

**PENGARUH BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) DAN NAA
(NAPHTHALENE ACETIC ACID) TERHADAP INDUKSI TUNAS
TANAMAN INSULIN (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray) SECARA *IN
VITRO***

SKRIPSI



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

**Disusun Oleh :
SITI MALIHATUS SA'ADAH
NIM. H71219032**

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

2023

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Siti Malihatut Sa'adah

NIM : H71219032

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "PENGARUH BAP (6-BENZYL AMINO PURINE) DAN NAA (NAPHTHALENE ACETIC ACID) TERHADAP INDUKSI TUNAS TANAMAN INSULIN (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) SECARA *IN VITRO*". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 5 Juli 2023

Yang Menyatakan,



METERAI
TEMPEL
10000
769AKX319487298

Siti Malihatut Sa'adah

NIM. H71219032

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

PENGARUH BAP (6-BENZYL AMINO PURINE) DAN NAA (NAPHTHALENE
ACETIC ACID) TERHADAP INDUKSI TUNAS TANAMAN INSULIN
(*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) SECARA *IN VITRO*

Diajukan oleh:
Siti Malihat Sa'adah
NIM. H71219032

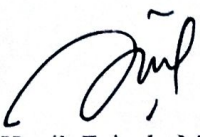
Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 26 Juni 2023

Dosen Pembimbing Utama


Irul Hidayati, M.Kes.

NIP. 198102282014032001

Dosen Pembimbing Pendamping


Hanik Faizah, M.Si.

NUP. 201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Siti Malihatul Sa'adah ini telah
dipertahankan di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 05 Juli 2023

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I




Irul Hidayati, M.Kes.
NIP. 198102282014032001

Penguji II



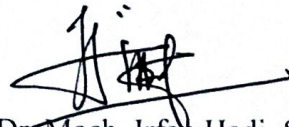
Hanik Faizah, M.Si.
NUP. 201409019

Penguji III



Saiku Rokhim, M.KKK
NIP. 198612212014031001

Penguji IV



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

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Sunan Ampel Surabaya



Dr. Abdul Hamdani, M.Pd.
NIP. 196507312000031002

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Siti Malihatuss Sa'adah
NIM : H71219032
Fakultas/Jurusan : Fakultas Sains dan Teknologi / Biologi
E-mail address : sitimalihatuss32@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 BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) DAN NAA (NAPHTHALENE ACETIC ACID)
TERHADAP INDUKSI TUNAS TANAMAN INSULIN (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)
SECARA IN VITRO

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, 21 Juli 2023

Penulis



(
nama terang dan tanda tangan
)

ABSTRAK

PENGARUH BAP (6-BENZYL AMINO PURINE) DAN NAA (NAPHTHALENE ACETIC ACID) TERHADAP INDUKSI TUNAS TANAMAN INSULIN (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) SECARA *IN VITRO*

Tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) merupakan tanaman herba dari Famili Asteraceae yang memiliki manfaat di berbagai bidang, khususnya di bidang kesehatan dan farmakologi. Potensi tanaman insulin di bidang farmakologi meningkatkan prospek budidaya tanaman insulin. Dibutuhkan suatu metode budidaya yang dapat menghasilkan tanaman insulin dalam jumlah yang banyak dan dengan waktu yang singkat. Metode kultur jaringan merupakan metode yang tepat untuk budidaya tanaman insulin. Keberhasilan induksi tunas dalam kultur jaringan sangat ditentukan oleh zat pengatur tumbuh yang ditambahkan, terutama zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap induksi tunas tanaman insulin. Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan serta 4 pengulangan. Eksplan nodus tanaman insulin ditanam pada media MS (*Murashige and Skoog*) yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh BAP (1,5 ppm; 3,0 ppm; dan 4,5 ppm) dan NAA (0,5 ppm; 1,0 ppm) yang kemudian diinkubasi selama 28 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA satu arah dan uji *Kruskall-Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan zat pengatur tumbuh berpengaruh nyata terhadap beberapa parameter induksi tunas tanaman insulin. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan terbaik pada parameter waktu muncul tunas (7,6 HST), jumlah tunas (3,00), dan tinggi tunas (4,15 cm). Perlakuan BAP 1,5 ppm + NAA 1,0 ppm menghasilkan presentase pembentukan terbaik (91,75 %). Perlakuan BAP tunggal 3,0 ppm memiliki hasil terbaik pada parameter jumlah daun (8,33) dan berat kering tunas (0,0122 gram). Perlakuan BAP 1,5 ppm + NAA 0,5 ppm menghasilkan berat kering kalus terbaik (0,11 gram). Sedangkan seluruh perlakuan (kecuali kontrol) menghasilkan presentase kalus yang sama (100%).

Kata kunci: Induksi Tunas, Zat Pengatur Tumbuh, *Tithonia diversifolia*, *direct organogenesis*, Mikropropagasi

ABSTRACT

THE EFFECT OF BAP (6-BENZYL AMINO PURINE) AND NAA (NAPHTHALENE ACETIC ACID) ON IN VITRO SHOOT INDUCTION OF INSULIN (*Tithonia diversifolia* (Hemsl. A. Gray)

Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray is a herbaceous plant from the Asteraceae family which have several pharmacological benefits. The pharmacology potential of *T. diversifolia* increases the prospects for the plant cultivation. A cultivation method is needed that can produce large number of plant in a short time. The tissue culture method is the right method for cultivating *T. diversifolia*. The success of shoot induction in tissue culture is determined by the plant growth regulators, especially hormone cytokinin and auxin. This study aims to determine the effect of plant growth regulators BAP and NAA on the shoot induction of insulin plant. The research method used was an experimental research method with a Completely Randomized Design with 10 treatments and 4 replications. Nodal explants of insulin plants were grown on MS (Murashige and Skoog) media which was supplemented with plant growth regulators BAP (1.5 ppm; 3.0 ppm; and 4.5 ppm) and NAA (0.5 ppm; 1.0 ppm) which were incubated for 28 days. The data obtained were analyzed by one way ANOVA test and Kruskal-Wallis test. The results showed that the treatment of plant growth regulators had a significant effect on several parameters of *T. diversifolia* shoot induction. The control treatment was the best treatment for the parameters of shoot emergence time (7.6 DAP), number of shoots (3.00), and shoot height (4.15 cm). Treatment of BAP 1.5 ppm + NAA 1.0 ppm resulted in the best percentage of shoot formation (91.75%). A single BAP treatment with 3.0 ppm concentration had the best results on the parameters of the number of leaves (8.33) and shoot dry weight (0.0122 grams). Treatment of BAP 1.5 ppm + NAA 0.5 ppm produced the best callus dry weight (0.11 gram). While all treatments (except control) produced the same percentage of callus (100%).

Key words: Shoot Induction, Plant Growth Regulator, direct organogenesis, *Tithonia diversifolia*, Micropropagation

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
PEDOMAN TRANSLITERASI.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
ABSTRAK.....	ix
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Penelitian.....	9
1.6 Hipotesis Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Tanaman Insulin (<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray).....	10
2.1.1 Deskripsi Tanaman Insulin.....	10
2.1.2 Morfologi Tanaman Insulin.....	11
2.1.3 Kandungan Tanaman Insulin.....	12
2.1.4 Manfaat Tanaman Insulin.....	13
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan.....	15
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan.....	15
2.2.2 Prinsip Kultur Jaringan.....	17

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Hara pada Media MS (<i>Murashige and Skoog</i>)	22
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian	33
Tabel 3.2 Timeline Pengerjaan Skripsi	34
Tabel 4.1 Rata-rata Waktu Munculnya Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	45
Tabel 4.2 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Presentase Pembentukan Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	50
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Parameter Presentase Pembentukan Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	51
Tabel 4.4 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Rata-Rata Jumlah Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	57
Tabel 4.5 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Parameter Rata-rata Jumlah Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	58
Tabel 4.6 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Rata-Rata Tinggi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>) yang Tumbuh	64
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Parameter Rata-rata Tinggi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	65
Tabel 4.8 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	69
Tabel 4.9 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Parameter Rata-rata Jumlah Daun Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	70
Tabel 4.10 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Rata-Rata Berat Kering Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	75
Tabel 4.11 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Parameter Berat Kering Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	76
Tabel 4.12 Nilai Signifikansi <i>Kruskall-Wallis</i> dan Presentase Pembentukan Kalus Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	80
Tabel 4.13 Morfologi Kalus pada Proses Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>T.</i> <i>diversifolia</i>)	84
Tabel 4.14 Nilai Signifikansi ANOVA satu arah dan Rata-Rata Berat Kering Kalus Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>)	87

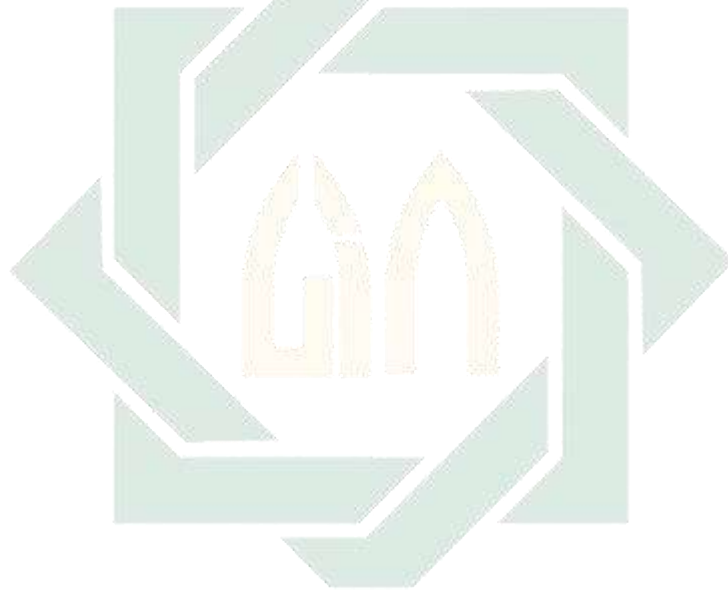
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Tanaman Insulin	11
Gambar 2. 2	Korelasi antara Konsentrasi Auksin dan Sitokinin pada Pertumbuhan.....	27
Gambar 2. 3	Struktur Kimia NAA.....	29
Gambar 2. 4	Struktur Kimia BAP	30
Gambar 3. 1	Bagian nodus tanaman insulin yang dijadikan eksplan	39
Gambar 4. 1	Tunas yang mulai muncul saat induksi tunas tanaman insulin.....	45
Gambar 4. 2	Pengamatan pembentukan tunas pada hari ke-28.....	49
Gambar 4. 3	Pengamatan Pertumbuhan Tunas pada Minggu Ke-4	55
Gambar 4. 4	Grafik Peningkatan Jumlah Tunas pada Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	56
Gambar 4. 5	Aktivitas antagonis auksin terhadap sitokinin	59
Gambar 4. 6	Pengamatan Pertumbuhan Tunas pada Minggu Ke-4	63
Gambar 4. 7	Grafik Pertambahan Jumlah Daun Tunas Tanaman Insulin di Setiap Minggu.....	68
Gambar 4. 8	Morfologi Perkembangan Daun pada Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	69
Gambar 4. 9	Regulasi sitokinin dalam inisiasi daun primordia.....	73
Gambar 4. 10	Hasil Panen Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>)	75
Gambar 4. 11	Morfologi Kalus pada Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	85
Gambar 4. 12	Morfologi Kalus Kering pada Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>).....	89

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian Pengaruh BAP dan NAA terhadap Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>T. diversifolia</i>)	108
Lampiran 2 Media Kultur dan Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan	110
Lampiran 3 Komposisi Media MS dan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA	111
Lampiran 4 Hasil Analisis Statistik pada Pengaruh BAP dan NAA terhadap Induksi Tunas Tanaman Insulin (<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray)	112



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk dalam salah satu negara yang memiliki angka keanekaragaman hayati yang tinggi dan menjadi salah satu dari 17 negara dengan biodiversitas terbesar di dunia. Indonesia memiliki hutan tropis seluas 143 juta hektar dan menjadi hutan tropis terluas setelah Brazil, dan Zaire. Di dalam hutan tropis tersebut, terdapat 25.000 spesies atau $\pm 10\%$ dari total jenis flora dunia dengan 1.260 spesies dimanfaatkan sebagai tanaman obat, dan 300 spesies sudah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional (Tomnussa, 2015).

Tanaman obat merupakan tanaman yang diyakini bisa dimanfaatkan bagian-bagiannya sebagai penghilang rasa sakit atau sebagai penyembuh dari suatu penyakit (Suriawiria, 2000). Di dalam Al Qur'an, tepatnya pada Surah Asy-Syuara ayat 7 telah dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan alam semesta dan seluruh isinya pasti memiliki berbagai manfaat dan hikmah, termasuk tanaman obat. Allah SWT berfirman bahwasannya seluruh tanaman yang diciptakannya akan membawa manfaat bagi manusia.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Q.S Asy-Syuara: 7)

Pada Q.S Asy Syuara ayat 7 menjelaskan bahwa sebelum adanya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, Allah SWT telah menunjukkan keagungan dan kekuasaan-Nya. Allah telah menumbuhkan berbagai jenis

tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia, dengan aneka warna, serta mempunyai kekhususan sendiri baik daun, bunga, dan buahnya pada setiap jenisnya. Meskipun semuanya tumbuh di tanah yang sejenis dan diairi dengan air yang sama, tetapi menghasilkan buah-buahan yang berlainan bentuk, warna, dan rasanya. Hal tersebut merupakan pertanda atas kekuasaan Allah, dan anugerah-Nya yang tak terhingga kepada manusia (Tafsir Kemenag, 2019).

Tanaman insulin atau tanaman paitan (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) merupakan salah satu jenis tanaman perdu berbunga yang persebarannya hampir di seluruh wilayah Indonesia. Tanaman insulin atau yang memiliki nama lain *Mexican Sunflower* berasal dari Mexico. Tanaman insulin merupakan dari famili *Asteraceae* yang memiliki tinggi ± 5 m. Tanaman insulin mampu tumbuh dengan baik pada tanah yang tingkat kesuburannya rendah, ataupun tumbuh secara liar sebagai perdu. Tanaman insulin memiliki kemampuan adaptasi cukup luas, yaitu sekitar 2-1.800 meter di atas permukaan air laut (Herliandi, 2020).

Tanaman insulin mengandung berbagai senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan seperti alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, terpenoid, dan fenol. Senyawa tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dari proses analisis fitokimia pada bagian daun, batang, dan akar tanaman insulin (Olayinka *et al.*, 2015). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman insulin memiliki berbagai aktivitas farmakologi, seperti aktivitas antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antinosisepsi, antidiare, antimalaria, dan aktivitas kemopreventif kanker (John-Dewole & Oni, 2013; Tania *et al.*, 2016; Olukunle *et al.*, 2014; Ezeonwumelu *et al.*, 2012; Oyewole *et al.*, 2008; Gu *et al.*, 2002; Kawini *et al.*,

2017). Tanaman insulin juga memiliki aktivitas antidiabetes, dan antihiperlikemia (Yazid *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2018).

Secara tradisional, tanaman insulin pada umumnya dimanfaatkan sebagai obat luka, lebam, obat sakit perut, dan kembung. Serta dimanfaatkan sebagai obat lepra, lever, obat diabetes, dan penggugur kandungan (Dwiputri *et al.*, 2016). Pemanfaatan tanaman insulin sebagai obat tradisional cukup tinggi di beberapa negara. Di Venezuela, masyarakat memanfaatkan tanaman insulin untuk mengobati abses, di Mexico dan Nigeria digunakan untuk mengobati malaria, hematoma, dan nyeri otot, di India tanaman insulin dipakai untuk mengobati luka, dan infeksi kulit, digunakan untuk mengobati diabetes di Taiwan, obat malaria, obat penawar bisa gigitan ular, dan mengobati ektoparasit pada sapi serta meningkatkan nafsu makan di Kenya. Tanaman insulin di Uganda dimanfaatkan untuk mengobati infeksi mikroba pada organ seksual. Selain itu, di Nigeria, Malawi, Kenya, Uganda, dan Zimbabwe tanaman insulin dimanfaatkan sebagai pakan unggas, pestisida, kompos untuk perbaikan tanah, dan untuk fitoremediasi (Omokhua *et al.*, 2018).

Tingginya angka pemanfaatan tanaman insulin di beberapa negara menyebabkan prospek yang baik pada budidaya tanaman insulin sebagai salah satu tanaman obat di Indonesia, bahkan bisa menjadi potensi ekspor ke negara lain. Budidaya tanaman insulin sendiri dapat dilakukan secara generatif dan vegetatif. Perkembangbiakan generatif tanaman insulin dapat dilakukan melalui biji (Muoghalu & Chuba, 2005), sedangkan perbanyakan secara vegetatif konvensional bisa dilakukan dengan cara stek batang. Namun, budidaya tanaman insulin secara konvensional memiliki beberapa kendala, diantaranya adalah membutuhkan banyak waktu, sangat bergantung pada musim, belum tentu menghasilkan tanaman

yang berkualitas baik, dan terdapat gangguan yang berasal dari hama dan virus ataupun gangguan lain yang menghambat pertumbuhan tanaman di lapangan. Keterbatasan dan kendala pada budidaya tanaman insulin secara konvensional mempengaruhi hasil pertumbuhan tanaman insulin. Oleh karena itu, diperlukan suatu cara untuk dapat melakukan budidaya tanaman insulin agar mampu tumbuh dan berproduksi dengan baik. Salah satu teknik budidaya yang bisa dilakukan adalah teknik kultur jaringan atau perbiakan secara *in vitro*.

