

**PENGARUH PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP DAN NAA
TERHADAP *INDIRECT SHOOT ORGANOGENESIS TITHONIA
DIVERSIFOLIA* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



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

Disusun Oleh:

NABILLAH AYU AZZHAHARA

NIM: H71219028

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

2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nabillah Ayu Azzhahara

Nim : H71219028

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul "PENGARUH PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP DAN NAA TERHADAP *INDIRECT SHOOT ORGANOGENESIS TITHONIA DIVERSIFOLIA* SECARA *IN VITRO*". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindak plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan

Demikian pernyataan keaslian saya buat dengan sebenar benarnya.

Surabaya, 3 Juli 2023

Yang menyatakan,



Nabillah Ayu Azzhahara

NIM. H7121920

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA
Terhadap *Indirect Shoot Organogenesis Tithonia
diversifolia* secara In Vitro

Diajukan oleh:
Nabillah Ayu Azzahara
NIM: H71219028

Telah diperiksa dan disetujui
Di Surabaya, 27 JUNI 2023

Dosen Pembimbing Utama



Drs. Abdul Manan, M.Pd.I
NIP. 197006101998031002

Dosen Pembimbing Pendamping



Hanik Faizah, M.Si
NIP. 201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Nabillah Ayu Azzhahara ini telah dipertahankan
Di depan tim penguji skripsi
Di Surabaya, 06 Juli 2023

Mengesahkan
Dewan Penguji

Penguji I


Drs. Abdul Manan, M.Pd.I
NIP. 197006101998031002

Penguji II


Hanik Faizah, M.Si
NIP. 201409019

Penguji III


Risa Purnamasari, M.Si
NIP. 201409002

Penguji IV


Esti Tyastirin, M. KM
NIP. 198706242014032001

Mengetahui,
Dekas Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya



Hamdani, M.Pd
NIP. 07312000031002



UIN SUNAN AMPEL
SURABAYA

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : NABILLAH AYU AZZHAHARA
NIM : H71219028
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI
E-mail address : nabillahayu88@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 PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP DAN NAA TERHADAP

INDIRECT SHOOT ORGANOGENESIS TITHONIA DIVERSIFOLIA 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,

Penulis

(NABILLAH AYU)

nama terang dan tanda tangan

ABSTRACT

PENGARUH PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP DAN NAA TERHADAP *INDIRECT SHOOT ORGANOGENESIS TITHONIA DIVERSIFOLIA* SECARA *IN VITRO*

Tanaman obat keluarga atau TOGA masih sering dimanfaatkan sebagai alternatif dalam pencegahan atau penyembuhan dari suatu penyakit. Salah satu tanaman yang biasa digunakan adalah *Tithonia diversifolia* atau tanaman kembang bulan. Tanaman *Tithonia diversifolia* dapat dimanfaatkan sebagai pertolongan pertama untuk sakit perut seperti diare dan kembung, sebagai obat anti radang tenggorokan, pereda nyeri pada daerah yang mengalami peradangan, dan memiliki manfaat utama yaitu sebagai antidiabetes. Karena permintaan meningkat serta sulitnya budidaya konvensional maka manusia menciptakan metode alternatif untuk budidaya tanaman *T. diversifolia* yaitu dengan cara kultur jaringan. Keberhasilan metode kultur jaringan bergantung pada kombinasi ZPT yang tepat seperti BAP dan NAA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap *indirect shoot organogenesis Tithonia diversifolia* secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi BAP dan NAA tidak mampu menumbuhkan tunas *Tithonia diversifolia* melainkan mampu memicu pertumbuhan dari kalus. Penelitian ini menghasilkan kalus dengan tekstur remah dan kompak serta warna yang bervariasi diantaranya putih, hijau, kecoklatan, dan ungu. Pengaruh pemberian BAP dan NAA yang paling optimal untuk berat segar dan lebar ada pada variasi ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm dengan rata rata berat sebesar 8.06 gr dan lebar 4.05cm. Pengaruh pemberian BAP dan NAA yang paling optimal untuk berat kering didapatkan dari kombinasi ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm dengan rata rata berat kering 0.23 gr.

Kata kunci: BAP, NAA, *Tithonia diversifolia*, kultur jaringan

ABSTRACT

EFFECT OF GROWTH REGULATOR HORMONE BAP AND NAA ON INDIRECT SHOOT ORGANOGENESIS OF *TITHONIA DIVERSIFOLIA* IN VITRO

Family medicinal plants or TOGA are still often used as an alternative in the prevention or cure of a disease. One of the plants commonly used is *Tithonia diversifolia* or Kembang bulan. The *Tithonia diversifolia* plant can be used as first aid for abdominal pain such as diarrhea and bloating, as an anti-inflammatory drug, as a pain reliever in areas that are experiencing inflammation, and has the main benefit of being anti-diabetic. Due to the increasing demand and the difficulty of conventional cultivation, humans have created alternative methods for cultivating *T. diversifolia* plants utilizing tissue culture. The success of the tissue culture method depends on the right combination of PGR such as BAP and NAA. This study aims to determine the effect of giving growth regulators BAP and NAA on indirect shoot organogenesis of *Tithonia diversifolia* in vitro. The results showed that the combination of BAP and NAA was not able to grow *Tithonia diversifolia* shoots but was able to stimulate the growth of the callus. This research produced calluses with a friable and compact texture and varied colors including white, green, brown, and purple. The most optimal effect of BAP and NAA for fresh weight and width was in the variation of ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm with an average weight of 8.06 gr and a width of 4.05 cm. The most optimal effect of giving BAP and NAA for dry weight was obtained from the combination of ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm with an average dry weight of 0.23 gr.

Keywords: BAP, NAA, *Tithonia diversifolia*, tissue culture

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

halaman Persetujuan.....	ii
Pengesahan Tim Penguji Skripsi.....	iii
Pernyataan Keaslian	iv
Motto	v
Halaman Persembahan	ii
Kata Pengantar	ii
Abstract	iv
Daftar Isi.....	vi
Daftar Tabel	ix
Daftar Gambar.....	x
Bab I Pendahuluan	1
Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Penelitian	8
1.6 Hipotesis	9
Bab Ii Tinjauan Pustaka	10
2.1 Tanaman Kipahit (<i>Tithonia Diversifolia</i>).....	10
2.1.1 Klasifikasi <i>Tithonia Diversifolia</i>	10
2.1.2 Morfologi <i>Tithonia Diversifolia</i>	10
2.1.3 Manfaat <i>Tithonia Diversifolia</i>	12
2.1.4 Kultur Jaringan Tanaman	13
2.2 Organogenesis	14
2.2.1 <i>Direct Organogenesis</i>	14
2.2.2 <i>Indirect Organogenesis</i>	15
2.2.3 Kultur Kalus	15
2.2.4 Induksi Tunas	16
2.2.5 Faktor Yang Mempengaruhi Kultur Jaringan	16
2.2.6 Kelebihan Kultur Jaringan Tanaman	18
2.3 Zat Pengatur Tumbuh.....	19
2.3.1 Hormon Auksin.....	19

2.3.2 Hormon Sitokinin.....	20
Bab Iii Metode Penelitian.....	21
3.1 Rancangan Penelitian	21
3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	22
3.3 Alat Dan Bahan Penelitian	23
3.3.1 Bahan Penelitian	23
3.3.2 Alat Penelitian.....	23
3.4 Variabel Penelitian	23
1. Variable Bebas:	23
2. Variable Terikat:.....	24
3. Variable Kontrol:.....	24
3.5 Prosedur Penelitian.....	24
3.5.1 Identifikasi Tanaman	24
3.5.2 Sterilisasi Medium Dan Alat.....	24
3.5.2 Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh	24
3.5.3 Pembuatan Media Induksi Kalus	25
3.5.4 Pembuatan Media Regenerasi Tunas.....	25
3.5.5 Sterilisasi Eksplan.....	25
3.5.6 Induksi Kalus	26
3.5.7 Regenerasi Tunas.....	26
3.5.8 Parameter Pengamatan Tunas.....	26
3.5.9 Parameter Pengamatan Kalus	28
3.6 Analisis Data	28
Bab Iv Hasil Dan Pembahasan.....	30
4.1 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (Naa) Dan Sitokinin Terhadap <i>Indirect Shoot Organogenesis Tithonia Diversivolia</i>	30
4.2 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (Naa) Dan Sitokinin Terhadap Sub Kultur <i>T. Diversivolia</i>	35
Bab V Penutup	55
5.1 Simpulan.....	55
5.2 Saran.....	55
Daftar Pustaka	56
Lampiran	64



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Perlakuan pada tanaman <i>Tithonia diversifolia</i>	16
Tabel 3.2	Tempat dan waktu penelitian	17
Tabel 4.1	Presentase pembentukan tunas dan kalus.....	29
Tabel 4.2	Rerata berat segar, berat kering, dan lebar kalus.....	33
Tabel 4.3	warna dan tekstur kalus <i>Tithonia diversifolia</i>	35
Tabel 4.4	rerata berat segar kalus	39
Tabel 4.5	hasil uji mann whitney berat segar <i>Tithonia diversifolia</i>	40
Tabel 4.6	rerata berat kering kalus	44
Tabel 4.7	hasil uji mann whitney berat kering <i>Tithonia diversifolia</i>	44
Tabel 4.8	rerata lebar kalus	48
Tabel 4.9	hasil uji mann whitney lebar <i>Tithonia diversifolia</i>	48

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun <i>Tithonia diversifolia</i>	7
Gambar 4.1 Kalus tanaman <i>T. diversifolia</i> yang telah berumur 4 minggu.....	29
Gambar 4.2 Kalus tanaman <i>T. diversifolia</i> yang telah berumur 4 minggu.....	2



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi media MS

Lampiran 2. Hasil analisis penelitian

Lampiran 3. Perhitungan dan pengambilan larutan stok hormon

Lampiran 4. Bahan-bahan penelitian



BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kawasan Indonesia terdiri dari berbagai kepulauan dan dataran baik dataran tinggi maupun dataran rendah yang menjadikan Indonesia memiliki banyak ekosistem dan berbagai macam keanekaragaman hayati (Anggraini 2018) Indonesia juga sering kali disebut sebagai negara agraris karena keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki. Berbagai keanekaragaman yang dimiliki oleh Indonesia dapat memberikan banyak manfaat seperti sebagai paru-paru dunia, sumber pangan, papan, sandang, dan obat bagi masyarakat (Harefa et al., 2020).

Tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat disebut sebagai TOGA atau tanaman obat keluarga karena tanaman herbal ini telah dibuktikan secara ilmiah mampu meringankan gejala maupun menyembuhkan berbagai macam penyakit. Oleh sebab itu, masyarakat menggunakan TOGA sebagai pertolongan pertama saat mengalami gangguan kesehatan (Harefa et al., 2020). Masyarakat yang merasa khawatir dengan adanya efek samping dan bahaya yang disebabkan dari penggunaan obat kimia menjadikan TOGA sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan (Kusuma & Amelia, 2020).

Dalam islam, Allah telah menyinggung berbagai macam khasiat dari tanaman dan meminta manusia untuk memanfaatkannya sebaik mungkin. Anjuran ini ada dalam firman Allah pada surah Abasa: (80:27-32) yang berbunyi:

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ۚ ٢٧ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ۚ ٢٨ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ۚ ٢٩ وَحَدَاقٍ ۚ ٣٠ وَفَاكِهَةً وَأَبًّا ۚ ٣١
مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ ۚ ٣٢ ﴿

Artinya: “Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu.”

Allah menyebutkan beberapa macam buah buahan yang bermanfaat bagi kehidupan diantaranya adalah biji bijian yang termasuk di dalamnya gandum serta padi berguna untuk makanan pokok lalu buah anggur, sayuran, zaitun, dan kurma yang dapat dikonsumsi atau dimanfaatkan secara langsung dan diolah menjadi obat serta manusia diperbolehkan untuk memanfaatkannya untuk kehidupan sehari hari (Kemenag, 2019).

Tanaman obat yang ada di Indonesia sangat beragam salah satunya adalah *Tithonia diversifolia*. *T. diversifolia* atau yang lebih dikenal dengan kembang bulan adalah tanaman yang termasuk ke dalam famili Asteraceae (Anggresani 2017). Tanaman ini telah banyak dikenal di Asia Selatan, Amerika Tengah dan Afrika sebagai obat dan secara tradisional. Di Indonesia, *T. diversifolia* dapat dimanfaatkan sebagai pertolongan pertama untuk sakit perut seperti diare dan kembung, sebagai obat anti radang tenggorokan, pereda nyeri pada daerah yang mengalami peradangan, dan memiliki manfaat utama yaitu sebagai antidiabetes. *T. diversifolia* dapat dimanfaatkan sebagai obat karena mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, tannin, dan polifenol pada bagian batang, buah, dan bijinya (Sasmita et al., 2017).

Daun dari tanaman *T. diversifolia* telah diketahui memiliki khasiat sebagai antidiabetes karena adanya kandungan flavonoid serta antioksidan yang memiliki kemampuan untuk mengatasi defisiensi insulin. Karena manfaatnya

yang beragam, penggunaan tanaman *T. diversifolia* menjadi meningkat di pasaran sehingga masyarakat mulai melakukan budidaya untuk tanaman ini agar dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari (Sasmita et al., 2017).

Pada dasarnya budidaya dari suatu tanaman dilakukan secara konvensional atau dengan cara menanam biji, melakukan stek, dan cangkok. Akan tetapi, pada prosesnya, metode konvensional akan memakan waktu yang sangat lama. Selain itu, metode ini juga mengharuskan adanya bibit yang banyak, ketinggian tertentu, serta sulitnya mengatur suhu udara. (Hasan et al., 2016). Tanaman juga memproduksi metabolit sekunder yang memiliki struktur kompleks dan memiliki berbagai manfaat. Karena memiliki struktur yang kompleks, metabolit sekunder sulit untuk disintesis melalui metode konvensional (Fazili et al. 2022).

Karena permintaan meningkat serta sulitnya budidaya konvensional maka manusia menciptakan metode alternatif untuk budidaya tanaman *T. diversifolia* yaitu dengan cara kultur jaringan. Metode kultur jaringan adalah suatu metode yang memiliki prinsip mengisolasi bagian eksplan yang memiliki sifat vegetatif pada suatu media buatan yang steril sehingga eksplan dapat melakukan proses pertumbuhan atau memperbanyak diri (Hasan et al., 2016). Keuntungan dari metode kultur jaringan ini adalah dihasilkannya banyak bibit dalam waktu yang singkat dan tanpa memerlukan banyak induk. Keuntungan lain dalam metode ini adalah dapat eliminasi suatu penyakit, memperoleh varietas yang unggul, dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder, dan tidak merusak kelestarian dari plasma nutfah. Oleh karena itu, teknik kultur

jaringan akan sangat penting dan untung bila diterapkan baik untuk tanaman pertanian dan perkebunan (Basri. 2016).

Tahapan awal dari memperbanyak tanaman secara *in vitro* atau mikropropagasi adalah dengan induksi tunas. Tingkat keberhasilan dari induksi tunas dipengaruhi oleh beberapa hal seperti jenis eksplan, medium, ZPT, dan senyawa organik yang diberikan. Pada proses induksi tunas, jumlah tunas yang dapat tumbuh menjadi parameter utama dalam kultur jaringan karena banyaknya tunas yang tumbuh akan mempengaruhi banyaknya bibit yang akan dihasilkan (Nasution & Nasution 2022).

Ada dua metode yang digunakan dalam induksi tunas adalah *direct organogenesis* dan *indirect organogenesis*. *Direct organogenesis* adalah metode yang digunakan untuk menginduksi tunas dari eksplan tumbuhan tanpa melalui tahap kalus. Metode ini dimanfaatkan dalam proses perbanyakan tanaman, menciptakan tanaman transgenik, dan memperbanyak klonal (Neal 2016)

Selain *direct organogenesis*, metode induksi tunas juga dapat dilakukan melalui proses *indirect organogenesis*. *Indirect organogenesis* adalah suatu metode yang diawali dengan menumbuhkan kalus terlebih dahulu dari eksplan. Kalus adalah segerombolan sel yang tidak terorganisasi dan berkembang pada saat suatu sel terluka. Kalus akan digunakan untuk mengawali metode organogenesis (Neal 2016). Ada berbagai alasan digunakannya kalus sebagai eksplan dalam organogenesis diantaranya adalah kalus dapat diperbanyak tanpa batas dengan cara melakukan inisiasi dan memindahkannya ke media baru hal ini dikarenakan sel pada kalus bersifat meristematik. Metode kultur jaringan

dari kalus juga dapat menghasilkan bibit yang seragam dan banyak dalam waktu singkat (Hendriyani et al., 2020). Kemudian kalus yang tumbuh akan digunakan dalam proses induksi tunas. Induksi tunas memiliki beberapa keunggulan diantaranya adalah bibit yang tumbuh akan memiliki sifat yang mirip dengan induknya, dapat menghasilkan tanaman dengan jumlah yang melimpah, menghemat tempat, biaya, serta tersedia selebar musing dan dapat mengurangi inkompatibilitas (Rahman et al., 2021)

Zat pengatur tumbuh atau ZPT sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dari eksplan dalam proses *indirect organogenesis*. Proses pembelahan, morfogeneisi dan organogenesis dapat meningkat apabila mendapatkan komposisi ZPT yang tepat. ZPT yang digunakan adalah auksin dan sitokinin yang didapatkan dari NAA (naftaleine asetat acid) dan BAP (Benzil Amino Purin) (Lestari 2010).

Hormon auksin memiliki banyak peran dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman bergantung pada susunan zat kimia, presentasi auksin pada tanaman, serta jaringan tanaman pada tanaman yang akan dikulturkan. Pertumbuhan kalus, kultur suspense dan akar umumnya menggunakan auksin sebagai hormon penginduksinya. NAA adalah hormon auksin yang dapat digunakan dalam metode kultur jaringan (Lestari 2010). NAA memiliki peran meningkatkan sintesa protein yang bertujuan sebagai sumber tenaga selama proses pertumbuhan eksplan. NAA digunakan dalam proses kultur jaringan karena NAA termasuk dalam golongan auksin sintesis yang tidak mudah terurai serta stabil (Rahman et al., 2021).

Hormon sitokinin adalah hormon yang mengatur kecepatan tumbuhnya suatu eksplan dengan cara merangsang pertumbuhan dari masing masing jaringan dan menghubungkannya dengan jaringan lain sehingga dapat menghasilkan suatu tanaman (Lestari 2010). BAP atau Benzil Amino Purin adalah zat yang digunakan untuk mengatur pertumbuhan tunas karena zat ini termasuk dalam jenis sitokinin yang dapat merangsang pembelahan sel (Sariningtias et al., 2014). Penggunaan BAP paling banyak digunakan untuk menginduksi tunas hal ini dikarenakan BAP memiliki beberapa keuntungan dibanding dengan hormon sitokinin yang lain diantaranya adalah BAP memiliki kemampuan yang lebih kuat dalam penggandaan tunas, serta memiliki gugus benzil sehingga lebih efektif (Lestari, 2010)

Konsentrasi dari ZPT sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan dari eksplan. Kalus dapat tumbuh jika konsentrasi NAA atau auksin yang diberikan pada suatu media lebih tinggi dari sitokinin (Chawla H. S 2002) sedangkan, apabila konsentrasi BAP atau sitokinin diberikan lebih tinggi dibandingkan dengan NAA atau auksin maka akan merangsang tumbuhnya tunas (Tutthoyyibah et al., 2015).

