aktivitas serangan penyakit mulai dari tingkatan ringan hingga kronis.

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mengandung gugus hidroksil dan paling banyak terdapat pada tumbuhan (Diniyah & Lee, 2020). Secara fungsional, senyawa ini dalam makanan berperan sebagai metabolit reaktif dan berhubungan dengan aktivitas antioksidan (Aguilera et al., 2011). Ini menunjukkan pentingnya senyawa ini dalam makanan. Menurut Balasundram et al. (2006), senyawa fenolik memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seperti antioksidan, antikarsinogen, antimikroba, dll. Selain itu, peran senyawa fenolik pada tumbuhan sangat penting. Banyak senyawa fenolik yang memiliki aktivitas alelopati yang dapat mempengaruhi dan merugikan tanaman yang menyertainya (Mariska, 2013). Selain itu, menurut Setyorini dan Yusnawan (2016), gugus fenolik melindungi tanaman dari berbagai herbivora dan berbagai patogen tanaman. Selain itu, menurut Yusoff et al. (2019), tanaman penyangga kehidupan sering diserang hama seperti ulat, belalang (*Acrida turrita*), siput (*Lissachatina fulica*), lalat putih dan kutu putih. Selain itu penyakit yang disebabkan oleh beberapa kelas bakteri dari *Xanthomonas* (Tudor-Nelson *et al.*, 2003) dan *Erwinia* (Echandi & Moyer, 1979) yang diketahui juga menyebabkan bercak dan busuk pada daun. Tingkat aktivitas antibakteri pada senyawa fenolik dipengaruhi oleh banyaknya gugus hidroksil (OH) dalam menghambat bakteri. Mekanisme toksisitas fenol bagi bakteri adalah proses inaktivasi enzim oleh senyawa pengoksidasi, reaksi ini merupakan interaksi gugus sulfhidril atau interaksi non spesifik dengan protein.

Sehingga semakin tinggi sanyawa fenol teroksidasi, maka penghambatan pertumbuhan mikroorganisme semakin kuat (Cowan, 1999). Beberapa penyakit pada sambung nyawa ini tidak hanya memberikan kerugian kuantitatif yang menyebabkan pengurangan luas fotosintesis, tetapi juga bertanggung jawab atas kerugian kualitatif dalam menghambat pertumbuhan tanaman (Bonini *et al.*, 2007). Sehingga dalam hal ini, keberadaan dari sanyawa fenolik dalam sambung nyawa sangat dibutuhkan baik oleh tanaman itu sendiri maupun manusia yang memanfaatkannya.

Potensi tanaman sambung nyawa sebagai obat menyebabkan permintaan pasoknya di pasaran semakin meningkat. Umumnya sambung nyawa banyak dibudidayakan di masyarakat atau ditanam secara liar, namun tidak diproduksi secara massal. Permintaan obat herbal yang terus meningkat menyebabkan produk ini semakin langka di pasaran. Menurut Suparmi (2021), pada Hari Jamu Nasional ke-13, BPOM RI melaporkan bahwa pada tahun 2020 permintaan obat tradisional untuk peningkat daya tahan tubuh (imunomodulator) mengalami kenaikan sebesar 131,14% dibandingkan tahun 2019, seiring dengan meningkatnya kasus Covid-19 di masa pandemi ini. Pasokan daun sambung nyawa di pasaran saat ini cukup terbilang langka dan berbanding terbalik dengan permintaannya yang tinggi. Mengingat hal tersebut, maka kegiatan pembudidayaan *G. procumbens* perlu dilakukan.

Pembudidayaan *G. procumbens* dapat berfungsi sebagai upaya untuk menjaga kestabilan ketersediaan bahan baku dan menghindari pemalsuan bahan, juga untuk mendukung farmakologi dalam dunia kesehatan sebagai obat sampingan dari obat-obatan modern. Perbanyak vegetatif biasanya

merupakan cara alternatif untuk mengatasi masalah penyediaan bibit. Stek batang merupakan cara perbanyakan vegetatif yang sederhana, ekonomis dan mudah, tetapi dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak. (Subiakto, 2009). Penggunaan metode stek batang menjadi salah satu perbanyakan terbaik untuk mendapatkan tanaman sambung nyawa dengan jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat, sehingga dirasa dapat menjadi salah satu upaya untuk mengatasi kelangkaan pasokan bahan yang dibutuhkan.

Selain upaya dalam penyediaan pasokan, kadar kandungan senyawa dalam sambung nyawa juga perlu mendapat perhatian. Salah satunya yaitu kadar senyawa fenolik yang terkandung guna untuk menaikkan nilai komersial pada tanaman. Beberapa penelitian yang telah dilakukan, ekstrak sambung nyawa terbukti mengandung senyawa fenolik. Ekstrak tanaman sambung nyawa mengandung senyawa fenolik dengan jumlah berkisar 2,12% atau sebesar $70,7 \pm 2,58$ mg GAE/g (Lau *et al.*, 2018), dan flavonoid 1,35% (Sinaga *et al.*, 2017). Selanjutnya dalam penelitian Rivai dkk. (2019), kadar fenol total sambung nyawa dengan pelarut aseton dan etanol masing-masing diperoleh sebesar 0,36 % dan 0,37 %. Selain itu dalam penelitian Lau dkk. (2018), juga menyebutkan kadar polifenol total yang terkandung dalam daun sambung nyawa sebesar 2,12%, dan flavonoid 0,465%. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, meskipun senyawa fenolik sudah diproduksi secara alami oleh tanaman, kadar yang terkandung dalam sambung nyawa masih terbilang sedikit. Senyawa fenolik tidak berperan secara langsung dengan pertumbuhan tanaman, namun tanaman yang memiliki kadar fenolik sedikit akan mengalami kesulitan dalam melawan fitopatogen karena sistem pertahanan

yang lemah, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat menyebabkan kematian pada tanaman (Setyorini & Yusnawan, 2016). Selain itu kandungannya yang sedikit juga akan menurunkan kuantitas kandungan bahan aktif tanaman sambung nyawa sebagai bahan obat. Maka produksi senyawa fenolik dalam tanaman perlu ditingkatkan lagi melalui perlakuan elisitasi.

Elisitasi merupakan metode yang efektif untuk meningkatkan metabolit sekunder sebagai respons terhadap stres pada tanaman akibat cekaman melalui pemberian elisitor. Elisitor merupakan molekul signal yang dapat memicu pembentukan senyawa metabolit sekunder melalui pengaktifan enzim-enzim pengkatalis metabolisme (Yuliana, 2003). Senyawa metabolit sekunder tidak berperan penting dalam kelangsungan hidup tanaman, tetapi berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tanaman, baik dari cekaman biotik maupun abiotik (Setyorini & Yusnawan, 2016). Menurut Ariviani dan Rajendra (2021), Tanaman yang mengalami cekaman akan cenderung menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS dapat merusak protein, DNA, lipid, serta makromolekul sel vital pada tanaman. Untuk mengurangi efek dari ROS, tanaman akan cenderung menghasilkan antioksidan dan memberikan sinyal respon kondisi stres pada tanaman. Sistem pertahanan terdiri atas komponen enzimatik dan non enzimatik. Komponen non enzimatik berhubungan dengan produksi senyawa antioksidan, salah satunya adalah senyawa fenolik (Ariviani & Rajendra, 2021). Melalui perlakuan tersebut elisitor akan merangsang produksi senyawa fenolik pada tanaman sambung nyawa

Setiap tanaman yang tumbuh pada tanah membutuhkan nutrisi yang cukup agar dapat tumbuh dengan baik. Hal ini juga berkaitan dengan fungsi Al-Quran yang telah di ungkapkan dalam firman Allah SWT dalam Q.S. Al-A'raaf ayat 58:

وَالْبُلْدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًّا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ
لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ۝

Artinya : *“Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan izin Tuhan; dan tanah yang buruk, tanaman-tanamannya yang tumbuh merana. Demikianlah Kami menjelaskan berulang-ulang tanda-tanda (kebesaran Kami) bagi orang-orang yang bersyukur”*. (Q.S. Al-A'raaf(7): 58)

Ayat di atas menyatakan bahwa setiap tanah yang subur pasti akan menumbuhkan tanaman yang baik, begitu sebaliknya jika tanaman tumbuh pada tanah yang buruk pasti tanaman tidak bisa tumbuh dengan baik pula. Namun tidak semua yang terlihat buruk dapat berdampak buruk. Tanaman tanpa adanya cekaman tidak akan mampu beradaptasi dan bertahan hidup di lingkungannya. Seperti halnya pemberian elisitor pada tanaman yang dapat memicu stres. Stres ini justru akan memicu pengaktifan sinyal-sinyal pembentukan senyawa metabolit sekunder, salah satunya yaitu senyawa fenolik. Bagi tanaman, senyawa fenolik berguna sebagai pertahanan diri. Saat tanaman memiliki sistem pertahanan yang baik, pasti akan dapat tumbuh dengan optimal. Terlebih lagi saat tanaman dengan kadar senyawa fenolik tinggi, tanaman tersebut akan bernilai lebih karena manfaatnya yang begitu beragam bagi kelangsungan hidup manusia. Pemberian elisitor pada tanaman menjadi salah satu wujud atas upaya untuk meningkatkan senyawa metabolit

sekunder agar tanaman dapat tumbuh dengan baik serta bernilai tinggi, sebagaimana ayat tersebut menjelaskan wujud rasa syukur atas nikmat dan kuasa Allah SWT yang diberikan kepada setiap makhluknya.

Elisitor dapat diaplikasikan secara in-vitro maupun in-vivo. Beberapa penelitian mengenai pengaplikasian elisitor secara in-vivo dilakukan dengan beberapa teknik, diantaranya teknik semprot daun (Elise *et al.*, 2017), semprot akar (Elise *et al.*, 2017), teknik pengaliran pada sistem hidroponik (Manday *et al.*, 2013), perendaman akar bibit (Kurabachew & Wydra, 2014), dan perendaman biji (Narasimhamurthy *et al.*, 2019). Pengaplikasian elisitor dengan media tanah umumnya menggunakan teknik semprot daun. Teknik semprot daun dirasa menjadi teknik terbaik karena disamping pengaplikasiannya yang mudah, teknik semprot daun juga dapat berperan sebagai pestisida alami yang ramah lingkungan. Dalam penelitian Hawrylak-Nowak *et al.* (2020), elisitasi dengan teknik semprot daun dilakukan pada permukaan atas dan bawah daun untuk mengurangi aliran berlebihan larutan elisitor dari daun ke dalam tanah. Selain itu dalam penelitian Alizadeh *et al.* (2020), penggunaan teknik penyemprotan bertujuan untuk mengurangi cekaman kekeringan yang berlebihan. Namun pada dasarnya teknik pengaplikasian elisitor juga disesuaikan dengan jenis tanaman, media tanam, serta jenis elisitor yang digunakan.

Berdasarkan sifat dasar dan asalnya elisitor dibagi menjadi dua yaitu elisitor biotik dan elisitor abiotik. Elisitor biotik berasal dari substansi yang dihasilkan oleh organisme hidup seperti protein, glikoprotein, fragmen dinding sel fungi dan sebagainya (Junairiah dkk., 2014). Salah satu elisitor biotik yang

sering digunakan yaitu kitosan. Kitosan merupakan elisitor biotik dari kelompok polisakarida linear turunan dari kitin (Govindaraju & Arulselvi, 2018). Dalam penelitian Hawrylak-Nowak *et al.* (2020), elisitor kitosan mengakumulasi peningkatan konsentrasi senyawa fenolik total dalam pucuk tanaman *Melissa officinalis* L secara signifikan sebesar 13% melalui aplikasi semprot daun. Selain itu pada penelitian Alizadeh *et al.* (2020), kitosan mampu meningkatkan kandungan fenolik total pada *Satureja hortensis* L sebesar 22,17 mg GAE / g dan pada tanaman *Ocimum ciliatum* 1,8 mg GAE / g (Pirbalout *et al.*, 2017) yang mana kandungannya lebih tinggi dari kontrol. Menurut hasil penyelidikan Ghoname *et al.* (2010), menunjukkan bahwa aplikasi kitosan menghasilkan pertumbuhan vegetatif yang lebih tinggi dan peningkatan kualitas buah lada, lobak, dan mentimun. Namun, efek menguntungkan dari kitosan juga tergantung pada konsentrasi, metode aplikasi, serta kondisi lingkungan. Selain elisitor biotik, elisitor abiotik juga tidak jarang digunakan sebagai penstimulasi produksi metabolit sekunder pada tanaman.

Elisitor abiotik berasal dari komponen non biologis seperti pH, logam berat, garam anorganik dan sebagainya (Junairiah dkk., 2014). Elisitor abiotik memiliki efektifitas yang hampir sama dengan elisitor biotik. Kelebihan dari elisitor abiotik diantaranya kandungan senyawanya yang aman, mudah untuk diaplikasikan, serta harganya yang lebih murah (Dzikri dkk., 2015). Menurut Ramirez-Estrada *et al.* (2016), beberapa jenis garam yang digunakan sebagai elisitor antara lain NaCl, CaCl₂, KCl, CuCl₂, CoCl₂, HgCl₂, NiSO₄, VOSO₄, AlCl₃, AgNO₃ dan MgSO₄. Elisitor NaCl merupakan salah satu garam mineral

yang dapat dengan mudah masuk ke dalam sel tumbuhan dibandingkan dengan garam lainnya melalui transpirasi, yang terakumulasi baik di dalam maupun di luar sel.

Pengaplikasian NaCl pada tanaman dapat mempengaruhi pertumbuhan serta aktivitas antioksidan pada tanaman. Tingkat salinitas tinggi atau ekstrim dapat bersifat toksik sehingga mempengaruhi pertumbuhan tanaman, namun tanaman dengan tingkat salinitas ringan dapat memberikan efek stimulasi pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman (eustress) (Zhu, 2001). Dalam Penelitian Gengmao *et al.* (2015), tanaman safflower (*Carthamus tinctorius* L) pada konsentrasi salinitas <100 mM NaCl dalam kondisi hidroponik tidak memberikan efek pengurangan pertumbuhan pada tanaman. Dalam penelitian Nowak *et al.* (2021), konsentrasi total senyawa fenolik (TPC) dalam ekstrak lemon balm di bawah kondisi salinitas meningkat sebesar 16% dan meningkatkan biomassa sebesar 11% dari kontrol. Selain itu Hassini *et al.* (2019), mengungkapkan dalam penelitiannya bahwa tanaman senyawa fenolik total dalam daun brokoli secara nyata dipengaruhi oleh elisitor NaCl, serta mengalami peningkatan sebesar 149% terhadap tanaman kontrol. Selain itu dalam penelitian Samec *et al.* (2021), elisitor NaCl secara nyata menaikkan kandungan senyawa fenolik total pada *Brassica rapa* 5,77 mg GAE / g (daun) dan 5,80 mg GAE / g (akar), *Brassica oleracea* var. Kapita sebesar 2,44 mg GAE / g (daun) dan 0,59 mg GAE / g (akar), serta pada *Brassica oleracea* var. Acephala 4,36 mg GAE / g (daun) dan 0,50 mg GAE / g (akar) terhadap tanaman kontrol.

Mengingat ulasan diatas, penelitian mengenai pengaruh pengaplikasian elisitor biotik dan abiotik untuk meningkatkan senyawa fenolik sangat perlu untuk dilakukan. Sejauh yang diketahui belum terdapat penelitian mengenai penggunaan elisitor biotik maupun abiotik pada perbanyakan tanaman *G. procumbens* pada teknik stek batang. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan elisitor biotik dari kitosan dan elisitor abiotik Natrium Klorida (NaCl) terhadap kadar fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) melalui stek batang.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun permasalahan pokok dari penelitian ini diantaranya:

1. Bagaimana pengaruh pemberian variasi konsentrasi elisitor Kitosan dan Natrium Klorida terhadap pertumbuhan tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian variasi konsentrasi elisitor Kitosan dan Natrium Klorida terhadap kadar fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*)?
3. Berapa konsentrasi optimal elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) untuk pertumbuhan stek batang tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*)?
4. Berapa konsentrasi optimal elisitor Kitosan dan elisitor Natrium Klorida untuk meningkatkan produksi kadar fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*)?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini diantaranya:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi konsentrasi elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) terhadap pertumbuhan tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi konsentrasi elisitor Kitosan dan Natrium Klorida terhadap kadar fenolik total sambung nyawa (*G. procumbens*).
3. Untuk mengetahui konsentrasi yang paling optimal dari elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) yang dapat meningkatkan pertumbuhan stek batang tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*).
4. Untuk mengetahui konsentrasi yang paling optimal dari elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) yang dapat meningkatkan produksi kadar fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*).

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini diantaranya:

1.4.1 Bagi Mahasiswa atau Peneliti

Menambah wawasan mengenai konsentrasi optimal dari elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) untuk pertumbuhan dan kadar fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) melalui stek batang.

1.4.2. Bagi Masyarakat dan Instansi Pendidikan

- a. Sebagai sumber belajar untuk mendalami metode pengaplikasian elisitor biotik dan elisitor abiotik pada

perbanyak tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) melalui stek batang.

- b. Memberikan informasi terkait cara penggunaan elisitor biotik dan abiotik pada tanaman stek batang dengan hasil yang maksimal.

1.5 Batasan Masalah

Berdasarkan dari tujuan penelitian, agar tidak terjadi kesalah pahaman judul maka perlu diberikan adanya batasan penelitian, diantaranya:

1. Subjek dalam penelitian ini adalah elisitor biotik Kitosan dan elisitor abiotik Natrium Klorida (NaCl).
2. Objek dalam penelitian ini adalah tanaman sambung nyawa berumur 1 tahun dengan metode perbanyak stek batang.

1.6 Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh perbedaan konsentrasi perlakuan elisitor Kitosan dan Natrium Klorida (NaCl) terhadap pertumbuhan dan kadar senyawa fenolik total pada tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) melalui stek batang.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sambung Nyawa

2.1.1. Klasifikasi

Adapun klasifikasi tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : Gynura
Species : *Gynura procumbens* [Lour.] Merr.

(Backer & Van de B, 1965)

2.1.2. Morfologi

Tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) (Gambar 2.1) merupakan jenis tanaman berbatang tegak menyerupai rumput dan berbatang basah. Tanaman ini dapat tumbuh hingga 13 cm lebih dan dapat diperbanyak dengan mudah melalui metode stek. Tanaman ini tumbuh secara horizontal saat ujungnya runtuh dapat membentuk akar. Bagian tubuhnya terdiri atas batang, daun, bunga, biji dan akar (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Tanaman sambung nyawa atau *G. procumbens*
Sumber : (Jamuin, 2017)

Batangnya berwarna ungu dan memiliki karakter berdaging. Bagian batangnya juga bersudut dengan banyak cabang dan nodus pendek mulai dari akar hingga pucuk. Bagian batang lunak dan bentuk penampang bulat. Batang tanaman sambung nyawa berwarna ungu dengan bintik-bintik hijau saat muda dan coklat saat tua. Daun sambung nyawa merupakan jenis daun tunggal yang tersebar di sepanjang batang. Daunnya berseling elips atau elips dengan tepian bergelombang. (Rahman & Asad, 2013). Bagian atas daun berubah menjadi kuning-hijau saat matang, dan bagian bawah daun berubah menjadi hijau saat masih muda. Ukuran tangkai daun 0,5-1,5 cm, Panjang daun 2-6 cm. lebar daun 1-5,5 cm, dan helaian daun 12,5 cm dengan ujung yang runcing dan bagian pangkal daun membulat. Tekstur kedua permukaan daun halus dan sedikit berbulu, serta pertulangan daun menyirip (Sinaga dkk., 2017).

Sambung nyawa memiliki bunga biseksual berbentuk tabung berwarna ungu (Wiart, 2002). Menurut Santoso (2019), Bunga pada sambung nyawa tergolong bunga kompleks yang terdiri dari 2-7 kelopak yang tersusun dari paniculata hingga paku pipih (*Corymb*).

Setiap cawan bunga mendukung pertumbuhan 20-35 bunga, panjang 1,5-2 cm dan lebar 5-6 mm. Batang tangkai bunga berukuran panjang 0,5-0,7 cm dan tidak berbulu atau berambut pendek. Bagian *brachtea involucralis* yang dibawa berupa garis dengan ujung runcing atau tumpul, panjang 0,3-1 cm, lebar 0,6-1,7 cm dan ujung berwarna hijau atau coklat kemerahan. Jenis mahkotanya berbentuk tabung, panjangnya 1-1,5 cm, berwarna kuning-jingga atau jingga. Selanjutnya, benang sari berbentuk jarum dan berwarna kuning, dan benang sari melekat menjadi satu. Periode berbunga pada bulan Januari sampai Desember, namun di pulau Jawa perbungaan jarang dijumpai pada sambung nyawa (Santoso, 2019). Buahnya berwarna coklat bergaris dengan panjang 4-5 mm. Jenis akar tumbuhan sambung nyawa adalah akar serabut.

Sekilas tumbuhan sambung nyawa memiliki karakteristik yang menyerupai daun dewa. Ciri yang membedakan daun sambung nyawa dengan daun dewa adalah permukaan daun sambung nyawa lebih halus, sedangkan daun dewa memiliki permukaan berbulu lebat, daun dewa memiliki daun yang tumpul dengan tepi yang menoreh. *G. procumbens* merupakan jenis tanaman tahunan atau dapat tumbuh bertahun-tahun.

2.1.3. Ekologi dan Persebaran

Persebaran tumbuhan sambung nyawa berada pada beberapa negara tropis di dunia. Menurut Manoi & Kristina (2007), tumbuhan sambung nyawa berasal dari daerah Afrika yang kemudian tersebar

ke negara beriklim tropis lain seperti Srilangka dan Indonesia. Di Indonesia tumbuhan sambung nyawa tersebar luas di pulau Sumatera dan Jawa. *G. procumbens* atau tanaman sambung nyawa tersebar di beberapa negara di benua Afrika (Sukadeetad *et al.*, 2018) dan Asia Tenggara tropis termasuk Indonesia, Malaysia, Thailand, Vietnam, Filipina, Myanmar dan Cina. Menurut Nasir dkk. (2015) dan Tan dkk. (2016), Genus *Gynura* terdiri dari 44 spesies yang terbentang dari Afrika tropis hingga Asia Tenggara, Cina Selatan, Jepang, Papua Nugini hingga Australia Utara. Terdapat sekitar sepuluh spesies yang tersebar di Thailand (Vanijajiva, 2009). Sedangkan di Malaysia, spesies ini tersebar secara terbatas di bagian barat Semenanjung Malaysia (Keng *et al.*, 2009). *Gynura procumbens* Dalam bahasa Melayu biasanya disebut Sambung Nyawa yang berarti “panjang umur”, dan dalam bahasa Cina disebut “*baibing cao*”, yang berarti “100 penyakit” (Rohin *et al.*, 2018). Berikut merupakan nama-nama regional dari *G. procumbens* berdasarkan Pusat Informasi Global untuk Pengobatan Integratif.

Tabel 2.1 Nama Vernakular dari *G. procumbens*

No.	Negara	Nama Vernakular
1.	Indonesia	Sambung Nyawa, daun dewa, kalingsir (bahasa Sunda)
2.	Malaysia	Daun dewa, dewa raja, akar sebiak, kelemai merah, kacham akar
3.	Kamboja	Chi angkam
4.	Thailand	Pra-kham dee khwaai, ma kham dee khwaai (Pattani), mu maeng sang (Chumphon)

Sumber : (Yusoff *et al.*, 2019)

G. procumbens hampir dapat tumbuh pada semua jenis tanah termasuk tanah meditasi tua, tanah gambut, dan tanah vulkanik.

Syarat utama kondisi tanah yang dapat ditumbuhi tumbuhan sambung nyawa yakni dengan kondisi tanah gambut (Gardner, 2008). Tumbuhan sambung nyawa memiliki habitus pada ketinggian 200-800 m di atas permukaan laut. Tumbuhan sambung nyawa membutuhkan lingkungan dengan curah hujan 1500 – 2500 mm/tahun. Sambung nyawa dapat tumbuh pada tempat yang ‘ternaungi’, idealnya mendapatkan 60% sinar matahari dengan naungan paranet (Vyjayanti, 2012). Meskipun tanaman membutuhkan intensitas cahaya yang cukup tinggi untuk bertahan hidup, namun idealnya masih dalam kondisi kelembapan udara 70 – 90 % dan suhu udara 25 – 32 %. Pembudidayaan tanaman sambung nyawa saat ini cukup populer karena selain mudah ditanam tumbuhan ini juga memiliki banyak khasiat, sehingga sebagian masyarakat sering memanfaatkannya sebagai obat tradisional. Tumbuhan sambung nyawa sering dijumpai pada kawasan yang memiliki kondisi tanah yang lembab dan subur seperti selokan, padang rumput, di sekitar pagar rumah, serta pinggiran hutan (Manoi & Kristina, 2007).