Kultur jaringan atau kultur *in vitro* adalah metode budidaya tanaman yang menggunakan bagian berupa sel, jaringan, ataupun organ di dalam suatu botol kaca atau secara *in vitro*. Kultur jaringan dapat memproduksi bibit tanaman yang berkualitas, seragam, memiliki keidentikan sifat dengan tanaman induknya, dan hanya membutuhkan jangka waktu yang singkat dalam produksi tanaman. Salah satu tahapan kultur jaringan tanaman adalah induksi tunas. Induksi tunas merupakan suatu proses untuk menumbuhkan tunas atau mempercepat munculnya tunas (Rizqi, 2019; Hayati, 2021). Induksi tunas sering digunakan dalam kultur jaringan karena hanya memerlukan waktu yang singkat, membutuhkan bahan tanaman yang sedikit, dan menghasilkan tanaman dengan tingkat penyimpangan genetik yang rendah dan bebas penyakit (Isda *et al.*, 2014).

Induksi tunas pada kultur *in vitro* tanaman insulin dapat melalui proses morfogenesis. Morfogenesis merupakan proses perkembangan morfologi tanaman yang berasal dari eksplan. Morfogenesis dapat dibagi menjadi 2, yaitu morfogenesis secara langsung (*direct morphogenesis*) dan morfogenesis tidak langsung (*indirect morphogenesis*). Perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan melalui morfogenesis secara langsung dilakukan dengan mengkulturkan bagian tanaman

yang memiliki sel meristematis atau sel tidak meristematis yang akan langsung membentuk tunas (organogenesis) atau embrio adventif yang baru (embriogenesis). Perbanyak tanaman dengan induksi tunas pada kultur jaringan seringkali melalui morfogenesis secara langsung karena akan menghasilkan tanaman yang lebih seragam, memiliki genetik yang lebih stabil, dan memiliki jangka waktu yang lebih cepat dibandingkan morfogenesis tidak langsung karena tidak mengalami fase kalus terlebih dahulu (Prasetyorini, 2019).

Keberhasilan proses induksi tunas dalam kultur *in vitro* melalui morfogenesis langsung ditentukan oleh berbagai faktor, salah satunya yaitu zat pengatur tumbuh. Hal yang perlu diperhatikan ketika pengaplikasian zat pengatur tumbuh adalah jenis zat pengatur tumbuh yang akan dipakai, konsentrasi, urutan pengaplikasian, dan periode masa induksi pada kultur. Zat pengatur tumbuh adalah aspek penting yang mendasar dalam pertumbuhan tanaman dan diferensiasi dalam kultur jaringan. Pengaplikasian zat pengatur tumbuh yang tepat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ (Mayasari, 2018). Untuk meningkatkan keberhasilan induksi tunas tanaman insulin perlu dilakukan modifikasi pada zat pengatur tumbuh di dalam media (Mashlulah, 2018).

Auksin dan sitokinin menjadi zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan. Auksin berfungsi pada pertumbuhan sel, dominasi apikal, dan pembentukan kalus. NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) merupakan jenis auksin buatan yang paling umum digunakan dalam media tanam kultur jaringan karena bersifat lebih stabil dari jenis auksin lainnya. NAA tidak mudah mengalami penguraian selama pemanasan pada proses sterilisasi (Mardhiyetti *et al.*, 2015).

Hormon sitokinin merupakan senyawa yang memiliki peranan dalam menstimulasi pertumbuhan tunas samping (tunas lateral), merangsang peningkatan kadar klorofil pada daun, dan berperan dalam perlambatan proses penuaan daun (*senescens*) Salah satu jenis sitokinin yang sering digunakan dalam induksi tunas *in vitro* adalah BAP (*6-Benzyl Amino Purin*). BAP memiliki struktur dasar yang identik dengan kinetin, namun BAP memiliki kestabilan yang lebih baik sebab memiliki gugus *benzyl* di dalamnya. BAP merupakan hormon yang mampu menstimulasi pembentukan tunas paling efektif karena mempunyai efektivitas lebih tinggi, stabil, dan tidak mudah teroksidasi serta memiliki harga yang terjangkau dibanding sitokinin sintetis yang lainnya (Ni'mah, 2018).

Zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin saling berinteraksi untuk mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan. Interaksi antara kedua zat pengatur tumbuh ini berpengaruh terhadap pertumbuhan morfologi pada kultur sel, jaringan, dan organ (Mardhiyetti *et al.*, 2015). Selain itu, arah pertumbuhan suatu kultur juga dipengaruhi oleh interaksi dan dosis antara hormon eksogen yang ditambahkan pada media dengan hormon endogen yang diproduksi oleh tanaman, hal tersebut kemudian akan mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman. Rasio perbandingan konsentrasi antara auksin dan sitokinin yang diberikan juga akan berperan dalam pertumbuhan suatu kultur, konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin akan menginduksi pembentukan tunas (Fauziah *et al.*, 2021).

Hasil penelitian Kazeroonian *et al* (2018) mengenai organogenesis *Chrysanthemum morifolium* cv. Resomee Splendid menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap organogenesis langsung secara *in vitro* yang menggunakan eksplan daun dengan

konsentrasi terbaik yaitu BAP 4,5 mg/L + NAA 1 mg/L, sedangkan untuk eksplan tangkai daun konsentrasi terbaik adalah BAP 1,5 mg/L + NAA 1,0 mg/L.

Enyew dan Feyissa (2019), dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian dosis BAP 1,0 mg/L + NAA 0,2 mg/L memberikan pengaruh yang nyata terhadap inisiasi tunas eksplan tanaman *Echinops kebericho* dengan nilai rata-rata jumlah tunas per eksplan ($4,00 \pm 0,57$) serta presentase induksi tunas 100%, sedangkan pada regenerasi (subkultur) tunas *Echinops kebericho* konsentrasi zat pengatur tumbuh terbaik adalah BAP 2,0 mg/L + NAA 0,5 mg/L yang memiliki nilai rata-rata jumlah tunas per eksplan ($2,13 \pm 0,06$). Selain itu, hasil penelitian Joshi *et al* (2019) tentang mikropropagasi *Vernonia amygdalina* Delile menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin berpengaruh terhadap induksi tunas tanaman. Konsentrasi yang memperlihatkan hasil terbaik adalah kombinasi BAP 4,4 μm + NAA 1,59 μm dengan presentase pembentukan tunas 98.89 %.

Penelitian mengenai pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap induksi tunas tanaman insulin masih jarang dilakukan. Salah satu penelitian yang pernah dilakukan adalah penelitian tentang pengaruh berbagai perlakuan sterilisasi terhadap induksi tunas tanaman insulin menggunakan eksplan nodus oleh Wahid *et al* (2018). Terdapat juga penelitian Harahap (2020) tentang induksi kalus tanaman insulin yang diberi berbagai perlakuan konsentrasi hormon 2,4-D. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terbaik zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang dapat diaplikasikan pada media untuk induksi tunas secara langsung (*direct organogenesis*) pada tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini memiliki beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pengaplikasian kombinasi antara BAP dan NAA terhadap induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)?
2. Berapa konsentrasi kombinasi antara BAP dan NAA yang optimum yang berpengaruh terhadap induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh pengaplikasian kombinasi antara BAP dan NAA terhadap induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)
2. Untuk mengetahui konsentrasi kombinasi antara BAP dan NAA yang optimum terhadap induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Dapat dimanfaatkan sebagai sumber informasi dan rujukan mengenai induksi tunas tanaman insulin secara *in vitro* yang diberi perlakuan beberapa konsentrasi BAP dan kombinasi antara BAP dan NAA.
2. Induksi tunas (*direct organogenesis*) tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan pengaplikasian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA

secara *in vitro* diharapkan mampu menyediakan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak serta dapat memperbaiki kualitas tanaman tersebut.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah batang utama muda tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) yang diambil bagian nodus pertama hingga kelima dari pucuk dengan ukuran panjang ± 1 cm.
2. Media pertumbuhan yang digunakan adalah media dasar *Murashige and Skoog* (MS).
3. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl Amino Purin*).
4. Parameter penelitian yang diamati adalah waktu munculnya tunas, presentase pembentukan tunas, rata-rata jumlah tunas, rata-rata tinggi tunas, rata-rata jumlah daun, biomassa kering tunas, presentase pembentukan kalus, morfologi kalus, serta biomassa kering kalus.

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan adalah terdapat pengaruh pengaplikasian kombinasi BAP dan NAA terhadap induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Grey

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Insulin

Tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray), atau biasa disebut juga tanaman paitan merupakan tanaman semak yang termasuk ke dalam kelompok famili Asteraceae. Pada awalnya tanaman insulin ditemukan di daratan Meksiko, dan dengan cepat menyebar ke daerah tropis dan subtropis di seluruh Amerika Selatan, Asia, dan Afrika (Setiomulyo, 2016). Tanaman insulin mampu untuk bertahan hidup dengan baik pada tanah kurang nutrisi, atau tumbuh dengan liar sebagai semak atau gulma pada lahan pertanian. Skala kemampuan adaptasi tanaman insulin cukup luas, yaitu sekitar 2-1.800 meter di atas permukaan air laut (Herliandi, 2020).

Klasifikasi tanaman insulin disebutkan sebagai berikut: (Tjitrosoepomo, 1988).

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Class : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Tithonia*
Spesies : *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray

Pada berbagai wilayah negara tanaman insulin memiliki sebutan yang berbeda-beda, di negara Inggris, tanaman insulin dikenal sebagai pohon *Marigold*, *Tithonia*, dan *Mexican Sunflower*, di negara Indonesia dikenal dengan

nama Paitan, Rondo Semoyo, Kembang Mbulan dan Harsaga. Tanaman insulin dikenal dengan nama *Jalacate* dan *Guasmara* di negara Spanyol, serta di *Thantawan-nu*, *Daoruang-yipun*, dan *Banchamatnam* di Thailand (Wijaya, 2014).

2.1.2 Morfologi Tanaman Insulin



Gambar 2. 1 Tanaman Insulin
(Widyaningrum, 2019)

Tanaman insulin merupakan tanaman perdu tegak yang tingginya mencapai ± 5 meter, dapat bertunas, dan sering merayap di atas permukaan tanah. Tanaman insulin dapat hidup dengan baik di lingkungan yang ekstrim seperti tebing, tepi sungai, dan parit. Tanaman insulin dapat tumbuh subur pada ketinggian 5-1500 meter di atas permukaan air laut, dan termasuk tanaman yang lebih suka terkena sinar matahari langsung (Sahara, 2019).

Berdasarkan pada gambar 2.1 tanaman insulin memiliki daun tunggal yang berselang-seling dengan panjang 26-32 cm dan lebar 15-25 cm. Ujung dan pangkal daun berbentuk runcing, dengan tepi daun bergerigi, tulang daun menyirip, dan daun berwarna hijau. Bunga tanaman insulin merupakan bunga majemuk dengan kelopak berbentuk tabung dan tangkai berbentuk bulat yang tumbuh di ujung ranting. Perbungaan tanaman insulin berkembang pada ketiak

daun atau di ujung cabang, kepala sari bunga berwarna hitam dan ujung berwarna kuning seperti yang tertera dalam gambar 2.1 (Sahara, 2019).

Buah tanaman insulin berbentuk kotak dan berisi biji bulat keras. Buahnya berwarna hijau saat muda dan berwarna coklat saat matang. Bijinya berwarna coklat gelap dan bulat dengan tekstur yang kuat dan keras. Tanaman insulin merupakan tanaman akar tunggang dengan penampilan warna putih kotor (Sahara, 2019).

Batang tanaman insulin merupakan batang yang lunak, berkayu, dan tegak, tetapi ketika tanaman insulin banyak berbunga, batang akan jatuh dan membungkuk mencapai tanah. Batang yang tumbang dan rebah di tanah akan tampak mati pada musim kemarau, ketika semua tanaman insulin yang mekar telah gugur dan biji telah mengering, akan tetapi ketika mendekati musim hujan, cabang-cabang baru akan tumbuh (Hastari, 2019).

2.1.3 Kandungan Tanaman Insulin

Tanaman insulin merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tanaman obat, tanaman insulin adalah tanaman semak yang banyak tumbuh di alam liar dan umumnya dikenal sebagai tanaman kembang bulan. Tanaman insulin digunakan dalam pengobatan tradisional untuk sakit perut, kembung, diare, antiradang dan antiinflamasi (Sasmita et al., 2017).

Bagian tanaman insulin yang paling umum digunakan sebagai obat yaitu daun. Daun tanaman insulin mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder. Beberapa senyawa tersebut antara lain saponin, tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, dan polifenol (Sasmita et al., 2017). Genus *Tithonia* telah menjadi salah satu sumber terpenting senyawa alami yaitu seskuiterpen lakton, diterpen,

Tanaman insulin telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Secara tradisional, tanaman insulin pada umumnya dimanfaatkan sebagai obat luka, lebam, obat sakit perut, dan kembung. Serta dimanfaatkan sebagai obat lepra, lever, obat diabetes, dan penggugur kandungan (Dwiputri *et al.*, 2016). Selain itu, sebuah penelitian mengungkapkan bahwa tanaman insulin memiliki sifat antiinflamasi dan analgesik. Penelitian yang dilakukan di Meksiko menunjukkan bahwa tanaman insulin memiliki aktivitas anti-ulkus. Dalam beberapa penelitian, tanaman insulin menunjukkan potensi aktivitas kemopreventif kanker, aktivitas antihiperqlikemia, aktivitas antimalaria, aktivitas antikarsinoma hepatoseluler dan aktivitas antimutagenik (I. I. Wijaya *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman insulin juga memiliki aktivitas farmakologi, yaitu aktivitas antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antinosisepsi, antidiare, antimalaria, dan aktivitas kemopreventif kanker (John-Dewole & Oni, 2013; Tania *et al.*, 2016; Olukunle *et al.*, 2014; Ezeonwumelu *et al.*, 2012; Oyewole *et al.*, 2008; Gu *et al.*, 2002; Kawini *et al.*, 2017). Selain itu, tanaman insulin juga memiliki aktivitas antidiabetes, dan antihiperqlikemia (Yazid *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2018).

2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan

2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan adalah teknik yang digunakan untuk menumbuhkan sel, jaringan, atau irisan organ tanaman di laboratorium pada media tumbuh buatan yang mengandung nutrisi dan dilakukan dengan prinsip aseptik (steril) untuk menumbuhkan dan mengembangkan tanaman yang sama sekali baru. Kondisi

yang mengalami proses pembelahan sel. Berikutnya pada lafadz “Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati” memiliki makna bagian tanaman yang diambil dari pohonnya sebagai benda mati yang kemudian ditumbuhkan kembali menjadi tanaman yang baru.

Pada kultur jaringan, jumlah tanaman yang dihasilkan dari satu eksplan (bahan tanaman) bisa mencapai puluhan hingga ratusan, sehingga kultur jaringan sering dijadikan sebagai metode perbanyakan tanaman. Kultur jaringan termasuk dalam metode perbanyakan tanaman secara vegetatif karena selama prosesnya tidak melibatkan proses fertilisasi antara sel gamet jantan dan sel gamet betina. Kultur jaringan secara lebih spesifik disebut dengan istilah mikropropagasi atau perbanyakan mikro. Kata mikro mengarah pada bahan tanam awal yang berupa eksplan yang memiliki ukuran kecil (Dwiyani, 2015).

2.2.2 Prinsip Kultur Jaringan

Pada kultur jaringan, terdapat beberapa aspek penting yang perlu dipertimbangkan yaitu a) kemampuan totipotensi sel dan b) organogenesis. Sel pada tumbuhan memiliki sifat totipotensi, yakni kemampuan sel-sel tumbuhan untuk dapat beregenerasi menjadi tumbuhan dewasa dalam kondisi lingkungan yang terkendali. Hormon pertumbuhan auksin dan sitokinin akan membantu dalam mengatur proses regenerasi tunas dan akar. Sedangkan, organogenesis merupakan proses untuk menghasilkan organ tumbuhan baik berupa akar atau tunas yang berasal dari eksplan secara langsung atau tidak mengalami fase kalus (Mayasari, 2018).

Pemilihan bahan eksplan, media kultur, dan kondisi lingkungan, seperti eradikasi mikroba, dapat digunakan untuk memanipulasi setiap tahap proses

kultur jaringan. Semua variabel tersebut, termasuk bentuk, kuantitas, dan kualitas propagul, dapat diubah untuk mencapai hasil kultur yang diinginkan (Mashluhah, 2018).

2.2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan Tumbuhan

Pada proses kultur jaringan tanaman terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilannya. Salah satunya adalah faktor genetik dari tanaman. Pada beberapa jenis tanaman, embrio dapat tumbuh dengan mudah, namun terdapat beberapa jenis tanaman juga yang embrionya sulit tumbuh. Perbedaan tersebut ini bisa terjadi dikarenakan terdapat perbedaan jenis kultivar jaringan pada tumbuhan (Mashluhah, 2018).