Berbagai penelitian telah menerangkan bahwa ada hubungan dari tingkat pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dipengaruhi oleh konsentrasi dari NAA dan BAP hal inilah yang menyebabkan konsentrasi dari NAA dan BAP sangat berpengaruh pada kultur jaringan tanaman. Seperti pada penelitian terdahulu tentang *indirect organogenesis* pada suku *asteraceae* yang sebelumnya sudah dilakukan (Yüzbaşıoğlu et al., 2012) dan (Okello et al., 2021) mendapatkan konsentrasi optimal dengan pemberian NAA sebesar 0.1

mg/L, BAP sebesar 1.0 mg/L, yang menghasilkan 40 tunas dan BAP sebesar 2.0 dan NAA sebesar 0.2 mg/L yang menghasilkan 20 tunas serta NAA sebesar 0.05 mg/L dan BAP 1.0 mg/L yang menghasilkan 12 tunas.

Meskipun dapat dimanfaatkan dan memiliki berbagai manfaat dalam kehidupan sehari-hari, tanaman pada suku *Asteraceae* masih jarang dikembangkan dengan induksi tunas khususnya pada spesies *Tithonia diversifolia* yang belum pernah dikembangkan dengan metode *indirect organogenesis*. Karena kurangnya budidaya secara *in vitro* yang dilakukan, maka pada penelitian ini akan dilakukan induksi tunas pada tanaman *Tithonia diversifolia* dengan menggunakan variasi dari zat pengatur tumbuh BAP dan NAA secara *indirect organogenesis*

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap *indirect shoot organogenesis Tithonia diversifolia* secara *in vitro*?
2. Konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA mana yang paling optimal pada *indirect shoot organogenesis* secara *in vitro* terhadap *tithonia diversifolia*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap *indirect shoot organogenesis Tithonia diversifolia* secara *in vitro*
2. Untuk mengetahui konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang paling optimal pada *indirect shoot organogenesis* secara *in vitro* terhadap *tithonia diversifolia*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti:

Manfaat penelitian ini bagi peneliti adalah agar peneliti dapat mengetahui pengaruh serta konsentrasi terbaik dari zat pengaruh tumbuh bagi *indirect organogenesis*.

2. Bagi masyarakat:

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru dan dapat dimanfaatkan masyarakat untuk melakukan budidaya tanaman *Tithonia diversifolia* secara *in vitro*

1.5 Batasan Penelitian

1. Eksplan yang akan digunakan untuk menginduksi tanaman *Tithonia diversifolia* adalah kalus. Kalus diperoleh dari eksplan daun dengan konsentrasi ZPT NAA 4 ppm + BAP 0.5 ppm
2. Konsentrasi dari NAA dan BAP sebesar 0,0 ppm BAP + 0.0 NAA sebagai kontrol, BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 1 ppm, BAP 2 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm yang akan digunakan untuk pertumbuhan tunas *Tithonia diversifolia*
3. Parameter yang akan diamati adalah waktu tumbuh tunas baru, jumlah tunas yang tumbuh, lebar tunas, visualisasi warna tunas, ukuran batang, morfologi kalus, berat segar kalus, berat kering kalus, lebar kalus

1.6 Hipotesis

Ada pengaruh dari pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap *indirect shoot organogenesis Tithonia diversifolia* secara *in vitro*



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

2.1.1 Klasifikasi *Tithonia diversifolia*

Tithonia diversifolia atau yang biasa dikenal dengan bunga matahari liar, *Mexican sunflower* di Inggris, kipahit di Sunda, dan tanaman kembang bulan di Jawa adalah tanaman hias dan gulma yang termasuk ke dalam family *Asteraceae* (Azwana et al, 2019)

Klasifikasi dari *T. diversifolia* adalah

Kerajaan : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : *Tithonia*

Jenis : *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Glay (Amanatie & Sulistyowati 2015)

2.1.2 Morfologi *Tithonia diversifolia*



Gambar 2.1. (A) daun *Tithonia diversifolia* (B) daun *Tithonia diversifolia*

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023) (Wanzala *et al.*, 2016)

T. diversifolia terdiri atas akar, batang, daun, dan bunga. Tanaman ini memiliki akar serabut (Simangunsong *et al.*, 2022). Tangkai bunga memiliki panjang yang mencapai 6-13 cm dan pada setiap batang dapat menghasilkan beberapa bunga (Kadungunu *et al.*, 2013). Batang dari *T. diversifolia* mampu tumbuh hingga 2,5m (Azwana *et al.*, 2019) dengan bentuk bulat dan memiliki cambium (Simangunsong *et al.*, 2022) Pada gambar 2.1 dapat terlihat bahwa tanaman *T. diversifolia* memiliki bunga berwarna kuning (Azwana *et al.*, 2019), dengan bentuk oval. Bagian daun dari *T. diversifolia* berwarna hijau, memiliki gerigi atau crenate (Simangunsong *et al.*, 2022), dengan puncak daun yang lancip. Ukuran dari daun *T. diversifolia* sekitar 5-17 x 5-12 cm (Kandungu *et al.*, 2013).

Tanaman *T. diversifolia* yang tumbuh di dataran tinggi memiliki kualitas lebih baik dibanding *T. diversifolia* yang tumbuh di dataran rendah (Azwana *et al.*, 2019). Tanaman ini seringkali ditemukan di tepi sungai dan beberapa *T. diversifolia* dapat tumbuh di padang rumput atau tanah yang kurang subur pada ketinggian 550 hingga 1950 meter di atas permukaan laut dengan suhu rata rata pertahun sekitar 15-31°C dan curah hujan sekitar 850-2000mm. Tanaman *T. diversifolia* termasuk tanaman yang dapat menghasilkan benih sepanjang tahun lalu disebar oleh angin, air, dan hewan untuk meningkatkan sifat invasifnya (Kerebba *et al.*, 2019).

T. diversifolia dapat dibudidaya dengan biji dan stek. Stek dari *T. diversifolia* dapat dilakukan dengan memotong batang hingga 40 cm dan ditanam di tanah tegak atau miring ke dalam tanah yang akan membuatnya bertunas. Tanaman *T. diversifolia* membutuhkan tanah yang lembab dan

tidak bisa dibiarkan di bawah sinar matahari langsung (Kadungunu *et al.*, 2013).

2.1.3 Manfaat *Tithonia diversifolia*

T. diversifolia memiliki berbagai manfaat sebagai obat dan pengendali hama. Manfaat dari tanaman itu sendiri seringkali dibahas dalam Al-Qur'an seperti yang ada pada QS Al-Syu'ara (26:7):

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya “Dan apakah mereka tidak mengamati bumi, berapa banyaknya Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tanaman-tanaman yang baik?”

Pada ayat tersebut, Allah menjelaskan tentang banyak orang yang tidak memperhatikan tumbuhan di sekitarnya yang beraneka warna serta memiliki kemanfaat baik dari bunga, daun, dan buahnya (Kemenag, 2019). Allah juga menyampaikan bahwa hanya Allah yang patut disembah karena kebesarannya dalam menciptakan banyak tanaman yang dapat digunakan baik sebagai obat, bahan pangan, atau manfaat lain ((Salim, 2020)

antidiabetes hal ini dikarenakan adanya kandungan flavonoid dan seskuiterpen yang banyak pada daun. Flavonoid yang dikandung oleh *T. diversifolia* memiliki aktivitas antioksidan yang mampu untuk meregenasi sel beta pankreas yang membuat tanaman ini dapat melindungi tubuh dari kerusakan oksigen reaktif, mengatasi defisiensi insulin, memperbaiki sensitifitas reseptor insulin dan menghambat penyakit diabetes melitus ((Sasmita *et al.*, 2017)).

Selain sebagai obat, tanaman *T. diversifolia* dapat digunakan sebagai pengendali dari hama *S. litura* atau ulat grayak dengan kata lain, Kandungan bahan aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin,

terpenoid, dan fenolik pada *T. diversifolia* dapat digunakan sebagai insektisida alami yang dapat menyebabkan terganggunya aktifitas makan, mengganggu proses peletakan telur dan perkembangan telur, hingga menghambatnya reproduksi dan pertumbuhan larva (Sapoetro et al., 2019).

2.1.4 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan in-vitro adalah suatu metode mengisolasi eksplan yang dilakukan pada suatu media buatan dengan kondisi lingkungan terkendali dan aseptik (Basri, 2016). Bagian atau organ tanaman yang dapat digunakan dalam metode kultur jaringan biasa disebut dengan eksplan. Selain memerlukan kondisi yang aseptik, dan terkontrol. Kondisi lingkungan dapat dikatakan aseptis apabila terbebas dari mikroorganism, bersih, dan steril. Sedangkan kondisi lingkungan yang terkontrol adalah suhu dan cahaya yang digunakan dikontrol agar eksplan dapat tumbuh dengan baik. Pada metode ini, biasanya tanaman akan dikulturkan pada wadah yang terbuat dari kaca transparan (Hapsoro & Yusnita, 2018).