2.1.4. Kandungan Tanaman Sambung Nyawa

Ekstrak tumbuhan *G. procumbens* digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi beberapa penyakit tertentu karena adanya senyawa aktif biologis yang dapat berkontribusi dan berpotensi sebagai obat baru. *G. procumbens* dibudidayakan karena efektifitasnya dalam banyak aplikasi pengobatan seperti halnya Efek

antigenik, vasorelaksatif dan antiplasmodium (Tan *et al.*, 2016). Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi komposisi kimia dari berbagai ekstrak *G. procumbens*.

Menurut beberapa penelitian, *G. procumbens* terbukti mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan sterol glikosida (Kaewseejan *et al.*, 2012). Dalam penelitian sebelumnya, ekstrak *G. procumbens* Juga telah dilaporkan bahwa mengandung rutin, kaempferol, dan dua antioksidan potensial yaitu kaempferol 3 orthinoside dan astragalin (Rosidah *et al.*, 2008). Dalam studi komprehensif oleh Kaewseejan dan Siriamornpun (2015) juga melaporkan bahwa senyawa bioaktif dalam *G. procumbens* telah terbukti berbeda terutama dari asam galat, asam fumarat, asam ferulat dalam asam fenolat dan mirisetin, kuersentin dan kaem ferol dalam flavonoid. Di antara senyawa fenolik, senyawa flavonoid tersebar luas di seluruh kingdom plantae dan dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Lila, 2004).

2.2 Stek Batang

Stek batang merupakan metode perbanyakan tumbuhan secara vegetatif. Perbanyakan secara vegetatif dengan stek batang ini menjadi salah satu teknik yang tergolong mudah, ekonomis, sederhana, serta dapat memproduksi bibit tumbuhan dalam jumlah banyak (Subiakto, 2009). Stek batang menjadi metode alternatif untuk perbanyakan tumbuhan yang tidak memungkinkan atau sukar dilakukan secara generatif, dengan perbanyakan vegetatif ini perbanyakan tumbuhan dapat menghasilkan anakan dengan

sifat seperti induknya. Berikut merupakan faktor dari keberhasilan stek batang.

2.2.1 Faktor Pertumbuhan

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan dari teknik perbanyakan dengan stek batang bisa berasal dari faktor luar maupun faktor dalam. Keberhasilan teknik ini merupakan hasil interaksi yang baik antara faktor genetik dengan faktor lingkungan (Danu dkk., 2011). Faktor genetik (dalam) dengan faktor lingkungan (luar). Faktor genetik tersebut diantaranya umur tanaman (induk), cadangan makanan dalam jaringan stek, ketersediaan air, dan hormon endogen dalam jaringan stek. Sedangkan faktor lingkungan yang mempengaruhi keberhasilan stek diantaranya suhu, kelembapan, intensitas cahaya, media perakaran, serta teknik penyetekan (Darwo & Yeni, 2018).

2.2.2 Media Tanam

Media tanam juga mempengaruhi keberhasilan dari stek batang. Media tanam atau media perakaran menjadi hal yang terpenting yang harus disiapkan pada saat melakukan penanaman stek batang. Menurut Kurniaty dkk. (2010), pada umumnya media yang digunakan untuk media pengakaran yakni *top soil* (tanah lapis bagian atas yang subur), namun saat ini untuk mendapatkan *top soil* dengan jumlah banyak terbilang cukup sulit, sehingga dilakukan alternatif penggunaan media pengakaran dengan bahan *top soil* yang telah dicampur dengan komponen lain.

Komponen yang ditambahkan kedalam media tanam biasanya mencakup arang sekam dan pupuk kompos. Namun tidak semua media tanam dicampur dengan kedua bahan tersebut, sebagian media tanam menggunakan tambahan arang sekam saja atau pupuk kompos saja. Selain itu penggunaan arang sekam juga dapat diganti dengan sekam kering. Pemberian arang sekam dan pupuk kompos akan membantu meningkatkan kadar nitrogen dalam tanah. Menurut Faridah dkk. (1996), kadar nitrogen total dalam tanah masih tergolong cukup rendah, sehingga perlu dilakukan penambahan arang sekam dan pupuk kompos untuk meningkatkan kadar nitrogen dalam media tanam.

2.2.3 Teknik Tanam

Batang yang digunakan untuk stek batang memiliki panjang 10-15 cm, bagian pucuk tunas disisakan serta 2-3 helai daun di bagian bawah tunas dan memotong setengah bagian daun untuk mengurangi penguapan. Keberadaan daun pada stek batang sangat berpengaruh untuk keberhasilan fase pertumbuhan stek. Menurut Akinyele (2010), keberadaan daun akan mempercepat pertumbuhan dari jumlah akar, panjang akar, serta stek pucuk. Luas daun yang disisakan juga harus diperhatikan, karena apabila luas daun yang disisakan terlalu luas atau banyak maka transpirasi juga akan tinggi, sehingga dapat menyebabkan tumbuhan layu (Darwo & Yeny, 2018).

2.3 Elisitasi

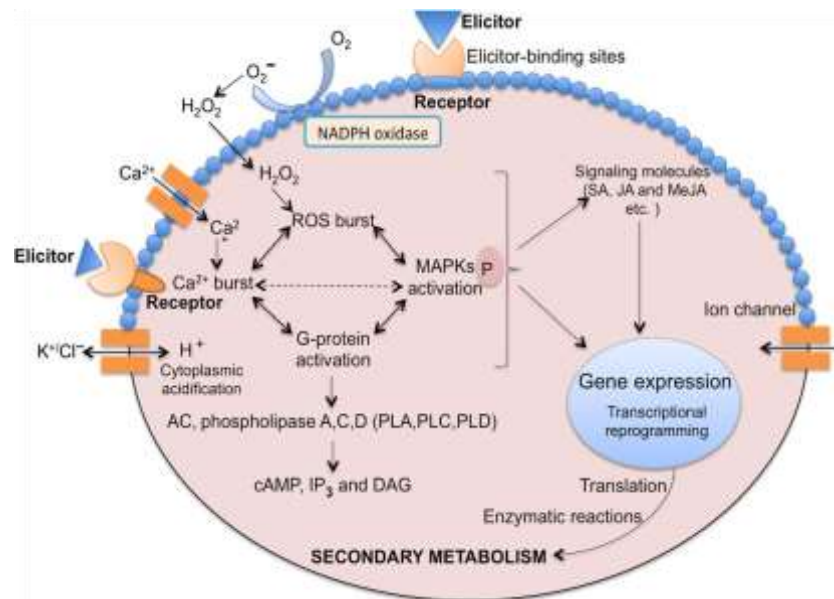
Tanaman harus mempertahankan diri terhadap ancaman dari lingkungan seperti serangan patogen, herbivora, kekeringan, salinitas dan paparan sinar ultraviolet. Ketika tanaman menerima sinyal bahaya melalui reseptor dan sensor, mereka cenderung mengaktifkan respons pertahanan untuk menghadapi stres tersebut (Osakabe *et al.*, 2015). Reaksi yang terjadi pada keadaan ini adalah dengan memproduksi metabolit sekunder (Dixon & Paiva, 1995). Menurut Park *et al.* (2010), kemampuan tumbuhan untuk bertahan dari cekaman biotik dan abiotik melalui mobilisasi metabolisme sekunder merupakan dogma sentral penemuan.

Sebuah elisitor dapat menjadi faktor lingkungan atau molekul sinyal yang mengaktifkan kaskade transduksi sinyal yang memediasi ekspresi gen yang terkait dengan biosintesis metabolit sekunder dalam sudut pandang bioteknologi. Elisitor utamanya diklasifikasikan ke dalam tiga kategori berdasarkan asalnya, yaitu elisitor biotik, kimia dan fisik. Elisitor biotik utama yaitu komponen dinding sel mikroba (kitin, kitosan dan glukukan) dan karbohidrat seperti poli- dan oligosakarida yang berasal dari dinding sel tumbuhan (pektin, asam pektat, dan selulosa). Poli- dan oligosakarida adalah molekul pensinyalan yang paling banyak dipelajari untuk jalur elisitasi karena senyawa ini dapat secara efektif menginduksi respons pertahanan tanaman yang serupa terhadap invasi patogen (Shakya *et al.*, 2016).

Setelah elisitasi, serangkaian perubahan metabolisme secara sistemik dimulai di seluruh tanaman untuk mengaktifkan sistem kekebalan bawaan

tanaman (Van *et al.*, 2008). Selanjutnya, senyawa pensinyalan pertahanan tanaman seperti asam salisilat (SA), asam jasmonat (JA), metil jasmonat (MeJA) dan oksida nitrat yang memediasi respon pertahanan juga dapat berfungsi sebagai elisitor dan kemampuannya untuk menginduksi metabolisme sekunder didokumentasikan dengan baik. Menurut Wang *et al.* (2015), Agen anorganik seperti logam berat, ion logam dan oksida logam dapat bertindak sebagai elisitor kimia metabolisme sekunder tanaman (Ramirez-Estrada *et al.*, 2016). Komponen fisik seperti kejutan dingin, UV, ozon, osmotik dan stres air juga menginduksi aktivitas enzimatis dan metabolisme sekunder (Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

Mekanisme dari elisitasi sangat kompleks karena seluruh peristiwa yang saling berkaitan. Selain itu, semua proses ini tergantung pada asal elisitor, spesifisitas dan konsentrasi, siklus pertumbuhan dan tahap penyerapan unsur hara tanaman, interaksi lingkungan fisikokimia, dan sebagainya. Meskipun sulit untuk mengusulkan model universal untuk mekanisme elisitasi, kejadian seperti fluks kalsium, ledakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan fosforilasi protein kinase (MAPK) yang diaktifkan mitogen merupakan peristiwa awal yang dipicu di sebagian besar elisitor-interaksi sel tumbuhan (Seybold *et al.*, 2014). Peristiwa selanjutnya seperti aktivasi jalur pensinyalan dan aktivasi faktor transkripsi yang mengarah pada induksi metabolisme sekunder tanaman juga didokumentasikan dengan baik (Schlutenhofer & Yuan, 2015).



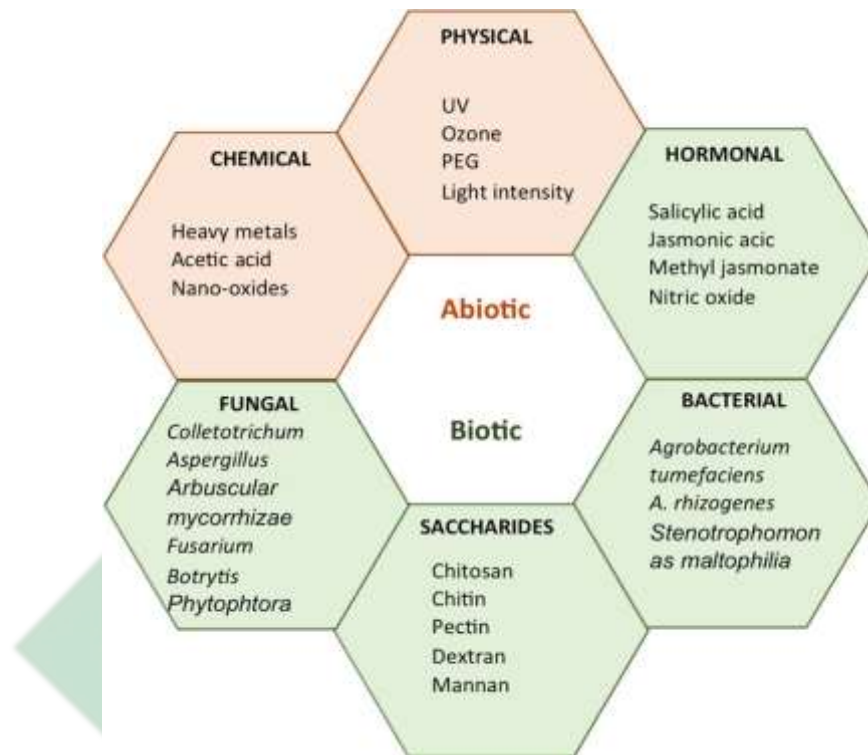
Gambar 2.2 Mekanisme molekuler elisitasi
Sumber : (Shakya *et al.*, 2016)

Menurut Zhao *et al.* (2005), Pengenalan sinyal dimediasi oleh reseptor dan tempat pengikatan elisitor yang terletak di membran plasma sebagai respons terhadap rangsangan yang mengaktifkan serangkaian peristiwa hilir seperti masuknya ion, pelepasan Ca^{2+} , pengasaman sitoplasma, pelepasan ROS, aktivasi oksidase NADPH, aktivasi protein G, dan fosforilasi MAPK. Timbulnya respon (Gambar 2.2) adalah pertukaran ion, seperti pelepasan K^+/Cl^- dan pelepasan $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ sebagai respon terhadap stimulus. Masuknya Ca^{2+} adalah peristiwa yang paling penting karena keterlibatannya yang beragam dalam proses fisiologis dan seluler (White & Broadley, 2003). Pensinyalan Ca^{2+} ditranskripsi oleh perubahan konformasi pada beberapa protein pengikat Ca^{2+} seperti kalmodulin, protein mirip kalmodulin yang bergantung pada kalsium kinase (CDPK) dan fosfolipase, dan melalui pembawa pesan kedua seperti inositol-1,4,5-trifosfat (IP_3) dan diasilgliserol. (DAG) (Bijard *et al.*, 2015). Jalur Ca^{2+} /kalmodulin terlibat dalam beberapa respon fisiologis tumbuhan terhadap rangsangan. CDPK

memainkan berbagai peran dalam kaskade pensinyalan hilir dan fosforilasi protein untuk mengoordinasikan proses seluler seperti pengaturan ledakan oksidatif, pensinyalan hormonal, dan ekspresi gen. Pembangkitan ROS merupakan fenomena penting lain dari respon pertahanan tumbuhan, seperti efek oksidase NADPH dan oksidase lain dalam sel tumbuhan, dan bahkan Ca^{2+} juga bertanggung jawab terhadap pembentukan ROS (White & Broadley, 2003). Studi telah menunjukkan peran terkait protein G dalam stimulasi saluran ion, fosfolipase A, fosfolipase C, dan fosfolipase D, pembentukan ROS, dan kematian sel pada tumbuhan (Meijer & Munnik, 2003). G-protein yang teraktivasi dapat merangsang kadar cAMP, IP3 dan DAG, yang mengarah ke aktivasi kinase target PKA dan PKC. Protein kinase yang diinduksi ini menyebabkan fosforilasi MAPK, yang mengarah pada ekspresi gen yang memicu reaksi enzimatik, yang pada gilirannya memprogram ulang jalur produksi metabolit sekunder (Vasconsuelo & Boland, 2007).

Elisitor (Gambar 2.3) adalah molekul yang menginduksi respons pertahanan yang diinduksi stres pada tumbuhan. Elisitor juga didefinisikan sebagai senyawa yang dimasukkan dalam konsentrasi rendah ke dalam sel hidup untuk memulai atau meningkatkan biosintesis senyawa tertentu (Namdeo, 2007). Menurut Junairiah *et al.* (2014), berdasarkan esensi dan asalnya, turunan diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu asal biotik dan asal abiotik. Elisitor biotik diperoleh dari zat-zat yang dihasilkan oleh organisme hidup seperti protein, glikoprotein, fragmen dinding sel jamur, dan sebagainya. Sedangkan elisitor abiotik diperoleh dari komponen non-

biologis seperti pH, logam berat, garam anorganik, dan sebagainya (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Klasifikasi elicitor berdasarkan sifat dasar dan asalnya
Sumber : (Shakya *et al.*, 2016)

Elisitor biotik pertama kali ditemukan pada awal 1970-an, dan sejak itu bukti telah terakumulasi dalam berbagai publikasi bahwa senyawa yang berasal dari patogen menginduksi respon pertahanan pada tanaman serta kultur sel tanaman. Elisitor terdiri dari oligosakarida atau liposakarida dan glikoprotein. Kebanyakan elicitor berasal dari patogen (pemicu eksternal), namun pada beberapa kasus tanaman yang terserang enzim juga dapat memicu produksi elicitor alami pada tanaman (pemicu intrinsik) (Roos *et al.*, 1999). Stimulasi eksogen terjadi dari luar sel yang mengandung produk reaksi, atau melalui mediator endogen. Beberapa contohnya adalah polisakarida (glukomananosa, glukana, kitosan), peptida seperti polikation (monilikolin, poli-L-lisin, poliamina, glikoprotein), enzim

(poligalakturonase, liase, selulase) dan asam lemak (asam arakidonat, eico). Stimulus endogen dibentuk oleh respons sekunder yang dipicu di dalam sel oleh sinyal biotik atau abiotik normal. Beberapa contohnya adalah hepta- β -glucoside dan dodeca-1,4-D-galacturonide dan oligomer alginat (Namdeo, 2007; Shilpa *et al.*, 2010).

Elisitor biotik dan abiotik digunakan untuk merangsang produksi metabolit sekunder pada tumbuhan (Anand, 2010). Elisitor biotik memiliki sifat biologis yang berasal dari patogen atau tanaman itu sendiri, sedangkan tanaman abiotik tidak memiliki sifat biologis dan dapat dibedakan menjadi agen fisik dan kimia. Menurut Sharma *et al.* (2011) elisitor dapat dibagi menjadi dua tipe sebagai berikut:

1. Elisitor Biotik

- a. Turunan polisakarida dari dinding sel tumbuhan yaitu pektin atau selulosa, mikroorganisme (kitin atau glukon), dan glikoprotein.
- b. Asam organik dengan berat molekul rendah.
- c. Fitokimia dengan berat molekul rendah yang diproduksi oleh tanaman sebagai respons terhadap kerusakan fisik, hewan pengerat, herbivora, serangga, jamur, virus, atau serangan bakteri.
- d. Protein kinase.

2. Elisitor Abiotik

- a. Faktor kimia seperti garam anorganik, logam berat, senyawa seperti beberapa senyawa yang merusak integritas membran. Senyawa dan polutan (logam berat, pestisida, aerosol), kelebihan air, kekurangan nutrisi dalam tanah.

- b. Faktor fisik seperti kerusakan mekanis, sinar UV, garam tinggi, osmolalitas tinggi atau rendah, suhu ekstrim angin (debu dan partikel pasir), kelangkaan air, ozon, tekanan tinggi.

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman sebagian besar memainkan peran secara tidak langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Metabolit pada tumbuhan ada dua macam, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer berperan langsung dan digunakan tanaman untuk pertumbuhan, sedangkan metabolit sekunder tidak berperan langsung dalam pertumbuhan tanaman. Metabolit sekunder diproduksi oleh tanaman dalam jumlah yang stabil atau tetap dalam kondisi stres. Metabolit sekunder diproduksi dalam jumlah konstan atau tertentu oleh tanaman di bawah kondisi stres. Salah satu contoh dari metabolit sekunder adalah antibiotik, toksin, inhibitor enzim, feromon, pigmen, efektor kompetisi ekologi dan simbiosis, imunomodulator, antagonis dan agonis reseptor, pestisida, agen antitumor, dan promotor pertumbuhan hewan dan tumbuhan (Nofiani, 2008).

2.4.1 Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tanaman

Metabolit sekunder memiliki jenis dan fungsi yang berbeda-beda. Metabolit sekunder memiliki peran yang cukup penting meskipun tidak berperan langsung dalam hidup tanaman. fungsi dari metabolit sekunder pada tanaman adalah sebagai mekanisme pertahanan terhadap beberapa cekaman, baik cekaman biotik maupun abiotik. Selain itu, senyawa ini tidak hanya berperan sebagai

mekanisme pertahanan, tetapi juga sebagai atraktan. Beberapa metabolit sekunder dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai antioksidan atau bahan obat. Menurut Einhellig (1996), produksi metabolit sekunder pada tanaman diinduksi oleh stres. Peningkatan radiasi dan penurunan suhu juga dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada tumbuhan (Korner, 1999 dalam Christian 2010). Selain itu stres biologis yang terjadi juga dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme tanaman.

Menurut Croteau *et al.* (2000), Senyawa metabolit sekunder diproduksi dalam kisaran terbatas dalam suatu kelompok taksonomi tertentu. Dalam berevolusi, tanaman memiliki cara yang berbeda dalam menahan tekanan yang berbeda, termasuk produksi metabolit sekunder beracun. Metabolit toksik umumnya terakumulasi di ruang ekstraseluler vakuola dan trikoma atau disekresikan secara ekstraseluler. Modifikasi penting yang terjadi pada berbagai jenis metabolit sekunder disebut glikosilasi. Berdasarkan pada asal biosintetiknya, metabolit tanaman dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu alkaloid, terpenoid, fenilpropanoid, dan senyawa fenolik antioksidan (Croteau *et al.*, 2000). Antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik, yaitu antioksidan yang berasal dari reaksi kimia sintetik, dan antioksidan alami, yaitu antioksidan yang berasal dari atau terdapat dalam bahan alami. Antioksidan alami berasal dari kelompok senyawa fenolik, salah satunya adalah kelompok flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok

metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan (Saija *et al.*, 1995). Di sisi lain, flavonoid dapat menjadi racun bagi organisme lain dengan mengganggu fungsi protein seluler. Beberapa metabolit berinteraksi dengan molekul yang terlibat dalam fungsi dasar sel, seperti DNA dan protein yang terlibat dalam pembelahan sel (Sirikantaramas *et al.*, 2008). Menurut Nofiani (2008), pembentukan metabolit sekunder diatur oleh pertumbuhan yang lambat, kontrol umpan balik, induksi dan inaktivasi enzim.

2.4.2 Mekanisme Produksi Metabolit Sekunder

Metabolit primer yang dihasilkan oleh semua tanaman, termasuk asam amino, nukleotida, gula dan lipid, diproduksi oleh hampir semua tanaman, sedangkan metabolit sekunder ditemukan atau diproduksi hanya pada satu spesies atau kelompok spesies tertentu. Metabolit sekunder adalah produk sampingan dari metabolisme primer. Secara umum, metabolit sekunder terbagi dalam tiga kelompok: terpen, senyawa fenolik, dan produk sampingan yang mengandung nitrogen (Taiz & Zeiger, 2002). Pengelompokan tergantung pada jalur produksi masing-masing senyawa.

Metabolit primer seperti asam amino, nukleotida, gula dan lipid diproduksi di hampir semua tumbuhan, sedangkan metabolit sekunder ada atau diproduksi hanya pada spesies atau kelompok spesies tertentu. Metabolit sekunder adalah produk sampingan dari metabolisme primer. Metabolit sekunder umumnya dibagi menjadi

tiga kelompok: terpene, senyawa fenolik, dan turunan nitrogen (Taiz & Indicator, 2002). Pengelompokan bergantung pada jalur produksi untuk setiap sambungan yang dihasilkan. Pengelompokan didasarkan pada jalur produksi untuk setiap senyawa yang dihasilkan.

Tabel 2.2 Jalur utama pembentukan metabolit sekunder

No.	Jalur Pembentukan	Jenis Senyawa yang Dihasilkan
1.	Jalur asam malonat	Asam lemak (laurat, oleat, miristat, linolenic, palmitat, stearat, linoleat), fosfolipida, gliserida, poliasetilen dan glikolipida.
2.	Jalur asam mevalonat	<i>Essential oil</i> , terpenoid, monoterpenoid, Menthol, korosinoid, streoid, sapogenin, squalent, ABA, geraniol dan ga ₃ .
3.	Jalur asam sikhimat	Asam sinamat, lignin, fenol, asam benzoic, koumarin, tanin, quinon dan asam amino benzoic.