Eksplan pada kultur *in vitro* berasal dari jaringan atau organ yang bersifat meristematik (aktif membelah) yang diambil dari tanaman induk yang sehat dan berkualitas tinggi. Semakin kecil ukuran eksplan, semakin rendah kemungkinan terjadinya kontaminasi, dan sebaliknya. Eksplan yang lebih besar meningkatkan resiko kontaminasi (Mayasari, 2018).

Keberhasilan dari kultur jaringan juga dipengaruhi oleh media yang digunakan. Media pada kultur jaringan berfungsi untuk menyediakan makro dan mikronutrien, serta pengganti karbon yang diserap oleh tanaman dalam proses fotosintesis yang berupa karbohidrat (glukosa). Media juga berperan sebagai sumber energi bagi eksplan karena memiliki kandungan zat hara organik dan anorganik yang dibutuhkan oleh tanaman, seperti unsur makro dan mikro pada konsentrasi tertentu, serta glukosa, air, asam amino, vitamin, dan zat pengatur tumbuh (hormon) (Rahmagusviana, 2016).

Kultur jaringan juga membutuhkan beberapa elemen lingkungan yang berfungsi sebagai stimulan untuk laju multiplikasi tunas. Elemen pada lingkungan pertumbuhan tersebut diantaranya seperti oksigen, intensitas cahaya, temperatur, dan pH. Intensitas cahaya yang optimal mempengaruhi keberhasilan proses kultur jaringan, intensitas cahaya yang diperlukan pada setiap prosesnya diantaranya adalah 0-1000 lux (inisiasi), 1000-10000 lux (multiplikasi), 10.000-30.000 (pengakaran) dan > 30.000 untuk proses aklimatisasi. Suhu ruang budidaya yang sering digunakan adalah 20-27° C. Jaringan yang dibudidayakan memiliki toleransi pH 5-6 dan cukup terbatas. Kondisi lingkungan tumbuh berpengaruh nyata terhadap tingkat keberhasilan perbanyakan tanaman pada kultur jaringan (Mayasari, 2018).

2.2.4 Kendala dalam Kultur Jaringan Tumbuhan

Pada proses kultur jaringan tumbuhan terdapat beberapa faktor yang berkontribusi terhadap kegagalan kultur jaringan. Permasalahan tersebut diantaranya adalah adanya kontaminasi, pencoklatan (*browning*), dan vitrikasi. Kendala yang paling sering terjadi pada kultur jaringan adalah terjadinya kontaminasi yang disebabkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri, jamur atau virus (Rahmagusviana, 2016). Sumber kontaminasi bisa berasal dari internal jaringan eksplan atau eksternal jaringan eksplan. Oleh karena itu proses sterilisasi eksplan dan lingkungan kultur sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan.

Browning (pencoklatan) adalah proses perubahan warna menjadi coklat atau hitam yang membatasi pertumbuhan dan perkembangan eksplan dan menyebabkan kematiannya. Pelepasan bahan kimia fenolik dari eksplan

menyebabkan terjadinya *browning*. Senyawa metabolit sekunder yang paling melimpah dalam jaringan tanaman adalah bahan kimia fenolik. Eksudasi senyawa fenolik ini akan mengaktifkan enzim *Polyphenol oxidase* (PPO), sehingga menghasilkan senyawa kuino yang bersifat reaktif dan beracun bagi tanaman. Hal ini menyebabkan terjadinya nekrosis dan kematian bagi tanaman (Dwiyani, 2015).

Vitrikasi adalah kerusakan fisiologis eksplan yang memberikan tampilan '*glassy*' atau bening pada fenotip daun atau batang tanaman. Vitrikasi terjadi sebagai akibat dari kandungan air yang berlebihan pada sel tumbuhan (*hyperhydricity*), defisiensi klorofil, dan lignifikasi dinding sel yang tidak mencukupi (Dwiyani, 2015)

2.2.5 Media Kultur Jaringan Tumbuhan

Media pertumbuhan merupakan aspek penting yang menentukan keberhasilan suatu proses kultur jaringan tumbuhan. Media adalah tempat eksplan dapat tumbuh dan menyerap unsur hara yang membantu pertumbuhannya. Dalam kultur jaringan, media harus mengandung makro dan mikronutrien berupa asam amino, vitamin, garam mineral, dan zat pengatur tumbuh (hormon) (Mashlulah, 2018). Komposisi media untuk membudidayakan tanaman berbeda-beda sesuai dengan fungsi dan jenisnya. Hendaryono dan Wijayanti (1994) menyatakan bahwa pada kultur jaringan tumbuhan terdapat beberapa jenis media yang biasa digunakan, antara lain media yang sering digunakan dalam subkultur tanaman kedelai dan alfalfa yaitu media dasar B5 (Gamborg), media yang sering digunakan dalam kultur akar yaitu media dasar White, media khusus kultur tanaman anggrek media VW, media

kultur tanaman berkayu yaitu media WPM, serta media pertumbuhan MS yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman.

Media MS (*Murashige and Skoog*) merupakan media yang paling sering digunakan pada kultur jaringan tumbuhan. Media MS merupakan hasil perbaikan garam organik media *Skoog*. Kandungan nitrogen pada media MS lebih banyak dibandingkan dengan media lainnya, dan disimpan dalam bentuk nitrit (Mashlulah, 2018).

Media MS digunakan untuk menginduksi pertumbuhan tunas pada dalam penelitian ini. Media MS (*Murashige and Skoog*) adalah media yang mengandung nutrisi yang lengkap dan diperkaya dengan vitamin dan hormon. Media MS adalah media yang paling umum digunakan dalam kultur kalus dan tunas (Anitasari, 2018). Media MS dibedakan dengan media yang lain berdasarkan jumlah kalium, ion-ion nitrat, dan amonium yang relatif tinggi dibandingkan media yang lain (Hayati, 2021).

Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3^- dan 29 mM N dalam bentuk NH_4^+ (tabel 2.1). Media MS memiliki nitrogen lima kali lebih banyak daripada media Miller, 15 kali lebih banyak dari media tembakau Hildebrandt dan 19 kali lebih banyak dibandingkan media dasar White. Kalium dinaikkan hingga 20mM dalam media MS, sedangkan P 1.25 mM (Ni'mah, 2018).

pH (keasaman) media juga mempengaruhi pertumbuhan tanaman dalam kultur jaringan. Agar tidak mengganggu kerja membrane sel dan sitoplasma, kadar pH harus diatur. NaOH dan HCl sering digunakan untuk menyesuaikan dan mengubah pH dalam media kultur jaringan. Jika medium terlalu asam, ditambahkan dengan NaOH, jika pH media terlalu basa maka HCl diberikan.

digunakan dalam proses induksi tunas. Sitokinin berperan dalam merangsang pembelahan sel dan pembentukan organ (Rizqi, 2019).

Induksi tunas pada kultur *in vitro* tanaman insulin dapat melalui proses morfogenesis. Morfogenesis merupakan proses perkembangan morfologi tanaman yang berasal dari eksplan. Perbanyakkan tanaman dengan kultur jaringan melalui morfogenesis secara langsung dilakukan dengan mengkulturkan bagian tanaman yang memiliki sel meristematis atau sel tidak meristematis yang akan langsung membentuk tunas (organogenesis) atau embrio adventif yang baru (embriogenesis) (Prasetyorini, 2015).

Morfogenesis pada induksi tunas secara kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui dua acara, yaitu melalui embriogenesis somatik dan organogenesis. Embriogenesis atau organogenesis terbagi lagi menjadi dua kategori yaitu secara langsung (*direct*) dan melalui fase kalus terlebih dahulu atau tidak langsung (*indirect*). Embriogenesis somatik adalah pembentukan sel-sel yang bersifat somatik menjadi embrio, yang kemudian berkembang dan berdiferensiasi menjadi tanaman dewasa. Sel individu atau kelompok sel membentuk embrio somatik. Sel telur yang telah dibuahi akan mengalami fase *globular stage*, *heart stage*, dan *torpedo stage* yang kemudian berkembang menjadi embrio. Sel-sel meristematis akan terlihat selama fase torpedo, tunas akan terbentuk dari perkembangan meristem ujung batang, sedangkan akar akan terbentuk meristem ujung akar. Pada *direct somatic embryogenesis* (embriogenesis somatik langsung), embrio akan langsung berkembang menjadi planlet. Sedangkan, pada *indirect somatic embryogenesis* (embriogenesis secara tidak langsung), eksplan akan mengalami

fase kalus terlebih dahulu yang selanjutnya akan berkembang menjadi embrio yang kemudian tumbuh menjadi planlet (Alfaris & Rineksane, 2020).

Organogenesis adalah regenerasi organ atau jaringan tanpa melewati fase pembentukan embrio somatik terlebih dahulu, sehingga eksplan akan langsung berkembang dan berdiferensiasi menjadi tanaman baru (Alfaris & Rineksane, 2020). Organogenesis secara langsung adalah perbanyakan tanaman dimana eksplan yang dikulturkan baik berupa bagian tanaman yang memiliki mata tunas seperti meristem dan batang satu buku atau bagian tanaman yang tidak memiliki mata tunas akan langsung membentuk tunas baru atau embrio adventif. Organogenesis secara langsung mampu menghasilkan tanaman yang lebih seragam dengan genetik yang lebih stabil (Prasetyorini, 2019). Pada organogenesis secara langsung terbagi lagi menjadi dua kelompok, yaitu melalui induksi atau inisiasi tunas adventif dan tunas aksilar.

Pada induksi tunas adventif, organogenesis secara langsung terjadi pada eksplan yang tidak memiliki bakal tunas. Sedangkan pada induksi tunas aksilar (*axillary bud formation*), organogenesis secara langsung terjadi pada eksplan yang mempunyai pucuk primordia dengan tunas yang belum tererupsi (muncul ke permukaan). Bentuk eksplan pada induksi tunas aksilar meliputi pucuk apikal, pucuk lateral, nodus, atau internodus (Alfaris & Rineksane, 2020).

Pada organogenesis tidak langsung, eksplan yang dibudidayakan tidak secara langsung menghasilkan tunas atau embrio adventif, melainkan kalus. Kalus adalah sel embrioid yang berasal dari pembelahan sel yang tidak teratur. Pada organogenesis tak langsung, tunas diinduksi dari kalus yang berkembang.

Akibatnya, proses organogenesis tak langsung memakan waktu lebih lama (Prasetyorini, 2019).

Induksi tunas sebagian besar membutuhkan kombinasi hormon auksin dan sitokinin. Melalui kerja sama yang sinergis, zat pengatur tersebut akan menciptakan tunas yang sehat. Dosis auksin yang lebih tinggi akan merangsang pertumbuhan akar. Konsentrasi sitokinin yang lebih besar akan meningkatkan pertumbuhan tunas. Sedangkan konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang akan menghasilkan tunas, daun, dan akar yang seimbang (Rizqi, 2019).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh atau yang biasa disebut dengan hormon merupakan kata dari Bahasa Yunani '*hormaein*' yang berarti menstimulasi atau meningkatkan aktivitas biokimia. Sedangkan, fitohormon adalah zat kimia organik yang dalam jumlah sedikit yang akan berpengaruh terhadap aktivitas fisiologis tumbuhan apabila ditranslokasikan ke seluruh bagian tumbuhan (Sumiarsi & Priadi, 2002).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah zat kimia organik non-nutrisi yang dalam konsentrasi rendah mampu menstimulasi, mengubah, atau menambah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. (Kustiani, 2020). Pengaplikasian zat pengatur tumbuh digunakan untuk mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan ke arah pembentukan struktur morfologi tertentu. Zat pengatur tumbuh ada lima jenis: auksin, sitokinin, giberelin, asam absisat, dan gas etilen (Hayati, 2021).

Zat pengatur tumbuh sebagai salah satu komponen media, diperlukan untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Jika zat pengatur tumbuh tidak ditambahkan dalam media, pertumbuhan tanaman akan melambat. Penggunaan zat pengatur tumbuh yang tepat akan sangat mempengaruhi pembentukan tunas dan organ tanaman

pada semua jenis tanaman, proses ini ditandai dengan terdapatnya peristiwa dominasi apikal (George, 2008).

Auksin berpengaruh terhadap proses pemanjangan sel dengan aktivasi enzim-enzim yang memiliki fungsi dalam menurunkan tingkat pH dan melepaskan ikatan polisakarida pada dinding sel, sehingga pengenduran dinding sel terjadi. Auksin mengaktifkan gen pada jaringan epidermis yang menyebabkan percepatan pada pemanjangan sel epidermis, pemanjangan tersebut mengakibatkan sel subepidermis di sekitarnya juga turut memanjang (Mashlulah, 2018).

Terdapatnya kandungan indole atau cincin aromatik dan berat molekul yang rendah, memiliki bentuk berupa kristal, sukar larut dalam pelarut air, akan tetapi memiliki sifat yang mudah larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, dietil eter, serta dimetil sulfoksida) atau asam lemah adalah karakteristik auksin alami dan sintetis (George, 2008). Auksin yang paling sering diaplikasikan pada media kultur jaringan adalah *indole-3-acetic acid* (IAA), *α -naphthalene acetic acid* (α -NAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) (Zulkarnain, 2009).

IAA adalah hormone auksin alami yang diambil dari tumbuhan, bersifat kurang stabil, dan sangat sensitive terhadap cahaya. Sedangkan, NAA termasuk dalam jenis auksin sintetis yang memiliki sifat lebih stabil dan tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti IAA. Rentang konsentrasi NAA pada media kultur jaringan adalah 0,1-2,0 mg/l (Rahmagusviana, 2016). NAA menjadi salah satu jenis IAA yang paling sering diaplikasikan pada media kultur karena bersifat lebih kuat, tahan, tidak mudah terdegradasi, dan mempunyai harga yang relatif

pertumbuhan akan menstimulasi proliferasi tunas karena terdapat pengaruh sinergisme antara kedua hormon tersebut. Auksin dan sitokinin tidak bekerja sendiri-sendiri, keduanya bekerja dengan berinteraksi untuk mengontrol proses pertumbuhan dan perkembangan pada eksplan. Sitokinin akan bekerja dengan menstimulasi proses pembelahan sel tumbuhan dan melakukan interaksi dengan hormon auksin yang berperan dalam pengarahan diferensiasi sel (Wardani, 2016).

Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin akan merangsang pembentukan akar, sedangkan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi daripada auksin akan menginduksi pembentukan tunas. Apabila rasio auksin dan sitokinin yang digunakan sama maka akan merangsang pembentukan kalus (Fauziah *et al.*, 2021).

2.4.4 Penelitian Pengaruh BAP dan NAA terhadap Induksi Tunas Secara *In Vitro*

Penelitian mengenai pengaruh pengaplikasian zat pengatur tumbuh BAP, serta kombinasi antara BAP dan NAA terhadap induksi tunas secara *in vitro* telah dilakukan sebelumnya. Penelitian Kazeroonian *et al* (2018) mengenai organogenesis *Chrysanthemum morifolium* cv. Resomee Splendid menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap direct organogenesis secara *in vitro* tanaman tersebut dengan konsentrasi terbaik yaitu BAP 4,5 mg/L + NAA 1,0 mg/L.

Penelitian mengenai pengaruh hormon terhadap induksi tunas secara *in vitro* juga dilakukan oleh Enyew dan Feyissa (2019), hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis BAP 1,0 mg/L + NAA 0,2 mg/L memberikan pengaruh yang nyata terhadap inisiasi tunas eksplan tanaman

Echinops kebericho (Asteraceae) dengan nilai rata-rata jumlah tunas per eksplan ($4,00 \pm 0,57$) serta presentase induksi tunas 100%, sedangkan pada regenerasi (subkultur) tunas *Echinops kebericho* konsentrasi zat pengatur tumbuh terbaik adalah BAP 2,0 mg/L + NAA 0,5 mg/L yang memiliki nilai rata-rata jumlah tunas per eksplan ($2,13 \pm 0,06$).

Selain itu, penelitian Joshi *et al* (2019) mengenai mikropropagasi *Vernonia amygdalina* Delile menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin berpengaruh terhadap induksi tunas tanaman. Konsentrasi yang memperlihatkan hasil terbaik adalah kombinasi BAP 4,4 μm + NAA 1,59 μm dengan presentase pembentukan tunas 98.89 % (Joshi *et al.*, 2020).



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

3.3.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan yang berasal dari nodus tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray) yang diambil dari nodus urutan kedua hingga kelima. Bahan yang digunakan dalam proses sterilisasi eksplan diantaranya adalah detergen, aquades steril, dan *clorox*. Media dasar yang digunakan adalah media MS (*Murashige and Skoog*), agar sebagai pematid, sukrosa, HCl 1 N, NaOH 1 N, alkohol 70%, dan zat pengatur tumbuh sitokinin berupa BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) dan auksin yang berupa NAA (*Naphthalene Acetic Acid*).

3.4 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 3 variabel yang meliputi:

1. Variabel bebas : konsentrasi BAP dan NAA
2. Variabel terikat : waktu munculnya tunas (HST), presentase pembentukan tunas, rata-rata jumlah tunas, rata-rata tinggi tunas, rata-rata jumlah daun, biomassa kering tunas, presentase & morfologi pembentukan kalus, serta biomassa kering kalus.
3. Variabel kontrol : cahaya, suhu, media, pH, dan sumber eksplan.