Pada metode kultur jaringan, eksplan dapat diambil dari berbagai bagian tubuh tanaman seperti daun muda, akar, bunga, bibit, serta embrio. Kelebihan pada penggunaan eksplan ini adalah jumlah eksplan yang tersedia melimpah, dapat diambil berulang kali, serta memiliki tingkat embriogenesis yang cukup tinggi (Pratiwi et al., 2020). Teknik dasar dari kultur jaringan adalah dengan memotong bagian tanaman yang memiliki sifat totipotensi menjadi bagian yang kecil lalu dikulturkan pada media esensial dan NAA serta BAP pada lingkungan yang dikontrol baik dari pencahayaan maupun suhu ruang (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Pada

umumnya, tanaman yang berasal dari eksplan kultur jaringan memiliki karakteristik yang sama dengan tanaman induknya hal ini dikarenakan adanya sel mitosis yang mengalami pembelahan dua sel identik. Proses regenerasi yang terjadi pada eksplan untuk tumbuh menjadi tanaman yang utuh (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

2.2 Organogenesis

Kultur jaringan organogenesis adalah suatu metode kultur yang digunakan untuk pembentukan organ baik tunas atau akar. Metode ini sangat bergantung pada keseimbangan dari ZPT yang terdiri atas auksin dan sitokinin serta kemampuan jaringan untuk merespon fitohormon (Neal 2016). Sebelum terjadi organogenesis, sel yang ada pada eksplan eksplan yang sudah terdiferensiasi akan dikulturkan pada media buatan dengan kandungan auksin dan sitokinin. Kemudian eksplan akan mengalami dediferensiasi atau suatu proses dimana sel yang sebelumnya sudah terdiferensiasi akan menjadi tidak terdiferensiasi. Sel sel ini akan membelah dan membentuk kalus pada *indirect organogenesis* dan pada *direct organogenesis* akan terbentuk tunas adventif dari eksplan (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Organogenesis terjadi dalam tiga faktor yaitu jaringan mengalami diferensiasi dan morfogenesis lalu menghasilkan tanaman yang utuh. Kultur jaringan organogenesis terbagi menjadi dua yaitu indirect dan direct. (Neal 2016).

2.2.1 *Direct organogenesis*

Direct organogenesis adalah metode untuk menumbuhkan tunas dari sebuah jaringan tanpa melewati proses kalus. Metode *direct organogenesis* digunakan untuk memperbanyak tanaman, membuat tanaman transgenik, dan memperbanyak klonal. Inisiasi tunas aksilar dari

tanaman adalah teknik yang paling umum digunakan untuk menjamin tanaman yang diproduksi seragam tanpa adanya variasi genetik. Tunas aksilar akan terbentuk langsung dari meristem yang sebelumnya sudah terbentuk terlebih dahulu pada nodus (Neal 2016). Pada *direct organogenesis* eksplan akan terdiferensiasi menjadi meristemoid atau sekumpulan sel yang mirip dengan meristem yang akan berkembang menjadi primordia dan tunas atau akar (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

2.2.2 Indirect organogenesis

Indirect organogenesis adalah teknik kultur jaringan yang menumbuhkan organ tanaman melalui kalus terlebih dahulu. *Indirect organogenesis* adalah teknik yang cocok digunakan untuk menyeleksi varian somaklonal dari karakter yang diinginkan dan juga digunakan untuk multiplikasi dalam skala yang besar. Induksi tanaman dengan menggunakan kalus juga telah digunakan untuk menghasilkan tanaman transgenik (Neal 2016).

2.2.3 Kultur Kalus

Kalus adalah kumpulan sel yang tidak terorganisasi berkembang saat suatu sel terluka. Kalus sangat berguna dalam berbagai metode kultur jaringan in vitro. Kalus akan berkembang saat eksplan dibiakan dalam suatu media yang sesuai untuk produksi sel yang tidak berdiferensiasi. Umumnya, kalus digunakan untuk mengawali metode organogenesis dan saat kalus memebentuk organ, maka produksi kalus akan berhenti. Hormon auksin dan sitokinin adalah hormon yang paling banyak digunakan untuk pembentukan kalus. Kalus akan terus berkembang

dengan menggunakan hormon atau diarahkan untuk membentuk organ dan embrio somatik (Neal, 2016).

2.2.4 Induksi Tunas

Dalam kultur *indirect organogenesis*, setelah eksplan mengalami diferensiasi awal dengan membentuk kalus, eksplan akan melanjutkan ke fase induksi. Fase induksi adalah fase yang akan terjadi pada sel yang kompeten dan siap membentuk primordia atau jaringan baru yang dibentuk oleh meristem. Hasil dari proses induksi adalah terbentuknya tunas atau akar (Ilyas et al., 2017). Tunas adalah bagian yang didapat dari perbanyakan vegetatif. Tumbuhnya tunas dari eksplan, menunjukkan keberhasilan dari regenerasi tanaman yang diinokulasikan pada media kultur jaringan (Harahap et al., 2019).

Apabila kalus diinokulasikan pada medium regenerasi yang tepat, maka dengan bantuan dari gen-gen yang ada pada eksplan sel dari kalus akan beregenerasi menjadi tunas. Gen yang dimiliki oleh eksplan akan merespon saat mendapatkan zat pengatur tumbuh yang cukup sehingga akan mempengaruhi proses diferensiasi, pembelahan sel, serta pertumbuhan eksplan (Ilyas et al., 2017). Tunas dapat tumbuh apabila rasio auksin lebih kecil dibandingkan dengan sitokinin (Mastuti 2017). Tunas dapat dikatakan berhasil tumbuh apabila terlihat adanya tonjolan berwarna hijau pada kalus dengan besar ± 2 mm (Harahap et al., 2019).

2.2.5 Faktor yang mempengaruhi kultur jaringan

Ada beberapa hal yang mempengaruhi kultur jaringan diantaranya adalah pemilihan dan ukuran eksplan, penggunaan hormon

auksin sitokonin dan lingkungan. Pemilihan eksplan pada teknik kultur jaringan sangatlah penting hal ini dikarenakan eksplan dari berbagai bagian memiliki laju pertumbuhan serta regenerasi yang berbeda. Pilihlah eksplan juga akan menentukan pertumbuhan dari planlet akan menjadi haploid atau diploid selain itu, apabila pemilihan eksplan tidak tepat, maka eksplan ini juga berpengaruh terhadap resiko kontaminasi. Eksplan yang paling umum digunakan ialah ujung batang, ujung tunas, dan ujung akar karena jaringan ini memiliki tingkat pembelahan sel yang cukup tinggi (Ramírez-Mosqueda et al., 2019).

Penggunaan media kultur jaringan yang mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan tanaman akan membuat tanaman tumbuh dengan normal. Media tanaman ini akan terdiri atas makronutrien, mikronutrien, vitamin dan komponen organik lainnya (Ramírez-Mosqueda et al., 2019). Media padar, semi padat, dan cair adalah media yang biasa digunakan dalam proses kultur jaringan. Media padat pada kultur jaringan akan ditambahkan gel sebagai bahan pemat dan media ini digunakan untuk pembentukan kalus, organ tanaman, dan pemeliharaan kultur jaringan (Sathyanarayana & Varghese, 2007).

Media cair adalah media yang biasa digunakan dalam kultur suspensi akan tetapi, baru baru ini media cair digunakan dalam eksperimen nutrisi, pertumbuhan, dan diferensiasi kalus serta dalam mikropropagasi. (Sathyanarayana & Varghese 2007). Media yang paling umum digunakan dalam berbagai penelitian ialah MS atau *murashige skoog*. Media MS dapat digunakan untuk berbagai proses pertumbuhan seperti

perkecambahan biji, kultur pucuk, kultur kalus baik dengan embriogenesis atau organogenesis (Basri, 2016).

Kondisi lingkungan juga sangat mempengaruhi pertumbuhan dari tanaman. Kondisi yang menentukan pertumbuhan lingkungan ini antara lain adalah pH media (Ramírez-Mosqueda et al., 2019). Syarat utama dari pH media adalah tidak boleh mengganggu fungsi pertumbuhan dari sel tanaman. Oleh karena itu, sangat penting dilakukan tes pH sebelum dilakukannya metode kultur jaringan. pH yang dibutuhkan agar tanaman dapat tumbuh dengan baik antara 5,4-5,8. Pengatur pH yang biasa digunakan ialah NaOH atau KOH dan HCl (Sathyanarayana & Varghese, 2007). Selain itu, kualitas cahaya akan mempengaruhi jalur gametofit dan sporofit (Ramírez-Mosqueda et al., 2019).

2.2.6 Kelebihan kultur jaringan tanaman

Teknik kultur jaringan memiliki keunggulan yaitu dapat memperbanyak tanaman dalam waktu yang relatif lebih cepat, dapat menghasilkan tunas dalam jumlah yang cukup besar dari indukan yang sedikit (Basri, 2016). Keuntungan lain yang didapat adalah perlakuan pada tanaman tidak bergantung musim atau memerlukan tempat yang luas, dapat menghasilkan bibit yang lebih sehat atau terbebas dari patogen yang berasal dari tanaman induk, dapat digunakan untuk mengoleksi hingga memelihara plasma nutfah, dapat digunakan untuk menumbuhkan tanaman yang sulit berkecambah secara konvensional karena berbagai faktor dan dapat digunakan untuk memperbanyak klonal tanaman dari tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif (Hapsoro & Yusnita 2018).

2.3 Zat Pengatur Tumbuh

Pada metode kultur jaringan, zat pengatur tumbuh adalah hal yang penting. Dua jenis ZPT yang sangat dibutuhkan dalam metode ini adalah sitokinin dan auksin (Sulichantini, 2016).

2.3.1 Hormon Auksin

Pada perkembangan tumbuhan, auksin adalah hormon yang mempengaruhi pembelahan sel, pembentukan akar, memperpanjang sel, dan memperbesar jaringan. Pada rasio yang tinggi, auksin dapat memperlambat pertumbuhan dari tunas dan akar akan tetapi merangsang pertumbuhan dari kalus. Auksin memiliki beberapa jenis diantaranya ialah *2,4-Dichloro phenoxy acetic acid (2,4-D)* dan *naphthalene acetic acid (NAA)* (Rahman et al., 2021).

Auksin yang ada pada NAA akan berperan sebagai zat yang meningkatkan sintesa protein pada sel tanaman. Sintesa protein ini dibutuhkan untuk sumber tenaga selama proses perkembangan (Sulichantini, 2016). Selain itu, NAA juga digunakan sebagai hormon yang dapat mempercepat pertumbuhan dari eksplan, membentuk serta menghasilkan akar serabut dengan cepat (Mahadi et al, 2015), menginduksi pembelahan sel, dan pembentukan kalus (Chawla, 2002).