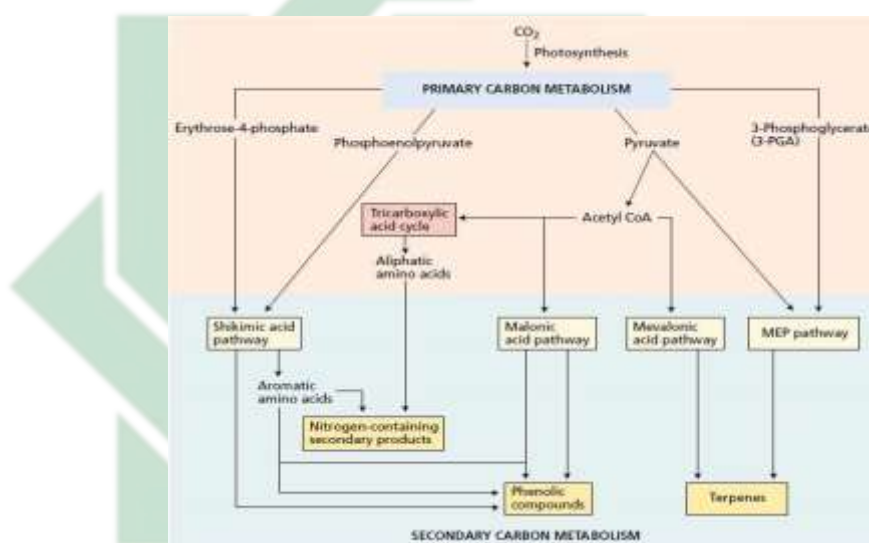
(Sumber : (Mariska, 2013)

Jalur biosintetis untuk pembentukan metabolit sekunder yang terkait dengan metabolit primer dibagi menjadi tiga jalur utama (Gambar 2.4). Metabolit sekunder golongan fenolik atau senyawa fenolik diperoleh dengan memisahkan molekul amonia dari fenilalanin dan asam sinamat. Reaksi ini dikatalisis oleh fenilalanin amonia liase (PAL), yang merupakan enzim yang paling banyak dipelajari dalam fitokimia. Reaksi ini merupakan langkah penting dalam pembentukan banyak senyawa fenolik karena fenilalanin berada di persimpangan metabolisme primer dan sekunder (Lincoln & Eduardo, 2002).

Jalur biosintetis pembentukan terpena dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu jalur mevalonat dan jalur metileritritol fosfat (Lincoln dan Eduardo, 2002). Biosintesis terpenoid pada tanaman melalui jalur deoksiselulosa. Jalur biosintesis terpenoid diawali dengan pembentukan isopentenyl pyrophosphate (IPP) atau dimethylallyl

pyrophosphate (DMAPP). Isoprena, yang menggabungkan dua fosfat ujung ke ujung untuk membentuk monoterpen, seskuiterpen, diterpen, triterpen, dan sebagainya.

Isoprena adalah komponen terpena, tetapi bukan yang pertama. Karena DMA=PP dan IPP memiliki ikatan rangkap, tetapi elektron tidak cukup aktif untuk berinteraksi dengan molekul tersebut, isoprena harus berikatan dengan fosfat (Saifudin, 2014).



Gambar 2.4 Jalur utama biosintesis metabolit sekunder yang berhubungan dengan metabolisme primer
Sumber : (Lincoln & Zeiger, 2002)

2.4.3 Manfaat Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tanaman

Metabolit sekunder diketahui berperan sebagai atraktan (menarik serangga penyerbuk), pelindung stres lingkungan, pelindung hama/penyakit (fitoaleksin), tabir surya (pelindung dari sinar UV), pengatur tumbuh, dll (Marriska, 2013). Metabolit sekunder juga dikatakan memiliki aktivitas alelopati atau sifat kompetitif dengan tanaman lain. Metabolit sekunder utamanya digunakan dalam sistem pertahanan diri terhadap predator dan patogen (Leiss *et al.*,

2011). Tumbuhan menghasilkan senyawa toksik, antara lain ekskresi senyawa toksik dari kompartemen ekstraseluler, pemisahan senyawa toksik dari vakuola, biosintesis senyawa toksik dari kompartemen ekstraseluler, dan transformasi senyawa toksik menjadi bentuk inaktif (Sirikantaramas *et al.*, 2008).

Senyawa alkaloid membantu melindungi tanaman dari berbagai herbivora. Tanin, lignin, flavonoid, dan beberapa senyawa fenolik sederhana juga berfungsi sebagai pertahanan terhadap herbivora dan patogen. Selain itu, lignin secara mekanis memperkuat dinding sel, dan banyak pigmen flavonoid bertindak sebagai penarik serbuk sari dan agen penyebar benih. Banyak senyawa fenolik yang memiliki aktivitas alelopati dan dapat mempengaruhi serta merusak tanaman di sekitarnya (Mariska, 2013). Beberapa metabolit primer, seperti asam palmitat dan asam stearat, juga terlibat dalam alelopati, tetapi alelo kompleks biasanya diklasifikasikan sebagai metabolit sekunder. Ada beberapa hipotesis tentang peran metabolit sekunder dalam produksi metabolit sekunder. Misalnya penunjang kehidupan bakteri, jamur, penyakit menular pada serangga dan hewan akibat produksi antibiotik (Gudbjarnason, 1999). Metabolit sekunder juga berperan dalam memperpanjang umur (Tabarez, 2005).

Tanaman yang mampu menghasilkan metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai sumber gen ketahanan terhadap hama dan penyakit tertentu serta dapat dikembangkan sebagai biopestisida (Leiss *et al.*, 2011). Ekstrak fenolik tanaman yang resisten

menunjukkan efek penghambatan yang lebih kuat terhadap pertumbuhan *Sclerotinia ascospores* dibandingkan tanaman yang rentan (Prats et al., 2003). Kandungan tanin yang tinggi pada varietas Mutiara membuat tanaman lebih tahan terhadap lalat biji *Ophiomyia phaseoli* (Muliani, 2013). Studi oleh Rubio dan Amaria (2013) menunjukkan bahwa klon kakao tahan mengandung lebih banyak senyawa fenolik daripada klon berkekuatan sedang dan lebih rentan terhadap infeksi. Legin et al., (2009) melaporkan dalam penelitiannya bahwa mereka tidak menemukan peran penting kuersetin dan kaempferol sebagai senyawa pelindung karat pada tanaman kedelai. Hal ini terlihat dari peningkatan kandungan senyawa tersebut tidak berhubungan dengan ketahanan korosi. Namun, sementara metabolit sekunder umumnya bermanfaat bagi tumbuhan, manfaat ini bergantung pada jenis bahan aktifnya.

2.5 Elisitor Kitosan

Kitosan merupakan turunan kitin dengan rumus kimia D-glukosamin. Kitosan diperoleh dengan mengolah produk limbah cangkang, seperti udang dan kepiting, serta kapang menggunakan proses deproteinisasi, deaminasi, dan deasetilasi (Kumar, 2000). Kitosan memiliki banyak keunggulan dalam berbagai bidang, sehingga banyak industri yang menjual kitosan sesuai dengan standar kualitas kitosan. Manfaat kitosan meliputi penyerapan logam berat, aktivitas antibakteri, pelapis yang dapat dimakan, dan pemurnian air (Suptijah, 2006).

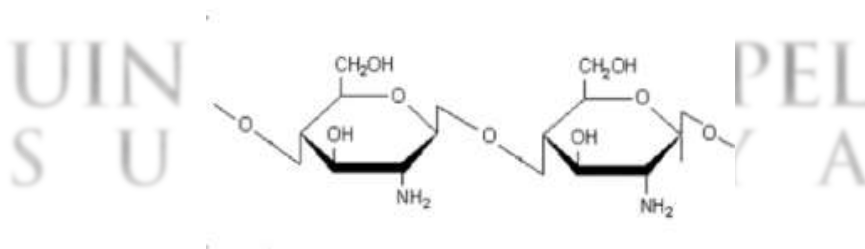
Kitosan memiliki banyak manfaat, salah satunya untuk pertanian. Manfaat penggunaan kitosan dalam bidang pertanian antara lain mendukung konversi unsur organik menjadi unsur anorganik yang merupakan sumber karbon bagi mikroorganisme, dan mempercepat proses fiksasi nitrogen (Boonlertnirum *et al.*, 2008). Selain itu, kitosan tidak beracun dan biodegradable, sehingga aman untuk digunakan. Kitosan sering digunakan sebagai pemicu yang lebih kuat dalam pengendalian penyakit tanaman daripada sebagai antibakteri atau agen toksik langsung. Toksisitas langsung tergantung pada sifat-sifat seperti konsentrasi aplikasi, berat molekul, derajat asetilasi, pelarut, nilai pH dan viskositas. Aplikasi kitosan melalui daun telah dilaporkan di banyak sistem untuk berbagai tujuan (Haryadi, 2011).

Menurut Katiyar *et al.* (2015), kitosan dapat memicu reaksi fisiologis dan biokimia sehingga biasa digunakan sebagai pembentuk sistem pertahanan diri pada tumbuhan. Kitosan mengandung gula nukleotida (N-asetil-d-glukosamin uridin difosfat (UDP-GlcNac)) yang dapat memicu reaksi biokimia yang berperan dalam aktivasi sinyal pembentuk enzim (Hadwiger, 2013). Enzim yang dihasilkan dari reaksi ini antara lain *phenylalanine ammonia lyase* (PAL) dan *tyrosine ammonia lyase* (TAL) yang berperan dalam meningkatkan aktivitas senyawa fenolik. Enzim PAL dan TAL terlibat dalam sintesis jalur fenilpropanoid. Enzim PAL bertanggung jawab untuk pembentukan dan produksi asam trans-sinamat, sedangkan enzim TAL bertanggung jawab untuk produksi asam *p-coumaric*. Asam yang dihasilkan sangat penting dalam pembentukan senyawa fenolik

seperti ester, flavonoid, kumarin dan lignin. Penggunaan kitosan dalam berbagai bidang tidak terlepas dari sifatnya yang biodegradable, tidak beracun, mudah diserap oleh tubuh dan tumbuhan, serta tidak menimbulkan efek samping (Suci, 2020).

Kitosan menekan pertumbuhan berbagai bakteri pada tanaman. Telah terbukti sangat efektif dalam menekan pertumbuhan dan perkembangan *E. coli* dalam media asam. Secara umum, mg/ml kitosan mampu menekan pertumbuhan *in vitro* banyak jamur dan oomycetes. Konversi substrat oleh kitosan diketahui dapat mendorong pertumbuhan tanaman dan menekan beberapa patogen tular tanah yang diketahui (Zyrex, 2012). Menurut Hirano *et al.* (2000) juga menyatakan bahwa perlakuan dengan kitosan 1 mg/mM meningkatkan hasil kedelai sebesar 20%.

Kitosan memiliki rumus molekul ($C_6H_{11}NO_4$). Kitosan dapat diperoleh dengan deasetilasi kitin. Kitosan juga ditemukan secara alami pada beberapa organisme.



Gambar 2.5 Struktur kimia kitosan

Sumber : (Firmansyah, 2018)

Kitosan mengatur sistem kekebalan tanaman dan menyebabkan pelepasan enzim pelindung. Selain itu, kitosan tidak hanya mengaktifkan sel, tetapi juga mengembangkan resistensi penyakit dan serangga (Doares *et al.*, 1995). Kitosan dapat berperan sebagai sumber karbon bagi

mikroorganisme tanah, mempercepat konversi senyawa organik menjadi senyawa anorganik, dan membantu akar tanaman menyerap lebih banyak unsur hara dari dalam tanah. Kitosan dipecah oleh bakteri di dalam tanah dan kemudian diserap oleh akar. Bahkan tanpa pupuk kimia, penggunaan kitosan dalam pertanian meningkatkan jumlah mikroorganisme dan proses konversi nutrisi dari organik menjadi anorganik (Boonlertnirun *et al.*, 2008).

2.6 Elisitor NaCl

Salah satu jenis garam yang dapat digunakan sebagai elisitor abiotik adalah natrium klorida. Ion Na^+ dan Cl^- dari garam mineral adalah garam yang mudah masuk ke sel tanaman melalui transpirasi dan terakumulasi baik di dalam maupun di luar sel dibandingkan dengan garam lainnya. Na^+ merupakan ion yang paling beracun bagi tanaman, sedangkan Cl^- merupakan anion yang banyak terdapat pada tanah dan air dengan kandungan garam yang tinggi. Konsentrasi internal Na^+ dan Cl^- yang berlebihan dapat merusak sel tanaman. Selain itu, peningkatan konsentrasi NaCl dapat menyebabkan tekanan osmotik, yang dapat membuat tanaman stres karena kekurangan air (Azooz & Parvaiz, 2015). Dalam kondisi kadar natrium klorida yang tinggi pada tanaman, ion natrium beracun, klorida beracun, ketidakseimbangan ion nutrisi, tingkat natrium tinggi dengan tingkat rendah kalium dan magnesium. Kemudian Cl tinggi dan NO_3 dan PO_4 rendah. Pada kondisi salinitas tinggi, air dalam tanah akan berikatan dengan NaCl sehingga air yang tersedia bagi tanaman semakin sedikit. Semakin tinggi kandungan NaCl dalam tanah, maka semakin tinggi pula tekanan osmotik dan konduktivitas listrik tanah

tersebut. Mekanisme adaptasi tanaman terhadap kandungan NaCl yang tinggi secara umum adalah sebagai berikut (Haryati, 2018):

1. Avoidance (menghindar), tanaman tidak menyerap NaCl atau NaCl diserap tetapi tanaman tahan terhadap garam tinggi (tolerance).
2. Osmotic adjustment (pengaturan osmotik), meningkatkan potensial air jaringan dengan sintesis asam amino tertentu, gula dan meningkatkan laju serapan K, Ca dan NO₃ atau akumulasi garam di vakuola.
3. Ekskresi garam, pembuangan garam melalui permukaan daun atau rambut daun.
4. Pengguguran daun bawah.

Kondisi salinitas menyebabkan perubahan struktur yang memperbaiki keseimbangan air tanaman sehingga potensial air dalam tanaman dapat mempertahankan turgor dan seluruh proses biokimia untuk pertumbuhan dan aktivitas normal.

Konsentrasi NaCl sebagai elisitor mempengaruhi aktivitas antioksidan dan pertumbuhan tanaman. Konsentrasi NaCl yang tinggi menyebabkan gangguan pertumbuhan dan produktivitas selama perkecambahan. Berdasarkan studi oleh Biswas *et al.* (2010) Semakin tinggi konsentrasi elisitor maka aktivitas antioksidannya semakin besar dan kadar fenol dan flavonoidnya semakin tinggi, namun pertumbuhannya lebih lambat.

Pengaplikasian NaCl dapat menyebabkan stres pada tanaman, mengakibatkan ketidakseimbangan antara produksi ROS dan ROS *scavenging*. Menurut Ariviani dan Rajendra (2021), di bawah tekanan, tanaman cenderung menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS

dapat merusak protein tanaman, DNA, lipid, dan makromolekul seluler penting. Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kematian sel (Ibrahim, 2016). Waktu ekstraksi adalah salah satu faktor terpenting dalam proses pemindaian. Penggunaan natrium klorida yang berlebihan dapat menyebabkan stres osmotik pada tanaman. Selain itu, natrium klorida dapat menyebabkan akumulasi ion natrium dan klorida yang beracun pada tumbuhan. Selama infus NaCl, konsentrasi elisitor (Biswas *et al.*, 2010) dan waktu perlakuan (Yan *et al.*, 2017) mempengaruhi kapasitas antioksidan tanaman. Penelitian Rathore *et al.* (2014) Untuk tanaman *Stevia rebaudiana*, penambahan 75 mM NaCl melaporkan kandungan prolin dan fenol tertinggi dicapai 22,26 g/g dan 22,42 mg/g. Dalam penelitian Nowak *et al.* (2021). konsentrasi total senyawa fenolik (TPC) dalam ekstrak lemon balm di bawah kondisi salinitas meningkat sebesar 16% dibandingkan dengan kontrol. Selain itu Hassini *et al.* (2019), mengungkapkan dalam penelitiannya bahwa tanaman senyawa fenolik total dalam daun brokoli secara nyata dipengaruhi oleh elisitor NaCl, serta mengalami peningkatan sebesar 149% terhadap tanaman kontrol. Selain itu dalam penelitian Samec *et al.* (2021), elisitor NaCl secara nyata menaikkan kandungan senyawa fenolik total pada *Brassica rapa* 5,77 mg GAE / g (daun) dan 5,80 mg GAE / g (akar), *Brassica oleracea* var. Kapita sebesar 2,44 mg GAE / g (daun) dan 0,59 mg GAE / g (akar), serta pada *Brassica oleracea* var. Acephala 4,36 mg GAE / g (daun) dan 0,50 mg GAE / g (akar) terhadap tanaman kontrol.

2.7 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh pada saat ekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati ataupun hewani, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus sesuai, kemudian proses penguapan dilakukan sampai semua atau hampir semua pelarut menguap. Sehingga massa atau serbuk yang tersisa diolah sesuai dengan standar yang berlaku (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi adalah proses penarikan komposisi kimia suatu zat terlarut dan memisahkannya dari zat yang tidak larut dengan pelarut cair. Ekstrak simplisia biasanya mengandung senyawa aktif yang larut dalam air dan senyawa yang tidak larut seperti karbohidrat, serat, dan protein. Simplisia mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, dan sebagainya. Sebagian besar komposisi kimia mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa aktif yang terkandung dalam simpleks dalam kaitannya dengan panas, udara, pH, logam berat dan logam ringan. Mengetahui senyawa aktif yang terdapat dalam simpleks dapat dengan cepat dan tepat memilih pelarut dan metode ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi bahan alam bertujuan untuk menarik komponen kimia yang ada di dalamnya. Hal ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen material ke dalam pelarut, dimulai dari lapisan permukaan yang kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Harborne, 1987). Pelarut yang baik adalah yang dapat melarutkan zat aktif dari ekstrak, tetapi juga dapat melepaskan atau memisahkan ekstrak dari senyawa lain yang tidak diinginkan. Pelarut yang disetujui untuk digunakan dalam proses ekstraksi

meliputi etanol, kloroform, air dan etanol-air, metanol, eter dan heksana (Depkes RI, 2000).

Keberhasilan suatu proses ekstraksi bergantung pada beberapa faktor, antara lain waktu ekstraksi, suhu, dan jenis pelarut yang digunakan. Semakin lama waktu penggunaan dan semakin tinggi suhu, maka semakin dekat kepolaran pelarut dengan komponen yang akan diekstraksi, dan proses ekstraksi akan semakin optimal. Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi maserasi atau perendaman, infiltrasi, corong, dan ekstraksi kontinyu (Depkes RI, 1986).

Maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam suatu pelarut. Pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif tersebut larut dan menyebabkan perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, yang menyebabkan keluarnya larutan pekat dari dalam sel (Depkes R.I., 1986). Ekstraksi maserasi memiliki prinsip penyeimbangan konsentrasi (Depkes RI, 2000).

Proses perendaman selama proses ekstraksi, biasanya digunakan toples bermulut lebar, kemudian ditambahkan pelarut dan sering dikocok selama 2–14 hari (Ansel, 1989). Penggunaan metode rendam memiliki kelebihan yaitu dapat diterapkan pada sampel yang kecil, mudah digunakan, dan memiliki alat yang lebih sederhana (List & Schmidt, 2000). Sedangkan kelemahan dari metode perendaman adalah membutuhkan waktu yang lama dan ekstraksi yang kurang efisien (Departemen Kesehatan, 1986).

Proses perendaman pada ekstraksi maserasi dibagi menjadi dua proses, yaitu maserasi dan remaserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam semua serbuk simplisia dengan pelarut pertama, kemudian serbuk diperas untuk menyimpan ekstrak pertama. Kemudian dilakukan remaserasi dengan merendam kembali simplisia dengan pelarut kedua (Depkes RI, 1986).

2.8 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki ciri berupa cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil (OH) (Julianto, 2019). Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang aktif secara biologis yang beredar luas pada tumbuhan dan disintesis melalui jalur asam sikamat pentose dan fenilpropanoid (Balasundram *et al.*, 2006). Secara struktural, senyawa fenolik mencakup banyak senyawa aromatik yang menggunakan satu atau lebih gugus hidroksil dan dapat berkisar dari molekul sederhana hingga polimer kompleks (Haminyuk *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2016). Bergantung pada jumlah gugus hidroksil fenolik yang terhubung dan elemen struktur cincin benzena, senyawa fenolik dibagi menjadi beberapa subkelompok, termasuk asam fenolik, flavonoid, tanin, dan asetilena (Singh *et al.*, 2016). Senyawa fenolik tersebut dapat mempengaruhi sifat organoleptik bahan pangan terutama tanin yang memberikan sifat *astringency* (Singh *et al.*, 2016). Golongan flavonoid meliputi flavonol, flavon, flavanon, antosianidin, dan isoflavon. Sedangkan dari golongan tanin, yang merupakan kompleks tanin dengan menggunakan protein polisakarida dan alkaloid, yang kemudian

dipecah menjadi tanin terhidrolisis dan terkondensasi. Beberapa senyawa tersebut adalah yang larut dalam air, antara lain asam fenolat dan flavonoid, sedangkan senyawa yang tidak larut dalam air adalah tanin pekat (Haminiuk *et al.*, 2012).

Banyaknya variasi gugus yg mungkin tersubstitusi dalam kerangka primer fenol dapat mengakibatkan banyaknya jenis dari golongan fenolik . golongan senyawa fenolik memiliki jenis senyawa lebih dari 8.000 jenis. Salah satu metode pengklasifikasinya yaitu dengan didasarkan pada jumlah karbon pada molekul (Seafast Centre, 2012).

Tabel 2.3 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon

No.	Struktur	Kelas
1.	C ₆	Fenolik sederhana
2.	C ₆ -C ₁	Asam fenolat dan senyawa yang berhubungan lainnya
3.	C ₆ -C ₂	Asetofenon dan asam fenilasetat
4.	C ₆ -C ₃	Koumarin, isokoumarin, dan kromon
5.	C ₁₅	Kalkon, auron, dihidrokalkon
6.	C ₁₅	Flavan
7.	C ₁₅	Flavon
8.	C ₁₅	Flavanon
9.	C ₁₅	Flavanolol
10.	C ₁₅	Antosianidin
11.	C ₁₅	Antosianin
12.	C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzofenon, xanton, stilben
13.	C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Kuinon
14.	Lignan, neolignan	Dimer atau oligomer
15.	Lignin	Polimer
16.	Tanin	Oligomer atau polimer
17.	Phlobaphene	Polimer

Sumber : (Vermeris & Nicholsom, 2006).

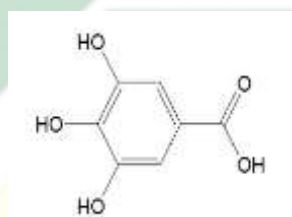
Semua senyawa fenolik menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV karena senyawa ini berupa senyawa aromatik. Secara khas senyawa fenolik dapat menunjukkan geseran batokrom pada spektrumnya bila ditambahkan dengan basa. Oleh karena itu dalam identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenolik dengan menggunakan spektrofotometri perlu dilakukan penambahan larutan basa (Harborne, 1987).

Senyawa fenolik dari gugus asam fenolik adalah fenol yang tersubstitusi dengan gugus karboksil. Asam galat adalah salah satu asam fenolat. Asam galat adalah trifenol yang biasa ditemukan pada daun teh dalam bentuk esterifikasi dengan katekin. Selain itu, gugus fenolik dapat mencakup senyawa dengan gugus selain gugus karboksil, yaitu aldehida, aldehida juga dapat terdistribusi pada gugus fenol. Salah satu anggota dari senyawa ini yaitu vanillin. Senyawa vanillin berasal dari biji vanili yang merupakan rasa yang paling dikenal di dunia (Seafast Center, 2012).

Senyawa fenolik adalah senyawa yang dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap cekaman lingkungan. Senyawa fenolik bertindak sebagai perisai terhadap sinar UV-B, kematian sel, melindungi DNA dari dimerisasi serta kerusakan yang terjadi dalam sel (Lay & Lim, 2011). Komponen senyawa fenolik diketahui berperan penting sebagai agen profilaksis dan terapeutik untuk berbagai penyakit patologis seperti aterosklerosis, diabetes, dan kanker disfungsi otak (Garg *et al.*, 2016). Kelompok terbesar dari senyawa fenolik adalah flavonoid. Setiap tanaman biasanya mengandung satu atau lebih senyawa dari golongan flavonoid dan memiliki komposisi kandungan flavonoid yang terdistribusi didalamnya

(Indrawati & Razimin, 2013). Flavonoid ditemukan di hampir setiap bagian tanaman, termasuk daun, batang, bunga, akar, kulit, serbuk sari, nektar, buah dan biji (Neldaati *et al.*, 2013).

Asam galat atau asam 3,4,5-trihidroksibenzoat adalah salah satu golongan dari kelompok senyawa fenolik. Gugus fungsi dari struktur asam galat yang terlibat dalam aktivitas antioksidan adalah tiga gugus hidroksil (Lopez *et al.*, 2003).