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dalam penelitian kali ini meliputi:

3.5.1 Sterilisasi Lingkungan Kerja

Hal yang pertama kali perlu dilakukan sebelum melakukan proses kultur jaringan tanaman adalah memastikan lingkungan kerja sudah bersih dan steril dari berbagai macam kontaminan. Sterilisasi lingkungan kerja dilakukan dengan cara melakukan penyemprotan desinfektan pada dinding dan lantai. Hal ini harus

dilakukan secara rutin untuk menghindari hadirnya kontaminan-kontaminan baru pada lingkungan kerja. Selain itu, *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai ruang kerja pada saat penanaman eksplan juga harus disterilkan dengan cara menyemprotkan dan mengusap seluruh bagian meja dan dinding LAF menggunakan alkohol 70%.

3.5.2 Sterilisasi Peralatan Kerja

Tahapan sterilisasi selanjutnya adalah memastikan seluruh peralatan yang akan digunakan dalam proses kultur jaringan berada dalam kondisi steril. Langkah awal dalam sterilisasi alat adalah mencuci peralatan seperti botol kultur, gelas beaker, gelas Erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, scalpel, pinset, cawan petri, spatula dicuci menggunakan sabun cuci dan dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Setelah kering, cawan petri, scalpel, pinset, dan gunting dibungkus dengan kertas payung dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas, untuk botol kultur ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap pada bagian atasnya. Setelah semua alat terbungkus rapat, alat-alat tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Kemudian, sterilisasi selanjutnya dilakukan dengan memasukkan seluruh alat yang sebelumnya telah diautoklaf ke dalam LAF dengan syarat disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu. Kemudian, lampu UV pada LAF dinyalakan selama 30 menit. Apabila proses telah selesai, lampu UV pada LAF dimatikan dan diganti dengan menyalakan lampu neon dan blower.

3.5.3 Pembuatan Larutan Stok Hormon

Tahapan pembuatan larutan stok hormon dilakukan dengan tujuan meminimalisir ketidakakuratan konsentrasi hormon yang digunakan akibat

dengan volume 30 ml pada setiap botolnya. Langkah pertama yang dilakukan adalah menimbang media MS sejumlah 0,645 gram, kemudian sukrosa sejumlah 4,5 gram. Bahan-bahan yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan aquades hingga 150 ml dan dihomogenkan. Kemudian, larutan media ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Selanjutnya, dilakukan pengukuran pH larutan media hingga mencapai nilai 5,6-5,8. Jika pH kurang dari 5,6 maka larutan media ditambah dengan NaOH 1 N dan jika lebih dari 5,8 larutan media ditambahkan dengan HCl 1 N. Setelah pH sesuai, larutan media ditambahkan dengan agar sebanyak 1,2 gram. Kemudian, larutan media dipanaskan hingga mendidih di atas *hotplate* dan dituang ke dalam botol kultur yang sudah diberi label masing-masing sebanyak ± 30 ml serta ditutup menggunakan aluminium foil dan plastik wrap. Media kemudian disterilisasi selama 20 menit menggunakan autoklaf pada temperatur 121° C dan tekanan 1,5 atm.

3.5.5 Preparasi dan Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian nodus (urutan kedua hingga kelima dari bagian pucuk) tanaman insulin. Batang insulin yang masih muda, dipotong, dan dihilangkan daun dan tunas apikalnya. Batang insulin direndam dalam air sabun (detergen) selama 5 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir bersih hingga tidak ada sisa-sisa sabun. Kemudian, eksplan disterilisasi dengan cara direndam di dalam *clorox* 10% selama 15 menit. Kemudian, eksplan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3x setiap 5 menit.

3.6 Analisis Data

Data pengamatan merupakan data kuantitatif. Untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan dilakukan analisis kuantitatif menggunakan uji statistik variasi (ANOVA) satu arah (*One Way Anova*). Jika ditemukan perbedaan yang signifikan dilakukan uji lanjutan *Duncan Multiple Range Test 5%* (DMRT) untuk melihat perlakuan yang memberikan pengaruh paling nyata dalam induksi tunas tanaman insulin. Apabila data tidak memenuhi syarat seperti data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji statistik non-parametrik *Kruskall-Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan jika terdapat perbedaan.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi zat pengatur tumbuh terhadap induksi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). Zat pengatur tumbuh merupakan komponen organik yang dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman apabila diberikan dalam konsentrasi yang rendah (N. R. Wijaya & Sudrajad, 2019). Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*). BAP merupakan golongan hormon sitokinin yang memegang peranan dalam pembelahan sel, induksi tunas, dan proliferasi sel. Sedangkan NAA merupakan kelompok hormon auksin yang berperan dalam pembelahan sel, elongasi, dan diferensiasi akar (Sidhu, 2010).

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan nodus yang diambil dari batang muda tanaman insulin (*T. diversifolia*) yang diinkubasi selama 4 minggu (28 hari). Eksplan nodus dipilih dikarenakan pada beberapa penelitian telah dilaporkan bahwa nodus memiliki peluang keberhasilan yang tinggi pada proses induksi tunas (Li et al., 2012). Parameter yang diamati berupa waktu muncul tunas (HST), presentase pembentukan tunas, rata-rata jumlah tunas, rata-rata tinggi tunas, rata-rata jumlah daun, berat kering tunas, presentase dan morfologi kalus, serta berat kering kalus.

Pada penelitian yang telah dilakukan menunjukkan respon induksi tunas yang berbeda-beda pada setiap perlakuannya. Data yang diperoleh dari pengamatan yang dilakukan kemudian dianalisis secara statistik untuk mengetahui terdapat atau tidaknya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan. Setiap parameter

menunjukkan hasil analisis statistik yang berbeda. Pada parameter waktu tumbuh tunas dan presentase pembentukan kalus, hasil analisis statistik *Kruskall-Wallis* menyatakan bahwa perlakuan pemberian BAP dan NAA tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Pada parameter presentase pembentukan tunas, rata-rata jumlah tunas, rata-rata jumlah daun, dan berat kering tunas, analisis statistik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan sehingga data bisa dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Sedangkan pada parameter berat kering kalus, hasil analisis statistik ANOVA satu arah menyatakan terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP sehingga data dapat dilanjutkan pada uji DMRT dengan taraf 5%. Berikut ini adalah hasil analisis statistik dan pembahasan pada setiap parameter induksi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*).

4.1 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Waktu Muncul Tunas Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

Pengamatan parameter waktu muncul tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) dilakukan setiap hari dengan cara melihat waktu mulai terbentuknya tunas dengan ukuran ≥ 1 mm. Menurut Prihatmanti dan Mattjik (2004) munculnya tunas ditandai dengan adanya tonjolan padat berbentuk kerucut berwarna hijau yang memiliki ukuran ± 1 mm yang kemudian akan mengalami pemanjangan dan mengeluarkan daun. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak seluruh eksplan dapat menumbuhkan tunas hingga periode akhir inkubasi.

Pada perlakuan pemberian BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 ppm hanya satu pengulangan saja yang menunjukkan adanya pertumbuhan tunas tanaman insulin yaitu pada rata-rata waktu 16 HST. Begitu pula pada perlakuan BAP 3,0 ppm +

NAA tidak berpengaruh terhadap parameter waktu munculnya tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). Hal ini sesuai dengan penelitian Chieng et al., (2014) yang menunjukkan bahwa perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada waktu tumbuhnya tunas tanaman Ramin (*Gonystylus bancanus*). Sedangkan pada penelitian Mayasari, (2018) menunjukkan hasil yang sebaliknya. Pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap waktu muncul tunas tanaman sirsak (*Annona muricata* L.).

Data penelitian pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan yang paling optimal untuk waktu pertumbuhan tunas adalah perlakuan kontrol. Pada perlakuan kontrol (tanpa zat pengatur tumbuh) menunjukkan bahwa tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) paling cepat muncul yaitu dengan rata-rata 7,6 HST (Hari Setelah Tanam). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmagusviana (2016), bahwa waktu muncul tunas tercepat pada eksplan keji beling (*Strobilanthes crispus* L.) adalah perlakuan tanpa zat pengatur NAA dan BAP (kontrol) dengan waktu muncul tunas pada 5 HST.

Perlakuan kontrol tanpa zat pengatur tumbuh mampu menginduksi terbentuknya tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) dengan rentan waktu tercepat yaitu pada hari ke 7 setelah tanam. Tumbuhnya tunas pada perlakuan kontrol diduga karena eksplan nodus tanaman insulin (*T. diversifolia*) mengandung hormon endogen yang dapat menstimulasi jaringan tanaman untuk membentuk tunas. Kandungan sitokinin dalam jaringan tanaman akan mendorong pembentukan tunas (Intias, 2012).

Eksplan nodus tanaman insulin (*T. diversifolia*) memiliki jaringan meristem yang masih aktif membelah dan kaya akan sumber kandungan hormon endogen

sehingga eksplan mampu untuk menumbuhkan tunas tanpa hormon eksogen (N. R. Wijaya & Sudrajad, 2019). Hal ini juga membuktikan bahwa rasio hormon sitokinin dan auksin endogen tanaman insulin (*T. diversifolia*) sudah berada dalam konsentrasi yang tepat untuk melakukan proses pembentukan tunas (Pratiwi et al., 2021).

Perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh yang memiliki potensi untuk menumbuhkan tunas dalam waktu yang cepat setelah perlakuan kontrol adalah perlakuan BAP 1,5 ppm + NAA 1,0 ppm yang mampu menumbuhkan tunas baru pada 9,5 HST. Hal ini sesuai dengan penelitian Muslimin & Irmasari, (2016) mengenai organogenesis tanaman jabon merah (*Anthocephalus macrophyllus* (Roxb)), perlakuan pemberian hormon BAP 4 mg/L dan IAA 0,3 mg/L menghasilkan waktu tumbuh tunas tercepat pada 5,6 HST. Hal ini menjelaskan bahwa dengan penambahan hormon sitokinin dan auksin dalam konsentrasi tertentu dapat diperoleh keseimbangan dengan hormon endogen pada eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*). Penambahan zat pengatur tumbuh eksogen BAP 1,5 ppm + NAA 1,0 ppm masih bisa ditoleransi oleh jaringan eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*) sehingga mampu menginduksi terbentuknya tunas.

Pada koordinasi pembentukan tunas aksilar, auksin dan sitokinin bertindak secara antagonis dalam mekanismenya. Auksin diketahui mampu melakukan penghambatan biosintesis sitokinin melalui jalur persinyalan AXR1 (*Auxin-Resistant 1*) yang mengakibatkan terhambatnya pembentukan tunas aksilar. Di sisi lain, pemberian sitokinin eksogen diketahui mampu mengatasi efek auksin dalam menghambat aktivitas tunas aksilar (Qiu et al., 2019).

Aktivitas *cross-talk* auksin dan sitokinin juga berperan dalam proses organogenesis secara *in vitro*. Selama proses proliferasi tunas, sitokinin berperan dalam merangsang ekspresi ektopik WUSCHEL (WUS) pada eksplan. Untuk aktivasi WUS, dibutuhkan ekspresi gen AHK4 (*Arabidopsis Histidine Kinase4*) yang merupakan gen reseptor sitokinin. Penambahan auksin eksogen pada media kultur akan meningkatkan stimulasi ekspresi gen AHK4. Gen AHK4 akan meningkatkan kemampuan terhadap respons sitokinin eksternal. Respons sitokinin eksogen yang tinggi akan menginduksi ekspresi WUS sehingga akan meningkatkan kemampuan eksplan untuk menginduksi terbentuknya tunas (Hesami et al., 2018).

Sedangkan, waktu tunas yang paling lama tumbuh yaitu pada perlakuan J (BAP 4,5 ppm + NAA 1,0 ppm) dengan rata-rata 24,5 HST. Tunas pada perlakuan J baru terlihat tumbuh pada minggu terakhir pengamatan. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian terhadap pertumbuhan eksplan buah naga (*Hylocereus costaricensis*) yang menunjukkan bahwa perlakuan BAP 4 ppm + NAA 1 ppm menghasilkan waktu pertumbuhan tunas buah naga tercepat yaitu pada 25,50 HST (Suparaini et al., 2013).

Pada mikropropagasi tanaman, rentang konsentrasi zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan berbeda-beda tergantung pada jenis tanaman yang digunakan, bagian yang dijadikan eksplan, dan kondisi lingkungan pertumbuhan (Intias, 2012). Pada induksi tunas tanaman insulin, pemberian zat pengatur tumbuh eksogen memberikan efek yang negatif. Terbukti pada waktu tumbuh tunas tanaman insulin yang semakin lama seiring dengan penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan.

91,75 %, kemudian diikuti oleh perlakuan A (kontrol) dengan nilai rata-rata presentase 83,25 %. Hal ini berarti pada perlakuan H, 11 eksplan mampu membentuk tunas baru dari total 12 eksplan yang ditanam, dan total eksplan pada perlakuan A (kontrol) yang dapat membentuk tunas adalah 10 eksplan.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Opabode et al., (2017), presentase pembentukan tunas pada organogenesis tanaman sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terbaik diperoleh pada perlakuan dengan zat pengatur tumbuh BAP 10 mg/L + NAA 1,5 mg/L + zeatin 1,5 mg/L (88,7%). Selain itu penelitian Yoong et al., (2017), presentase pembentukan tunas terbaik pada eksplan tangkai daun tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) juga diperoleh oleh perlakuan BAP 1,0 mg/L + NAA 0,2 mg/L. Sedangkan hasil penelitian Ratnasari et al (2016) melaporkan bahwa perlakuan yang memberikan presentase pembentukan tunas tertinggi pada eksplan pisang (*Musa paradisiaca* L.) adalah pengaplikasian zat pengatur tumbuh BAP 2 mg/L dan kinetin 2 mg/L dengan nilai presentase (75,00%).

Sedangkan presentase pembentukan tunas tanaman insulin terendah ditunjukkan oleh perlakuan F (BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 NAA) dan perlakuan I (BAP 3,0 ppm + NAA 1,0 ppm) dengan presentase pembentukan tunas 8,25 %. Pada kedua perlakuan tersebut hanya satu eksplan saja yang membentuk tunas baru tanaman insulin (*T. diversifolia*). Hasil ini bertentangan dengan penelitian (Kazeroonian et al., 2018) mengenai mikropropagasi tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*), pemberian zat pengatur BAP (3,0 mg/L) dan NAA (0,5 mg/L; 1,0 mg/L) mampu menghasilkan presentase pembentukan tunas yang cukup tinggi pada eksplan daun dan eksplan tangkai daun tanaman krisan.

Penelitian Rethinam (2017) juga menunjukkan bahwa perlakuan BAP 2,0 mg/L + NAA 1,5 mg/L menghasilkan presentase jumlah tunas tanaman *Spilanthes calva* dengan presentase 80%.

Penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA mempengaruhi presentase terbentuknya tunas pada tanaman insulin (*T. diversifolia*). Hormon sitokinin dan auksin diketahui memiliki sinergi dalam membentuk tunas baru pada tanaman. Auksin berupa ZPT NAA yang ditambahkan berperan dalam menstimulasi produksi kalus dan pertumbuhan sel. Hal ini terbukti kalus yang ikut terbentuk pada beberapa perlakuan. Sedangkan hormon sitokinin berupa BAP berperan dalam menginduksi perkembangan pucuk aksilar dan pucuk adventif dengan mengurangi dominansi apikal. Konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi daripada konsentrasi auksin akan merangsang pembentukan tunas (Inoka & Dahanayake, 2015).

Penambahan auksin (NAA) dan sitokinin (BAP) pada media pertumbuhan akan memicu diferensiasi sel untuk pembentukan organ dan jaringan akan lebih terarah. Sitokinin dan auksin berinteraksi dalam proses pertumbuhan tunas pucuk (Shimizu-Sato et al., 2009). Auksin bertransportasi dari pucuk apikal menuju daerah basipetal dengan bantuan protein PINFORMD (PIN) dan mengaktifasi regulasi CKX (*Cytokinin Oxidase*) yang membatasi aktivitas sitokinin. Ketika bagian apikal batang dipotong akan menonaktifkan protein PIN dan CKX sehingga sitokinin menjadi aktif dan dapat menstimulasi pembentukan tunas aksilar dengan bantuan gen IPT (Phosphate-Isopentenyltransferase). IPT merupakan gen yang mampu menginduksi terbentuknya tunas aksilar dengan stimulasi dari hormon sitokinin (Su et al., 2011).

Pada perlakuan kontrol juga menunjukkan presentase terbentuknya tunas yang cukup tinggi dengan nilai presentase 82,75 %. Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena jaringan dalam eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*) telah mampu untuk menginduksi terbentuknya tunas baru tanpa penambahan zat pengatur tumbuh eksogen. Eksplan tanaman insulin kemungkinan mengandung hormon auksin dan sitokinin endogen dalam konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga tanpa penambahan hormon eksogen eksplan sudah mampu untuk menginduksi pembentukan tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) (Rasool et al., 2013). Selain hormon endogen, persinyalan yang dihasilkan oleh perlakuan eksplan juga memegang peranan penting pada induksi dan regenerasi tunas. Serta, rasio ion yang terkandung di dalam media pertumbuhan juga turut berperan dalam proses induksi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) (Beegum et al., 2007).

4.3 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Rata-rata Jumlah Tunas Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray).