Apabila kandungan NAA pada suatu tumbuhan rendah, akar adventif akan mendominasi eksplan sedangkan dalam media yang mengandung kadar auksin tinggi, akar adventif tidak akan terbentuk pada eksplan sebagai gantinya, eksplan akan tumbuh menjadi kalus. NAA akan beredar dari bagian atas tanaman ke arah dasar tanaman dari suatu organ dengan tingkat polaritas yang tinggi. Penyimpanan dari NAA haruslah

diperhatikan dengan baik yaitu dengan cara disimpan di dalam botol dengan penutup yang gelap dan disimpan dalam tempat yang gelap. Hal ini dikarenakan NAA akan mudah rusak apabila terkena cahaya secara terus menerus (Chawla, 2009).

2.3.2 Hormon Sitokinin

Hormon sitokinin adalah hormon turunan atau derivate dari hormon adenin yang memiliki peranan dalam menginduksi tunas. Salah satu hormon yang biasa digunakan dalam pertumbuhan kultur jaringan ialah BAP. BAP seringkali digunakan sebagai hormon yang menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan. Hormon ini biasanya dapat menyebabkan terjadinya pembelahan sel apabila diaplikasikan bersamaan dengan auksin. BAP memiliki peranan yang jelas pada metode organogenesis yaitu sebagai pembentukan tunas dan memiliki sifat antagonis pada rhizogenesis. Pada konsentrasi yang tinggi, pertumbuhan dari akar akan terhambat. Sitokinin dapat membentuk pertumbuhan dari tunas aksila dengan mengurangi pembentukan dari apikal. (Chawla, 2009)

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dipengaruhi oleh BAP dan NAA menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 0.0 ppm BAP + 0.0 NAA sebagai kontrol, BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 1 ppm, BAP 2 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm, Perlakuan pengulangan pada penelitian ini didasarkan pada rumus Federer sebagai berikut:

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

keterangan:

t: banyaknya perlakuan

n: banyaknya ulangan

dengan rumus ini maka diperoleh hitungan

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

$$11(n - 1) \geq 15$$

$$11n - 11 \geq 15$$

$$611n \geq 15 + 11$$

$$11n \geq 26$$

$$n = \frac{26}{6} = 4,3$$

Maka diperoleh ulangan minimal yang harus dilakukan adalah 5 kali ulangan dan pada satu kali ulangan terdapat 2 eksplan sehingga total eksplan yang akan digunakan adalah 110 eksplan.

Tabel 3.1 Perlakuan pada tanaman *Tithonia diversifolia*

Ulangan	Perlakuan										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L
1	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H1	I1	K1	L1
2	A2	B2	C2	D2	E2	F2	G2	H2	I2	K2	L2
3	A3	B3	C3	D3	E3	F3	G3	H3	I3	K3	L3
4	A4	B4	C4	D4	E4	F4	G4	H4	I4	K4	L4
5	A5	B5	C5	D5	E5	F5	G5	H5	I5	K5	L5

Keterangan:

A: BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol)

B: BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm

C: BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm

D: BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm

E: BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm

F: BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm

G: BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm

H: BAP 1 ppm

I: BAP 2 ppm

J: BAP 3 ppm

K: BAP 4 ppm

L: BAP 5 ppm

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanggal Februari 2022 hingga Desember 2022 di Laboratorium Terintegrasi UIN Sunan Ampel Surabaya yang berlokasi di Jl. Ahmad Yani No.117, Jemur Wonosari, Kec. Wonocolo, Koto Surabaya, Jawa Timur

Tabel 3.2 Tempat dan waktu penelitian

No	Kegiatan	2022										2023						
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	2	3	4	5	6	7		
1.	Penyelesaian proposal																	
2	Induksi kalus																	
3	Regenerasi tunas																	
4	Penyusunan skripsi																	
5	Penyeragan skripsi																	

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Bahan Penelitian

Eksplan yang digunakan dari penelitian ini adalah kalus yang sebelumnya sudah ditumbuhkan dari tanaman *Tithonia diversifolia* yang diidentifikasi berdasarkan buku Simangunsong *et al.*, 2022. Bahan kimia yang dibutuhkan adalah media *Murashige and Skoog* (MS), zat pengatur tumbuh (NAA dan BAP), aquades, *sodium hypochlorite*, spirtus, sarung tangan, alcohol, dan sabun cuci.

3.3.2 Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan alat berupa botol kultur, *Laminar air flow* (LAF), cawan petri, alat diseksi (pinset, scalpel), timbangan analitik, hand sprayer, hot plate, beker glass, pH meter, autoklaf, pipet ukur, aluminium foil, plastic wrap, kertas label, oven, rak kultur.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variable bebas:

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin yang akan diberikan pada media MS untuk pertumbuhan tunas.

2. Variable terikat:

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan tunas secara *indirect organogenesis*.

3. Variable kontrol:

Variable kontrol pada penelitian ini adalah cahaya, suhu, serta media MS.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Identifikasi Tanaman

Pada penelitian ini, tanaman diidentifikasi berdasarkan buku Tumbuhan Penghasil Pestisida Alami di Kawasan Toba, Simangunsong *et al.*, 2022.

3.5.2 Sterilisasi Medium dan Alat

Semua alat-alat yang akan digunakan seperti botol kultur, cawan petri, skalpel pinset dicuci terlebih dahulu hingga bersih dengan sabun dan air mengalir, kemudian dikeringkan. Setelah mengering, alat alat ini dibungkus dengan kertas bekas lalu dimasukkan ke autoklaf bersamaan dengan alumunium foil, dan *plastic wrap*. Autoklaf dinyalakan dengan temperature 121°C, tekanan 1,2 atm dengan waktu 15-20 menit

3.5.2 Pembuatan Stok Zat Pengatur Tumbuh

a. Stok NAA 500 mg/l (500 ppm)

Sebanyak 50 mg NAA dimasukkan ke dalam gelas beaker 250 ml lalu ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1 N dan ditambahkan aquades hingga volume mencapai 100 mL. Larutkan stock dihomogenkan dengan *magnetic strirrer* dipindahkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan tutup rapat lalu simpan dalam kulkas.

b. Stok BAP 500 mg/l (500 ppm)

Sebanyak 50 mg BAP ditimbang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml setelah itu ditambahkan beberapa tetes HCl 1 N dan ditambahkan aquades hingga volume mencapai 100 mL. larutan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer 100 ml, tutup rapat lalu beri label dan simpan dalam kulkas.

3.5.3 Pembuatan Media Induksi Kalus

Sebanyak 400 ml aquades di dalam erlenmeyer ditambahkan 1.772 gr media MS, 3.2 gr agar dan 12 gr sukrosa, lalu dilarutkan. Sebanyak 4 ppm BAP + 0.5 ppm NAA ditambahkan dan diaduk hingga homogen. Ukur pH media apabila larutan terlalu basa ditambahkan HCL dan apabila terlalu asam ditambahkan NaOH.

3.5.4 Pembuatan Media Regenerasi Tunas

Sebanyak 200 ml aquades di dalam erlenmeyer ditambahkan 0.886 gr media MS, 1.6 gr agar, dan 6 gr gula, lalu dilarutkan. Sebanyak BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 1 ppm, BAP 2 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm ditambahkan dan diaduk hingga homogen. Ukur pH media apabila larutan terlalu basa ditambahkan HCL dan apabila terlalu asam ditambahkan NaOH.

3.5.5 Sterilisasi eksplan

Daun pertama hingga ketiga dari apeks pucuk yang sudah diambil dibersihkan dengan air mengalir dan sabun seperti sunlight hingga bersih

kemudian dibawa ke ruang kerja dan disterilkan kembali dengan air steril dan direndam dalam Clorox 10% dan aquades steril 90% selama kurang lebih 15 menit. Bilas kembali tiga kali dengan aquades steril setiap 10 menit.

3.5.6 Induksi Kalus

Daun yang sudah steril diletakkan di atas kertas saring yang ada pada cawan petri steril lalu dipotong bagian daun dengan ukuran kurang lebih 1 cm dan ditanam pada media MS dengan konsentrasi 4 ppm NAA dan 0.5 ppm BAP lalu tutup botol dengan menggunakan plastic wrap dan inkubasikan pada suhu 25°C dengan cahaya neon 20watt secara terus menerus selama 4 minggu.

3.5.7 Regenerasi Tunas

Untuk meregenerasi tunas, kalus ditimbang sebesar 200 mg dan ditempatkan di cawan petri yang berisi media dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh sebesar BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, BAP 1 ppm, BAP 2 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm. Kemudian, eksplan di letakan di bawah cahaya neon 20watt pada rak kultur di ruangan steril dengan suhu 25°C secara terus menerus selama 4 minggu.

3.5.8 Parameter Pengamatan Tunas

Parameter yang akan digunakan pada penelitian ini adalah waktu tumbuh tunas baru dari eksplan, panjang dari tunas, jumlah tunas yang

tumbuh, dan visualisasi kultur tunas seperti warna daun, dan ukuran batang yang terbentuk saat berumur 4 minggu. Parameter yang digunakan untuk pengamatan tunas yaitu:

A. Waktu tumbuh tunas baru

Waktu tumbuh tunas baru akan mulai dihitung setiap hari saat tonjolan kehijauan dengan panjang $\pm 2\text{mm}$ tumbuh pada permukaan eksplan

B. Jumlah tunas yang tumbuh

Jumlah tunas yang tumbuh akan hitung setiap minggunya dari minggu ke 2 setelah penanaman hingga minggu ke 4 saat akhir penanaman.

C. Panjang tunas

Panjang tunas akan diukur dengan penggaris dalam satuan cm dari pangkal batang hingga ujung batang pada akhir penelitian.

D. Visualisasi warna tunas

Warna tunas yang terbentuk akan diamati pada akhir penelitian atau pada minggu ke 4

E. Ukuran batang tunas

Ukuran batang tunas akan diukur berdasarkan diameter batangnya pada akhir penelitian atau pada minggu ke 4.