Gambar 2.6 Struktur asam galat
Sumber : (Eko, 2003)

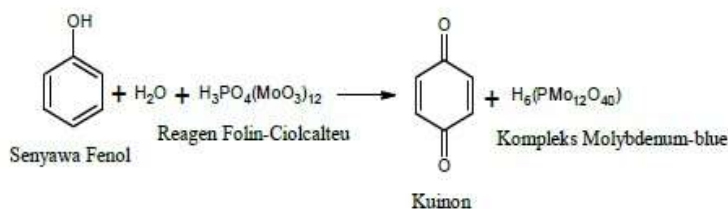
Asam galat (Gambar 2.6) sering digunakan dalam banyak penelitian yang berkaitan dengan penentuan total fenol sebagai ekuivalen total fenol pada bahan tanaman yang diuji (Javanmardi *et al.*, 2003). Asam galat digunakan sebagai standar penentuan fenol total karena asam galat terbentuk dari asam 3-dehidroshikimat melalui jalur shikimat melalui serangkaian tahapan reaksi kimia yang menghasilkan asam amino aromatik yaitu *L-fenilalanin*, *L-tirosin* yang bersifat primer. struktur yang ada dalam asam sinamat, flavonoid, kumarin dan lignan (Dewick, 2001). Asam galat juga merupakan antioksidan alami yang sering digunakan dalam pengawet makanan (Lopez *et al.*, 2003).

2.9 Metode Folin-Ciocalteu

Total fenol dalam suatu sampel dapat diukur secara kolorimetri menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan dinyatakan sebagai ekuivalen

asam galat (Jasson, 2005). Reagen *Folin-Ciocalteu* adalah larutan kompleks yang terdiri dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat heterosiklik. Pereaksi ini terdiri dari air, natrium molibdat, natrium tungstat, asam fosfat, litium, asam klorida, sulfat, dan bromin (Nurhayati *et al.*, 2012).

Prinsip dasar metode *Folin-Ciocalteu* adalah oksidasi gugus hidroksil fenolik. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* mengoksidasi fenol dan mereduksi asam heterosiklik menjadi kompleks *molibdenum-tungsten* (MoW). Pereaksi *Folin-Ciocalteu* bereaksi dengan gugus hidroksil fenolik dan membentuk kompleks asam *fosfotungstat-fosfomolibdat*, yang menyebabkan perubahan warna biru selama reaksi (Jasson, 2005). Warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan semakin pekat tergantung konsentrasi senyawa fenolik dalam larutan uji dan akan menunjukkan serapan yang kuat pada 760 nm (Blainski *et al.*, 2013). Metode *Folin-Ciocalteu* sederhana, sensitif dan komprehensif. Karena prosedur ini dilakukan dalam lingkungan basa, natrium karbonat digunakan untuk menciptakan lingkungan basa saat mengukur kandungan fenol menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* (Prior *et al.*, 2005).



Gambar 2.7 Reaksi senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu

Sumber : (Azlim dkk., 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode experimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perlakuan dalam penelitian ini yaitu perlakuan elisitor biotik kitosan, elisitor abiotik Natrium Klorida (NaCl), perlakuan kombinasi elisitor kitosan dan NaCl dengan masing-masing 3 variasi konsentrasi (Tabel 3.1). Untuk mengetahui jumlah sampel ulangan minimal yang akan digunakan, penelitian ini menggunakan rumus federer sebagai berikut:

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

$$(16-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$15n - 15 \geq 15$$

$$15n \geq 30$$

$$n \geq 2$$

Penelitian ini menggunakan jumlah ulangan 4 untuk setiap kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ini disajikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Rancangan penelitian

No.	Perlakuan	Ulangan			
		1	2	3	4
1.	Ba	Ba1	Ba2	Ba3	Ba4
2.	Bb	Bb1	Bb2	Bb3	Bb4
3.	Bc	Bc1	Bc2	Bc3	Bc4
4.	Aa	Aa1	Aa2	Aa3	Aa4
5.	Ab	Ab1	Ab2	Ab3	Ab4

6.	Ac	Ac1	Ac2	Ac3	Ac4
7.	BaAa	BaAa1	BaAa2	BaAa3	BaAa4
8.	BaAb	BaAb1	BaAb2	BaAb3	BaAb4
9.	BaAc	BaAc1	BaAc2	BaAc3	BaAc4
10.	BbAa	BbAa1	BbAa2	BbAa3	BbAa4
11.	BbAb	BbAb1	BbAb2	BbAb 3	BbAb 4
12.	BbAc	BbAc1	BbAc2	BbAc3	BbAc4
13.	BcAa	BcAa1	BcAa2	BcAa3	BcAa4
14.	BcAb	BcAb1	BcAb2	BcAb3	BcAb4
15.	BcAc	BcAc1	BcAc2	BcAc3	BcAc4
16.	C	C1	C2	C3	C4

Keterangan :

1. Ba : Elisitor biotik kitosan 0,02%
2. Bb : Elisitor biotik kitosan 0,04%
3. Bc : Elisitor biotik kitosan 0,06%
4. Aa : Elisitor abiotik NaCl 0,5%
5. Ab : Elisitor abiotik NaCl 1,0%
6. Ac : Elisitor abiotik NaCl 1,5%
7. BaAa : Kombinasi Kitosan 0,02% + NaCl 0,5%
8. BaAb : Kombinasi Kitosan 0,02% + NaCl 1,0%
9. BaAc : Kombinasi Kitosan 0,02% + NaCl 1,5%
10. BbAa : Kombinasi Kitosan 0,04% + NaCl 0,5%
11. BbAb : Kombinasi Kitosan 0,04% + NaCl 1,0%
12. BbAc : Kombinasi Kitosan 0,04% + NaCl 1,5%
13. BcAa : Kombinasi Kitosan 0,06% + NaCl 0,5%
14. BcAb : Kombinasi Kitosan 0,06% + NaCl 1,0%
15. BcAc : Kombinasi Kitosan 0,06% + NaCl 1,5%
16. C : Kitosan 0% dan NaCl 0%

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di *green house* yang bertempat di Desa Birowo Kecamatan Binangun Kabupaten Blitar. Sedangkan untuk pengujian kadar senyawa fenolik dilakukan di laboratorium terintegrasi UIN Sunan Ampel

Surabaya. Penelitian dilakukan selama 8 bulan yaitu pada bulan Maret – Oktober tahun 2022.

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

No	Kegiatan	Waktu Penelitian (2022-2023)							
		Jan	Feb	Mar	Apr-Jul	Jul	Agt-Sep	Okt-Des	Jan
1.	Tahapan Persiapan Penelitian								
	a. Penyusunan dan Pengajuan Judul	■							
	b. Pengajuan Proposal		■						
2.	Tahapan Penelitian								
	a. Persiapan Penanaman			■					
	b. Penanaman				■				
	c. Pemanenan					■			
	d. Pengujian Senyawa Fenolik Total						■		
3.	Tahapan Penyusunan Skripsi Analisis Data								■
4.	Tahapan Pelaporan Hasil Penelitian								
	a. Sidang Skripsi								■

(Data Pribadi, 2022)

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Buku tulis, pulpen, penggaris, *polybag* 15x15, gunting, *cutter*, ember, semprotan tanaman, pisau, labu ukur, botol, tabung reaksi, spatula, spektrofotometer uv-vis, alat tulis, blender, timbangan, toples, *rotary evaporator*, plastik, pipet, timbangan digital, neraca analitik, baskom, paranet 40%, kertas saring, kertas label.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman sambung nyawa, media tanam yang diproduksi oleh Trubus Sejati, air, kitosan merek Monodon, aquades, asam asetat, NaCl merek Merck, etanol 96%, FeCl₃, Natrium karbonat, folin-ciocalteau, asam galat, aquades.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Variasi konsentrasi dari elisitor biotik kitosan (0,02%, 0,04%, dan 0,06%), elisitor abiotik NaCl (0,5%, 1,0%, dan 1,5%), dan kombinasi kitosan dan NaCl ((0,02% + 0,5%), (0,02% + 1,0%), (0,02% + 1,5%), (0,04% + 0,5%), (0,04% + 1,0%), (0,04% + 1,5%), (0,06% + 0,5%), (0,06% + 1,0%), (0,06% + 1,5%)).
2. Variabel Terikat : Pertumbuhan (jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, biomassa segar dan biomassa kering) dan kadar senyawa fenolik total tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) (KTF_e).
3. Variabel Kontrol : Tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*), media tanam, intensitas cahaya, dan penyiraman.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Identifikasi Tumbuhan

Tumbuhan diamati morfologinya mulai dari batang, daun, akar, bunga dan biji. Kemudian hasil pengamatan dibandingkan dengan karakteristik morfologi tumbuhan sambung nyawa (*G. procumbens*) sesuai dengan literatur. Sumber literatur menggunakan Jurnal

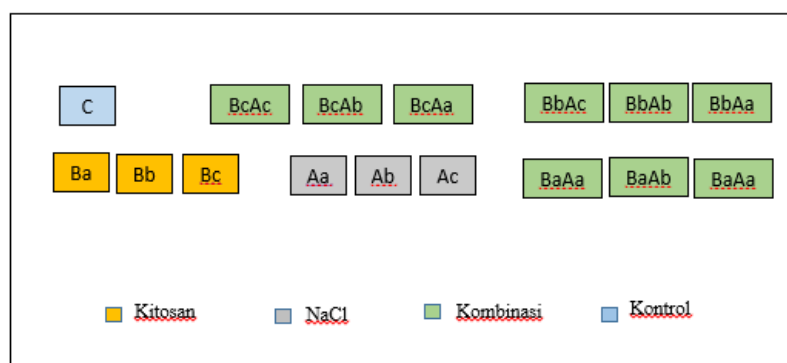
penelitian “A Revision of *Gynura* (Asteraceae: Senecioneae)” yang ditulis oleh Vanijajiva dan Kadereit (2011).

3.5.2 Penanaman

1. Persiapan Tanaman

Tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) dipotong bagian batang tengah dengan panjang 10 cm, dan bagian ujung bawah dipotong meruncing dengan sudut pemotongan miring 45°. Disisakan dua helai daun dan helai daun dipotong setengah di bagian ujungnya. Pemotongan batang bagian tengah dimulai pada batang yang berjarak 10 cm dari pucuk sampai 20 cm. Namun apabila batang yang dipilih kurang dari 30 cm, maka pemotongan dilakukan dengan memotong batang 10 cm ke arah bawah (mengikut sertakan batang bawah), hal ini didasarkan pada penelitian Ratna dan Hanik (2020), bahwa pemilihan batang terbaik tanaman *Gynura procumbens* untuk stek batang adalah bagian tengah dan bawah.

Selanjutnya pada bagian mata ruas tempat duduk tangkai daun diberi kepalan tanah. Selanjutnya ditanam dalam media tanam hingga dibawah mata ruas tempat daun kedua dari bawah. Persiapan tanaman sebelum adanya perlakuan dilakukan dengan pemeliharaan tanaman yaitu dengan dilakukannya penyiraman sebanyak 75 ml air setiap hari, penyiangan serta penempatan tanaman yang tidak dipaparkan dengan sinar matahari secara langsung selama 14 minggu di dalam green house (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Tata letak penelitian
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2021)

3.5.3 Pembuatan Larutan Elisitor

1. Pembuatan larutan kitosan

Sebanyak 50 ml larutan asam asetat dimasukkan kedalam labu ukur 1000 mL. Selanjutnya ditambahkan dengan aquades hingga mencapai batas ukur 1000 mL untuk mendapatkan larutan asam asetat 5%. Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi kitosan 0,02%, 0,04%, dan 0,06%. Untuk membuat variasi konsentrasi kitosan 0,02% , sebanyak 0,2 gr kitosan dimasukkan kedalam labu ukur 1000 mL, selanjutnya ditambahkan larutan asam asetat 5% hingga batas ukur 1000 mL. Konsentrasi larutan kitosan 0,04% dan 0,06% juga dibuat dengan cara yang sama, yaitu berturut-turut kitosan sebanyak 0,4 gr dan 0,6 gr dilarutkan kedalam asam asetat 5%.

2. Pembuatan Larutan NaCl

Sebanyak 5 gr, 10 gr, dan 15 gr NaCl masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 1000 mL dan ditambahkan dengan aquades hingga batas ukur untuk membuat larutan NaCl dengan konsentrasi 0,5%, 1,0%, dan 1,5%.

3.5.4 Pengaplikasian Elisitor

Pengaplikasian elisitor pada tanaman sambung nyawa (*G. procumbens*) menggunakan metode penyemprotan. Penyemprotan dilakukan sebanyak 3 kali. Penyemprotan pertama dilakukan pada tanaman yang telah berumur 4 MST (minggu setelah tanam). Penyemprotan selanjutnya dilakukan pada 7 MST dan 10 MST dalam waktu 14 minggu penanaman.

3.5.5 Pemanenan

Tanaman dipanen saat setelah 14 minggu penanaman. Selanjutnya dilakukan pengukuran pada tanaman dengan parameter jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, panjang akar, jumlah akar, biomassa segar, biomassa kering dan kadar fenolik total.

3.5.6 Persiapan Ekstrak

Dilakukan pencucian sampel akar dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada tanaman.

Tanaman dipotong dan dikeringkan anginkan di tempat teduh yang tidak berkontak langsung dengan sinar matahari selama 2 minggu, kemudian dihaluskan menggunakan blender menjadi simplisia.

3.5.7 Analisis Kadar Senyawa Fenolik Total

1. Ekstraksi Sampel

Simplisia dari sampel tanaman sambung nyawa yang ditimbang sebanyak 3 gr. Selanjutnya sampel diekstrak dengan metode maserasi yakni dengan melakukan perendaman dengan 30 ml etanol 70% dan sesekali diaduk, perendaman dilakukan selama

3 hari. Dilakukan maserasi dengan 15 mL etanol 70%, kemudian setelah 2 hari ditambahkan dengan 15 ml etanol 70% (remaserasi) untuk mendapatkan ekstrak yang lebih banyak. Selanjutnya ekstrak diuapkan dan dipekatkan dengan penguapan manual.

2. Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan ditetesi dengan larutan FeCl_3 1%. Menurut Ahmad, dkk (2015), Apabila larutan sampel yang diberi larutan FeCl_3 1% berubah berwarna menjadi hijau, merah, biru, ungu, atau hitam, maka menandakan terdapatnya senyawa fenolik dalam sampel.

3. Analisis Kuantitatif Senyawa Fenolik

Kadar fenolik total diukur dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Ekstrak sebanyak 1 mL diencerkan dengan pengenceran bertingkat 10^2 , selanjutnya diambil 1 mL sampel ditambahkan 3 mL etanol 96% kedalam labu ukur 10 mL dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 400 μL reagen *Folin-Ciocalteu*, dihomogenkan selama 15 detik dan didiamkan selama 8 menit setelahnya. Selanjutnya ditambahkan 4 mL Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7%, dan dihomogenkan, kemudian ditambahkan aquades hingga batas labu ukur 10 mL dan dihomogenkan dengan menggoyangkan labu ukur selama 30 detik, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang dan kondisi gelap. Selanjutnya

dilakukan perhitungan kadar senyawa fenolik total dengan spektrofotometer Uv-Vis.

a. Pengukuran Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar dibuat dari larutan induk asam galat 100 ppm. Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang asam galat sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol 96% sampai mencapai ambang batas labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm.

Selanjutnya diambil 1 mL larutan induk asam galat untuk pembuatan larutan standar. Dalam pembuatan masing-masing konsentrasi pembuatan larutan standar 0, 10, 20, 30, 40, 50 ppm dilakukan dengan mengambil 1 mL kemudian ditambahkan 3 ml etanol 96% dan 400 μ L reagen *Folin-Ciocalteu* dihomogenkan lalu didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4 mL Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7%, dan dicukupkan dengan akuades hingga ambang batas labu ukur 10 mL dan dihomogenkan dengan vortex. Masing-masing konsentrasi larutan baku asam galat tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan. Setelah diinkubasi, larutan baku standar asam galat diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum.

Penentuan panjang gelombang maksimal dari asam galat dilakukan dengan mengukur larutan asam galat pada seluruh konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm pada range panjang gelombang 400-800 nm menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ)

Penentuan panjang gelombang maksimal dari asam galat dilakukan dengan mengukur larutan asam galat pada seluruh konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm pada range panjang gelombang 400-800 nm menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis.

c. Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar dibuat dengan memplotkan larutan standar kadar asam galat (ppm) sebagai (X) dan hasil serapan atau absorbansi yang diperoleh dari hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer Uv-Vis sebagai (Y) dalam persamaan regresi linear ($y = ax + b$).

d. Penentuan Kadar Fenolik Total

Konsentrasi senyawa fenolik diketahui dengan mensubstitusikan hasil dari absorbansi masing-masing sampel ekstrak sambung nyawa kedalam persamaan regresi linear pada variabel (Y) dan hasil diketahui melalui nilai (X). Selanjutnya dihitung nilai kadar fenolik total melalui rumus sebagai berikut :

$$KTF_e = \frac{V \cdot X \cdot FP}{gr \text{ Ekstrak}}$$

Keterangan :

KTF_e : Kadar Total Fenolik Ekstrak

V : Volume larutan sampel (mL)

X : Konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel
(mg/mL)

FP : Faktor pengenceran

g ekstrak : berat ekstrak yang digunakan

Nilai yang diperoleh merupakan ekuivalen miligram asam galat dalam tiap gram ekstrak (mgGAE (*Galic Acid Equivalent*)/gr.

3.6. Analisis Data

Data hasil penelitian mencakup jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, panjang akar, jumlah akar, biomassa segar, biomassa kering dan kadar fenolik total dianalisis dengan uji statistik melalui aplikasi spss 16.0. Uji statistik dilakukan dengan uji *one way anova* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata antar kelompok sampel. Sebelum dilakukan uji *one way anova*, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas menggunakan *shapiro-wilk*, karena jumlah data ≤ 100 . Jika nilai sig. $> 0,05$, maka data berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji *one way anova*. Namun jika sebaliknya maka dapat dilakukan uji alternatif statistik *kruskal-wallis*. Jika nilai sig. $< 0,05$ pada uji *one way anova*, maka dapat dilakukan uji lanjutan yaitu uji DMRT (*Duncan's New Multiple Range Test*) untuk mengetahui perbedaan nilai sampel antara kelompok secara nyata.

Namun apabila hasil uji alternatif statistik *kruskal-wallis* p-value $<0,05$, maka dapat dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan secara nyata.



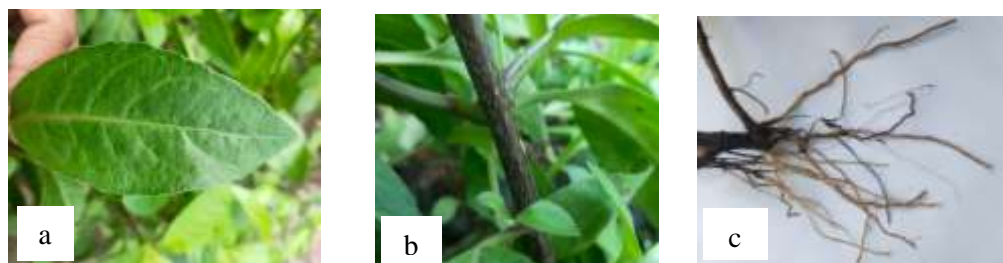
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Tumbuhan Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi tanaman sambung nyawa yang akan digunakan sebagai objek penelitian melalui metode perbanyakan stek batang. Identifikasi merupakan kegiatan untuk mengetahui atau mengenali suatu spesies tumbuhan. Proses identifikasi ini terdiri dari menentukan nama tumbuhan dan menempatkannya dalam sistem klasifikasi yang benar dengan mendasarkan pada jurnal penelitian yang dilakukan oleh Vanijajiva & Kadereit (2011). Klasifikasi adalah susunan tingkat taksonomi organisme yang digunakan untuk memudahkan pengelompokan makhluk hidup (Hartono dkk., 2020). Menurut Suraya (2019), identifikasi dan klasifikasi ini dilakukan dengan mengamati bentuk atau ciri tumbuhan. Identifikasi pada penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang akan digunakan sebagai objek penelitian ini benar dari spesies *Gynura procumbens*. Diketahui morfologi dari sambung nyawa yang digunakan (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. Morfologi Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) a) Daun; b) Batang; c) Akar

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Morfologi daun pada tanaman sambung nyawa (Gambar 4.1 a) yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bentuk lonjong berwarna hijau dengan tekstur permukaan yang halus dan sedikit berbulu. Bagian pangkal daun membulat, sedangkan bagian ujung meruncing dan bagian tepinya bergerigi. Panjang daun berkisar 2-6 cm, lebar daun sekitar 1,5-5 cm. Letak daun berselang-seling, dan termasuk kedalam jenis daun tunggal. Daun memiliki tangkai dan letak tumbuhnya berada pada batang. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Vanijajiva & Kadereit (2011), daun *Gynura procumbens* memiliki bentuk yang sangat bervariasi, termasuk kedalam jenis daun tunggal (simple), berbentuk *linear-lanceolate* atau lanset dimana bentuk daun melebar kearah pangkal meruncing membentuk tangkai. biasanya *exauriculate* (tidak bertelinga) dan *glabrescent* (tidak berambut). Tepi daun *crenate* (beringgitan). Letak daun yang berseling dengan susunan *basal rosette*, dan peletakan daun *piolate*, daun bertangkai (*petiolate*) dengan panjang 1-10 cm dan terdapat helai daun. Daun berwarna hijau pucat sampai hijau. Panjang daun 1-11 cm dan lebar 0,5-6 cm. Keberadaan daun sangat padat dan jarang terjadi penggundulan.

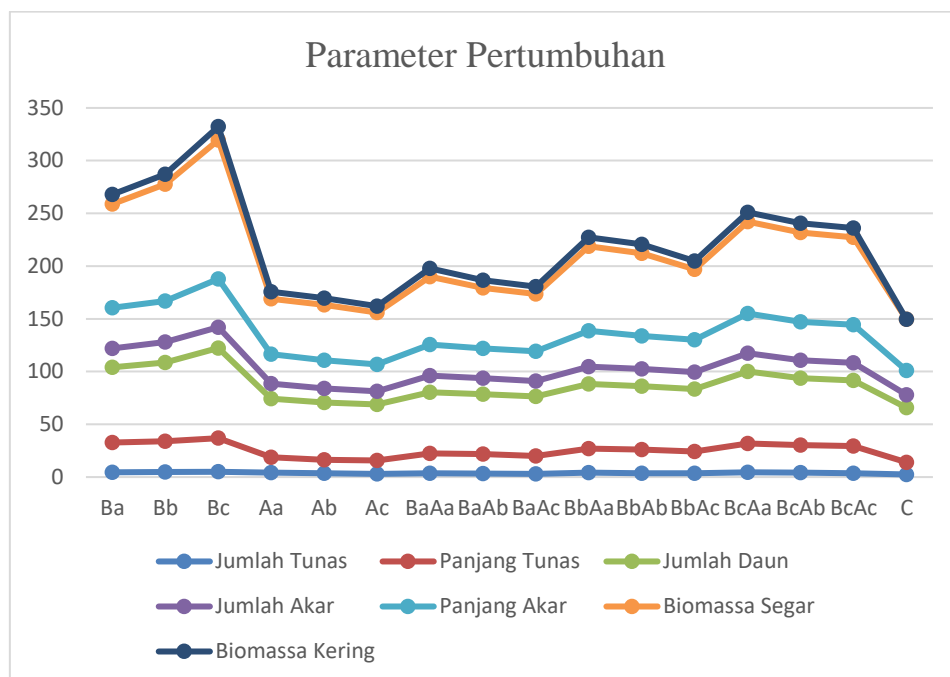
Batang *Gynura procumbens* (Gambar 4.2 b) berwarna ungu dan memiliki karakter berdaging. Bagian batangnya juga bersudut dengan banyak cabang dan nodus pendek mulai dari akar hingga pucuk. Bagian batang kuat dan bentuk penampang bulat. Pada saat muda batang tumbuhan sambung nyawa berwarna ungu dengan bintik-bintik berwarna hijau dan berwarna coklat pada saat menua. Tanaman ini tumbuh secara vertikal memanjat namun terkadang ujungnya runtuh dan dapat membentuk akar. Akar sambung

nyawa merupakan jenis akar serabut (Gambar 4.1 c). Menurut Vanijajiva & Kadereit (2011), *Gynura procumbens* memiliki batang yang kuat dan tumbuh memanjat, kemudian untuk jenis akar yaitu akar serabut. dalam penelitian Vanijajiva & Kadereit (2011), juga menyebutkan bahwasannya *Gynura procumbens* memiliki bunga dengan jenis bunga majemuk perbungaan sederhana terbatas (*cymose malai*), kelopak bunga berwarna kuning, jingga merah atau ungu dengan anther yang memanjang. Perbungaan dan masa perbuahan terjadi sepanjang tahun. Namun identifikasi pada penelitian ini tidak menemukan adanya bunga ataupun buah pada tanaman. Menurut Santoso (2019), Periode berbunga pada bulan Januari sampai Desember, namun di pulau jawa perbungaan jarang dijumpai pada sambung nyawa.