Parameter jumlah tunas merupakan salah satu parameter utama yang digunakan untuk melihat keberhasilan suatu proses mikropropagasi. Parameter jumlah tunas yang tumbuh diamati dengan melihat banyaknya tunas yang tumbuh pada setiap minggunya selama 4 minggu (28 hari). Nilai tunas ketika pemanenan memiliki jumlah berbeda-beda pada setiap perlakuannya. Hal ini berhubungan dengan kemampuan eksplan dalam merespon zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang diberikan. Jika tidak ditemukan keseimbangan interaksi antara hormon endogen dan eksogen maka akan berpengaruh terhadap proses fisiologis eksplan (Hartmann, 2010). Sebagian besar pembentukan tunas terjadi secara *direct organogenesis* atau tunas terbentuk secara langsung tanpa melalui fase kalus dari bagian nodus atau buku daun pada eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*).

Perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh BAP 1,5 ppm juga menghasilkan jumlah tunas serupa dengan perlakuan kontrol yang memiliki jumlah tunas 3,00. Hal ini sesuai dengan penelitian tentang multiplikasi tunas tanaman *Echinacea angustifolia* oleh Tyub et al., (2021), pemberian zat pengatur BAP tunggal dengan konsentrasi 4,00 μ M dapat menghasilkan jumlah tunas dengan rata-rata 25,00. Hal ini membuktikan bahwa pengaplikasian BAP tunggal pada konsentrasi yang tepat mampu menghasilkan jumlah tunas tertinggi.

Pengaplikasian hormon sitokinin cenderung meningkatkan kemampuan eksplan untuk membentuk tunas. Hal ini dikarenakan hormon sitokinin berfungsi dalam merangsang pembentukan tunas dengan membantu proses pembelahan sel pada tanaman (Yulia et al., 2020). Namun, jumlah tunas yang tumbuh pada eksplan tanaman insulin cenderung mengalami penurunan ketika konsentrasi hormon yang digunakan semakin tinggi.

Pengaplikasian hormon sitokinin eksogen yang terlalu tinggi akan memberikan efek negatif pada proses induksi tunas (Mayerni et al., 2015). Rasio hormon akan menjadi tidak stabil dan menyebabkan terjadinya retardansi tunas sehingga menghambat terjadinya pembentukan tunas baru apabila konsentrasi BAP terlalu tinggi (Nuraini et al., 2022). Konsentrasi sitokinin yang meningkat pada proses regenerasi tunas akan meningkatkan kadar kandungan hidrogen peroksida. Keberadaan hidrogen peroksida akan merugikan karena bersifat destruktif pada elemen sel struktural akibat terjadinya oksidasi dan degradasi yang dapat merangsang terjadinya kematian sel sehingga regenerasi tunas melambat (Nowakowska et al., 2022).

Sedangkan, jumlah tunas terkecil ditunjukkan oleh perlakuan BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 ppm dan BAP 3,0 ppm + NAA 1,0 ppm dengan nilai rata-rata 0,25. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Balaraju et al., (2008), konsentrasi BAP dan NAA terbaik menghasilkan rata-rata jumlah tunas tanaman chaste (*Vitex agnus-catus*) yaitu BAP 1,5 mg/L + NAA 0,1 mg/L (6,7). Begitu pula, jumlah tunas terbanyak pada induksi tunas tanaman *Tricholepis roylei* (28,42) diperoleh pada perlakuan zat pengatur tumbuh BAP 4,4 μ M + NAA 1,06 μ M (Panwar & Joshi, 2020). Hal ini terjadi dikarenakan kemampuan eksplan setiap tanaman dalam membentuk tunas berbeda. Terdapat beberapa perlakuan yang eksplannya tidak menumbuhkan tunas sama sekali. Atau hanya 2 dari total eksplan yang ditanam mampu membentuk tunas.

Penambahan hormon sitokinin berpengaruh terhadap kemampuan eksplan untuk menumbuhkan tunas. Pertumbuhan tunas pada eksplan bergantung pada jenis sitokinin, serta konsentrasi yang dipakai (Ratnasari. et al., 2016). Selain itu, jumlah tunas yang tumbuh juga dipengaruhi oleh kemampuan eksplan dalam menyerap zat hara dan zat pengatur tumbuh yang tersedia di dalam media (Muchsin et al., 2022).

Pada penelitian ini terlihat bahwa pengaplikasian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang semakin tinggi akan menghambat proses pembentukan tunas sehingga jumlah tunas yang terbentuk mengalami penurunan. Menurut Fithriyandini et al (2015) dalam Parnidi & Ridhawati (2020), jaringan pada eksplan memiliki kemampuan untuk melakukan sintesis hormon endogen khususnya hormon auksin dan sitokinin. Hormon tersebut akan membantu mendorong jaringan untuk melakukan pertumbuhan dan perkembangan sehingga terbentuklah tunas baru.

4.4 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Tinggi Tunas Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

Pengamatan parameter tinggi tunas dilakukan dengan cara mengukur panjang tunas yang tumbuh pada saat panen (28 HST). Tunas diukur dengan menggunakan penggaris mulai dari pangkal hingga pucuk tunas. Menurut data pengamatan, tunas tanaman insulin memiliki tinggi yang berbeda-beda. Terdapat beberapa perlakuan yang menghasilkan tunas yang panjang, tunas yang pendek, dan terdapat pula beberapa perlakuan zat pengatur tumbuh yang tidak menunjukkan adanya tunas yang tumbuh.

Pada gambar 4.6, dapat diketahui jika perlakuan kontrol tanpa zat pengatur tumbuh apapun menghasilkan tinggi tunas yang terbaik. Sedangkan perlakuan dengan zat pengatur tumbuh yang lain tidak menunjukkan tanda pertumbuhan tinggi tunas tanaman insulin yang signifikan. Pemberian zat pengatur tumbuh auksin berupa NAA yang berperan dalam proses elongasi sel juga tidak memberikan pengaruh terhadap tinggi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*).

Tinggi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) pada waktu pemanenan (28 HST) juga dipengaruhi oleh waktu tunas tersebut muncul. Pada perlakuan kontrol yang tunasnya sudah tumbuh sejak minggu pertama periode inkubasi, eksplannya memiliki tinggi tunas terpanjang dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Sedangkan, perlakuan BAP 4,5 ppm + NAA 0,5 ppm dan perlakuan BAP 1,5 ppm memiliki tunas yang pendek karena tunas baru tumbuh pada minggu ketiga.

akan memproduksi etilen. Etilen ini akan membatasi proses regenerasi tunas dan menghambat perpanjangan dari internodus (Khan et al., 2015).

Etilen membatasi sitokinin untuk melakukan elongasi sel dengan bantuan AUX1. Dalam persinyalan sitokinin, AUX1 berperan untuk perubahan aktivitas auksin yang bergantung pada sitokinin, dan mengontrol sitokinin dalam proses pemanjangan sel dengan bantuan etilen ataupun tidak (*independent*) (Street et al., 2016). Selain itu, batang yang sedang mengalami proses elongasi tidak membutuhkan tambahan hormon sitokinin eksogen karena jaringan sudah memiliki kandungan sitokinin yang cukup untuk proses elongasi sel (Salisbury and Ross, 1995).

Selain perlakuan kontrol, perlakuan yang berpotensi menghasilkan tinggi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) terbaik adalah perlakuan BAP 3,0 ppm yang memiliki tinggi tunas 1,66 cm. Hal ini sesuai dengan penelitian Shanthi & Xavier, (2006), pemberian zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi 3,0 mg/L mampu menghasilkan tinggi tunas terbaik pada tanaman *Acmella calva* (4,9 cm). Penambahan BAP dalam konsentrasi yang tepat akan membantu peningkatan tinggi tanaman insulin. BAP memiliki peran dalam menstimulasi pembelahan sel yang kemudian berlanjut pada proses pembesaran dan pemanjangan sel. Selama proses proliferasi sel, sitokinin mengendalikan pembelahan sel dengan cara melakukan aktivasi transisi G1/S dan G2/M pada siklus sel (Wu et al., 2021).

Sedangkan perlakuan yang menghasilkan tinggi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) terpendek adalah perlakuan dengan konsentrasi BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 ppm dan perlakuan yang memiliki konsentrasi BAP 4,5 ppm + NAA 1,0 ppm. Kedua perlakuan tersebut menghasilkan tunas dengan rata-rata tinggi 0,15 cm. Hal

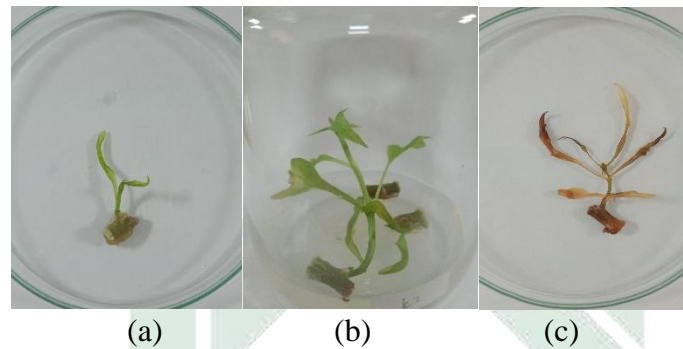
ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ebrahimzadeh & Younesikelaki (2016) mengenai induksi tunas tanaman *Silybum marianum*, pemberian BAP 10,0 μM + NAA 2,5 μM menghasilkan tinggi tunas terbaik dengan rata-rata 2,88 cm. Serta penelitian Yesmin (2019) yang menunjukkan bahwa pemberian BAP 1,5 mg/L + NAA 0,5 mg/L menghasilkan tinggi tunas terbaik tanaman *Stevia rebaudiana* dengan rata-rata tinggi 1,36 cm.

Hormon auksin yang diproduksi oleh tanaman insulin (endogen) atau hormon auksin yang diberikan pada tanaman dalam bentuk zat pengatur tumbuh (eksogen) memiliki peran penting dalam proses elongasi sel pada tanaman. Auksin yang terabsorpsi oleh jaringan tanaman akan mengubah cadangan makanan menjadi energi yang digunakan untuk meningkatkan pembelahan sel, elongasi, serta diferensiasi sel yang pada akhirnya terjadi proses pemanjangan tunas (Astutik et al., 2021).

Moore (1997) dan Wattimena (1988) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi tinggi tidak berperan dalam pertumbuhan namun menghambat pertumbuhan. Hal ini disebabkan tidak adanya keseimbangan hormon eksogen dan hormon endogen pada eksplan. Hal ini juga bergantung pada kemampuan eksplan dalam mengelola zat pengatur tumbuh eksogen yang diberikan (Rahmi et al., 2010).

Kandungan nitrogen pada media dasar MS (*Murashige and Skoog*) juga diduga berpengaruh terhadap tinggi tunas tanaman insulin. Nitrogen berperan dalam perkembangan eksplan dan pembentukan organ pada proses kultur in vitro. Nitrogen terdiri dari komponen protein, asam nukleat, dan substansi penting lainnya

tunas sudah banyak ditemukan daun yang mulai layu pada saat panen (4 MST). Morfologi daun tanaman insulin pada minggu pertama hingga minggu ke-4 mengalami kelayuan dapat dilihat pada gambar 4.8 berikut.



Gambar 4. 8 Morfologi Perkembangan Daun pada Induksi Tunas Tanaman Insulin (*T. diversifolia*)

(a) minggu ke 1-2; (b) minggu ke-3; (c) minggu ke-4 (mengalami kelayuan)
(Dokumentasi Pribadi, 2023)

Pada saat tunas dipanen pada hari ke-28, jumlah total daun dihitung rata-ratanya. Perhitungan meliputi seluruh daun yang terbentuk yang masih menempel pada buku daun. Kemudian, data dianalisis statistik menggunakan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* untuk melihat apakah perlakuan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah daun tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). Nilai rata-rata parameter jumlah daun pada tunas eksplan tanaman insulin dan nilai signifikansi *Kruskall-Wallis* tersaji dalam tabel 4.8

Tabel 4. 8 Nilai Signifikansi *Kruskall-Wallis* dan Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Insulin (*T. diversifolia*)

Kode	Perlakuan	Jumlah Daun	Sig.
A.	Kontrol (Tanpa ZPT)	7,51 ± 1,39	0,002
B.	BAP 1.5 ppm	1,75 ± 1,32	
C.	BAP 3.0 ppm	8,33 ± 4,24	
D.	BAP 4.5 ppm	1,83 ± 2,38	
E.	BAP 1.5 ppm + NAA 0.5 ppm	4,33 ± 3,94	
F.	BAP 3.0 ppm + NAA 0.5 ppm	0,25 ± 0,50	
G.	BAP 4.5 ppm + NAA 0.5 ppm	1,29 ± 0,89	
H.	BAP 1.5 ppm + NAA 1.0 ppm	6,26 ± 0,75	
I.	BAP 3.0 ppm + NAA 1.0 ppm	0,25 ± 0,50	
J.	BAP 4.5 ppm + NAA 1.0 ppm	0,75 ± 0,96	

Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2023

Keterangan : Nilai sig. diperoleh dari uji *Kruskall-Wallis*. Data memiliki perbedaan yang nyata apabila nilai Sig. $p < \alpha$ (0,05).

Sedangkan perlakuan B memiliki perbedaan yang nyata dengan perlakuan C (Sig. $p = 0,029$), dan perlakuan H (Sig. $p = 0,021$).

Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D (Sig. $p = 0,042$), perlakuan F (Sig. $p = 0,018$), perlakuan G (Sig. $p = 0,021$), perlakuan I (Sig. $p = 0,018$), dan perlakuan J (Sig. $p = 0,020$). Perlakuan D memiliki perbedaan yang nyata dengan perlakuan H (Sig. $p = 0,020$), perlakuan F memiliki perbedaan yang nyata dengan perlakuan H (Sig. $p = 0,018$). Perlakuan G juga berbeda nyata dengan perlakuan H (Sig. $p = 0,021$). Sedangkan perlakuan H memiliki perbedaan yang nyata dengan perlakuan I (Sig. $p = 0,018$), dan perlakuan J (Sig. $p = 0,020$). Perbedaan yang signifikan antar perlakuan kemungkinan disebabkan dengan angka perbedaan jumlah daun yang dihasilkan cukup jauh antar perlakuan satu dengan perlakuan yang lain.

Pada tabel 4.8 tertera bahwa perlakuan C (BAP 3,0 ppm) menghasilkan jumlah daun terbanyak dibandingkan perlakuan yang lain. Perlakuan C memiliki rata-rata jumlah daun pada tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) sebanyak 8,33. Hal ini sesuai dengan penelitian Fauzan et al., (2021), perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm menghasilkan jumlah daun terbanyak pada kultur jaringan ubi kayu (*Manihot esculenta*) dengan nilai rata-rata 1,889. Tyas et al., (2016) dalam penelitiannya juga menunjukkan bahwa perlakuan penambahan hormon BAP 1 ppm pada pamelu (*Citrus maxima*) juga memberikan perbedaan yang nyata pada jumlah daun yang tumbuh dengan rata-rata 6,5. BAP yang ditambahkan dalam media kultur memiliki kandungan senyawa nitrogen yang berfungsi untuk pengoptimalan proses sintesis asam amino dan protein yang bermanfaat pada proses pertumbuhan daun (Rosniawaty et al., 2017).

Sedangkan perlakuan yang menghasilkan jumlah daun pada tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) yang paling sedikit adalah perlakuan F (BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 ppm) dan perlakuan I (BAP 3,0 ppm + NAA 1,0 ppm) dengan nilai rata-rata jumlah daun 0,25. Hal ini bertentangan dengan hasil penelitian Fitriani, (2008) mengenai Multiplikasi Tunas tanaman *Artemisia annua*, pemberian hormon BAP 1,0 ppm + NAA 0,25 ppm pada media pertumbuhan menghasilkan jumlah daun terbanyak (13 daun). Pengaplikasian auksin eksogen (NAA) tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah daun tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*), hal ini kemungkinan terjadi karena hormon auksin endogen sudah memenuhi kebutuhan jaringan untuk melakukan pembelahan dan diferensiasi sel (Yulia et al., 2020).

Daun merupakan organ penting pada suatu tanaman. Daun berfungsi sebagai tempat fotosintesis dimana proses pembentukan karbohidrat terjadi. Jika pada suatu eksplan semakin banyak ditemukan daun tumbuh maka hal itu dapat menjadi indikasi pertumbuhan eksplan yang baik (Hartati et al., 2016). Konsentrasi terbaik dalam pembentukan daun tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) adalah BAP 3,0 ppm. Hal ini disebabkan dalam proses pembentukan daun, penambahan hormon sitokinin eksogen akan berinteraksi dengan hormon auksin endogen.

Hal ini menjadi bukti bahwa dalam pertumbuhan tanaman secara in vitro keseimbangan dan interaksi antara hormon endogen dan hormon eksogen memegang peranan yang penting (Nurhanis et al., 2019). Davies (1995) menyatakan bahwa sitokinin memiliki peran fisiologis dalam mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertumbuhan pucuk lateral, pembesaran daun, pembukaan stomata, dan pembentukan kloroplas (Siregar, 2017).

mengelola makanannya. Oleh karena itu, klorofil belum mampu melakukan tugasnya untuk berfotosintesis (Astutik et al., 2021).