F. Biomassa segar tunas

Bobot segar tunas akan dihitung setelah minggu ke 4 dengan menggunakan neraca analitik dalam satuan gram

G. Biomassa kering tunas

Bobot kering didapatkan pada akhir penelitian dengan menimbang tunas yang telah dikeringkan pada oven dengan suhu 78°C selama 48 jam hingga memiliki berat yang konstan

3.5.9 Parameter Pengamatan Kalus

A. Morfologi kalus

Morfologi kalus didapatkan dari mengamati tekstur dan warna kalus saat sudah melewati masa induksi 4 minggu

B. Biomassa segar kalus

Biomassa segar kalus didapatkan dari menimbang kalus saat sudah dipanen dan melewati masa induksi 4 minggu

C. Biomassa kering kalus

Biomassa kering kalus didapatkan dari menimbang kalus saat sudah dipanen, melewati masa induksi 4 minggu, di keringkan dengan menggunakan oven hingga mencapai berat yang konstan

D. Lebar kalus

Lebar kalus didapatkan dari mengukur lebar kalus saat sudah dipanen dan melewati masa induksi 4 minggu dan diukur secara horizontal pada dimensi terpanjang dari bentuk kalus dengan menggunakan penggaris.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk penelitian ini adalah uji normalitas, homogenitas, dan hipotesis dengan program aplikasi komputer SPSS. Uji normalitas akan digunakan untuk mengetahui data terdistribusi

normal agar dapat menentukan langkah yang akan dilakukan. Uji ini akan menggunakan metode *saphiro wilk* dengan asumsi apabila Sig. $p > 0.05$ maka data terdistribusi normal.

Uji selanjutnya adalah uji homogenitas dengan asumsi apabila Sig. $p < 0.05$ maka data dapat dikatakan homogen dan dilakukan uji *one way aonva*. Jika hasil dari homogenitas sign. $p > 0.05$ maka tidak akan dilakukan uji *oneway anova* dan *post hoc Duncan* dan dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan *Mann whitney*.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

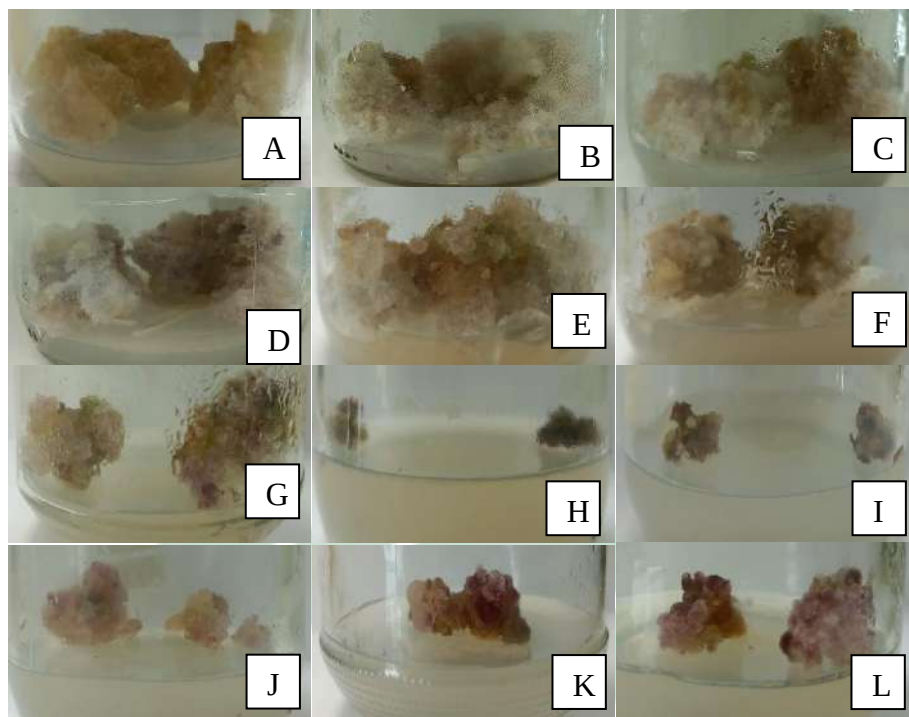
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (NAA) Dan Sitokinin Terhadap *Indirect Shoot Organogenesis Tithonia diversifolia*

Keberhasilan dari kultur jaringan terutama pada induksi tunas bergantung pada nutrisi atau senyawa kimia yang ada pada dan zat pengatur tumbuh atau ZPT. Beberapa hal yang perlu diamati dengan cermat saat menggunakan zat pengatur tumbuh, diantaranya adalah jumlah zpt yang ditambahkan, dan variasi ZPT yang digunakan (Mardhiyetti et al. 2017). Pada penelitian ini hormon yang digunakan untuk menginduksi dan meregenerasi tunas ialah sitokinin dan auksin. Interaksi dari auksin dan sitokinin dapat mengendalikan pertumbuhan suatu kultur (Mardhiyetti et al. 2017).

Menurut hasil penelitian yang sudah dilakukan selama 4 minggu, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT) BAP dan NAA tidak menunjukkan adanya pengaruh terhadap pertumbuhan tunas tetapi menunjukkan pengaruh pada pertumbuhan kalus tanaman *Tithonia diversifolia*. Gambar 4.1 menunjukkan pertumbuhan kalus setelah masa inkubasi selama 4 minggu. Pemberian BAP dan NAA pada penelitian ini memacu pertumbuhan kalus dan menghambat pertumbuhan dari tunas. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh (Okello et al. 2021) yang menunjukkan adanya pengaruh pemberian BAP dan NAA dapat mempengaruhi pertumbuhan tunas. Pemberian ZPT dengan konsentrasi BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm yang menghasilkan rerata 40 tunas.



Gambar 4.1 Kalus tanaman *Tithonia diversifolia* yang telah berumur 4 minggu

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.1. presentase pembentukan tunas dan kalus

Perlakuan	Pembentukan tunas (%)	Pembentukan kalus (%)
A	0%	100%
B	0%	100%
C	0%	100%
D	0%	100%
E	0%	100%
F	0%	100%
G	0%	100%
H	0%	100%
I	0%	100%
J	0%	100%
K	0%	100%
L	0%	100%

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.1 menunjukkan rerata presentase pertumbuhan tunas pada semua perlakuan sebesar 0%. Akan tetapi pemberian kombinasi BAP dan NAA justru menunjukkan adanya pertumbuhan kalus 100%. Perbedaan pengaruh ZPT pada satu eksplan dengan eksplan yang lain menunjukkan adanya tingkat sensitivitas, respon eksplan terhadap pemberian zat pengatur tumbuh (Ekawati et al. 2022), tingkat diferensiasi, dan pengaruh jaringan terhadap ekspresi gen. Proses organogenesis hanya dapat dilakukan pada sel yang meristematic serta memiliki kemampuan memberi tanggapan terhadap lingkungan dan hormon sehingga dapat membentuk organ (Ning Tyas et al. 2016).

Tingkat keberhasilan dari induksi tunas dipengaruhi oleh beberapa hal seperti salah satunya adalah jenis ZPT. Pemberian sitokinin jenis BAP pada perlakuan BAP 1 ppm, BAP 2 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm juga tidak mempengaruhi pertumbuhan tunas. Hal ini didukung oleh penelitian (Yanti & Isda 2021) menunjukkan adanya pertumbuhan kalus kompak pada perlakuan BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, BAP 5 ppm, dan BAP 6 ppm. Hal ini menjelaskan bahwa pemberian BAP dengan konsentrasi yang tinggi justru dapat menjadi pemacu pembentukan kalus.

Pertumbuhan kalus merupakan respon pemberian ZPT eksogen yang menjadi stimulasi bagi sel-sel untuk menimbulkan proliferasi sel dalam pembentukan kalus dan mengakibatkan kalus tumbuh menjadi lebih besar (Ekawati et al. 2022). Pemberian jenis ZPT pada suatu eksplan sangat mempengaruhi keberhasilan dari kultur jaringan tanaman. Pada penelitian ini, BAP diduga kurang tepat untuk pertumbuhan tunas. Pemberian BAP dapat

menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tunas dengan efek yang berbeda dari setiap spesies (Nur Azimi Azizan & RISDA 2017).

Hal ini dikarenakan BAP memiliki peran dalam mengendalikan siklus serta pembelahan yang ada pada sel. Sitokinin juga berperan untuk memperbanyak tunas atau meristem apical pucuk baru (SAM) yang tumbuh pada kultur jaringan 200(Schaller et al. 2014). Transduksi dari sitokinin diawali saat sitokinin diterima oleh sensor histidine kinase (HK2, HK3, dan H4) (Wu et al. 2021). Adanya gangguan pada ketiga reseptor sitokinin ini akan menyebabkan pucuk muncul sangat kecil atau tidak sama sekali karena berkurangnya pembelahan sel (Schaller et al. 2014)

Menurut (Sipayung et al. 2018), pemberian dari BAP dapat merangsang pertumbuhan dari tanaman namun adakalanya kurang optimal pada beberapa tanaman. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Jana, et al 2013) yang menjelaskan pemberian sitokinin jenis 2iP 2 ppm dapat menginduksi tunas sebanyak 75% sedangkan BAP dengan konsentrasi yang sama hanya mampu menginduksi tunas sebesar 50% dan pemberian 2iP 4 ppm dapat menginduksi tunas 25% sedangkan BAP dengan konsentrasi yang sama tidak dapat menginduksi pertumbuhan tunas

Pertumbuhan eksplan juga bergantung pada hormon endogen tanaman. Menurut (Rasud & Bustaman 2020) tingkat efektivitas zat pengatur tumbuh ditentukan oleh konsentrasi hormon yang ada pada jaringan eksplan. Interaksi dari hormon endogen dan eksogen yang ditambahkan menentukan perkembangan dari suatu kultur (Herawati et al. 2021).