4.2 Pengaruh Elisitor Terhadap Pertumbuhan Tanaman Sambung Nyawa

Pada penelitian ini diketahui terdapat perbedaan hasil pengukuran pada masing-masing perlakuan elisitasi pada tanaman sambung nyawa. Hal tersebut terlihat dari morfologi tanaman dengan perlakuan elisitasi yang terlihat lebih besar dibandingkan dengan tanpa perlakuan (kelompok kontrol).

Adapun untuk mengetahui pertumbuhan tanaman pada perlakuan elisitasi yaitu melalui beberapa pengukuran parameter pertumbuhan, seperti jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, biomassa segar, biomassa kering yang dilakukan saat setelah 14 minggu penanaman. Pengaplikasian elisitor dilakukan sebanyak 3 kali penyemprotan yaitu saat tanaman sambung nyawa berumur 4 MST (minggu setelah tanaman), 7 MST dan 10 MST. Hasil parameter pertumbuhan tanaman sambung nyawa disajikan pada tabel Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Grafik Parameter Pertumbuhan Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Hasil pengukuran parameter pertumbuhan pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh perlakuan kitosan, NaCl, dan kombinasi mendapatkan hasil parameter pertumbuhan yang lebih tinggi dari pada kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian Suptijah dkk (2010), pengaplikasian kitosan pada tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan perolehan berat segar dan berat kering dengan bobot masing-masing 74,1 gr dan 6,9 gr, yang secara keseluruhan lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Selain itu pada penelitian Santoso dkk (2012) juga menyebutkan bahwa seluruh konsentrasi perlakuan NaCl berpengaruh terhadap hasil jumlah akar, panjang akar, panjang tunas, banyak tunas dan biomassa segar pada tanaman *Solanum melongena* yang lebih tinggi dari kontrol.

Hasil data parameter pertumbuhan dari seluruh perlakuan diuji statistik menggunakan SPSS 16.0. Analisis statistik pada hasil pengukuran parameter pertumbuhan menggunakan *One Way Anova* dan *Kruskal-Wallis*. Parameter yang diuji dengan *One Way Anova* diantaranya panjang tunas, panjang akar, dan biomassa kering. Diketahui parameter dengan uji *One Way Anova* memperoleh $P\text{-value} > \alpha$ (Lampiran 1), sehingga dinyatakan bahwa ketiganya tidak berbeda secara signifikan. Parameter yang diuji menggunakan *Kruskal-Wallis* diantaranya yaitu jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, dan biomassa segar. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dari seluruh parameter memiliki $P\text{-value} > \alpha$ (Lampiran 2), kecuali parameter biomassa segar dengan nilai $P\text{-value} 0,001 < \alpha$ (Lampiran 2), sehingga hanya parameter biomassa segar saja yang berbeda secara signifikan antar kelompok perlakuan. Data biomassa segar selanjutnya diuji menggunakan uji lanjutan *Man-Whitney*. Berikut merupakan data hasil pengukuran uji lanjutan *Man-Whitney* pada tabel 4.2.

Tabel 4.1 Uji Man-Whitney Biomassa Segar

P	Kelompok Perlakuan														
	Bb	Bc	Aa	Ab	Ac	Ba Aa	Ba Ab	Ba Ac	Bb Aa	Bb Ab	Bb Ac	Bc Aa	Bc Ab	Bc Ac	C
Ba	1,00	0,38	0,24	0,02*	1,00	0,02*	0,02*	0,01*	0,01*	0,08	0,08	0,56	0,24	1,00	0,02*
Bb		0,24	0,38	0,24	0,77	0,02*	0,03*	0,06	0,06	0,24	0,08	0,77	0,55	0,65	0,02*
Bc			0,08	1,00	0,24	0,02*	0,02*	0,02*	0,02*	0,08	0,04*	0,24	0,77	0,24	0,02*
Aa				0,14	0,38	0,30	0,46	0,30	0,55	0,76	0,88	0,46	0,14	0,56	0,30
Ab					0,08	0,02*	0,02*	0,02*	0,02*	0,02*	0,02*	0,08	0,14	0,11	0,02*
Ac						0,04	0,08	0,08	0,08	0,08	0,04*	0,46	0,38	1,00	0,04*
BaAa							0,55	0,55	0,30	0,24	0,55	0,08	0,02*	0,04	0,77
BaAb								0,88	0,65	0,37	0,77	0,11	0,02*	0,11	0,46
BaAc									0,64	0,24	0,66	0,08	0,01*	0,13	0,55
BbAa										0,37	0,88	0,10	0,01*	0,13	0,30
BbAb											0,77	0,36	0,06	0,24	0,24
BbAc												0,24	0,02*	0,08	0,30
BcAa													0,24	1,00	0,08
BcAb														0,56	0,02*
BcAc															0,04*
C															

(Data Pribadi, 2022) Keterangan : Tanda (*) : berbeda secara nyata ($P\text{-value} < \alpha$)

Hasil uji analisis lanjutan *Man-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok kontrol memiliki hasil terbanyak yang berbeda secara nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 4.1), terutama pada seluruh kelompok kitosan, yang mana seluruh konsentrasi perlakuan berbeda secara nyata dengan kontrol. Pada perlakuan NaCl hanya perlakuan Ab dan Ac, sedangkan pada perlakuan kombinasi hanya pada perlakuan konsentrasi tertinggi saja yaitu BcAc. Hal ini menunjukkan bahwa rerata biomassa segar dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi elisitor yang digunakan.

Berdasarkan gambar 4.2 menunjukkan bahwa perbedaan jenis dan konsentrasi elisitor yang digunakan mempengaruhi hasil parameter pertumbuhan tanaman sambung nyawa. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka semakin tinggi parameter pertumbuhan yang di dapat. Berbeda dengan perlakuan NaCl, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin rendah parameter pertumbuhan yang diperoleh. Pada perlakuan kitosan, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi hasil parameter pertumbuhan yang diperoleh. Hasil tertinggi parameter pertumbuhan pada elisitor kitosan diperoleh kelompok kitosan dengan konsentrasi tertinggi yaitu Bc (0,06%). Diketahui jumlah tunas memperoleh sebanyak 5, panjang tunas 31,87 cm, jumlah daun 85,50, jumlah akar 19,75, panjang akar 45,75 cm, biomassa segar 131,75 gr, dan biomassa kering 12,62 gr. Hal ini sesuai dengan penelitian Pirbouti *et al.* (2017), pengaplikasian kitosan konsentrasi tertinggi yaitu 0,4 gr/L pada tanaman *Ocimum ciliatum* dan *Ocimum basilicum* memperoleh hasil parameter pertumbuhan terbaik dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Kitosan memiliki gugus amino

yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sambung nyawa melalui proses pembelahan sel.

Menurut Mawgoud (2010), di dalam kitosan terdapat gugus amino yang dapat mendorong proses organogenesis dan pembelahan sel tanaman. Uthairatanakij, *et al* (2007), menyebutkan bahwa pemberian kitosan pada tanaman mampu meningkatkan pensinyalan biosintesis fitohormon yaitu giberelin dan auksin. Kitosan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui pemberian sinyal biosintesis auksin jalur triptofan independen. IAA atau auksin dibiosintesis dari asam amino oleh prekursor triptofan dengan bantuan enzim IAA-oksidadase. Auksin ini banyak ditemukan dan terdistribusi dalam jaringan aktif (jaringan maristem) misalnya pada daerah tunas, daun muda dan buah. IAA merupakan contoh auksin endogen yang terbentuk dari senyawa triptofan. Triptofan merupakan senyawa yang terdapat pada tanaman yang memiliki inti indole. Triptofan dirubah menjadi asam indol piruvat dan indole-3-acetaldehyde, kemudian terbentuk menjadi IAA. Namun proses perubahan tersebut masih belum diketahui dengan jelas mekanismenya (Uthairatanakij *et al*,2007). Sasmita & Haryanto (2016), juga menyebutkan dalam penelitiannya bahwa kitosan mampu meningkatkan jumlah daun, jumlah akar, klorofil, dan ketersediaan asam amino bagi tanaman karena kitosan mengandung hormon pertumbuhan seperti hormon auksin (IAA), sitokinin (zeatin kinetin) dan giberelin (GA3).

Pada perlakuan NaCl, semakin tinggi konsentrasi NaCl yang digunakan maka semakin rendah hasil parameter pertumbuhan yang diperoleh (Gambar 4.2). Hasil parameter terbaik diperoleh kelompok Ac (0,5%) konsentrasi NaCl

terendah dengan jumlah tunas 4,25, panjang tunas 14,45 cm, jumlah daun 55,60, jumlah akar 14,25, panjang akar 27,97 cm, biomassa segar 52,50 gr, dan biomassa kering 6,62 gr (Gambar 4.2). Hal ini sesuai dengan penelitian Santoso dkk (2012), NaCl dengan konsentrasi terendah (5%) menghasilkan panjang tunas, jumlah akar, dan panjang akar tertinggi dari pada perlakuan lainnya, sedangkan hasil terendah diperoleh kelompok konsentrasi NaCl tertinggi. NaCl dapat memicu cekaman yang menjadikan tanaman dalam kondisi stres. Stres pada tanaman dapat memicu peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*), yang dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan sel. Menurut Dong dkk. (2010) meningkatnya kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada sel dapat menyebabkan pengikatan langsung enzim katalase maupun makromolekul lain seperti protein dan lipid.

Menurut Ariviani & Rajendra (2021), di bawah tekanan, tanaman cenderung menghasilkan ROS. ROS dapat merusak protein tanaman, DNA, lipid, dan makromolekul seluler penting. Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kematian sel (Ibrahim, 2016). Menurut Katsuhara *et al.* (1996), ada dua kemungkinan alasan untuk mengurangi pertumbuhan akar di bawah cekaman garam. Pertama adalah hilangnya tekanan turgor pertumbuhan sel karena potensi osmotik media nutrisi lebih rendah dari potensi osmotik di dalam sel, dan yang kedua disebabkan oleh kematian sel. Namun hasil dari parameter pertumbuhan seluruh konsentrasi NaCl lebih tinggi dari kelompok kontrol, sehingga NaCl juga memberikan pengaruh terhadap perbaikan pertumbuhan tanaman sambung nyawa.

Pada perlakuan NaCl hasil seluruh variasi konsentrasi NaCl lebih tinggi dari kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian Santoso dkk (2012), seluruh konsentrasi NaCl menghasilkan panjang tunas, jumlah akar, dan panjang akar yang lebih tinggi dari pada perlakuan kontrol. NaCl terdiri dari unsur Natrium dan Klorida. Unsur mikro yang esensial bagi tumbuhan diantaranya Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, B dan Cl, tetapi dalam jumlah kecil. Secara umum, fungsi unsur hara mikro adalah sebagai penyusun jaringan tanaman, berperan sebagai perangsang (stimulan), membantu mengatur kadar asam, dan mempengaruhi nilai osmotik ujung akar tanaman. Bonner & Varner (1976), menyebutkan bahwa Cl^- berperan besar dalam reaksi fotosintesis. Ion klorida ini bertindak sebagai katalis untuk oksidasi dalam fotosistem II. Cl^- bersama dengan K^+ juga dianggap bertanggung jawab atas aktivitas pembukaan stomata saat terdapat cahaya. K^+ dan Cl^- bergerak ke dalam sel penjaga dalam waktu yang relatif lebih cepat setelah adanya cahaya, sehingga air segera masuk ke dalam sel karena adanya perbedaan potensial osmotik. Selain itu, Cl^- juga penting untuk pembelahan sel akar dan daun. Sehingga unsur mikro Cl^- dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman sambung nyawa.

Terdapat perbedaan dalam toleransi salinitas dalam setiap tanaman. Ketahanan tanaman terhadap cekaman NaCl berbeda untuk setiap spesies (Aini *et al.*, 2012). Terhambatnya pertumbuhan tinggi suatu tanaman akibat salinitas tinggi disebabkan oleh terbatasnya kandungan air dalam jaringan karena daya serap air oleh tanaman yang rendah yang menyebabkan terganggunya aktivitas meristem apikal dalam pertumbuhan dan perkembangan sel (Kurniasari *et al.* 2010). Tanaman yang diberi cekaman

NaCl akan membentuk gula dan senyawa penting lainnya yang lebih banyak untuk menjaga turgor sel. Respons perubahan tersebut dapat beragam pada berbagai tanaman dan berbagai konsentrasi larutan garam (Kurniasari *et al.* 2010).

Menurut Kusumiyati dkk (2017), tanaman yang tahan terhadap salinitas tinggi memiliki kemampuan adaptasi yang disebut adaptasi osmoregulasi (pengaturan potensial osmotik). Bentuk osmoregulasi melibatkan sintesis dan akumulasi senyawa organik yang cukup untuk menurunkan potensial osmotik sel dan meningkatkan tekanan turgor. Jadi meskipun penyemprotan NaCl yang dilakukan pada daun memberikan efek penurunan pertumbuhan secara langsung serta mengganggu aktivitas fotosintesis tanaman, tumbuhan sambung nyawa masih bisa tumbuh dengan baik pada kadar NaCl yang rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian Siregar *et al.* (2010), yang membuktikan bahwa pemberian 450 ppm (setara dengan 0,45 g/L) NaCl pada masa pembibitan tanaman memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman *Lycopersicum esculentum*.

Perlakuan kombinasi menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi NaCl dan semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan, maka semakin tinggi hasil parameter pertumbuhan yang diperoleh (Gambar 4.2). Hasil parameter pertumbuhan terbaik pada perlakuan kombinasi diperoleh kelompok perlakuan dengan NaCl rendah dan kitosan tinggi BcAa (kitosan 0,06% dan NaCl 0,5%). Parameter pertumbuhan pada perlakuan BcAa yang diperoleh diantaranya jumlah tunas 4,50, panjang tunas 27,47 cm, jumlah daun 68,25, jumlah akar 17,25, panjang akar 37,70 cm, biomassa segar 87 gr,

dan biomassa kering 8,80 gr (Gambar 4.2). Hal ini sesuai dengan penelitian Pirbouti *et al.* (2017), pengaplikasian kitosan konsentrasi tertinggi yaitu 0,4 gr/L pada tanaman *Ocimum ciliatum* dan *Ocimum basilicum* mampu memperoleh hasil parameter pertumbuhan terbaik dibandingkan dengan konsentrasi lainnya dibawah cekaman stres cekaman kekeringan. Pada perlakuan kombinasi, penyemprotan NaCl dilakukan terlebih dahulu sebelum kitosan. Pengaplikasian NaCl memberikan efek fisiologis langsung pada tanaman, yaitu perubahan hormon tanaman. Menurut Hamayun *et al.* (2010), penambahan NaCl pada tumbuhan dapat meningkatkan kadar hormon asam absisat (ABA), tetapi menurunkan konsentrasi hormon auksin, giberelin, dan sitokinin. Mekanisme kelangsungan hidup tanaman pada kondisi salin dengan menutup stomata untuk mencegah kekeringan pada tanaman, sedangkan penurunan hormon auksin dan sitokinin akan mencegah pembelahan dan pertumbuhan sel, sehingga menghambat pertumbuhan tanaman. Namun penambahan kitosan pada perlakuan kombinasi diduga dapat mengatur pembukaan stomata. Menurut Pandey *et al.* (2018), aplikasi kitosan pada daun berpengaruh terhadap peningkatan konduktansi stomata dan mengurangi transpirasi.

Kitosan yang disemprotkan dalam daun akan berpengaruh pada asam absisat yang kemudian akan merangsang peningkatan konduktansi yang akan mengatur stomata. Menurut Pandey *et al.* (2018), penggunaan kitosan yang tepat dapat mengurangi penggunaan air pada tanaman sebanyak 43%. Peningkatan kerja asam absisat (ABA) dan asam Jasmonat (JA) ditemukan untuk menanggapi pemberian kitosan pada tanaman, karena kedua hormon ini

terlibat dalam pengendalian pembukaan stomata. Reaksi yang terjadi antara kombinasi NaCl dan kitosan bersifat antagonis. Penggunaan elisitor kombinasi NaCl dan kitosan dalam pertumbuhan tanaman sambung nyawa akan memiliki hasil yang baik jika penggunaan konsentrasi NaCl semakin rendah, sedangkan konsentrasi kitosan semakin tinggi.

Seperti yang disajikan dalam gambar 4.2 menunjukkan bahwa secara keseluruhan dari seluruh perlakuan baik dari perlakuan kitosan, NaCl, maupun kombinasi diperoleh kelompok perlakuan kitosan dengan konsentrasi tertinggi Bc (0,06%), dengan hasil jumlah tunas 5, panjang tunas 31,87, jumlah daun 85,50, jumlah akar 19,75, panjang akar 45,75, biomassa segar 131,75 gr, dan biomassa kering 12,62 gr (Tabel 4.1). Sedangkan hasil terendah dari perlakuan elisitasi diperoleh pada perlakuan NaCl konsentrasi tertinggi Ac (1,5%) dengan perolehan jumlah tunas 3, panjang tunas 12,60 cm, jumlah daun 53,25, jumlah akar 12,50, panjang akar 25,45 cm, biomassa segar 49,25 gr, dan biomassa kering 5,97 gr (Tabel 4.1). Hal ini sesuai dengan penelitian Hawrylak-Nowak *et al.* (2020), aplikasi daun kitosan 500 mg/L mampu meningkat secara signifikan (sebesar 20%) pada pertumbuhan jumlah dan panjang tunas *Ocimum basilicum*. Pengaplikasian kitosan dengan dosis 20% mampu meningkatkan jumlah daun dan panjang akar pada *Brassica juncea* L (Letahitt *et al.*, 2022), selain itu kitosan juga mampu meningkatkan jumlah akar pada tanaman *Dendrobium lasianthera* (Agustini dkk., 2020), pada tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum*) memperoleh berat segar dan berat kering dengan bobot masing-masing 74,1 gr dan 6,9 gr (Suptijah dkk., 2010),

yang secara keseluruhan lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kontrol.

Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor internal dan eksternal. Faktor internal diantaranya faktor genetik, jenis tanaman, umur tanaman, ukuran diameter batang. Sedangkan faktor eksternal diantaranya kesuburan tanah, waktu dan musim, tempat tumbuh, kondisi lingkungan, dan stimulasi hormon (Mu & Hin, 2015). Penyemprotan kitosan langsung pada pucuk dan daun tanaman dapat meningkatkan sintesis auksin pada sambung nyawa (Uthairatanakij *et al.*, 2007). Menurut Jinus *et al.* (2012), zat pengatur tumbuh yang masuk ke dalam sel tanaman akan merangsang masuknya ion H^+ ke dalam dinding sel tanaman. Keadaan ini mengaktifkan beberapa enzim, termasuk enzim pektin demetilase, yang memutus ikatan antara ion pektin dan Ca^{2+} . Akibatnya, dinding sel menjadi elastis dan memanjang. Ketika air memasuki tanaman, sel akan mengembang dan mempengaruhi pertumbuhan sekunder, seperti peningkatan jumlah dan ukuran sel. Dewi (2008) menyatakan bahwa hormon tanaman merupakan bagian dari regulasi gen dan menunjukkan bahwa mereka bertindak sebagai prekursor. Sejumlah gen akan mulai diekspresikan ketika konsentrasi hormon mencapai tingkat tertentu.

Secara umum pembentukan tunas dipengaruhi oleh hormon sitokinin, namun kerja dari sitokinin juga dipengaruhi oleh adanya hormon auksin. Auksin yang terdapat pada daun dialokasikan ke bawah menuju akar, sehingga menyebabkan pemanjangan pada akar. Selama proses ini ujung akar akan memproduksi hormon sitokinin. Hormon sitokinin yang diproduksi akar kemudian diangkut ke bagian organ lain terutama pada batang dan bagian

pucuk tanaman sehingga memicu pertumbuhan tunas-tunas samping (tunas lateral). Hormon turunan adenine yaitu sitokinin berperan untuk pembelahan sel mitosis pada ujung akar dan diangkut melalui pembuluh xylem. Sitokinin secara struktural mirip dengan adenine, yang membantu proses pembelahan sel (Lindung, 2014). Hal ini sejalan dengan Lakitan (1996), pertumbuhan tunas dipengaruhi oleh hormon sitokinin dan auksin, sedangkan panjang tunas dipengaruhi oleh hormon auksin. Sitokinin akan merangsang pembelahan sel, meningkatkan laju sintesis protein, dan auksin akan merangsang pemanjangan sel, sehingga menyebabkan pemanjangan batang.

Jumlah daun juga dipengaruhi oleh jumlah tunas dan panjang tunas yang tumbuh. Pada penelitian ini jumlah tunas yang tumbuh tidak berbeda nyata, sehingga jumlah daun yang terbentuk juga tidak berbeda secara signifikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Salisbury & Ross (1995) bahwa jumlah daun yang terbentuk bergantung pada jumlah tunas, jumlah tunas yang banyak akan menghasilkan jumlah daun yang banyak pula. Selanjutnya pada pembentukan akar dimulai dengan metabolisme simpanan nutrisi dalam bentuk karbohidrat, yang menghasilkan energi yang mendorong pembelahan sel dan pembentukan sel-sel baru di dalam jaringan (Hidayanto dkk., 2003). Pernyataan ini didukung oleh (Pamungkas dkk., 2009), bahwa auksin sangat penting untuk pembentukan akar, yaitu untuk stimulasi pembelahan sel. Diketahui bahwa penggunaan auksin mengintensifkan proses pembentukan akar pada stek. Efek auksin adalah mengaktifkan hidrolisis polisakarida dan akan menghasilkan polisakarida aktif yang digunakan dalam pembelahan sel dan pembentukan akar.

Mekanisme auksin dalam menstimulasi pembentukan akar yaitu dengan memperlambat munculnya senyawa di dinding sel yang berhubungan dengan pembentukan kalsium pektat, sehingga dinding sel menjadi lebih lentur (Hastuti *et al.*, 2002). Akibatnya, sitoplasma menjadi lebih fleksibel untuk mendorong dinding sel dan memperbesar ukuran sel. Selain itu, auksin menyebabkan pertukaran antara ion H^+ dan ion K^+ . Ion K^+ menembus dalam sitoplasma dan memacu penyerapan air ke dalam sitoplasma untuk mempertahankan tekanan turgor dalam sel, sehingga sel mengalami pembentangan. Setelah meregang, dinding sel menjadi kaku kembali akibat aktivitas metabolisme berupa adsorpsi ion Ca^+ dari luar sel, yang akan mengoptimalkan kalsium pektat dalam dinding sel (Hastuti *et al.*, 2002).

Pertumbuhan akar juga dipengaruhi oleh auksin yang dihasilkan oleh tunas muda dan daun yang sudah mulai berkembang. Menurut Hidayanto dkk. (2003), Keberadaan daun pada pucuk berpengaruh terhadap pembentukan akar, karena karbohidrat yang dihasilkan oleh daun dapat merangsang pembentukan akar. Pertumbuhan akar memerlukan energi yang diperoleh dari karbohidrat dan protein yang terdapat pada tanaman. Pemanjangan akar membutuhkan auksin yang lebih dari sekadar diferensiasi akar (Pamungkas dkk., 2009). Semakin banyak tunas dan daun yang tumbuh pada tanaman sambung nyawa, maka akan semakin cepat proses pemanjangan akar pada tanaman sambung nyawa.

Berat segar tanaman merupakan akibat dari penimbunan hasil bersih asimilasi sepanjang masa pertumbuhan, karena asimilasi merupakan hasil penyerapan energi matahari dan akibat radiasi matahari, kemudian di

distribusikan secara merata keseluruhan permukaan bumi. Berat segar tanaman hampir seluruhnya disebabkan oleh pengambilan air oleh tanaman. Dalam penelitian ini selisih antara biomassa segar dan biomassa kering pada perlakuan dengan hasil terbaik pertumbuhan sambung nyawa (Bc) sebesar 119,13 gr, nilai ini menunjukkan bahwa pengaruh kitosan terhadap resapan air sangat optimal. Sekitar 80-95 % berat segar sel dan jaringan tumbuhan terdiri dari air, sisanya 10-15 % terdiri atas zat organik dan anorganik, baik yang terlarut maupun dalam bentuk koloid (Harjadi, 1993). Menurut Wattimena (1991), hormon auksin dapat meningkatkan berat basah tanaman. Pertambahan berat basah disebabkan oleh kemampuan sel untuk menyerap air. Selain itu, auksin juga berperan dalam pembesaran dan pemanjangan sel. Hormon auksin dapat berkontribusi pada aksinya dengan mengubah aktivitas enzim yang terlibat dalam sintesis komponen dinding sel dan dapat mengatur ulang matriks dinding sel yang sehat sedemikian rupa untuk mempengaruhi massa sel (Abidin, 1990). Hal ini juga telah dijelaskan oleh Sriyani & Wijayani (1994) bahwa auksin dapat meningkatkan volume sel dan peningkatan volume sel disebabkan oleh peningkatan permeabilitas sel yang diikuti dengan penurunan tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel. Selain itu, auksin juga berperan dalam meningkatkan sintesis protein dan tekanan osmotik.