Selain itu, sitokinin yang ditambahkan ke dalam media dalam bentuk BAP juga dapat berperan dalam menunda terjadinya kelayuan pada daun. Hal tersebut terlihat pada perlakuan zat pengatur tumbuh yang daunnya masih terlihat segar dan sehat ketika pemanenan. Sedangkan, tunas pada perlakuan kontrol, daunnya mulai layu dan kecoklatan. Hormon sitokinin atau BAP yang ditambahkan akan meningkatkan aktivitas enzim CAT dan APX sehingga kadar H_2O_2 akan berkurang. Sitokinin eksogen juga akan membantu dalam melindungi membrane sel dari kerusakan oksidatif selama proses penuaan (*senescense*) (Honig et al., 2018).

4.6 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Berat Kering Tunas Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

Perhitungan parameter berat kering tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) dilakukan setelah planlet dipanen, kemudian dipisahkan tunasnya dari bagian kalus. Selanjutnya, kalus dan tunas dikeringkan di dalam oven dengan suhu $50^{\circ}C$ hingga diperoleh berat konstan dari kalus dan tunas. Kemudian, tunas kering ditimbang untuk mengetahui massanya. Berat kering tunas merupakan salah satu indeks pertumbuhan tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). Parameter ini menunjukkan aktivitas metabolisme yang dipengaruhi oleh zat hara dan menghasilkan metabolisme, kandungan air dalam jaringan, peningkatan ukuran dan jumlah sel sehingga terjadi peningkatan berat tunas (Ngadiani & Jayanti, 2021). Morfologi tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) sebelum dan setelah dikeringkan dapat dilihat pada gambar 4.10

massa kering tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) dan menyebabkan perbedaan yang nyata antar perlakuan.

Pada tabel 4.10 terlihat bahwa perlakuan yang menghasilkan berat kering tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*) paling besar adalah perlakuan C dengan pemberian zat pengatur tumbuh BAP 3,0 ppm yang memiliki nilai rata-rata 0,0122 gram. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh (Siregar, 2017) yang menyatakan bahwa pemberian zat pengatur BAP 3,0 mg/L yang menghasilkan berat tunas tertinggi pada tanaman nanas (*Ananas comosus*) dengan nilai rata-rata 251,80 gram. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP 3,0 ppm merupakan konsentrasi yang tepat pada parameter berat kering tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). BAP mampu menstimulasi pembelahan sel, morfogenesis, serta organogenesis pada jaringan eksplan (Zulkarnain, 2009).

Sedangkan berat kering tunas yang paling kecil adalah eksplan yang diberikan perlakuan F (BAP 3,0 ppm + NAA 0,5 ppm) dengan nilai rata-rata 0,00015 gram. Hasil ini bertolak belakang dengan hasil penelitian Ngadiani & Jayanti (2021), bahwa pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP 2 ppm dan NAA 2 ppm mampu menghasilkan berat tunas terbaik pada tanaman anggrek (*Vanda tricolor*) dengan berat rata-rata 2,2 gram.

Zat pengatur tumbuh BAP merupakan salah satu jenis hormon sitokinin yang berperan aktif pada proses sitokenesis (pembelahan sel). Sitokinin akan mempercepat proses peralihan fase G1-S dan fase G2-M. Sitokinin akan mengaktifasi sintesis RNA, mempercepat sintesis protein, aktivasi enzim yang berperan dalam pembelahan sel. Proses pembelahan sel dipengaruhi oleh enzim

CDK (*Cyclin-dependent Kinase*). CDK akan mempengaruhi peralihan fase dari G1 ke S dan G2 ke M.

Peralihan fase G1-S dikontrol oleh enzim *Cyclin-D* (CYCD) yang aktivasinya dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti hormon dan sukrosa. Hormon dan sukrosa akan membangun kompleks aktif CYCD dan CDKA. Kompleks tersebut akan mengaktivasi promotor E2F sehingga gen-gen transkripsi pada fase S menjadi aktif. Sedangkan peralihan fase G2-M dipengaruhi oleh aktivitas CDK-CYC. Aktivitas kompleks CDK-CYC yang meningkat selama fase G2 akan mempercepat peralihan fase G2 ke M (Sagai et al., 2016). Proses pembelahan sel ini akan mempengaruhi pembentukan tunas pada tanaman insulin (*T. diversifolia*).

Penambahan BAP dalam konsentrasi kecil diketahui efektif untuk menstimulasi pertumbuhan tunas tanaman insulin (*T. diversifolia*). Peran BAP dalam proses mikropropagasi berperan untuk mendorong pembentukan jaringan xylem pucuk yang akan memfasilitasi perubahan dan perpindahan air dan nutrisi yang mengarah pada pertumbuhan pucuk (Dessoky et al., 2016). Menurut George (2000) sebagian besar konsentrasi yang digunakan pada proses perbanyakan tanaman berada pada kisaran 1,0-3,0 mg/L. Konsentrasi BAP yang tinggi akan menyebabkan terjadinya retardasi tunas karena sifat hormon yang aktif dalam konsentrasi kecil. Konsentrasi BAP yang terlalu tinggi akan bersifat toksik (racun) bagi tanaman dan menyebabkan tunas yang tumbuh menjadi abnormal (Azizan, 2017).

Corina et al., (2014) menyatakan bahwa hormon auksin juga berperan dalam peningkatan berat tunas, di mana dalam kasus ini hormon auksin endogen tanaman insulin (*T. diversifolia*) yang bekerja. Hormon auksin bekerja pada bagian meristem

daun yang merupakan tempat terjadinya proses fotosintesis. Fotosintesis akan menghasilkan fitosintat berbentuk senyawa organik ataupun anorganik yang nantinya digunakan dalam proses diferensiasi sel dan pembesaran sel pada tanaman.

Apabila konsentrasi sitokinin yang diberikan terlalu besar akan menghasilkan tunas dengan morfologi bentuk batang tipis, dan kecil yang mempengaruhi massa tunas insulin (*T. diversifolia*) (Pratiwi et al., 2021). Regenerasi nodus tanaman stevia yang dilakukan oleh (Ghauri et al., 2013) menunjukkan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi yang tinggi akan mengakibatkan tunas yang dihasilkan menjadi kecil dan tipis.

Berat segar tunas tanaman insulin akan berpengaruh terhadap hasil berat kering tunas yang diperoleh. Parameter berat merupakan tolok ukur pertumbuhan tanaman secara keseluruhan, karena hasil berat tunas didukung oleh jumlah tunas, jumlah daun, serta tinggi tunas tanaman, dan fitohormon memegang peranan yang penting dalam proses organogenesis tanaman pada kultur jaringan (Y. T. M. Astuti & Andayani, 2019).

4.7 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

4.7.1 Presentase Pembentukan Kalus Tanaman Insulin

Ketika proses induksi tunas berlangsung. Bukan hanya tunas saja yang tumbuh, eksplan nodus tanaman insulin juga menghasilkan kalus. Kalus merupakan massa sel-sel parenkim yang berproliferasi dari jaringan induk, tumbuh tidak terbatas, dan seringkali tumbuh akibat adanya perlukaan (Smith, 2013). Kalus bisa terbentuk dari berbagai bagian tanaman. pada umumnya,

perbedaan yang signifikan terhadap parameter presentase pembentukan kalus tanaman insulin (*T. diversifolia*). Hampir seluruh eksplan tanaman insulin membentuk kalus selama proses inkubasi berlangsung. Hasil ini terbukti pada nilai presentase pembentukan kalus pada seluruh perlakuan memiliki nilai yang konstan yaitu 100%. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Afyiah et al., (2022) yang menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin menghasilkan presentase pembentukan tunas 100% pada tanaman *Talinum paniculatum*. Begitu juga pada penelitian Röck-Okuyucu et al., (2016) induksi kalus tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*), pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA mampu menstimulasi terbentuknya kalus pada eksplan hingga presentase 100 %.

Pada perlakuan kontrol memiliki presentase 91,75 %m hal ini disebabkan pada perlakuan kontrol terdapat satu eksplan yang tidak membentuk kalus sama sekali. Penelitian oleh Nuha (2022) pada induksi kalus daun porang (*Amorphophallus muelleri* Blume), perlakuan kontrol tidak membentuk kalus sama sekali.

Pembentukan kalus yang sedikit atau tidak ada sama sekali pada perlakuan kontrol kemungkinan terjadi karena hormon endogen dalam eksplan nodus tanaman insulin belum cukup untuk merangsang pertumbuhan kalus dan hanya dapat menginduksi terbentuknya tunas. Penambahan sitokinin dapat memberikan stimulasi pada eksplan untuk melakukan pembelahan sel dan poliferasi kalus (Yanti & Isda, 2021).

Pembentukan kalus pada eksplan juga dipengaruhi oleh rasio hormon auksin dan sitokinin. Pemberian hormon sitokinin dan auksin eksogen dalam

konsentrasi yang tepat sangat berpengaruh pada proses terbentuknya kalus. Secara teori, auksin memiliki peran yang lebih dominan dalam pembentukan kalus. Namun, apabila auksin dan sitokinin dikombinasikan maka akan berpengaruh terhadap proses pembelahan sel dan poliferasi kalus (Purnamaningsih & Ashrina, 2011).

Penambahan auksin berupa NAA akan menyebabkan terjadinya pengeluaran ion H^+ ke dinding sel primer. Keluarnya ion H^+ ini akan menurunkan pH sehingga dinding sel mengendur dan mempercepat terjadinya pertumbuhan. pH yang rendah ini bekerja dengan mengaktifasi beberapa enzim perusak dinding sel tertentu yang tidak aktif pada pH yang tinggi. Enzim tersebut memutuskan rantai polisakarida pada dinding, sehingga dinding sel menjadi mudah merenggang. Perenggangan ini akan menjadikan sel berkembang lebih cepat sehingga menginduksi terbentuknya kalus (Salisbury & Ross, 1995).

Sedangkan sitokinin berperan dalam mengaktifasi enzim fosfatase yang akan menghasilkan fosfat dari protein CDK (*Cyclin dependent Kinase*). Protein CDK yang hanya mengandung satu fosfat akan menjadi aktif dan menginduksi sel menuju fase mitosis (Aprilia et al., 2022). Sehingga pemberian sitokinin berupa BAP akan mendorong sel pada fase mitosis dan mempercepat terjadinya pembelahan sel.

Pada penelitian ini konsentrasi hormon sitokinin lebih tinggi dibandingkan hormon auksin yang ditambahkan. Terbentuknya kalus menunjukkan bahwa hormon auksin endogen yang dikandung oleh eksplan tanaman insulin memiliki konsentrasi yang tinggi sehingga pada akhirnya

tercapai keseimbangan antara hormon auksin endogen dan hormon sitokinin eksogen dalam membentuk kalus pada eksplan tanaman insulin.

4.7.2 Morfologi Kalus Tanaman Insulin

Pengaplikasian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA menghasilkan respons yang berbeda-beda terhadap pertumbuhan kalus tanaman insulin (*T. diversifolia*). Respons yang berbeda tersebut dapat diamati secara visual pada eksplan yang diinkubasi. Munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan terjadinya pembengkakan jaringan dan munculnya jaringan baru berwarna putih pada permukaan eksplan (Widiyastuti, 2015). Selain itu, pembentukan kalus juga terjadi akibat stimulasi perlukaan yang membuat perubahan arah pada keseimbangan dinding sel, Sebagian protoplas akan bergerak ke luar permukaan eksplan dan membentuk kalus (Wahyuni et al., 2020).

Berdasarkan hasil pengamatan, mayoritas eksplan membentuk kalus selama proses induksi tunas tanaman insulin berlangsung. Kalus yang terbentuk memiliki tekstur yang hampir sama yaitu kompak dengan sedikit bagian yang remah, dan memiliki warna putih atau hijau. Kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang diaplikasikan mampu membentuk kalus dengan baik. Sedangkan pada perlakuan kontrol hanya ditemukan kalus berukuran kecil. Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena konsentrasi hormon auksin endogen yang dimiliki oleh eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*) memiliki konsentrasi yang cukup tinggi dan mampu untuk membentuk kalus. Morfologi kalus yang terbentuk selama proses induksi tunas tanaman insulin tersaji dalam tabel 4.13

lebih besar, mempunyai dinding polisakarida yang lebih besar (Harahap et al., 2020). Selain itu, tekstur kalus kompak dapat mengakumulasi metabolit sekunder lebih baik dibandingkan dengan tekstur kalus remah (Yanti & Isda, 2021).

Perlakuan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA juga menghasilkan perbedaan warna pada kalus tanaman insulin yang tumbuh. Pada perlakuan kontrol, BAP 1,5 ppm, BAP 3,0 ppm, dan BAP 4,5 ppm menghasilkan kalus yang memiliki warna hijau atau putih kehijauan. Sedangkan pada perlakuan yang lain memiliki kalus berwarna putih. Hal ini dikarenakan kandungan klorofil di dalam kalus. Semakin hijau warna suatu kalus maka semakin tinggi pula kadar klorofil di dalam kalus tersebut (Harahap et al., 2020).

Warna kecoklatan yang muncul pada kalus tanaman insulin merupakan tanda mulai terjadinya browning pada kalus. Browning terjadi akibat aktivitas metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik. Senyawa fenol kemudian akan mengalami oksidasi dan membentuk quinon yang menyebabkan sel-sel tanaman mati. Selain itu, pencoklatan juga dapat terjadi akibat proses pemotongan jaringan ketika penanaman eksplan. Jaringan tanaman yang mengalami luka akan menyebabkan eksplan mengalami stress (Hendaryono et al., 1994).

4.8 Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA terhadap Berat Kering Kalus Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray)

Perhitungan berat kering kalus dilakukan untuk mengetahui berat kalus yang tumbuh selama proses induksi tunas berlangsung. Pada beberapa perlakuan ditemukan tumbuhnya kalus disekitar eksplan. Pertumbuhan kalus terjadi karena

Berdasarkan tabel 4.14 dapat diketahui jika perlakuan E (BAP 1,5 ppm + NAA 0,5 ppm) dan perlakuan H (BAP 1,5 ppm + NAA 1,0 ppm) memiliki nilai rata-rata massa kering kalus terbesar yaitu 0,11 gram. Kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan F (BAP 3,0 ppm + NAA 0,5) yang memiliki nilai rata-rata massa kering kalus 0,105 gram. Sedangkan perlakuan yang menghasilkan massa kering kalus paling kecil adalah perlakuan kontrol (A) dengan massa rata-rata 0,02 gram. Perlakuan kontrol juga memiliki perbedaan yang cukup signifikan dengan perlakuan yang lain. Hasil ini sesuai dengan penelitian Y. M. Astuti et al., (2016), yang menunjukkan bahwa perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA memiliki berat kering yang baik pada tanaman *Pueraria javanica*.

Kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang diaplikasikan mampu membentuk kalus dengan baik. Sedangkan pada perlakuan kontrol hanya ditemukan kalus berukuran kecil. Hasil penelitian ini bertentangan dengan pernyataan oleh Flick *et al.* (1983) yang menyatakan bahwa kalus terbentuk dari rasio konsentrasi auksin yang tinggi dengan konsentrasi sitokinin yang rendah (Ahmad & Spoor, 1998). Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena konsentrasi hormon auksin endogen yang dimiliki oleh eksplan tanaman insulin (*T. diversifolia*) memiliki konsentrasi yang cukup tinggi dan mampu untuk membentuk kalus.

Menurut Lestari (2012), hormon auksin dan sitokinin eksogen yang ditambahkan di dalam media pertumbuhan akan berpengaruh pada hormon endogen di dalam sel sehingga hormon eksogen memiliki peran sebagai “faktor pemicu” dalam proses pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman. Assidiqi et al., (2011) menyatakan bahwa penambahan BAP dan NAA memiliki pengaruh untuk

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ٤٩

Artinya :

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukuran.*” (Q.S Al Qomar: 49)

Dalam kitab tafsir Al Maraghi (1974), ayat ini menjelaskan bahwa semua yang terjadi di kehidupan ini bukanlah suatu kebetulan, akan tetapi sudah menjadi keputusan dan ketentuan Allah SWT. Semua telah ditentukan oleh Allah SWT berdasarkan kadar dan ukurannya. Dalam konteks kultur jaringan, konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA haruslah dalam konsentrasi yang tepat untuk dapat menginduksi terbentuknya tunas secara optimal.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

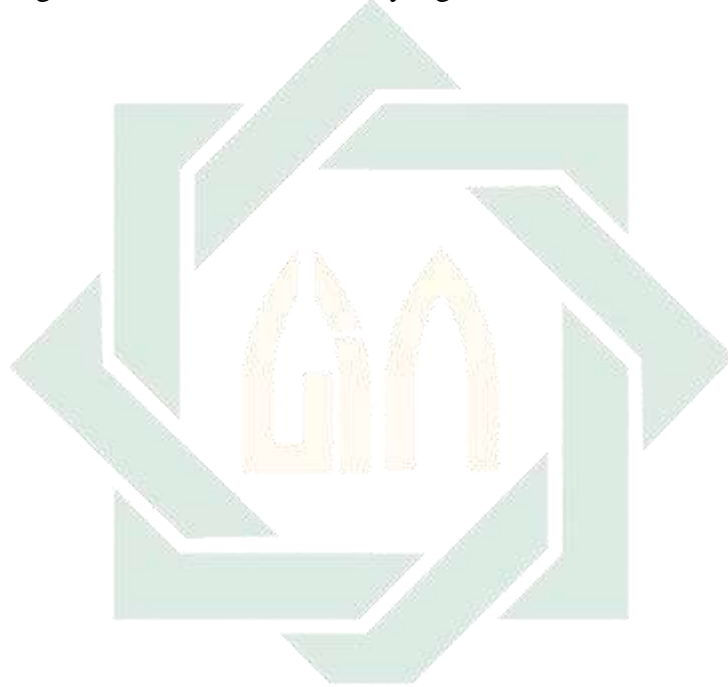
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlakuan pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap induksi tunas tanaman insulin yaitu pada parameter presentase pembentukan tunas, rata-rata jumlah tunas, rata-rata tinggi tunas, rata-rata jumlah daun, berat kering tunas, dan berat kering kalus. Sedangkan pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA tidak berpengaruh nyata pada parameter waktu muncul tunas dan presentase pembentukan kalus.
2. Pada parameter presentase pembentukan tunas, konsentrasi zat pengatur tumbuh yang paling optimum adalah BAP 1,5 ppm + NAA 1,0 ppm. Pada parameter rata-rata jumlah tunas, dan rata-rata tinggi tunas, perlakuan kontrol merupakan perlakuan yang paling optimum. Pada parameter jumlah daun, dan berat kering tunas, konsentrasi zat pengatur tumbuh yang paling optimum adalah perlakuan BAP 3,0 ppm. Sedangkan pada parameter waktu muncul tunas dan presentase pembentukan kalus, perlakuan tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan.