Ketidak mampuan eksplan dalam menumbuhkan tunas pada penelitian ini disebabkan pemberian hormon eksogen yang tidak seimbang dan menghambat pertumbuhan dari tunas. Penelitian ini sesuai dengan pendapat (Sakina, et al 2019) penambahan ZPT BAP dan NAA yang tidak sesuai dapat menyebabkan terhambatnya regenerasi dan pertumbuhan dari tunas. Rasio auksin dan sitokinin yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat mengakibatkan terganggunya pembelahan sel dan pembentukan tunas baru.

Pembentukan dari tunas juga termasuk dalam kehendak Allah SWT seperti yang tercurah dalam QS Al-An'am (6:95):

﴿ إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذَٰلِكُمُ اللَّهُ فَأَنَّى تُؤْفَكُونَ ۙ ٩٥ ﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah yang menumbuhkan butir (padi-padian) dan biji (buah-buahan). Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. Itulah (kekuasaan) Allah. Maka, bagaimana kamu dapat dipalingkan?”

dan diwujudkan demikian agar manusia mudah memahami ilmu pengetahuan yang ada. Begitu pula dengan tumbuhan yang dapat tumbuh dengan adanya pembelahan sel seperti pada kultur jaringan tanaman yang dapat tumbuh dengan adanya hukum sebab akibat yang telah ditentukan oleh Allah. Dalam ayat tersebut Allah juga menerangkan adanya siklus kehidupan pada makhluk hidup tingkat tinggi salah satu contohnya adalah tumbuhan. Pada penelitian ini daun dapat dianggap sebagai sesuatu yang mati saat tidak mendapatkan kondisi yang sesuai untuk tumbuh dan atas karunia Allah daun dapat menjadi sel-sel yang hidup dan dapat berkembang yaitu kalus. Siklus kehidupan dari suatu makhluk hidup sangatlah kompleks dan hal ini adalah salah satu kekuasaan Allah (Kemenag 2019).

4.2 Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Auksin (NAA) Dan Sitokinin Terhadap Sub kultur *T. diversivolia*

Kalus dapat didefinisikan sebagai sel-sel amorf atau tersusun secara tidak teratur yang disebabkan oleh pembelahan sel yang terus menerus selama proses kultur *in vitro*. Pembelahan sel kalus yang tidak teratur disebabkan oleh adanya rangsangan dari eksplan atas respon pelukaan dan memperbaiki sel yang rusak. Kalus juga dapat dideskripsikan sebagai bentuk pertahanan diri dari suatu tanaman. Selain akibat dari pelukaan, pertumbuhan kalus juga disebabkan oleh penggunaan media basal dan kombinasi dari ZPT. Penggunaan media basal dan kombinasi ZPT yang tepat dapat merangsang pertumbuhan dari kalus (Nyoman et al. 2018). Data hasil pertumbuhan diambil dengan cara mengukur berat segar kalus, berat kering kalus, dan rerata lebar dari kalus dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Rerata berat segar, berat kering, dan lebar kalus

Perlakuan	Rerata berat segar ± SD	Rerata berat kering ± SD	Rerata lebar ± SD	Sign. Kruskal wallis ($\alpha = 0.05$)
A	5.47 ± 4,39	0.17 ± 0,06	2.74 ± 0,92	0.000
B	8.06 ± 1,04	0.22 ± 0,02	4.05 ± 0,89	
C	6.72 ± 1,40	0.23 ± 0,03	3.85 ± 0,37	
D	7.84 ± 0,92	0.22 ± 0,02	3.90 ± 0,45	
E	4.72 ± 1,18	0.13 ± 0,06	2.45 ± 1,03	
F	2.95 ± 1,81	0.28 ± 0,24	3.05 ± 0,44	
G	2.37 ± 0,61	0.27 ± 0,38	2.25 ± 0,43	
H	1.83 ± 1,24	0.07 ± 0,04	2.20 ± 0,62	
I	2.91 ± 2,16	0.21 ± 0,23	2.00 ± 0,30	
J	1.69 ± 1,27	0.09 ± 0,04	1.94 ± 0,52	
K	1.30 ± 0,52	0.06 ± 0,03	2.10 ± 0,57	
L	1.79 ± 0,82	0.08 ± 0,03	2.35 ± 0,74	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Data pertumbuhan kalus yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan SPSS. Berdasarkan hasil analisis normalitas didapatkan nilai sign $p > 0.05$ yang berarti data terdistribusi normal kemudian dilanjutkan pengujian

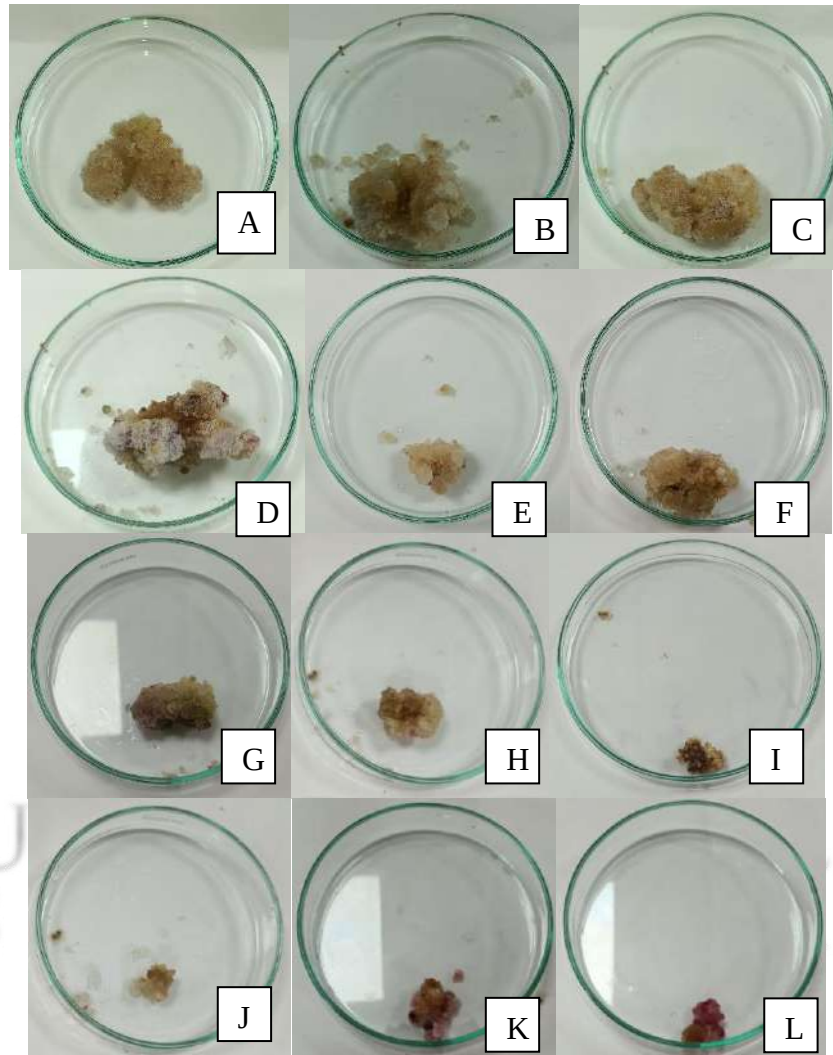
menggunakan *Kruskal-wallis* karena data tidak memenuhi asumsi uji anova dengan nilai Sign Kruskal wallis yang dapat dilihat pada tabel 4.2 dengan nilai $p < 0.05$ selanjutnya dilakukan uji *Mann-whitney* sebagai uji post- hoc untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan. Untuk mengetahui hasil lebih lanjut dari pengaruh pemberian Zat Pengatur Tumbuh terhadap kalus tanaman *Tithonia diversifolia* maka akan diuraikan sebagai berikut:

4.2.1 Morfologi Kalus

Zat Pengatur Tumbuh terhadap morfologi kalus tanaman *Tithonia diversifolia* diamati saat kalus telah menginjak masa panen yaitu 4 minggu. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA menunjukan berbagai respon secara morfologi pada subkultur kalus tanaman *Tithonia diversifolia* seperti yang dapat dilihat pada gambar yang menunjukkan adanya perbedaan tekstur dan warna pada masing masing perlakuan. Pada gambar 4.2 dapat dilihat bahwa kombinasi dari ZPT BAP dan NAA memiliki pengaruh yang berbeda beda terhadap morfologi kalus.

Tekstur dan warna kalus dapat digunakan sebagai parameter keberhasilan suatu kultur jaringan tanaman. Kalus pada penelitian ini berkembang dengan warna dan tekstur yang beragam seperti yang terlihat pada gambar 4.2 dan tabel 4.3. munculnya perbedaan jenis kalus dan perbedaan warna pada penelitian ini dapat disebabkan oleh respon dari sel-sel pada setiap perlakuan, pigmentasi, intensitas cahaya, dan sumber eksplan. Selain itu, warna yang terbentuk pada kalus disebabkan oleh kerja sitokinin pada perkembangan kloroplas (Putri Anjani et al, 2022).

Tekstur kalus dapat digunakan sebagai parameter untuk menilai kualitas kalus. Tekstur ini dibagi menjadi tiga yaitu kompak (*nonfriable*), intermediet, dan remah (*friable*). Seperti yang terlihat pada gambar 4.2 dan tabel 4.3, kalus yang terbentuk pada penelitian ini terdiri atas dua jenis diantaranya adalah kompak dan intermediet.