Menurut Sitorus dkk. (2014), Biomassa kering mencerminkan akumulasi senyawa organik yang telah berhasil disintesis oleh tanaman, sebagai status nutrisi suatu tanaman, serta indikator yang menentukan apakah pertumbuhan dan perkembangan tanaman berkaitan erat dengan ketersediaan

unsur hara. Perbedaan hasil bahan biomassa kering tanaman dipengaruhi oleh biomassa segar tanaman dan jumlah daun. Hal ini dikarenakan tempat akumulasi hasil fotosintesis tumbuhan berada pada daun. Peningkatan laju fotosintesis juga akan meningkatkan hasil fotosintesis pada tanaman. Senyawa organik hasil fotosintesis akan ditranslokasikan ke seluruh bagian tanaman sehingga mempengaruhi berat kering tanaman (Nurdin, 2011).

Hasil berat kering juga merupakan keseimbangan antara fotosintesis dan respirasi. Selama proses fotosintesis berlangsung tanaman akan melakukan pengambilan CO₂ dan mempengaruhi penambahan berat kering tanaman, sedangkan saat respirasi akan mengeluarkan CO₂ sehingga mengakibatkan penurunan berat kering. Sehingga apabila respirasi lebih sering dibandingkan dengan fotosintesis maka akan semakin menurun biomassa kering pada tanaman, begitupun sebaliknya. Hal ini sejalan dengan penelitian Pandey *et al.* (2018), pengaplikasian kitosan ke daun dapat meningkatkan jumlah stomata, mengurangi transpirasi, dan pengendalian pembukaan stomata. Sehingga semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka semakin tinggi biomassa kering yang diperoleh oleh tanaman. Pertumbuhan tanaman dapat dianggap sebagai peningkatan berat basah dan akumulasi bahan kering. Sehingga semakin baik pertumbuhan tanaman, maka semakin tinggi berat basah maupun berat kering yang diperoleh.

4.3 Pengaruh Elisitor Terhadap Kadar Fenolik Total Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Kadar fenolik total sambung nyawa diketahui melalui pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Namun sebelum pengujian, dilakukan ekstraksi terlebih dahulu pada daun sambung nyawa yang telah dipanen.

4.3.1. Ekstraksi Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Daun sambung nyawa dalam penelitian ini diperoleh dari hasil stek batang umur 14 minggu yang telah diberi perlakuan elisitor. Daun sambung nyawa dicuci, dikeringkan dengan cara dikering anginkan, kemudian dihaluskan dan dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Setelah direndam selama 3 hari, Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan dengan cara penguapan manual. Penguapan pelarut dengan cara manual dilakukan dengan meletakkan botol yang berisi filtrat kedalam erlenmeyer yang berisi air panas. Penguapan manual dilakukan karena filtrat yang didapat hanya sedikit sehingga tidak memungkinkan untuk melakukan penguapan dengan evaporator. Penguapan pelarut ini didasarkan pada prinsip kerja dari evaporator yaitu menguapkan pelarut ekstrak sehingga meninggalkan senyawa didalam ekstrak (Syakdani dkk., 2019). Penguapan bertujuan untuk memisahkan pelarut dari larutan ekstrak, sehingga diperoleh filtrat ekstrak yang lebih kental dengan konsentrasi yang lebih pekat.



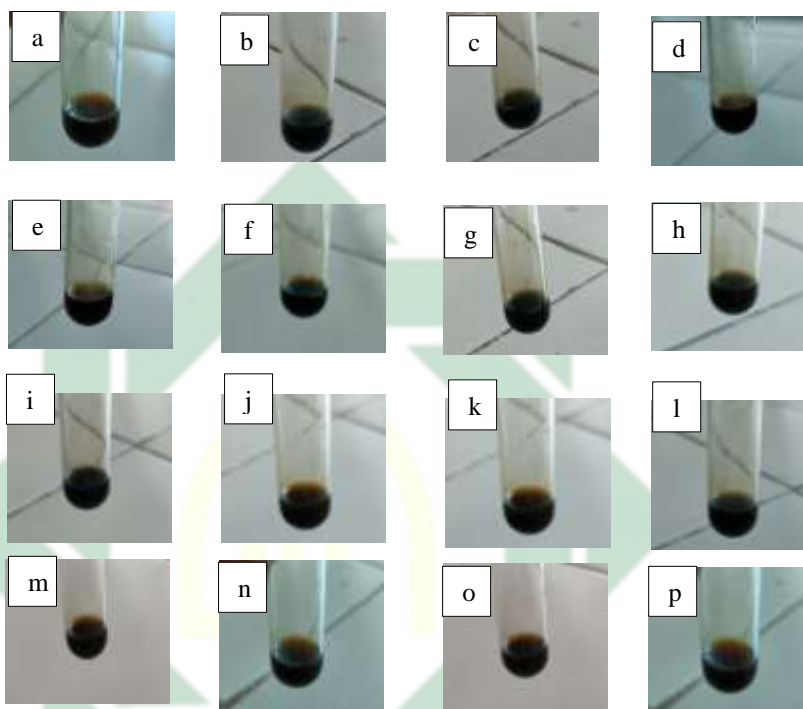
Gambar 4.3 Ekstrak Etanol Daun *Gynura procumbens*
Sumber : Dokumentasi pribadi (2022)

Filtrat ekstrak daun sambung nyawa yang diperoleh berwarna hijau kecoklatan dengan bau yang khas (Gambar 4.3). Hal ini sesuai dengan penelitian Priamsari dkk. (2016), hasil ekstrak etanol sambung nyawa dengan metode pengeringan dikering anginkan dan menggunakan metode ekstraksi maserasi menghasilkan karakteristik ekstrak yang berwarna hijau kecoklatan dan memiliki bau yang khas. Hasil dari proses penguapan ini, diketahui masing-masing kelompok perlakuan menghasilkan 3 mL ekstrak yang lebih pekat, namun ekstrak tidak mengental dan tetap encer sehingga tidak dapat dihitung rendemennya.

4.3.2. Uji Kualitatif Fenolik Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Uji senyawa fenolik dilakukan dengan menambahkan pereaksi FeCl_3 1% pada 1 mL sampel. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwasannya sampel positif mengandung fenolik yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hitam pekat (Gambar 4.4). Pada penelitian Lau dkk. (2018), menyebutkan bahwa hasil dari uji kualitatif fenolik pada ekstrak *Gynura procumbens* berwarna hijau kehitaman. Namun Putri dkk. (2018), juga menyebutkan bahwa uji

kualitatif senyawa fenolik dianggap positif jika terbentuk warna hitam pekat, ungu, hijau, biru dan merah. Sehingga ekstrak sambung nyawa pada penelitian ini positif mengandung senyawa fenolik.



Gambar 4.4 Hasil Uji Kualitatif Senyawa Fenolik a) Ba (Kitosan 0,02%); b) Bb (Kitosan 0,04%); c) Bc (Kitosan 0,06%); d) Aa (NaCl 0,5%); e) Ab (NaCl 1,0%); f) Ac (NaCl 1,5%); g) BaAa (Kitosan 0,02% dan NaCl 0,5%); h) BaAb (Kitosan 0,02% dan NaCl 1,0%); i) BaAc (Kitosan 0,02% dan NaCl 1,5%); j) BbAa (Kitosan 0,04% dan NaCl 0,5%); k) BbAb (Kitosan 0,04% dan NaCl 1,0%); l) BbAc (Kitosan 0,04% dan NaCl 1,5%); m) BcAa (Kitosan 0,06% dan NaCl 0,5%); n) BcAb (Kitosan 0,06% dan NaCl 1,0%); o) BcAc (Kitosan 0,06% dan NaCl 1,5%); o) C (Kontrol) (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022).

Penentuan fenolik secara kualitatif ini dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* yang bersifat basa memiliki kemampuan untuk mengoksidasi gugus -OH (hidroksil) dari senyawa fenolik. Perubahan warna terjadi karena senyawa fenolik diubah menjadi ion fenolat melalui disosiasi proton dalam kondisi basa, proses ini kemudian akan mereduksi asam *fosfomolibdat-fosfotungstat* yang terdapat dalam reagen *Folin-Ciocalteu* menjadi

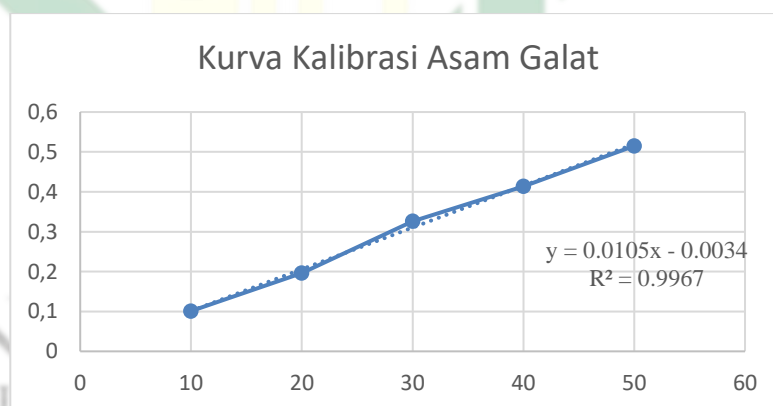
senyawa kompleks *molybdenum-tungsten* berwarna biru karena reduksi molibdenum ion (Mo^{6+}) menjadi ion molibdenum (Mo^+) yang digunakan sebagai indikator adanya senyawa fenolik dalam ekstrak (Putri dkk., 2018).

4.3.3. Uji kuantitatif kadar fenolik total sambung nyawa (*Gynura procumbens*)

Ekstrak daun sambung nyawa yang telah diuji kualitatif selanjutnya diuji secara kuantitatif untuk mengetahui kadar fenolik total yang terkandung di dalamnya. Uji kuantitatif ekstrak sambung nyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Fenolik merupakan senyawa aktif yang terdistribusi luas pada tumbuhan (Diniyah & Lee, 2020). Pada penelitian ini, pengujian kadar fenolik total dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan elisitor terhadap kandungan fenolik tanaman sambung nyawa.

Penentuan kandungan fenolik total menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu*. Pembuatan kurva standar fenolik total pada ekstrak daun sambung nyawa menggunakan larutan standar asam galat pada 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena asam galat merupakan senyawa fenolik alami yang berasal dari asam hidroksibenzoat, yang termasuk dalam kelompok asam fenolat sederhana, serta standar zat yang stabil dan murni (Sam *et al.*, 2016). Asam galat direaksikan dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* yang merupakan pereaksi pengoksidasi berupa larutan berwarna kuning, yang kemudian mengoksidasi senyawa fenolik dalam sampel

dengan tungstat molibdat yang merupakan komponen pereaksi *Folin-Ciocalteu* yang tugasnya untuk mereduksi gugus hidroksil membentuk senyawa biru yang dapat diukur panjangnya sampai pada panjang gelombang maksimum (Xia *et al.*, 2010). Kemudian ditambahkan Na_2CO_3 ke dalam larutan, karena reagen *Folin-Ciocalteu* hanya dapat bereaksi dalam media basa. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* bersifat asam ketika ditambahkan pada sampel atau ekstrak, sehingga digunakan larutan Na_2CO_3 untuk merubah larutan menjadi basa (Sam *et al.*, 2016). Panjang gelombang maksimum yang terukur adalah 761,0 nm. Panjang gelombang ini digunakan untuk menentukan absorbansi sampel yang akan terbaca secara optimal oleh spektrofotometer UV-Vis.



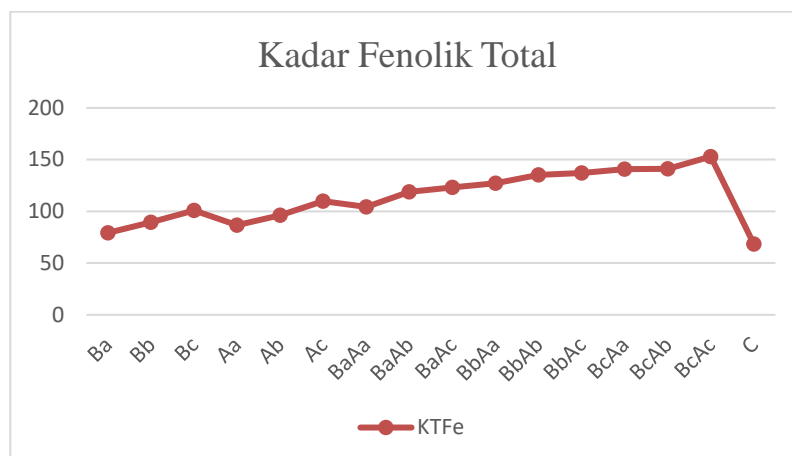
Gambar 4.5 Kurva Kalibrasi Asam Galat

(Data Pribadi, 2022)

Berdasarkan hasil pengukuran uji kuantitatif daun sambung nyawa diperoleh nilai kurva kalibrasi standar asam galat (Gambar 4.5) dengan persamaan regresi $y = 0,0105x - 0,0034$, nilai koefisien korelasi persamaan kurva kalibrasi standar adalah $R^2 = 0,9967$. Nilai koefisien korelasi (R) yang mendekati 1 menunjukkan bahwa

persamaan regresi bersifat linier (Mukhriani *et al.*, 2019). Hasil perhitungan tersebut menggunakan hukum *Lambert-Beer* yang menunjukkan bahwa absorpsi dan konsentrasi memiliki hubungan yang kuat. (Asmorowati & Landawati, 2019). Persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung kadar fenolik total. Kadar fenolik total dinyatakan dalam mg *Gallic Acid Equivalents* (GAE)/gr.

Perhitungan data kadar fenolik total ekstrak sambung nyawa diuji menggunakan uji statistik *One Way Anova* dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$. Sebelum dilakukan Analisis *One Way Anova*, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan *Shapiro-Wilk*, diperoleh nilai Sig. dari seluruh kelompok perlakuan memiliki nilai *P-value* $> 0,05$ (Lampiran 2) yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas *Levene*. Nilai signifikan sebesar 0,335 (Lampiran 2) menunjukkan bahwa data bersifat homogen dan dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan hasil *P-value* $0,000 < 0,05$. sehingga terdapat perbedaan rata-rata antara pemberian elisitor kitosan, NaCl, kombinasi dan kontrol. Selanjutnya untuk hasil analisis statistik lanjutan menggunakan uji *Duncan* (Lampiran 2) yang menunjukkan bahwa hanya perlakuan Ba (Kitosan 0,02%), BcAc (Kitosan 0,06% dan NaCl 1,5%), dan kontrol yang berbeda secara nyata terhadap kelompok perlakuan lainnya.



Gambar 4.6 Kadar Fenolik Total Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)
Sumber : Data Pribadi (2022)

Berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa seluruh perlakuan baik dari kelompok Kitosan, NaCl, maupun kombinasi memperoleh nilai yang lebih tinggi dari pada kelompok kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian Hassini *et al.* (2019), elisitor NaCl secara nyata mempengaruhi kadar senyawa fenolik total dalam daun brokoli, serta mengalami peningkatan sebesar 149% terhadap tanaman kontrol. Selain itu pada penelitian Alizadeh *et al.* (2020), kitosan mampu meningkatkan kandungan fenolik total pada *Satureja hortensis* L sebesar 22,17 mg GAE/gr yang mana kandungannya juga lebih tinggi dari kontrol.

Hasil uji KTFe (kadar total fenolik) pada perlakuan kitosan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan, maka semakin tinggi KTFe yang diperoleh (Gambar 4.6). KTFe tertinggi pada konsentrasi kitosan diperoleh perlakuan Bc (Kitosan 0,06%) dengan konsentrasi tertinggi yaitu dengan nilai 101 mg GAE/gr. Hal ini sesuai dengan penelitian Pirbalout *et al.*, (2017), menyebutkan

bahwasannya pengaplikasian elisitor kitosan konsentrasi tertinggi (0,4 gr/L) pada tanaman *Ocimum ciliatum* memberikan hasil terbaik dalam meningkatkan KTFe sebesar 20,7 mg GAE / gr.

Reaksi biokimia yang dipicu oleh kitosan terjadi karena kitosan mengandung gula nukleotida (uridine difosfat N-asetil-d-glukosamin (UDP-GlcNAc) yang berperan dalam mengaktifkan sinyal untuk membentuk suatu enzim (Malerba & Cerana, 2016). Glukosamin menghasilkan beberapa enzim salah satunya adalah glukosamin-6 fosfat deaminase (GlcN6P deaminase). Enzim ini bekerja dalam jalur katabolisme kitin untuk masuk ke dalam metabolisme karbon utama. Aktivitas enzim dalam biosintesis berperan dalam transformasi glukosamin menjadi fruktosa-6-fosfat kemudian memasuki tahap glikolisis untuk menghasilkan asam piruvat. Hal ini didukung oleh Guyton (1994), bahwa glukosa diubah menjadi glukosa-6 fosfat pada fase glikolisis. Kemudian dilakukan perombakan glukosa-6 fosfat menjadi fruktosa-6-fosfat. Perombakan dilakukan kembali dilakukan dengan membentuk ATP kemudian menyusun 1,3-fosfoglisarat, 3-asam fosfoglisarat, 2-asam fosfoglisarat, kemudian diubah menjadi fosfoenolpiruvat kemudian menjadi asam piruvat. Proses ini memicu reaksi biokimia yang berperan dalam pengaktifan sinyal-sinyal pembentuk suatu enzim (Hadwiger, 2013). Beberapa enzim tersebut diantaranya yaitu *Fenilalanin Amonia Lyase* (PAL) dan *Tirosin Amonia Lyase* (TAL). PAL dan TAL bekerja dalam sintesis jalur fenilpropanoid. PAL bertanggung jawab dalam memproduksi asam

trans-sinamat dan TAL bertanggung jawab dalam memproduksi asam *p-coumaric*. Asam ini dibutuhkan dalam pembentukan senyawa fenolik seperti ester, kumarin, flavonoid, dan lignin (Suci, 2020).

Perlakuan NaCl menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin tinggi KTF_e yang diperoleh (Gambar 4.6). KTF_e tertinggi yaitu pada perlakuan perlakuan Ac (NaCl 1,5%) konsentrasi NaCl tertinggi dengan perolehan 110,65 mg GAE/gr. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hawrylak-Nowak *et al.* (2020), konsentrasi elisitor NaCl tertinggi yaitu 100mM memberikan hasil terbaik dalam peningkatan kadar senyawa fenolik total dalam pucuk tanaman *Melissa officinalis* L. secara signifikan sebesar 13% melalui aplikasi semprot daun. Pada penelitian Samec *et al.* (2021), elisitor NaCl dengan konsentrasi 100 mM secara nyata menaikkan kandungan senyawa fenolik total pada *Brassica rapa* 5,77 mg GAE / g (daun) dan 5,80 mg GAE / g (akar), *Brassica oleracea* var. Kapita sebesar 2,44 mg GAE / g (daun) dan 0,59 mg GAE / g (akar), serta pada *Brassica oleracea* var. Acephala 4,36 mg GAE / g (daun) dan 0,50 mg GAE / g (akar).

NaCl dalam menstimulasi peningkatan KTF_e melalui proses masuknya NaCl kedalam jaringan kemudian berpengaruh dalam penurunan potensial osmotik. NaCl dengan konsentrasi tinggi pada tanaman adalah toksik Na⁺, toksik Cl⁻, dan ketidakseimbangan ion hara yaitu Na⁺ tinggi sedangkan K, Ca dan Mg rendah. Kemudian Cl⁻

tinggi sedangkan NO_3^- dan PO_4^- rendah. Hal ini dapat memicu ketidakseimbangan dalam metabolisme nutrisi yang menyebabkan gangguan pada keseimbangan air, memicu penutupan stomata dan mengurangi fotosintesis pada tanaman (Amirjani, 2010), sehingga menyebabkan gangguan metabolisme utama dan mengakibatkan kondisi stres pada tumbuhan.

Saat sel tanaman mengalami stres akibat cekaman dari NaCl, sel akan memberikan respon yang diawali dengan proses terjadinya influks atau pemasukan fluks ion, ledakan Ca^{2+} , pengasaman sitoplasma, ledakan ROS, aktivasi NADPH oksidase, aktivasi G-protein dan fosforilasi MAPK. Respon pertama yang terjadi adalah pertukaran ion, keluarnya K^+/Cl^- dan masuknya $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$, sebagai respons terhadap elisitor. Masuknya Ca^{2+} dianggap sebagai peristiwa yang paling penting karena keterlibatannya dalam beragam proses fisiologis dan seluler (White & Broadley, 2003). Sinyal Ca^{2+} diuraikan melalui perubahan konformasi dalam berbagai protein pengikat Ca^{2+} seperti kalmodulin, protein mirip kalmodulin, yang bergantung pada kalsium kinase (CDPKs) dan fosfolipase melalui inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) dan diasilgliserol (DAG) (Bigeard *et al.*, 2015). Jalur yang dimediasi Ca^{2+} /kalmodulin terlibat dalam banyak respons fisiologis tanaman terhadap rangsangan. CDPK memiliki peran yang beragam dalam kaskade pensinyalan hilir dan fosforilasi protein untuk mengkoordinasikan proses seluler seperti regulasi ledakan oksidatif, pensinyalan hormonal, dan ekspresi gen. Kemudian protein G yang

diaktifkan dapat merangsang tingkat cAMP, IP3 dan DAG, yang memicu target kinase PKA dan PKC. Protein kinase yang diinduksi ini menyebabkan fosforilasi MAPK, yang menghasilkan ekspresi gen yang mengarah ke reaksi enzimatik, yang pada gilirannya memprogram ulang jalur produksi metabolit sekunder (Vasconsuelo & Boland, 2007). Proses ini selanjutnya menyebabkan pengaktifan enzim PAL (*phenylalanine ammonia lyase*) yang merupakan enzim kunci dalam proses biosintesis senyawa fenol dari asam amino fenilalanin.

Menurut (Mardhiana dkk., 2018), respon cekaman salinitas pada tanaman yaitu melakukan osmoregulasi dengan mensintesis asam-asam organik untuk memproduksi prolin dan fenilalanin. Tingginya jumlah prolin dalam sel dapat meningkatkan senyawa fenol pada jalur fenilpropanoid, *immediate* prekursor pada biosintesis asam fenol adalah *P-Coumaroyl* COA dan *malonyl* COA dimana kedua senyawa ini adalah turunan yang terbentuk dari fenilalanin (Soleas dkk., 2000).

Perlakuan kombinasi (kitosan dan NaCl), semakin tinggi konsentrasi NaCl dan kitosan yang digunakan maka semakin tinggi KTF_e yang diperoleh (Gambar 4.6). Pada konsentrasi tertinggi BcAc (kitosan 0,06% dan NaCl 1,5%) memperoleh hasil KTF_e 153,09 mgGAE/gr yang lebih tinggi dari pada konsentrasi lainnya. Hal ini sesuai dengan penelitian Pirbaout *et al.* (2017), kombinasi antara cekaman kekeringan dengan penambahan kitosan konsentrasi tertinggi 0,4 gr/L menghasilkan KTF_e tertinggi pada tanaman kemangi, yang

mana KTFe ini lebih tinggi dari pada perlakuan kitosan saja. Hal ini diduga karena kitosan mencegah penutupan stomata akibat salinitas, yaitu melalui pengaktifan sinyal hormon yang menyebabkan pembukaan stomata. Menurut Pandey *et al.* (2018), kitosan dapat memberikan sinyal yang mempengaruhi produksi asam jasmonat (JA) dan asam absisat (ABA) yang berkaitan erat dengan pengaturan kadar air pada tanaman. Selain itu pengaplikasian kitosan ke daun meningkatkan jumlah stomata, mengurangi transpirasi, dan pengendalian pembukaan stomata. Namun karena kadar kitosan yang masuk lebih sedikit, dan juga konsentrasi kitosan yang jauh lebih rendah dari pada NaCl mengakibatkan kitosan kurang efektif dalam mengurangi cekaman salinitas dan terfokus dalam pengaktifan sinyal yang berhubungan dengan pembentukan senyawa fenolik, sehingga NaCl dan kitosan bersinergi lebih optimal dalam memicu peningkatan KTFe. Perlakuan elisitasi kombinasi mampu memicu pembentukan senyawa metabolit sekunder secara optimal karena berada pada jalur yang sama yaitu jalur fenilpropanoid.