5.2 SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa pada proses induksi tunas tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dapat dilaksanakan tanpa mengaplikasikan zat pengatur tumbuh eksogen pada media pertumbuhan dikarenakan hormon endogen eksplan sudah cukup memenuhi kebutuhan tanaman dalam menumbuhkan tunas baru. Namun, perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut untuk meneliti kandungan konsentrasi hormon endogen tanaman insulin (*T. diversifolia*). Serta perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan jenis dan konsentrasi hormon eksogen lain yang sesuai untuk proses induksi tunas (*T. diversifolia*) secara in vitro sehingga mampu menghasilkan tanaman baru dengan kuantitas serta kualitas yang baik.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. (2003). *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Surabaya: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Ahmad, S., & Spoor, W. (1998). Effects of NAA and BAP on Callus Culture and Plant Regeneration in Curly Kale (*Brassica oleraces* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2(1), 109–112. <https://doi.org/10.3923/pjbs.1999.109.112>
- Alfaris, M.R., and Rineksane, I.A. (2020). *Induksi Tunas Kentang (Solanum Tuberosum L .) Varietas Granola pada Berbagai Medium dengan Penambahan BAP (Benzyl Amino Purine)*. Prosiding 1st UMYGrace. 2020. hlm. 204–213.
- Amanatie., & Sulistyowati. (2015). Structure Elucidation of the Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *Jurnal Sains dan Matematika*, 23 (4), 101-106.
- Andaryani, Setianingrum. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha cucas* L.) Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Aprilia, M., Setiari, N., & Nurchayati, Y. (2022). Callus Development from Potato (*Solanum tuberosum*) Stem at Various Concentrations of Benzylaminopurine, *Biosaintifika*, 14(2), 219-225.
- Asmono, S. L., Wardana, R., & Rahmawati. (2022). Optimization of the sterilization method for leaf explant Robusta BP 308 coffee in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 980(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012001>
- Assidiqi, A., & Jumin, H. B. 2018. Pengaruh Naa Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Ciplukan (*Physalis Angulate* L.) Secara In Vitro. *Dinamika Pertanian*, 34(3), 247-254.
- Astuti, Y. M., Hartati, R. M., Andayani, N., & Rahayu, D. B. (2016). Pengaruh Komposisi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pueraria Javanica Dalam Kultur Jaringan. *Prosiding Konser Karya Ilmiah*, 2, 87–92.
- Astuti, Y. T. M., & Andayani, N. (2019). Pengaruh Pemberian BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Krisan (*Chrysanthemum morifolium*, Ram.) dalam Kultur Jaringan. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, X(3), 31–35. <https://doi.org/10.24002/biota.v10i1.2796>
- Astutik, Sumiati, A., & Sutoyo. (2021). Stimulasi Pertumbuhan *Dendrobium* sp Menggunakan Hormon Auksin Naphtalena Acetic Acid (NAA) Dan Indole Butyric Acid (IBA). *Jurnal Buana Sains*, 21(1), 19–28.
- Ath-Thabari, A. J. M. (2007). *Tafsir Ath-Thabari Jilid I*. Jakarta: Pustaka Azzam.

- Azizan, M. N. A. . dan R. (2017). The Effect of BAP and NAA Treatment on Micropropagation of *Cucumis sativus*.L. *International Journal Of Science And Research*, 6(11), 170–176. <https://doi.org/10.21275/ART20177887>
- Balaraju, K., Agastian, P., Preetamraj, J. P., Arokiyaraj, S., & Ignacimuthu, S. (2008). Micropropagation of *Vitex agnus-castus*, (Verbenaceae) - A valuable medicinal plant. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 44(5), 436–441. <https://doi.org/10.1007/s11627-008-9155-9>
- Beegum, A. S., Martin, K. P., Zhang, C. L., Nishitha, I. K., Ligimol, Slater, A., & Madhusoodanan, P. V. (2007). Organogenesis from leaf and internode explants of *Ophiorrhiza prostrata*, an anticancer drug (camptothecin) producing plant. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1). <https://doi.org/10.2225/vol10-issue5-fulltext-7>
- Chieng, L., Chen, T., Sim, S., & Goh, D. K. (2014). *Shoot Induction of Gonystylus bancanus (Miq.) Kurz (Ramin) In Sarawak*. 20.
- Corina, P.I. Mukarlina, Linda. R, 2014. Respon Pertumbuhan Kultur Biji Jeruk Siam Seed (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan Benzyl Amino Purine (BAP). *Jurnal Potobion* 3(2): 120-124.
- Dar, S. A., Nawchoo, I. A., Tyub, S., & Kamili, A. N. (2021). Effect of plant growth regulators on in vitro induction and maintenance of callus from leaf and root explants of *Atropa acuminata* Royal ex Lindl. *Biotechnology Reports*, 32(November), e00688. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00688>
- Davies, P. J. (1995). *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. London: Kluwer Academic Publishers.
- Dessoky E S, Attia, O. A., and Mohamed, E. A. M. (2016). An Efficient protocol for in vitro propagation of Fig (*Ficus carica* sp) and evaluation of genetic fidelity using RAPD and ISSR markers. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 4 04 pp 057-063
- Dwiputri, D., Fitriani, S. P., & Maulana, I. T. (2016). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etil Asetat Daun Paitan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray). *Farmasi*, 2(2), 242-248.
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Bali: Pelawa Sari ‘Percetakan dan Penerbit’.
- Ebrahimzadeh, M. H., & Younesikelaki, F. S. (2016). *Direct Organogenesis and Plantlet Establishment via Cotyledon Explants in Medicinally Important Herb *Silybum marianum* (L .)*. 9(December), 1–8. <https://doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i47/104185>
- Enyew, M., and Feyissa, T. (2019). In vitro shoot regeneration from leaf explants of *Echinops kebericho*: an endangered endemic medicinal plant. *Plant Biosystems*. 153(2): 199–204. doi:10.1080/11263504.2018.1448014.

- Ezeonwumelu, J. O. C., Omolo, R. G., Ajayi, A. M., Agwu, E., Tanayen, J. K., Adiukwu, C. P., Oyewale, A. A., Adzu, B., Okoruwa, A. G., & Ogonnia, S. O. (2012). Studies of Phytochemical Screening, Acute Toxicity and Anti-Diarrhoeal Effect of Aqueous Extract of Kenyan *Tithonia diversifolia* Leave in Rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(3), 127-134.
- Fauzan, M., Nirmala, R., Sunaryo, W., & Pujowati, P. (2021). Induksi Multiplikasi Ubi Kayu var . Gajah (*Manihot esculenta crantz*) Melalui Kultur Jaringan dengan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*, 3(2), 79–85.
- Fauziah, P. S., Purnomo, S. S., Saputro, N. W., Mayang, R. B. (2021). Pemberian NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purine*) dalam Inisiasi Petal Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) terhadap Pertumbuhan Organogenesis Tunas Secara In Vitro pada Media MS (*Murashige and Skoog*). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*. 7 (7): 96-106.
- Fithriyandini, A., Dawam, M. M., Wardiyati, T. (2015). Pengaruh media dasar dan 6- benzylaminopurine (BAP) terhadap pertumbuhan dan perkembangan nodus tangkai bunga anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) dalam perbanyak secara in vitro. *Jurnal Produksi Tanaman*. 3(1), 43–49.
- Fitriani, H. (2008). Kajian Konsentrasi BAP Dan NAA Terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua* L. Secara In Vitro. *Universitas Sebelas Maret*, 53(9), 1689–1699.
- Flick, C.E., Evans, D.A., & Sharp, W.R. (1993). Organogenesis, In D.A, Evans, W.R., Sharp, P.V., Amirato, and T.Yamada (eds.) *Handbook of Plant Cell Culture* Collier Mac millan, Publisher London, 13-81 h
- George, E., Hall, M. and De Klerk, J. (2008) *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition* Volume 1. England: Exegetic Limited.
- George, E.F., Sherrington, P.D., (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd., Reading, England.
- Ghuri, E. G., Afridi, M. S., Marwat, G. A., Inayatur-Rahman, & Akram, M. (2013). Micro-propagation of *stevia rebaudiana bertonii* through root explants. *Pakistan Journal of Botany*, 45(4), 1411–1416.
- Gu, J. Q., Gills, J. J., Park, E. J., Mata-Greenwood, E., Hawthorne, M. E., Axelrod, F., Chavez, P. I., Fong, H. H., Mehta, R. G., Pezzuto, J. M. (2002). Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with Potential Cancer Chemopreventive Activity. *J Nat Prod* 2002 April, 65(4), 532-536.
- Harahap, A.S. *et al.* (2020). Induksi Kalus Tanaman Paitan (*Tithonia diversifolia*) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D. *Agrium*. 23 (1): 32-35.
- Hartati, S., Budiyo, A., and Cahyono, O.(2016). Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Subkultur Anggrek Hasil Persilangan *Dendrobium biggibum* X *Dendrobium lineale*, Caraka Tani. *J. Sustain. Agric* 31(1), 33.

- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies and R.L. Geneve. (2010). *Plant Propagation Principles and Practiese, 6th Ed.* New Delhi : Prentice Hall of Insia Private Limited.
- Hastari, R.P.D. (2019). Pemberian Beberapa Konsentrasi Ekstrak *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Beberapa Varietas Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian dan Peternakan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.
- Hayati, A. (2021). Induksi Tunas Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) dengan Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan Asam Amino Glisin Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Hendaryono., & Wijayanti. (1994). *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetative Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hendriyani, E., Warseno, T., & Undaharta, N. K. E. (2020). PENGARUH JENIS EKSPAN DAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) TERHADAP INDUKSI KALUS *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka SECARA IN VITRO. *Buletin Kebun Raya*, 23(1), 82–90. <https://doi.org/10.14203/bkr.v23i1.8>
- Herliandi, Y. (2020). Pengaruh Ketinggian Tempat terhadap Morfologi Tanaman Paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai Pakan Hijauan di Wilayah Solok. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas. Padang.
- Hesami, M., Daneshvar, M. H., Yoosefzadeh-Najafabadi, M., & Alizadeh, M. (2018). Effect of plant growth regulators on indirect shoot organogenesis of *Ficus religiosa* through seedling derived petiole segments. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.11.001>
- Honig, M., Plihalova, L., Husickova, A., Nisler, J., & Dolezal, K. (2018). Role of Cytokinins in Senescence, Antioxidant Defence, and Photosynthesis. *Int J Mol Sci*, 19(12): 40-45.
- Inoka, K. P. I., & Dahanayake, N. (2015). *Effect of plant growth regulators on micro-propagation of Sunflower (Helianthus annuus L .)*. 5(1), 1–5.
- Intias, S. (2012). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan BAP Terhadap Pembentukan Kalus Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) Secara In-Vitro. *Skripsi*. Diterbitkan. Surakarta: Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Isda, M. N., Fatonah, S., Lestari, W., Hutapea, E. Y., & Purba, L. (2014). Induksi Tunas dan Pembentukan Akar dari Eksplan Kotiledon Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) asal Kampar secara In Vitro. *Semirata: Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014*.

- Joshi, B., Bhandari, A., and Panwar, G.S. (2020). An efficient micropropagation protocol for *Vernonia amygdalina* Delile – An economically valuable shrub. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 00(00): 1–8. doi:10.1080/10496475.2020.1728601.
- Jacobsen, A. L., Fickle, J. C., Castro, V., Madsen, A., Ennajeh, M., & Pratt, R. B. (2020). Node Frequency Alters Stem Biomechanics and Hydraulics in Four Deciduous Woody Species. *Journal of Wood Science*, 66(26), 1-9.
- John-Dewole, O. O., & Oni, S. O. (2013). Phytochemical and Antimicrobial Studies Extracts from the Leaves of *Tithonia diversifolia* for Pharmaceutical Importance. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 6(4), 21-25.
- Karjadi, A. and Buchory, A. (2008). Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *Jurnal Hortikultura*. 18 (4): 380–384.
- Kawini, L., Bora, M., Upadhyay, S. N., Hazra, J. (2017). Pharmacological Profile of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray: A Comprehensive Review. *Journal of Drug Research in Ayurvedic Sciences*, 2(3), 183-187.
- Kazeroonian, R. *et al.* (2018). Factors Influencing in Vitro Organogenesis of *Chrysanthemum morifolium* cv. “Resomee Splendid”. *Iranian Journal of Biotechnology*. 16(2): 132–139. doi:10.21859/ijb.1454.
- Kementrian Agama Republik Indonesia. (2019). Al Qur'an dan Terjemahnya.
- Khan, N., Ahmed, M., Hafiz, I., Abbasi, N., Ejaz, S., & Anjum, M. (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 49(1), 37–45. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2015.49.1.95>
- Kuppusamy, S., Ramanathan, S., Sengodagounder, S., Senniappan, C., Shanmuganathan, R., Brindhadevi, K., & Kaliannan, T. (2019). Optimizing the sterilization methods for initiation of the five different clones of the Eucalyptus hybrid species. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22(September), 101361. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101361>
- Kustiani Edy. (2020). *Kultur Jaringan Teori dan Praktek*. UNIK Press.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 7 (1): 63-68
- Li, J., Kang, Y., Qiang, S., & Peng, G. (2012). Propagation of goldenrod (*Solidago canadensis* L.) from leaf and nodal explants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(1), 53–60. <https://doi.org/10.5586/asbp.2011.044>
- Mardhiyetti., Syarif, Z., Jamanun, N., & Suliansyah, I. (2015). Pengaruh BAP (*Benzyl Adenin Purin*) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) terhadap Eksplan Tanaman Turi (*Sesbania grandiflora*) dalam Media Multiplikasi In

Vitro. *Pastura*. 5(1): 35-38.