Secara keseluruhan, hasil KTFe terbaik antara perlakuan kitosan, NaCl, dan kombinasi diperoleh oleh perlakuan kombinasi konsentrasi tertinggi yaitu BcAc dengan KTFe 153,09 mg GAE/gr, sedangkan hasil KTFe terendah dari perlakuan elisitor diperoleh kelompok perlakuan kitosan terendah yaitu Ba (0,02%) dengan KTFe 77,96 mg GAE/gr (Gambar 4.6). Kombinasi NaCl dan kitosan bersinergi dalam memicu senyawa fenolik, namun pada pertumbuhan

NaCl dan kitosan memicu reaksi inhibitor. Sehingga semakin tinggi kadar elisitor NaCl yang digunakan maka semakin tinggi kadar fenolik yang terbentuk, sebaliknya semakin tinggi kadar NaCl yang digunakan maka semakin rendah biomassa segar tanaman yang diperoleh. Stimulasi KTF_e bersifat antagonis terhadap pertumbuhan tanaman sambung nyawa. Hal ini disebabkan oleh tingginya cekaman kekeringan yang disebabkan oleh NaCl. Saat terjadi cekaman tanaman akan merespon peningkatan senyawa asam fenol dan penurunan berat basah tanaman. Kondisi ini merupakan salah satu respon tumbuhan ketika berada dalam kondisi tercekam untuk proses pertahanan diri, sehingga tumbuhan lebih banyak menghasilkan metabolit sekunder dibandingkan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dong *et al.* (2010) bahwa salah satu senyawa yang berperan dalam mekanisme pertahanan tumbuhan adalah senyawa golongan fenol.

Perlakuan elisitasi pada tanaman sambung nyawa pada penelitian ini berkaitan dengan firman Allah SWT yang terdapat dalam Al-Qur'an pada surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
 نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ
 وَالزَّيْتُونِ وَالرُّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُنْتَشِبِهِ ۗ أَنْظُرُوا إِلَىٰ تَمْرِهِ إِذَا أثمرَ وَبِنِعْمَةِ ۗ إِنَّ فِي
 ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya : *“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”*

Berkenaan dengan ayat diatas M. Quraish Shihab dalam kitabnya Tafsir Al-Misbah 2 menyebutkan bahwa ayat tersebut menjelaskan bahwa pohon zaitun mengandung berbagai manfaat bagi manusia yang diciptakan Allah karena kandungannya yang baik untuk kesehatan. Kemudian Ar-Razi juga menyebutkan dalam tafsirnya bahwa zaitun juga buah yang harus ditanam dan dirawat. Ayat ini menunjukkan bahwa setiap tumbuhan yang tumbuh memiliki manfaat dan juga dapat digunakan sebagai obat untuk dimanfaatkan manusia. Setiap tanaman yang dirawat dan ditumbuhkan pada tempat yang baik maka akan memberikan manfaat yang baik juga. Seperti halnya tanaman sambung nyawa yang diberi elisitor, yang tujuannya untuk

meningkatkan senyawa fenolik di dalamnya. Sehingga tanaman sambung nyawa memiliki manfaat yang lebih besar untuk manusia terutama untuk pengobatan, karena kandungan fenoliknya sendiri yang memang dalam dunia kesehatan bermanfaat sebagai obat. Berdasarkan tafsir tersebut, maka kita sebagai hamba-Nya harus senantiasa mensyukuri nikmat yang diberikan oleh Tuhan, dan kita dapat memanfaatkan ciptaan Allah dengan sebaik-baiknya.

Pengaplikasian elisitor pada tanaman sambung nyawa juga dapat meningkatkan pertumbuhan pada tanaman. Hal ini selaras dengan hadits yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad yang berbunyi sebagai berikut.

عَنْ رَجُلٍ مِنْ أَصْحَابِ النَّبِيِّ قَالَ سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ - صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ
 مَنْ نَصَبَ شَجْرَةً فَصَبَرَ عَلَى حِفْظِهَا وَالْقِيَامِ عَلَيْهَا حَتَّى تُثْمَرَ كَانَ لَهُ فِي كُلِّ
 شَيْءٍ يُصَابُ مِنْ ثَمَرِهَا صَدَقَةٌ عِنْدَ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ (رواه أحمد)

Artinya : *“Dari salah seorang sahabat ra, ia mendengar Rasulullah saw bersabda, ‘Siapa saja yang menanam pohon lalu sabar menjaga dan merawatnya hingga berbuah, maka setiap peristiwa yang menimpa buahnya akan bernilai sedekah bagi penanamnya di sisi Allah.’”* (HR Ahmad).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa Rasulullah SAW. menganjurkan umatnya untuk senantiasa menjaga dan merawat tanaman, setiap tanaman yang dirawat akan memberikan berkah bagi penanamnya. Hal ini juga berkaitan dengan penelitian ini, bahwa pemberian elisitor tidak hanya untuk meningkatkan manfaatnya

sebagai obat, tetapi berguna untuk pertumbuhan tanaman. Karena perlakuan elisitor juga mampu meningkatkan parameter pertumbuhan tanaman, sehingga pengaplikasian elisitor pada tanaman sambung nyawa merupakan wujud dari rasa syukur atas segala nikmat yang telah diberikan oleh Allah dengan menjaga dan merawat tumbuhan yang tumbuh di muka bumi.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Variasi konsentrasi dari kitosan dan NaCl berpengaruh terhadap jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, biomassa segar, dan biomassa kering tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*)
2. Variasi konsentrasi dari kitosan dan NaCl berpengaruh terhadap kadar fenolik total (KTFe) tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*)
3. Konsentrasi elisitor kitosan tertinggi (0,06%) memperoleh hasil parameter pertumbuhan tertinggi dengan jumlah tunas 5, panjang tunas 31,87 cm, jumlah daun 85,50, jumlah akar 19,75, panjang akar 45,75 cm, biomassa segar 131,75 gr, dan biomassa kering 12,62 gr) pada tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*)
4. Konsentrasi elisitor kombinasi tertinggi (kitosan 0,06% dan NaCl 1,5%) memperoleh hasil kadar fenolik total (KTFe) tertinggi pada tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dengan KTFe 153,09 mg GAE/gr.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut terkait dengan pengaplikasian elisitor kombinasi (kitosan dan NaCl) dengan metode penyiraman pada tanah untuk perbandingan keefektifan metode

pengaplikasian, dengan mengetahui kadar fenolik dan batas toleransi pertumbuhan tanaman sambung nyawa terhadap pertumbuhan tanaman sambung nyawa melalui penyerapan akar.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. (1990). *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Angkasa, Bandung.
- Adinugraha, Hamdan Adma., Hasnah, Tri Maria., & Waris. (2017). Pertumbuhan Tunas Beberapa Klon Jati Terseleksi Setelah Pemangkasan Dipersemaian. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 11: 109-117.
- Aguilera, Y., Estrella, I., Benitez, V., Esteban, R.M., and Martín-Cabrejas, M.A. (2011). Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*, 44 (3): 774-780.
- Agustini, Verena., Rahayu, Irma., Numberi Leonardo, A., & Ni'mah, Ziyadatun. (2020). Peran Chitosan Sebagai Pemacu Pertumbuhan Kultur Anggrek *Dendrobium Lasianthera* J.J.S.M.S Secara In Vitro. *Jurnal Biologi Papua*, 12(1): 43-49.
- Aini, N., Mapfumo, E., Rengel, Z., & Tang, C. (2012). Ecophysiological Responses Of *Melaleuca* Species To Dual Stresses Of Water Logging And Salinity . *International J. Of Plant Physiol. And Biochem.* 4 (4) : 52 – 58
- Akinyele, A. (2010). Effects Of Growth Hormones, Rooting Media And Leaf Size On Juvenil Stem Cuttings Of *Buchholzia Coriacea* Engler. *Annals Of Forest Research*, 53(2): 127-133.
- Al Hattab, Zahra N., Saadon A. Al-Ajeel, & Ekhlal A. El Kaaby. (2015). Effect Of Salinity Stress On *Capsicum Annuum* Callus Growth, Regeneration And Callus Content Of Capsaicin, Phenylalanine, Proline And Ascorbic Acid. *Journal Of Life Sciences*, 10(7), 304–310.
- Alizadeh, Adel., Moghaddam, Mohammad., Asgharzade, Ahmad., & Sourestani, Mohammad Mahmoodi . (2020). Phytochemical And Physiological Response Of *Satureja Hortensis* L. To Different Irrigation Regimes And Chitosan Application. *Industrial Crop & Product*, 158: 1-10
- Amirjani, M. R. (2010). Effect Of Nacl On Some Physiological Parameters Of Rice. *Eur J Biol Sci*, 3(1): 6–16.
- Anand, S. (2010). Various Approach For Secondary Metabolite Production Through Plant Tissue Culture. *Pharmacia*, 1(1):1-7.

- Ansel, C.H. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV, UI Press, Jakarta.
- Ardana, Juanda, B. R. Zaini, M. (2009). Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Dalam ZPT Auksin Terhadap Viabilitas Benih Semangka (*Citruillus lunatus*) Kadaluarsa. *Jurnal Agrosamudra*.
- Ariviani, Setyaningrum., & Rajendra, Fiyana Maulana. (2021). *Kacang Tunggak Sebagai Pangan Sumber Antioksidan Potensial Dan Alternatif Strategi Peningkatan Kapasitas Antioksidatifnya*. CV Budi Utama, Yogyakarta. [https://Books.Google.Co.Id/Books?Hl=Id&Lr=&Id=56gseaaqbaj&Oi=Fnd&Pg=PA1&Dq=Jurnal+Elisitasi+Nacl+Pada+Tanaman&Ots=J6dsk5fv4d&Sig=Qd1cci4nghrf7maclwlmvg455ic&Redir_Esc=Y#V=Onepage&Q&F=F](https://books.google.co.id/books?hl=id&lr=&id=56gseaaqbaj&oi=fnd&pg=PA1&dq=jurnal+elisitasi+nacl+pada+tanaman&ots=J6dsk5fv4d&sig=Qd1cci4nghrf7maclwlmvg455ic&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false) else . [Diakses Pada Tanggal 13 Desember 2021]
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill .) Dengan Metode Spektrofotometri. *Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Azlim A.A., Ahmed J.K., Syed Z.I., Mustafa S.K., Aisyah M.R., & Kamarul, R.K. (2010). Total Phenolic Content And Primary Antioxidant Activity Of Methanolic And Ethanolic Extract Of Aromatic Plants Leaves. *International Food Research Journal*, (17), 1077-1084.
- Azooz, M. M., & Parvais A. (2015). *Legumes Under Environmental Stress : Yield, Improvement And Adaptations*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Azwar, Saifuddin. (2005). Signifikansi Atau Sangat Signifikan?. *Buletin Psikologi UGM*, 13(1): 1-10
- Backer, A & Van De B. (1965). *Flora Of Java (Spermatophytes Only)*. Noordhoff-Groningen, Netherlands.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, And Potential Uses. *Food Chemistry*, 99 (1): 191-203.
- Bautista S, Lauzardo H, De Valle V, Lopez H, Barka A, Molina B & Wilson CL. (2006). Chitosan As A Potential Natural Compound To Control Pre And Post Harvest Diseases Of Horticultural Commodities. *Crop Protection*, 25: 108-118.

- Bigeard J *et al.* (2015). Signaling Mechanisms In Pattern-Triggered Immunity (PTI). *Mol Plant*, 8: 521–539.
- Bilger, W., M. Rolland, & L. Nybakken. (2007). Uv Screening In Higher Plants Induced By Low Temperature In The Absence Of Uv-B Radiation. *Photochem. Photobiol. Sci*, 6:190-195.
- Biswas, A. K., Papiya S., & Paramita C. (2010). NaCl Pretreatment Alleviates Salt Stress By Enhancement Of Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5: 9-19.
- Blainski, A., Cristiny G., & De Mello J. (2013). Application And Analysis Of The Folin Ciocalteu Method For The Determination Of The Total Phenolic Content From *Limonium Brasiliense* L. *J. Mdpi Molecules.*, 18 (6855).
- Bonini, M., Maringoni, A. C., & Neto, J. R. (2007). Characterization of *Xanthomonas* spp. strains by bacteriocins. *Summa Phytopathologica*, 33(1), 24-29.
- Bonner, J., & Varner, J. E. (1976). *Plant Biochemistry*. Academic Press. New York.
- Boonlertnirun S., Boonraung C., & Suvanasa R. (2008). Application Of Chitosan In Rice Production. *Journal Of Metal, Materials, And Mineral*. 18: 47-52.
- Cowan, MM. (1999). Plants Products As Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Review*, 12(4): 564-582.
- Croteau, R., T.M. Kutchan, & N.G. Lewis. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology Of Plants*, 24:1250-1318.
- Danu., Subiakto, A., & Putri, K. P. (2011). Uji Stek Pucuk Damar (*Agathis Loranthifolia* Salisb.) Pada Berbagai Media Dan Zat Pengatur Tumbuh. *Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam*, 8 (3) : 245 – 252
- Darwo., & Yeny, Irma. (2018). Penggunaan Media, Bahan Stek, Dan Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Keberhasilan Stek Masoyi. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 15(1): 43-55.
- Dharma, Made Aditya., Nociantri K.A., & Yusasrini, Ni Luh Ari. (2020), Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh. *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 9(1): 88-95

- Depkes RI. (1986). *Sediaan Galenika*, Jilid 2, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dewi, I. R. (2008). Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Dewick, M.P. (2001). *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd, England.
- Diekhoff, G. (1992), *Statistic For The Social And Behavioral Sciences: Univariate, Bivariate, Multivariate, Dubuque, IA*. Wm. C. Brown Publisher.
- Diniyah, Nurud., & Lee, Sang-Han. (2020). Komposisi Senyawa Fenol Dan Potensi Antioksidan Dari Kacang-Kacangan: *Review*. *Jurnal Agroteknologi*, 14(1): 91-102.
- Dixon RA, Paiva NL.(1995). Stress-Inducedphenylpropanoid Metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085–1097.
- Doares, S.H., Syrovets, T., Wieler, E.W. & Ryan, .A. (1995). Oligogalacturonides And Chitosan Activate Plant Defensive Gene Through The Octadecanoid Pathway. *PNAS* 92 : 4095-4098.
- Dong, J., G. Wan, & Z. Liang. (2010). Accumulation Of Salicylic Acid Induced Phenolic Compounds And Raised Activities Of Secondary Metabolic And Antioxydative Enzymes In *Salvia miltiorrhiza* Cell Culture. *Journal Of Biotechnology* 148: 99104.
- Dwi, S., & Yusnawan, E. (2017). Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang Sebagai Respon Cekaman Biotik. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(2), 167-174.
- Dwidjoseputro, (1994). *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Dzikri, D., Urszula G., Monika, K., & Monika, D. (2015). Influence Of Elicitation And Germination Conditions On Biological Activity Of Wheat Sprouts. *Journal Of Chemistry*. 1-8.

- Echandi, E., & Moyer, J. W. (1979). Production, Properties, And Morphology Of Bacteriocins From *Erwinia Chrysanthemi*. *Phytopathology*, 69(11), 1204-1207.
- Elisee, Amari Ler-N'Ogn Dadé Georges., Carine, N'guessan Aya., Lezin, Bomisso Edson., Hilaire, Kouakou Tanoh., Severin, Ake., & Daouda, Kone. (2017). Synthetic Elicitor-Induced Defense Responses In Tomato (*Solanum Lycopersicum*) Cultivated In Côte d'Ivoire Against Bacterial Wilt Caused By *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology Research Journal International*. 22(5): 1-12.
- Einhellig, F.A. (1996). *Interactions Involving Allelopathy In Cropping Systems*. *Agronomy* 88: 886-893.
- Eko, U.H. (2003). Review : Ellagitanin; Biosintesis, Isolasi, Dan Aktivitas Biologi, *J.Biofarmasi* , 1 (1), 25-38.
- Faridah, E., Koranto, Acd., & Suhardi. (1996). Pemanfaatan Limbah Sekam Padi Untuk Pemupukan. *Laporan Penelitian*. Ud. Padi Mulya Dan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Firmansyah, Rebi. (2018). Respon Pertumbuhan Dan Produksi Dua Varietas Kedelai Terhadap Pemberian Elisitor. *Skripsi*. Program Studi Agroteknologi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- Firmansyah., Reza R., Rexa. H., & Dini S. R. (2015). Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan ACE (*Studi In Silico*). *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 3 (1).
- Gardner, Franklin P., Dkk. (2008). *Fisiologi, Tanah Budidaya*. Universitas Indonesia (Ui-Press), Jakarta.
- Garg, N., Abdel-Aziz, S.M., & Aeron, A. (2016). *Microbes In Food And Health*, Springer, Switzerland 42-45.
- Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S., Changhai, W. (2015). Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Ind. Crops Prod*. 64, 175-181.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous Application Of Chitosan On Biochemical And Physiological

Characteristics, Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Two Species Of Basil (*Ocimum Ciliatum* And *Ocimum Basilicum*) Under Reduced Irrigation. *Sci. Hortic.* 217, 114–122.

- Ghoname, AA., El-Nemr, MA., RAbdel-Mawgoudand, AM., & El-Tohamy, WA. (2010). Enhancement of Sweet Pepper Crop Growth and Production by Application of Biological, Organic and Nutritional Solutions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3): 349-355.
- Govindaraju, S., dan Arulselvi, P. Indra. (2018). Effect Of Cytokinin Combined Elicitors (L-Phenylalanine, Salicylic Acid and Chitosan) On In Vitro Propagation, Secondary Metabolites And Molecular Characterization Of Medicinal Herb *Coleus Aromaticus* Benth (L.). *Journal Of The Saudi Society Of Agricultural Sciences*, 17 : 435-444
- Gudbjarnason, S. (1999). Bioactive Marine Natural Product. *Rit Fiskideilar*, 16: 107-110.
- Guyton, A. C. (1994). Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian III. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Hadwiger, L. A. (2013). Multiple Effect Of Chitosan On Plant Systems: Solid Science Or Hype. *Plant Sci*.
- Hamayun, M, Khan, SA, Khan, AL, Shinwari, ZK, Hussain, J, Sohn, E, Kang, SM, Kim, YH, Khan, MA, & Lee, IJ. (2010) Effect Of Salt Stress On Growth Attributes And Endogenous Growth Hormones Of Soybean Cultivar Hwangkeumkong, *Pakistan J. Bot*, 42(5): 3103 – 3112
- Haminiuk, C., Maciel, G., Plato-Oviedo, M., & Peralta, R. (2012). Phenolic Compounds In Fruits - An Overview. *International Journal Of Food Science And Technology*, 47 (10): 2023-2044.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi 2, Diterjemahkan Oleh Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J.B. (1994). *The Flavonoids, Advances In Research Since 1987*. Chapman And Hall, London.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia: Cara Menganalisa Tanaman*. Terjemahan K. Padwaminata dan I. Sudiro. ITB, Bandung.

- Hartono, Adi., Adlini, Miza Nina., Ritonga, Yusran Effendi., Tambunan, Muhammad Iqbal H., Nasution, Martua Syahriadi., & Jumiah. (2020). Identifikasi Tumbuhan Tingkat Tinggi (*Phanerogamae*) Di Kampus II UINSU. *Jurnal Biolokus : Jurnal Penelitian Pendidikan Biologi Dan Biologi*, 3(2) : 305-312.
- Haryadi, P. (2011). Studi Kelarutan Kitosan. [Http://Repository.Usu.Ac.Id](http://Repository.Usu.Ac.Id). [Diakses Pada Tanggal 20 November 2021].
- Hastuti, SD., Tokede, MJ & Maturbongs, RA. (2002). Tumbuhan Obat Menurut Etnobotani Suku Biak. [Traditional medicinal plants of the Biak people]. *Beccariana*, 4(1):20-40.
- Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., & Matraszek-Gawron, R. (2020). Eliciting Effect Of Foliar Application Of Chitosan Lactate On The Phytochemical Properties Of *Ocimum Basilicum* L. And *Melissa Officinalis* L, *Food Chemistry*.
- Hidayanto, M., Nurjanah, S & Yossita, F. (2003). Pengaruh Panjang Stek Akar dan Konsentrasi Natrium Nitrofenol Terhadap Pertumbuhan Stek Akar Sukun (*Artrocarpus communis* F.). *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. 6(2): 1.
- Hirano, S., Hayashi, M., & Okuno, S. (2001). Soybean Seeds Surface Coated With Depolymerised Chitins: Chitinase Activity As A Predictive Index For The Harvest Of Beans In Field Culture. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 81(2): 205-209.
- Ibrahim, E. A. (2016). Seed Priming To Alleviate Salinity Stress In Germinating Seeds. *Journal Of Plant Physiology*, 192: 38-46.
- Indrakusuma, (2000). *Proposal Pupuk Organik Cair Supra Alam Lestari*. PT Surya Pratama Alam. Yogyakarta
- Indrawati, Ni Luh., Razimin. (2013). *Bawang Dayak : Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ismahen Hassini., Juan J. Rios., Paula, Garcia-Ibanez., Nieves, Baenas., Micaela, Carvajal., & Diego A. Moreno (2019). Comparative Effect Of Elicitors On The Physiology And Secondary Metabolites In Broccoli Plants. *Journal Of Plant Physiology*, 239: 1-9.

- Ismail., Mohd., Ebby A. B., Farrah, S. I., Razif., Dasiman., & Zulkhairi, A. (2015). Effects of *Gynura procumbens* Extract on Liver Test of Hypercholesterolemia Induced Rabbits. *Jurnal Teknologi*.
- Jamuin. (2017). *Manfaat Daun Sambung Nyawa. Ramuan Untuk Kanker, Kista, Jantung*. [Http://Www.Jamuin.Com/2017/10/Manfaat-Daun-Sambung-Nyawa-Ramuan.Untuk.Html](http://Www.Jamuin.Com/2017/10/Manfaat-Daun-Sambung-Nyawa-Ramuan.Untuk.Html). (Diunduh Pada Tanggal 31 Maret 2021).
- Jasson, N. (2005) *The Determination Of Total Phenolic Compounds In Green Tea*. [Http://Folinciocalteu/Method/Colorimetric](http://Folinciocalteu/Method/Colorimetric), [Diakses Pada 22 Desember 2021].
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., & Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant Activity And Total Phenolic Content Of Iranian Ocimum Accessions, *Food Chemistry*, 83, 547-550.
- Jennifer, H., & Saptutyningsih, E. (2015). Preferensi Individu Terhadap Pengobatan. *Jurnal Ekonomi Dan Studi Pembangunan*, 16(April), 26–41.
- Jinus, Prihastani, E. & Haryanti, S. (2012). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)Root-Up dan Super-GA Terhadap Pertumbuhan Akar Stek Tanamn Jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq). *Jurnal Sains dan Matematika*. 20 (2): 35-40
- Junairiah., Ni'matuzzahroh., & Suwito, H. (2014). *Produksi Elisitor untuk Menstimulasi Metabolit Sekunder pada Kultur Jaringan Tumbuhan*. FMIPA Unair. Surabaya.
- Junandi., Mukarlina., & Linda, Riza. (2019). Pengaruh Cekaman Salinitas Garam Nacl Terhadap Pertumbuhan Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L.) Pada Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont*, 8(3): 101-105.
- Kaewseejan, N., & Siriamornpun, S. (2015). Bioactive Components And Properties Of Ethanolic Extract And Its Fractions From *Gynura Procumbens* Leaves. *Industrial Crops And Products*, 74, 271- 278.
- Kaewseejan, N., Puangpronpitag, D., & Nakornrian, M. (2012). Evaluation Of Phytochemical Composition And Antibacterial Property Of *Gynura Procumbens* Extract. *Asian Journal Of Plant Sciences*, 11(2), 77-82.

- Katiyar, D, Hermantaranjan, A., & Singh, B. (2015). Chitosan As Promising Natural Compound To Enhance Potential Physiological Responses In Plant : A Review. *Indian J. Plant.*
- Katsuhara M, Kawasaki T. (1996). Salt Stress Induced Nuclear And DNA Degradation In Meristematic Cells Of Barley Roots. *Plant And Cell Physiology.* 2(37) : 169-173.
- Keng, C. L., Yee, L. S., & Pin, P. L. (2009). Micropropagation Of *Gynura Procumbens* (Lour.) Merr. An Important Medicinal Plant. *Journal Of Medicinal Plants Research,* 3(3), 105-111.
- Kumar MNR. (2000). A Review Of Chitin And Chitosan Application. *J. Reac And Func Poly.* 46 :1-27.
- Kurabachew, H., & Wydra, K. (2014). Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Crop Protection,* 57, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.021>
- Kurniasari, Anna Median., Adisyahputra., & Rosman, Rosihan. (2010). Pengaruh Kekeringan Pada Tanah Bergaram NaCl Terhadap Pertumbuhan Tanaman Nilam. *Bul. Littro,* 21(1): 18-27.
- Kurniaty, R., B. Budiman., & Suwartama, M. (2010). Pengaruh Media Dan Naungan Terhadap Mutu Bibit Suren (*Toona sureni* Merr.). *Buletin Penelitian Hutan Tanaman,* 7 (2) : 77 – 80.
- Kusumiyati, T.M. Onggo., & F.A.Habibah. (2017). Pengaruh Konsentrasi Larutan Garam NaCl terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Bibit Lima Kultivar Asparagus. *Horti,* 27(1): 79-86.
- Lai, Y.H., & Lim Y.Y., (2011), *Evaluation Of Antioxcidant Activities Of The Methanolic Extract Of Selected Ferns In Malaysia.* IPCBEE 20.
- Lakitan, B. (1996). *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman.* PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Landete, J. (2012). Updated Knowledge About Polyphenols: Functions, Bioavailability, Metabolism, And Health. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition,* 52 (10): 936-948.