- Mashlulah, K. (2018). Pengaruh Kombinasi NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) Dan BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) Terhadap Induksi Tunas Aksilar Jamblang (*Syzygium cumini* L .). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Mayasari, D. (2018). Induksi tunas aksilar sirsak (*Annona muricata* L.) dengan penambahan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP(*6-Benzyl Amino Purine*) secara in vitro. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Available at: <http://etheses.uin-malang.ac.id/10931/1/13620004.pdf>.
- Mayerni, R., Pratiwi, E. E., & Warnita. (2015). Shoot multiplication of quinine plant (*Cinchona ledgeriana* Moens) with several concentrations of kinetin on in vitro. *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol*, 5(2), 57–61.
- Miller, D., & Leyser, O. (2011). Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. *Annals of Botany*, 107(7), 1203–1212. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr069>
- Muchsin, M. E., Supriatna, A., Adawiyah, A., & Darniwa, A. V. (2022). The Effect of Various Concentration BAP (6-Benzyl Amino Purine) on Orchid Growth (*Macodes petola* (Blume) Lindl.) In-Vitro. *Berkala Sainstek*, 10(1), 25. <https://doi.org/10.19184/bst.v10i1.27091>
- Muoghalu, J. I., & Chuba, D. K. (2005). Seed Germination and Reproductive Strategies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray and *Tithonia rotundifolia* (P.M) Blake. *Applied Ecology and Environmental Research*, 3(1), 39-46.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum*. 15: hlm. 472-479.
- Muslimin, M., & Irmasari. (2016). ORGANOGENESIS TANAMAN JABON MERAH (*Anthocephalus macrophyllus*(Roxb) Havil) PADA BERBAGAI KONSENTRASI KOMBINASI IAA (IndoleAcetic Acid) DAN BAP (Benzyl Amino Purin) SECARA IN VITRO. *Jurnal Warta Rimba*, 4(1), 105–111.
- Ngadiani, & Jayanti, T. (2021). Pengaruh Pemberian Hormon NAA Dan BAP Pada Media MS (Murashige and Skoog) Terhadap Pertumbuhan Anggrek *Vanda tricolor* Secara In-Vitro. *STIGMA: Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 14(02), 89–98. <https://doi.org/10.36456/stigma.14.02.4885.89-98>
- Ni'mah, A. (2018). Multiplikasi Tunas Stevia (*Stevia rebaudiana*) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi *6-Benzyl Amino Purin* (BAP) Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang

- Nowakowska, K., A. Pińkowska, E. Siedlecka, and A. Pacholczak. (2022). The effect of cytokinins on shoot proliferation, biochemical changes and genetic stability of *Rhododendron* 'Kazimierz Odnowiciel' in the in vitro cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 149(3): 675–684.
- Nuha, A. A. (2022). Pengaruh Berbagai Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi Kalus Daun Porang (*Amarphopallus muelleri* Blume) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Nuraini, A., Aprilia, E., Murgayanti, M., & Wulandari, A. P. (2022). Pengaruh konsentrasi Benzylaminopurine terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar rami klon lokal Wonosobo secara in vitro. *Kultivasi*, 21(2), 166–172. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v21i2.36540>
- Nurhanis, S. E., Wulandari, R. S., & Suryantini, R. (2019). *KULTUR JARINGAN SENGON (Paraserianthes falcataria) (Correlation of IAA and BAP Concentration to the Growth of Sengon Tissue Culture)*. 7(2), 864–864.
- Olayinka, B. U., Raiyemo, D. A., & Etereje, E. O. (2015). Phytochemical and proximate Compositon of *Tithonia diversifolia* (Hemsl .), a perennial broad-leaved weed species reported ornamental plant (Akobundu and Agyakwa , Sc. *Annals Food Science and Technology*, 16(1).
- Olukunle, J. O., Sogebi, E. A. O., & Aoyewusi, J. (2014). Anti-Inflammatory and Analgesic Potential of Aqueous Leaf Extract of *Tithonia diversifolia* in Rodents. *Journal of Natural Science, Engineering, and Technology*. 13, 82-90.
- Omokhua, A. G., Abdalla, M. A., Staden, J. V., & McGaw, L. J. (2018). A Comprehensive Study of the Potential Phytomedicinal Use and Toxicity of Invasive *Tithonia* Spesies in South Africa. *Complementary and Alternative Medicine*, 18(272), 1-15
- Opabode, J. T., Ajibola, O. V., & Lamidi, T. (2017). In vitro Propagation of *Crassocephalum crepidioides*—An Endangered African Traditional Leaf Vegetable and Molecular Analysis of Micropropagated Plants. *International Journal of Vegetable Science*, 23(1), 18–30. <https://doi.org/10.1080/19315260.2016.1164785>
- Oyewole, I. O., Ibidapo, C. A., Moronkola, D. O., Oduola, A. O., Adeoye, G. O., Anyasor, G. N., & Obansa, J. A. (2008). Anti-malarial and Repellent Activities of *Tithonia diversifolia* Leaf Extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(8), 171-175.
- Panwar, G. S., & Joshi, B. (2020). Micropropagation of *Tricholepis roylei* Hook. F.—a point endemic species of the Western Himalaya. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00051-9>
- Parnidi, P., & Ridhawati, A. (2020). Mikropropagasi Pada Tanaman Stevia

- rebaudiana (Bertoni). *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 12(1), 45. <https://doi.org/10.21082/btسم.v12n1.2020.45-53>
- Pierik RLM. (1987). *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff Publisher: London.
- Prahmanti, K., & Liandra, D. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paitan (*Titonia diversifolia*, H) terhadap Kadar Gula Darah Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Farmasetika* 4 (1): 178-184.
- Prasetyorini (2019). *Kultur Jaringan*. Bogor: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Pakuan.
- Pratiwi, R. S. D., Siregar, L. A. M., & Hanum, C. (2021). The response of several combination of plant growth regulators to shoot induction of fig (*Ficus carica* L.) var. improved celeste. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 782(3). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/3/032088>
- Prihatmanti, D. dan Mattjik, N. A. (2004). Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP serta Air Kelapauntuk Menginduksi Organogenesis Tanaman *Athurium*. *Buletin Agronomi*. 32 (1):20-25.
- Qiu, Y., Guan, S. C., Wen, C., Li, P., Gao, Z., & Chen, X. (2019). Auxin and cytokinin coordinate the dormancy and outgrowth of axillary bud in strawberry runner. *BMC Plant Biology*, 19(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2151-x>
- Rahmagusviana, R. (2016) Induksi Tunas Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L.) dengan Penambahan Kombinasi *Naphtalen Acetic Acid* (NAA) dan *6-Benzyl Amino Purin* (BAP) Dalam Medium Cair. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rahman, Nurhamidar *et al.* (2021). The Influence of Various Growth Regulators on Induction Organogenic Callus from Gajah and Kuning Cassava Genotype (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal ILMU DASAR*. 22(2): 119. doi:10.19184/jid.v22i2.9305.
- Rahmi, I., Suliansyah, I., and Bustamam, T. (2010). Pengaruh pemberian beberapa konsentrasi BAP dan NAA terhadap multiplikasi tunas pucuk jeruk kanci (*Citrus* sp.) secara in vitro, *Jerami*, 3(3), pp. 210–219.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia dan Penerapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8-19.
- Rasool, R., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Akbar, S., & Masood, A. (2013). *SYNERGISTIC EFFECT OF AUXINS AND CYTOKININS ON PROPAGATION OF ARTEMISIA AMYGDALINA (ASTERACEAE), A*

- Ratnasari., B. D., Suminar, E., Nuraini, A., & Ismail, A. (2016). Pengujian efektivitas berbagai jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap multiplikasi tunas mikro pisang (*Musa paradisiaca* L.) secara *In Vitro*. *Kultivasi*, 15(2), 74–80. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v15i2.11870>
- Rethinam, R. (2017). a Suitable Protocol for Micropropagation of *Spilanthes Calva* Dc. an Endemic Medicinal Plant. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(10), 529–534. <https://doi.org/10.20959/wjpr201710-9146>
- Rizqi, A. K. (2019). Induksi Tunas dari Eksplan Biji Delima Hitam (*Punica granatum* L.) Menggunakan Zat Pengatur Tumbuh BA (*Benzil Adenin*) Secara *In Vitro* dengan Teknik TCL (*Thin Cell Layer*). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rochmah, N., Resmisari, R. S., Nasichuddin, A. (2014). Propagasi Akasia (*Accia mangium*) dengan Pemberian Kombinasi ZPT BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan IBA (*Indole Butry Acid*) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Röck-Okuyucu, B., Bayraktar, M., Akgun, I. H., & Gurel, A. (2016). Plant growth regulator effects on *in vitro* propagation and stevioside production in *Stevia rebaudiana bertonii*. *HortScience*, 51(12), 1573–1580. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11093-16>
- Rosniawaty, S., Seafas, S. A. S., Maxiselly, Y. (2017). Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh alami dan sintetik terhadap pertumbuhan tanaman teh (*Camelia sinensis* (L.) O. Kuntze) klon GMB 7 setelah centering. *Jurnal Kultivasi* 16 (2), 368-372.
- Sagai, E., Doodoh, B., & Kojoh, D. (2016). Pengatur Zat Pengatur Tumbuh Benzil Amino Purin (BAP) terhadap Induksi dan Multiplikasi Tunas Brokoli *Brassica oleraceae* L. Var. *Italica* Plenck. *Jurnal Natural Science*, 1–9. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/cocos/article/download/13885/13459>
- Sahara, W. (2019). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Delile) Dan Ekstrak Etanol Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsly) A Gray) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Dengan Glibenklamid Sebagai Pembanding. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan, hlm: 1–56.
- Sajid G.M., Ilyas M.K. and Anwar R. (2006). Effect of diverse hormonal regimes on *in vitro* growth of grape germplasm. *Pakistan J. Bot.*, 38, 385-391.
- Salisbury, F.B., dan Ross, C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 2. ITB Press, Bandung
- Sari, A. R., Saraswati, T. R., Yuniwarti, E. Y. W. (2018). Antihyperglycemic

Activity of Aqueous Extract of Insulin Leaves (*Tithonia diversifolia*) on Hyperglycemic Rats (*Rattus norvegicus*). *Biosantifika*, 10(3), 636-641.

Sasmita, F.W., Susetyarini, E., Husamah., Pantiwati. (2017). Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera*, 34 (1), hlm. 22. doi:10.20884/1.mib.2017.34.1.412.

Setiomulyo, M. K. S. (2016). Pengaruh Air Rebusan Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan Galur Wistar yang Terbebani Glukosa. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

Shanthi, P., & Xavier, S. R. A. (2006). *MICROPROPAGATION OF ACMELLA CALVA (DC) R. K. JANSEN FROM NODE EXPLANTS*. 11(1), 89–92.

Shihab, Q. (2003). *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian Al Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati.

Shimizu-Sato, S., Tanaka, M., & Mori, H. (2009). Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching. *Plant Molecular Biology*, 69(4), 429–435. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9416-3>

Sidhu, Y. (2010). In vitro micropropagation of medicinal plants by tissue culture. *The Plymouth Student Scientist*, 4(41), 432–449.

Siregar, A. F. (2017). Pengaruh Pemberian Naa Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Eksplan Tanaman Nenas (*Ananas Comosus L. Merr*) Secara Kultur Jaringan. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Medan.

Smith, R. H. (2013). Plant Tissue Culture. In *Plant Tissue Culture*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-04367-3>

Street, I. H., Mathews, D. E., Yamburkenko, M. V., Sorooshzadeh, A., John, R. T., Swarup, R., Bennett, M. J., Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2016). Cytokinin acts through the auxin influx carrier AUX1 to regulate cell elongation in the root. *Development (Cambridge)*, 143(21), 3982–3993. <https://doi.org/10.1242/dev.132035>

Su, Y. H., Liu, Y. B., & Zhang, X. S. (2011). Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular Plant*, 4(4), 616–625. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr007>

Sumiarsi, N., & Priadi, D. (2002). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh BAP terhadap Pertumbuhan Stek Batang Sungkai (*Peronema cunescens*) pada Media Cair. *Jurnal Alam*. IX (2): hlm. 32-37.

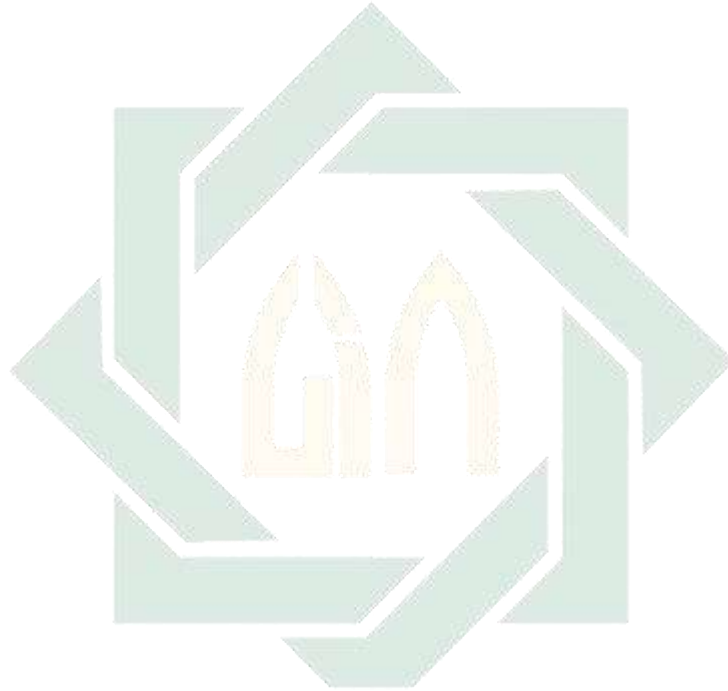
Suparaini, Maizar, & Fathurrahman. (2013). PENGGUNAAN BAP DAN NAA TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN BUAH NAGA (*Hylcoereus costaricensis*) SECARA IN-VITRO. *Jurnal Dinamika Pertanian*, XXVIII(2),

- Suriawiria, U. (2000). *Obat Mujarab dari Pekarangan Rumah*. Jakarta: Penerbit Papas Sinar Sinanti.
- Tanaka M, Takei K, Kojima M, Sakakibara H, Mori H (2006) Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *Plant J* 45:1028–1036. doi:10.1111/j.1365-313X. 2006.02656.x
- Tania, M. P., Castilo, D. D. B., Serrao, C. D. P., Lobato, A. B R., Silva, R. R., Oliveira, F. P., Ferreira, P. S. S., Tavora, N. P. L., Silva, S. S. M. A. (2016). Antioxidant Effect of Plant Extracts of the Leaves of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray on the Free Radical DPPH. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(8), 1182-1189.
- Tehrim S., Mirza M.Y. and Sajid G.M., (2013). Comparative study of different growth regulators for efficient plant regeneration in grapes. *Pakistan J. Agric. Res.*, 26, 275-289.
- Tjitrosoepomo. (1988). *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University.
- Tomnussa, R. R. (2015). Keanekaragaman Tumbuhan Berkhasiat Obat di Desa Masarete Kabupaten Buru Provinsi Maluku. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan. Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Ambon. Ambon.
- Tyas, K.N., Susanto, S., Dewi, I. S., & Khumaida, N. (2016). ORGANOGENESIS TUNAS SECARA LANGSUNG PADA PAMELO (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). *Buletin Kebun Raya*. 19(1): 1–10.
- Tyub, S., Ahmad Dar, S., Maqbool Lone, I., Hussain Mir, A., & Kamili, A. N. (2021). A robust in-vitro protocol for shoot multiplication of *Echinacea angustifolia*. *Current Plant Biology*, 28, 100221. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100221>
- Wahid, A. M. S., Hassan, N. H., Abdullah, N., Yahya, M. F., Khalid, R., Abdullah, R., Ramuddin, S., Hashim, N., Mirin, R., Hassan, A. M. H. (2018). Preliminary Study on Tissue Culture Protocol Development for *Tithonia diversifolia* (Insulin) using Shhot Explants. *Trans. Malaysian Soc. Plant Physiol.* 25, 270-274.
- Wahyuni A, Satria B, Zainal A. (2020). Induksi kalus gaharu dengan NAA dan BAP secara in vitro. *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi* 22(1): 39–44. DOI: 10.20961/agsjpa.v22i1.36007
- Wardani, I. B. (2016). Pengaruh Kombinasi BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Naphthalen Acetic Acid*) terhadap Induksi Tunas Aksilar Cendana (*Santalum album* L.). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Widyaningrum, R. (2019). Pemanfaatan Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) dan Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) sebagai Pupuk Organik Cair (POC). *Skripsi*. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan. Universitas Islam Negeri Raden Intan. Lampung.
- Widiyastuti LO. (2015). Induksi kalus pada eksplan batang tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) secara in vitro dengan konsentrasi 2.4 D dan BAP yang Berbeda. [SKRIPSI]. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Wijaya, I.I., T, H.A. and Pradana, D.A. (2014). Aktivitas Antihiperlikemia Pemberian Bersama Ekstrak Etanol Daun Yacon (*Smallanthus Sonchifolius*) dan Daun Pahitan (*Tithonia diversifolia*) pada Tikus Jantan GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN'. *Doctoral Dissertatio*, Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta. Available at: <https://dspace.uui.ac.id/handle/123456789/7504>.
- Wijaya, N. R., & Sudrajad, H. (2019). Acceleration of Echinacea purpurea (L.) Moench Shoot Growth by Benzyl Adenine and Indole Butyric Acid Addition. *Planta Tropika: Journal of Agro Science*, 7(2), 117–124. <https://doi.org/10.18196/pt.2019.101.117-124>
- Wu, W., K. Du, and X. Kang. (2021). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. *Horticulture Research*, 8(118).
- Yanti, D., & Isda, M. N. (2021). Shoots Induction of nodes (Citrus microcarpa Bunge.) with addition 6- Benzyl Amino Purine (BAP) by In Vitro: INDUKSI TUNAS DARI EKSPAN NODUS JERUK KASTURI (CITRUS MICROCARPA BUNGE.) DENGAN PENAMBAHAN 6-BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO. *Biospecies*, 14(1), 53–58. <https://online-journal.unja.ac.id/biospecies/article/view/11192>
- Yazid, F., Salim, S. O., Rahmadika, F. D., Rosmalena, R., Artanti, N., Sundowo, A., Prasasty, V. (2021). Antidiabetic Effects of *Tithonia diversifolia* and *Malus domestica* Leaf Extracts in Alloxan-Induced Sprague Dawley Rats. *Sys Rev Pharm*, 12(1), 1630-1638
- Yesmin, S. (2019). In Vitro Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 29(2), 277–284. <https://doi.org/10.3329/ptcb.v29i2.44516>
- Yoong, L. D., Kwame, K. T., & Chaw, L. (2017). *Effects of different combination concentrations of BAP and NAA on types of explants and its regeneration*. 1(7), 68–72.
- Yulia, E., Baiti, N., Handayani, R. S., & Nilahayati, N. (2020). Respon Pemberian Beberapa Konsentrasi BAP dan IAA terhadap Pertumbuhan Sub-Kultur Angrek Cymbidium (*Cymbidium finlaysonianum* Lindl.) secara In-Vitro. *Jurnal Agrium*, 17(2). <https://doi.org/10.29103/agrium.v17i2.5870>
- Yuniastuti, E., Praswanto, P., & Harminingsih, I. (2017). PENGARUH

KONSENTRASI BAP TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS ANTHURIUM (*Anthurium andraeanum* Linden) PADA BEBERAPA MEDIA DASAR SECARA IN VITRO. *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*, 25(1), 1.
<https://doi.org/10.20961/carakatani.v25i1.15476>

Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A