- Lau, Sulfiyana H. Ambo., Wahyudin, Elly., & Lallo, Subehan. (2018). Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Terenkapsulasi Maltodextrin dan Pengaruhnya Terhadap Kadar MDA Darah Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) Jantan yang Diinduksi CCl₄. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 22(3): 93 – 98.
- Lau, Sulfiyana H. Ambo., Wahyudin, Elly., & Lallo, Subehan. (2018). Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Terenkapsulasi Maltodextrin Dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Mda Darah Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*) Jantan Yang Diinduksi CCl₄. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. 22(3):93-98.
- Leiss, K.A., Y.H. Choi, R. Verpoorte, & G.L.K. Peter. (2011). An Overview Of NMR-Based Metabolomics To Identify Secondary Plant Compounds Involved In Host Plant Resistance. *Phytochem Rev*, 10:205-216.
- Letahiit, Samsul B., Nindatu, Maria., Seumahu, Cecilia A., & Riry, Johan. (2022) Efek Pemberian Pupuk NPK Dan Kitosan Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.). *AGROLOGIA*, 11(1):67-80
- Lila, M. A. (2004). Anthocyanins And Human Health: An *In Vitro* Investigative Approach. *Journal Of Biomedicine And Biotechnology*, 2004(5), 306- 313.
- Lindung. (2014). *Teknologi Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh*. Balai Pelatihan Pertanian. Jambi.
- List, P.H., & Schmidt, P.C. (2000). *Phytopharmaceutical Technology*, CRC Press, USA.
- Lopez, M., Martinez, F., Del-Valle, C., Ferrit, M., & Luque, R. (2003). Study Of Phenolic Compounds As Natural Antioxidants By A Fluorescence Method, *J.Talanta*, 60, 609-616.
- Lygin Anatoly V., Li Suxian, Vittal Ramya, Widholm Jack M., Hartman Glen L., & Lozovaya Vera V. (2009). The Importance Of Phenolic Metabolism To Limit The Growth Of *Phakopsora Pachyrhizi*. *Phytopathology*, 99(12): 1412-1420.
- Malerba, M, and Cerana, R. (2016). Chitosan Effects on Plant Systems. *Int. J. Mol.*

- Mandal, S., Mallick, N., & Mitra, A. (2009). Salicylic Acid-Induced Resistance To *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* In Tomato. *Plant Physiol. Biochem.* 47.
- Manoi, F., & N. N. Kristina. (2007). Budidaya, Kandungan Kimia Dan Pengolahan Sambung Nyawa. *Warta Puslitbangbun*, 13(3).
- Mardhiana, Febby., Soeparjono, Sigit., & Handoyo, Tri. (2018). Pengaruh Konsentrasi Dan Waktu Aplikasi Nacl Terhadap Hasil Dan Mutu Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *Journal Of Applied Agricultural Sciences*, 2(1): 1-8.
- Mariska, I. (2013). *Metabolit Sekunder: Jalur Pembentukan Dan Kegunaannya*. [Http://Biogen.Litbang.Pertanian. Go.Id/](http://Biogen.Litbang.Pertanian.Go.Id/). [Diakses Tanggal 10 November 2021].
- Mawgoud, A.M. (2003). Growth And Yield Responses Of Strawberry Plants To Chitosan Application. *European J. Of Scientific Res*,39(1): 161-168.
- Maw, S.S., Mon, M. M., & Oo, Z. K. (2011). Study on Antioxidant and Antitumor Activities of Some Herbal Extracts. *World Acad. Sco. Eng. Technol*, 75, 450 – 455.
- Meijer HJ., & Munnik T. (2003). Phospholipidbased Signaling In Plants. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 265–306.
- MOA. Kementerian Pertanian Malaysia. 2015. Usahawan: Industri Herba. <http://www.moa.gov.my/web/guest/industri-herba.html>. Diakses 20 Desember 2021.
- Mu TT., & Hin PP. (2015). Comparative Study On Shoots Formation And Productivity Of Teak (*Tectona grandis* L.F.) Planted In Hedge Garden. Leaflet No. 16/2015. *Ministry of Environmental Conservation and Forestry*.
- Mukhriani., et al. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L.). *Ad-Dawaa' J. Pharm. Sci*, 2(2).
- Muliani, Y. (2013). Karakter Biokimia Tanaman Kedelai Yang Berperan Dalam Resistensi Terhadap Lalat Bibit *Ophiomyia Phaseoli* Tryon. *CEFARS: Jurnal Agribisnis Dan Pengembangan Wilayah*, 4(2):31-39.
- Namdeo, A.G. (2007). Plant Cell Elicitation For Production Of Secondary Metabolites: A Review. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1):69-79.

- Narasimhamurthy, K., Soumya, K., Udayashankar, A., Srinivas, C., Niranjana, S. (2019). Elicitation Of Innate Immunity In Tomato By Salicylic Acid And Amomum Nilgircum Against Ralstonia Solanacearum. *Biocatal. Agric. Biotechnol*, 22.
- Nasir, N. N. N. M., Khandaker, M. M., & Mat, N. (2015). Bioactive Compound And Therapeutic Value Of The Some Malaysia Medicinal Plants: A Review. *Journal Of Agronomy*, 14(4), 319-330. Doi: 10.3923/Ja.2015.319.330
- Neldawati., Ratnawulan., & Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi Dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat, *Pillar Of Physics 2*, 76-83.
- Nofiani, R. (2008). Artikel Ulas Balik: Urgensi Dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2):120-125.
- Novita, M., Sulaiman, M. I., & Yura, S. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol Beberapa Jenis Bayam dan Sayuran Lain. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian Unsyiah*, 1(1), 935–940
- Nuraini, S., Hamdani, J. S., Suminar, E., & Ardiyansyah D. (2017). Aplikasi Chitosan Untuk Meningkatkan Hasil Benih Kentang *G₀* (*Solanum tuberosum* L.) Kultivar Granola Pada Berbagai Jenis Media Tanam. *Jurnal Kultivasi*, 16(3): 466-473.
- Nuridin. (2011). Penggunaan Lahan Kering di Das Limboto Provinsi Gorontalo untuk Pertanian Berkelanjutan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 30(3):98-107.
- Nurhayati, Siadi, K., & Herjono. (2012). Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat Dan Lama Penyimpanan Pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat, *Indo. J.Chem. Sci*, 1 (2), 158-163.
- Osakabe Y Et Al. (2013). Sensing The Environment: Key Roles Of Membrane-Localized Kinases In Plant Perception And Response To Abiotic Stress. *J Exp Bot*, 64: 445–458.
- Pamungkas, Tri Febriani., Darmanti, Sri., & Raharjo, Budi. (2009). Pengaruh Konsentrasi Dan Lama Perendaman Dalam Supernatan Kultur *Bacillus* Sp.2 Ducc-Br-K1.3 Terhadap Pertumbuhan Stek Horisontal Batang Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Jurnal Sains dan Matematika*, 17(3): 131-140.

- Pandey, P., M. K. Verma and N. De. 2018. Chitosan in Agricultural Context-A Review. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. 7(4) : 87-96.
- Park S, et al. (2010). Glyceollins, One Of The Phytoalexins Derived From Soybeans Under Fungal Stress, Enhance Insulin Sensitivity And Exert Insulinotropic Actions. *J Agric Food Chem*, 58: 1551–1557.
- Prats, E., M.E. Bazzalo, A. Le´On, & J.V. Jorr´Yn. (2003). Accumulation Of Soluble Phenolic Compounds In Sunflower Capitula Correlates With Resistance To *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Euphytica*, 132:321–329.
- Priamsari, M.R., M. M. Susanti., A. Farmasi., T. Semarang., & A. H. Atmaja. (2016). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Ekstrak Dan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* [Lour.] Merr.). *Journal Of Pharmacy*, 5: 29-33.
- Prior, R. L., Wu, X, & Schaich, K. (2005). Standarized Methods For Determination Of Antioxidants Capacity And Phenolics In Foods And Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*, 55, 2698A-J.
- Purnama, Andi MS., Mutakin, Jenal., & Nafia’ah, Hanny Hidayati. (2021). Pengaruh Berbagai Konsentrasi Pupuk Organik Cair (POC) *Azolla pinnata* Dan Jarak Tanaman Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.). *Jurnal Agroteknologi Dan Sains*, 6(1): 65-77.
- Putri, Haulia Dwi., Sumpono., & Nurhamidah. (2018). Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (*Hevea brassiliensis*) dan Aplikasinya Dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 2(2).97-105.
- Rahman, A. F. M. M., & Asad, M. S. A. (2013). Chemical And Biological Investigations Of The Leaves Of *Gynura Procumbens*. *International Journal Of Biosciences*, 3(4), 36-43. Doi: 10.12692/Ijb/3.4.36-43
- Ramakrishna A., & Ravishankar GA. (2011). Influence Of Abiotic Stress Signals On Secondary Metabolites In Plants. *Plant Signal Behav*, 6: 1720–1731.
- Ramirez-Estrada, K., Heriberto V., Diego H., Elisabeth M., Marta G. Rosa M.C., & Javer P. (2016). Elicitation, An Effective Strategy For The

- Biotechnological Production Of Bioactive High-Addedvalue Compounds In Plant Cell Factories. *Molecules*, 21(182): 1-24.
- Rathore, SV., Kanwar, G., Jain, N., Kirad, S., Yadav, M, R. (2014). A Study On Serum Lipid Profile In Hypertensive Patients Of Hadoti Region. *Impact Journals*, 2(8): 53-60.
- Rivai, Harrizul., Azizah, Zikra., & Frizkiah, Dea. (2019). *Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Kandungan Senyawa Kimia Dari Ekstrak Heksan, Aseton, Etanol Dan Air Daun Sambung Nyawa (Gynura procumbens (Lour.) Merr.)*. Universitas Andalas. (06 Maret 2019).
- Rochiman S., & Harjadi. (2003). *Pembiakan Vegetatif*. Departemen Agronomi IPB, Bogor.
- Rohin, M. A. K., Jumli, M. N., Ridzwan, N., Baig, A. A., Latif, A. Z. A., & Hadi, N. A. (2018). Effect Of *Gynura Procumbens* Extracts On Anti- Proliferative Activity And Its Associated Morphological Changes Of Human *Glioblastoma Multiforme* Cell Line (U-87). *Pharmacognosy Journal*, 10(3), 492-496. Doi: 10.5530/ Pj.2018.3.81
- Romadloni, A & Wicaksono, KP. (2018). Pengaruh Beberapa Level Salinitas Terhadap Perkecambahan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Varietas Vima 1. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(8): 1663 – 1670.
- Roos, W., Dordschbal, B., Steighardt, J., Hieke, M., Weiss, & D., Saalbach G. (1999). A Redox Dependent, Gprotein-Coupled Phospholipase A Of The Plasma Membrane Is Involved In The Elicitation Of Alkaloid Biosynthesis In *Eschscholtzia californica*. *Biochim Biophys Acta*, 1448(3):390-402.
- Rosidah, Yam, M. F., Sadikun, A., & Asmawi, M. Z. (2008). Antioxidant Potential Of *Gynura Procumbens*. *Pharmaceutical Biology*, 46(9), 616-625.
- Rubiyo & W. Amaria. (2013). Ketahanan Tanaman Kakao Terhadap Penyakit Busuk Buah (*Phytophthora Palmivora* Butl.). *Perspektif*, 12(1):23-36.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, Dan Teknik Pemurnian*. Deepublish, Sleman, Yogyakarta. 113p.
- Saija, A., M. Scalese, M. Lanza, D. Marzullo, F. Bonina, & F. Castelli. (1995). Flavonoids As Antioxidant Agents: Importance Of Their Interaction With Biomembranes. *Free Radic. Biol. & Med*, 19(4):481-486.

- Sainju, U. M., Singh B. P., & Whitehead W. F. (2005). Tillage, Cover Crops, And Nitrogen Fertilization Effect On Cotton And Sorghum Root Biomass, Carbon, And Nitrogen. *Agron. J.* 97 :1279-1290.
- Salisbury, F.B & Ross. C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 1*. ITB, Bandung
- Samec, D., Linic, I., & Salopek-Sondi, B. (2021). Salinity Stress As An Elicitor For Phytochemicals And Minerals Accumulation In Selected Leafy Vegetables Of Brassicaceae. *Agronomy*, 11 (361): 1-14.
- Sam, Sulastri., Malik, Abd., & Handayani, Selpida. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka*, 3(2): 182-187.
- Santoso, Agus Muji., Riska, Lailatul., & Rizal Miftachul. (2012). Pengaruh Cekaman Salinitas Terhadap Morfologi Akar Tepung Kopek Lokal. *Seminar Nasional IX*. Pendidikan Biologi, Universitas Nusantara PGRI Kediri.
- Santoso, Hieronymus Budi. (2019). *Seri Mukjizat Daun : Daun Sambung Nyawa*. Pohon Cahaya Semesta, Yogyakarta.
- Sasmita, Ellen Rosyelina., & Haryanto, Darban. (2016). *Penerapan Kitosan Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kemiri Sunan*. Fakultas Pertanian UPN Veteran ,Yogyakarta.
- Sathiyavani, N.K. Prabaharani and K. Krishna S. (2017). Role of Mineral Nutrition on Root Growth of CropPlants-AReview. *Int. J.Curr. Microbial. App. Sci*, 6(4): 2810-2837.
- Schluttenhofer C., & Yuan L. (2015). Regulationof Specialized Metabolism By WRKY Transcription Factors. *Plant Physiol*, 167: 295–306
- Seafast Centre. (2013). “Pewarna Alami Untuk Pangan: Kuning-Merah Karotenoid: *Situs Resmi Seafast*. [Http://Seafast.Ipb.Ac.Id/Tpc-Project/Wp-Content/Uploads/2013/03/10-Kuning-Merah-Karotenoid.Pdf](http://Seafast.Ipb.Ac.Id/Tpc-Project/Wp-Content/Uploads/2013/03/10-Kuning-Merah-Karotenoid.Pdf) [Diakses pada 10 November 2021].
- Setyorini, Sulistiyo Dwi., & Yusnawan, Eriyanto. (2016). Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang Sebagai Respon Cekaman Biotik. *Iptek Tanaman Pangan*, 11(2): 167-176.

- Setyowati, Widiastuti Agustina Eko., & Damayanti, Dhika Rizqi. (2013). *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk*. PMIPA FKIP UNS, Surakarta.
- Seybold H et al. (2014). Ca^{2+} Signalling In Plant Immune Response: From Pattern Recognition Receptors To Ca^{2+} Decoding Mechanisms. *New Phytol*, 204: 782–790.
- Shakya, Preeti., Gregory, Marslin., Karthik, Siram., Ludger, Beerhues., & Gregory, Franklin. (2016). Elicitation As A Tool To Improve The Profiles Of High-Value Secondary Metabolites And Pharmacological Properties Of *Hypericum Perforatum*. *Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, 71: 70-82.
- Shannon, M.C., (1999). Salinity and Horticulture. *An International Journal. The International Society for Horticultural Science*. 78: 1-4.
- Sharma, M., Sharma, A., Kumar, A., & Basu, S.K. (2011). Enhancement Of Secondary Metabolites In Cultured Plant Cells Through Stress Stimulus. *American Journal Of Plant Physiology*, 6(2):50-71.
- Shilpa, K., Varun, K., & Lakshmi, B.S. (2010). An Alternate Method Of Natural Drug Production: Elciting Secondary Metabolite Production Using Plant Cell Culture. *Journal Of Plants Sciences*, 5(3):222-247.
- Sinaga, Mersi Suriani., Siagian, Putri Defriska., & Ariska, Rika. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens* (Lour.) Merr) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa Menggunakan Pelarut Metanol. *Jurnal Teknik Kimia Usu*, 6(2): 41-47.
- Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H., & Arora, D.S. (2016). In Vitro Antioxidant And Antimicrobial Properties Of Jambolan (*Syzygium Cumini*) Fruit Polyphenols. *LWT*, 65 (January): 1025-1030.
- Siregar, LAM, Rosmayati, R & Julita, J (2010). Uji beberapa varietas tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) terhadap Salinitas. *Jurnal Ilmu Pertanian Kultivar*, 4(2): 29-36.

- Sirikantaramas, S., M. Yamazaki, K. Saito. (2008). Mechanisms Of Resistance To Self-Produced Toxic Secondary Metabolites In Plants. *Phytochem. Rev.*, 7:467-477.
- Sirikantaramas, S., M. Yamazaki, K. Saito. (2008). Mechanisms Of Resistance To Self-Produced Toxic Secondary Metabolites In Plants. *Phytochem. Rev.* 7:467-477.
- Sitorus, Uli Kris Putri., Siagian, Balonggu., & Rahmawati, Nini. (2014). Respons Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Pemberian Abu Boiler Dan Pupuk Urea Pada Media Pembibitan. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 2(3): 1021-1029.
- Soepardi, G., (1983). *Sifat dan ciri tanah*. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Soleas, G. J., E. P. Diamandis., & D. M. Goldberg. (2000). *The World Of Resveratrol. Nutrien And Cancer Prevention*. New York.
- Somerville, C., Cohen M., Pantanella E., Stankus A., & Lovatelli A. (2014). *Small Scale Aquaponic Food Production: Integrated Fish and Plant Farming in FAO Fishers and Aquaculture Technical Paper Food and Agriculture Organization of The United Nations*. Rome, Italy.
- Srijita, Dutta. (2015). *Sweet Potatoes for Diabetes Mellitus : A Systematic Review*. 6 (1). 60-72.
- Sriyanti, D. P, & Wijayani, A. (1994). *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Subiakto, A. (2009). *Aplikasi Koffco Untuk Produksi Stek Jenis Pohon Indigenous*. Pusat Litbang Hutan Dan Konservasi Alam, Bogor.
- Suci, Dwi Ariskha Wulan. (2020). Pengaruh Kitosan Terhadap Kandungan Flavonoid Pada Kalus Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Merr) Secara In Vitro. *Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Sukadeetad, K., Nakbanpote, W., Heinrich, M., & Nuengchamning, N. (2018). Effect Of Drying Methods And Solvent Extraction On The Phenolic Compounds Of *Gynura Pseudochina* (L.) Dc. Leaf Extracts And Their Anti-Psoriatic Property. *Industrial Crops And Products*, 120, 34-46.

- Suparmi (2021). *Menjaga Keaslian dan Keamanan 'Jawara', Jamu Warisan Nusantara*. <https://radarsemarang.jawapos.com/artikel/opini/2021/07/05/menjaga-keaslian-dan-keamanan-jawara-jamu-warisan-nusantara/>. [Diakses pada tanggal 03 Januari 2022]
- Suprpto. A. (2004). *Auksin : Zat pengatur Tumbuh penting meningkatkan mutu stek tanaman*. Fakultas Pertanian. Universitas Tidar Magelang. Magelang
- Suptijah P. (2006). Deskripsi Karakteristik Fungsional Dan Aplikasi Kitin Dan Kitosan. *Prosiding Seminar Nasional Kitin Dan Kitosan*.
- Suptijah, Pipih., Jacob, Agoes M., & Mursid, Sugara. (2010). Teknik Peranan Kitosan Dalam Peningkatan Pertumbuhan Tomat (*Lycopersicum Esculentum*) Selama Vase Vegetatif. *Jurnal Sumber Daya Perairan*, 4(1): 9-14.
- Suraya, U. (2019). Inventarisasi dan Identifikasi Tumbuhan Air di Danau Hanjalutung Palangka Raya. *Jurnal Ilmiah Pertanian dan Kehutanan*, 6(2), 149-159.
- Syagdani, Adi., Purnamasari., & Necessary, Ester. (2019). Prototipe Alat Evaporator Vakum (Efektivitas Temperatur Dan Waktu Evaporasi Terhadap Tekanan Vakum Dan Laju Evaporasi Pada Pembuatan Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)). *Jurnal Kinetika*, 10(2): 29-35.
- Syukur, C., & Hermani. (2001). *Budidaya Tanaman Obat Komersial*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tabarez, M.R. (2005). *Discovery Of The New Antimicrobial Compound 7-O-Malonyl Macrolactin A Dissertation Van Der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultat*. Universitat Carolo-Wilhelmina, Jerman.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology. 3rd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, Tyne And Wear*. England: 690p
- Tan, H. L., Chan, K. G., Pusparajah, P., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2016). *Gynura Procumbens: An Overview Of The Biological Activities. Frontiers In Pharmacology*, 7(52), 1-14.
- Tudor-Nelson, S. M., Minsavage, G. V., Stall, R. E., & Jones, J. B. (2003). Bacteriocinlike substances from tomato race 3 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 93(11), 1415-1421.

- Uthairatanakij A., Da Silva JAT., & Obsuwan K. (2007). Chitosan For Improving Orchid Production And Quality. *Global Science Books*.
- Van Wees SC et al. (2008). Plant Immune Responses Triggered By Beneficial Microbes. *Curr Opin Plant Biol*, 11: 443–448.
- Vanijajiva, Ongkarn. (2009). The Genus *Gynura* (Asteraceae: Senecioneae) In Thailand. *Thai Journal Of Botany*, 1(1), 25-36.
- Vanijavija, Ongkarn. (2011). A Revision Of *Gynura* (Asteraceae: Senecioneae). *Journal Of Sysematics And Evolution*, 49(4): 285-314.
- Vasconsuelo A., & Boland R. (2007). Molecularaspects Of The Early Stages Of Elicitation Of Secondary Metabolites In Plants. *Plant Sci*, 172: 861–875.
- Vermeris, W., & Nicholson R. (2006). *Phenolic Compound*. Netherland: Springer.
- Wang J et al. (2015). Enhanced Production Of Flavonoids By Methyl Jasmonate Elicitation In Cell Suspension Culture Of *Hypericum Perforatum*. *Bioresour Bioprocess*, 2: 1–9.
- Wattimena, G. A. (1991). *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU-IPB, Bogor.
- White PJ., & Broadley MR. (2003). Calcium Inplants. *Ann Bot*, 92: 487–511
- Wiant, C. (2002). *Medicinal Plants Of Southeast Asia* (2nd Ed.). Petaling Jaya, Malaysia: Prentice Hall.
- Wijayanti, Rachma. (2012). Budidaya Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens* (Lour.) Merr.) Dan Khasiatnya Di PT Indmira Yogyakarta. *Skripsi*. Program Diploma III Agribisnis Agrofarmaka. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Xia, E., Deng, G., Guo, Y., & Li, H. (2010). Biological Activities of Polyphenol from Grapes. *Int. J. Mol. Sci*, 11.
- Yan, X., Pei W., Ting Z., Zhenxin G., & Runqiang Y. (2017). NaCl-CaCl₂ Treatment Enhancing Nutritional And Functional Quality Of Mung Bean Sprouts. *Emirates Journal Of Food And Agriculture*, 29(2): 123-130.
- Yuliana, A. (2003). Pengaruh Penambahan Polisakarida Sebagai Elisitor untuk Produksi Antioksidan Selama Germinasi Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguicula*) dan Kedelai Hitam (*Glycine max*). *Skripsi*. Jurusan Teknologi Pangan Dan Gizi IPB, Bogor.

- Yulistian, D. P., Utomo, E. P., Ulfa, S. M., & Yusnawan, E. (2015). Studi Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Hasil Isolasi Dan Kadar Senyawa Fenolik Dalam Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmu Kimia*, 1(1): 819-825.
- Yusoff, Martini Mohammad., Azizah, Misran., Omar, Ali Ahmed., Wan, Huda Dini Wan Majid., Puteri, Edaroyati Megat Wahab & Nur Fatin Ahmad. (2019). *Gynura procumbens*: Agronomic Practices and Future Prospects in Malaysia. *Pertanika J. Trop. Agric. Sc*, 42 (2): 421 – 434.
- Zhao J et al. (2005). Elicitor Signal Transduction Leading To Production Of Plant Secondary Metabolites. *Biotechnol Adv*, 23: 283–333.
- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*. 6, 66–71.
- Zyrex. (2012). *Aplikasi Chitosan Pada Bidang Pertanian*. [Http://Unsri.Ac.Id](http://Unsri.Ac.Id). [Diakses Pada Tanggal 02 Januari 2022].



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A