Gambar 4.2 Kalus tanaman *Tithonia diversifolia* yang telah berumur 4 minggu
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm, I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.3. warna dan tekstur kalus *Tithonia diversifolia*

Perlakuan	Tekstur Kalus	Warna Kalus
A	Remah	Hijau, putih, kecoklatan
B	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
C	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
D	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
E	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
F	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
G	Remah	Hijau, kecoklatan, ungu
H	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
I	Intermediate	Hijau, putih, kecoklatan
J	Remah	Hijau, putih, kecoklatan, ungu
K	Remah	Hijau, ungu, kecoklatan
L	Remah	Hijau, kecoklatan, ungu

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Pada tabel 4.3 dapat dilihat bahwa kalus tumbuh dengan tekstur dan warna yang bervariasi. Kalus pada perlakuan I memiliki tekstur intermediate sedangkan kalus dengan perlakuan A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, dan L memiliki tekstur remah. Selain mempengaruhi tekstur, pemberian ZPT juga mempengaruhi warna kalus seperti yang terlihat pada tabel 4.3 pada perlakuan B, C, D, E, F, F, dan J memiliki kalus dengan warna putih, hijau, kecoklatan,

dan ungu. Kalus pada perlakuan H dan I memiliki kalus berwarna hijau, putih, kecoklatan. Kalus pada perlakuan G, K, dan L memiliki kalus dengan warna hijau, ungu, kecoklatan.

Warna pada kalus menunjukkan pembelahan sel. Pada tabel diketahui bahwa kalus yang tumbuh didominasi dengan warna putih dan hijau. Warna putih pada kalus menunjukkan sel-sel yang ada masih pada fase pertumbuhan aktif membelah (Rasud & Bustaman 2020) sedangkan hijau pada kalus menunjukkan banyaknya klorofil yang dimiliki dalam jaringan, semakin hijau kalus, semakin banyak pula klorofil yang ada pada jaringan (Putri Anjani et al. 2022). Selain itu, warna hijau pada kalus juga disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi sitokinin yang mampu mengaktifkan sintesis protein dan metabolisme sehingga dapat menghambat perubahan klorofil (Nyoman et al. 2018). Pigmen warna putih dan hijau yang muncul menandakan bahwa kalus tumbuh dengan baik dan perubahan warna kalus dari putih menjadi kehijauan menunjukkan terbentuknya klorofil (Mahadi et al. 2018).

Pada penelitian ini juga menunjukkan hasil kalus yang tumbuh berwarna ungu. (Yaacob et al. 2012) menyebutkan manipulasi dan kombinasi dari hormon seperti BAP dan NAA dapat menghasilkan kalus dengan warna ungu. Munculnya kalus berwarna ungu juga disebabkan karena adanya produksi bahan kimia bioaktif tinggi seperti antosianin yang berasal dari keluarga polifenol. Senyawa bioaktif antosianin dapat menyebabkan munculnya pigmen warna ungu, dan merah. Sel kalus yang berwarna ungu juga dapat dihasilkan oleh sukrosa bereaksi dengan zat pengatur tumbuh dan meningkatkan prekursor antosianin (Martínez et al. 2018).

Reaksi antara polifenol dan zat pengatur tumbuh dapat menghasilkan kalus dengan kualitas yang baik tetapi proses oksidasi fenol menjadi quinon dapat menyebabkan terjadinya *browning* dan kematian eksplan (Karunia Illahi et al. 2022). Oksidasi fenol ini disebabkan karena adanya aktivitas dari enzim *Polyphenol oxidase* (PPO) dan *Phenilalin ammonialias* (PAL) karena munculnya stress akibat pelukaan jaringan (Indra Duwi Fanata et al. 2022). Browning termasuk dalam salah satu ciri terganggunya pertumbuhan dari eksplan selama proses induksi (Karunia Illahi et al. 2022). *Browning* pada kalus juga menunjukkan rendahnya tingkat regenerasi dan tidak bisa tumbuh menjadi planlet (Indra Duwi Fanata et al. 2022). Rendahnya tingkat regenerasi ini dapat disebabkan karena jaringan eksplan yang tua, steriliasi berlebihan, dan lingkungan tidak mendukung (Karunia Illahi et al. 2022).

Tekstur kalus dapat digunakan sebagai parameter untuk menilai kualitas kalus. Tekstur ini dibagi menjadi tiga yaitu kompak (*nonfriable*), intermediet, dan remah (*friable*). Pada penelitian ini ditemukan dua jenis kalus yaitu intermediet dan remah. Kalus intermediet ditemukan pada perlakuan BAP 2 ppm. Kalus intermediate adalah kalus yang struktur dan beratnya terbagi menjadi dua yaitu remah dan kompak (Asmila et al. 2017).

Kalus dengan jenis intermediet memiliki kumpulan sel yang keras di dalamnya tetapi remah di permukaan (Muhsinin et al. 2021). Adanya perbedaan tekstur pada suatu eksplan disebabkan oleh perbedaan sel dalam menyerap nutrisi atau zat hara (Silvina et al. 2021). Tekstur kompak pada kalus intermediet disebabkan adanya pembentukan lignifikasi pengaruh dari sitokinin dalam proses pengedaran zat hara (Mahadi et al. 2017).

Tekstur remah dari kalus disebabkan oleh pembelahan sel yang lebih cepat dibandingkan kalus kompak. Pemberian hormon auksin juga dinilai efektif dalam peningkatan laju pertumbuhan (Mahadi et al. 2017). Hormon auksin dapat meningkatkan tekanan osmotik, permeabilitas sel terhadap air, mengakibatkan pengurangan tekanan pada dinding sel, meningkatnya sintesa protein, plastisitas, serta pengembangan dinding sel. Auksin dapat mengeluarkan H^+ pada dinding sel yang mengakibatkan menurunnya pH dinding sel dan terjadi pelonggaran struktur dinding sel.

4.2.2 Berat Segar Kalus

Data pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap berat segar kalus tanaman *Tithonia diversifolia* didapat dengan menimbang kalus yang baru saja dipanen setelah diinkubasi selama 4 minggu. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA menunjukkan berbagai perbedaan terhadap berat segar subkultur kalus tanaman *Tithonia diversifolia* seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.3 yang menunjukkan adanya perbedaan berat segar pada masing masing perlakuan.

Pada tabel 4.4 didapatkan hasil bahwa kalus pada masing-masing perlakuan memiliki berat segar yang berbeda beda. Data berat segar ini kemudian diolah dengan menggunakan uji statistic. Data berat segar kalus terdistribusi normal dengan nilai $p > 0.05$ (lampiran) kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal wallis* karena data tidak memenuhi persyaratan uji anova. Berdasarkan uji *Kruskal wallis* yang telah dilakukan, nilai Asymp sig sebesar $0.000 > 0.05$ sehingga dilanjutkan dengan melakukan uji *Mann whitney* untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing masing

perlakuan. Hasil dari uji *mann whitney* untuk berat segar dapat dilihat pada tabel

4.5

Tabel 4.4 rerata berat segar kalus

Perlakuan	Rerata berat segar (gr) $\pm$ SD	Sign. Kruskal Wallis ($\alpha = 0.05$)
A	5.47 $\pm$ 4,39	0.000
B	8.06 $\pm$ 1,04	
C	6.72 $\pm$ 1,40	
D	7.84 $\pm$ 0,92	
E	4.72 $\pm$ 1,18	
F	2.95 $\pm$ 1,81	
G	2.37 $\pm$ 0,61	
H	1.83 $\pm$ 1,24	
I	2.91 $\pm$ 2,16	
J	1.69 $\pm$ 1,27	
K	1.30 $\pm$ 0.52	
L	1.79 $\pm$ 0,82	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.5 hasil uji mann whitney berat segar *Tithonia diversifolia*

Perlakuan	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
A												
B	0.117											
C	0.251	0.251										
D	0.117	0.917	0.347									
E	0.754	0.009*	0.028*	0.009*								
F	0.251	0.009*	0.009*	0.009*	0.117							
G	0.251	0.009*	0.009*	0.009*	0.009*	0.602						
H	0.047*	0.009*	0.009*	0.009*	0.016*	0.347	0.347					
I	0.347	0.009*	0.028*	0.009*	0.175	0.917	0.602	0.465				
J	0.047*	0.009*	0.009*	0.009*	0.016*	0.175	0.251	0.754	0.465			
K	0.016*	0.009*	0.009*	0.009*	0.009*	0.175	0.028*	0.465	0.917	0.347		
L	0.076	0.009*	0.009*	0.009*	0.009*	0.347	0.251	0.917	0.465	0.465	0.347	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: *=perbedaan signifikan uji mann whitney ($p \text{ value} < 0.05$) A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Berdasarkan nilai mann whitney dari tabel 4.4 dapat dilihat bahwa

perlakuan H, J, K memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan A (p

= 0,047, 0,016). Perlakuan E, F, G, H, I, J, K, L memiliki perbedaan yang

signifikan terhadap perlakuan B, C, D (p = 0,009, 0,028, 0,047). Perlakuan G,

H, J, K, L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan E ($p = 0,009$, dan $0,016$). Perlakuan G memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan K ($p = 0,028$). Perbedaan yang signifikan dari kalus tanaman *T. diversifolia* ini diikuti dengan rata-rata berat segar kalus yang lebih rendah yang dapat dilihat pada tabel 4.4. Adanya perbedaan yang signifikan pada berat kalus yang dihasilkan menunjukkan bahwa sel pada eksplan memiliki kemampuan absorbs air yang berbeda pula (Anggraeni et al. 2022).

Pada tabel 4.3 menunjukkan data rerata berat kalus dari perlakuan berbagai kombinasi ZPT terhadap kalus. Berat kalus terendah diperoleh dari pemberian BAP 4 ppm sebesar 1,30gram dan berat tertinggi dimiliki oleh kombinasi BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm dengan rerata berat segar sebesar 8,06 gram. Berat kalus sangat dipengaruhi oleh hormon auksin dan sitokinin baik eksogen maupun endogen. Hormon endogen dan eksogen yang diberikan dalam jumlah yang tepat dan seimbang dapat mendukung pertumbuhan kalus secara maksimal (Indah, et al 2013).

Adanya pengaruh dari hormon sitokinin dan auksin terhadap perbedaan berat segar kalus didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Sugiharto et al. 2019) pada tanaman *G. procumbens* dengan kombinasi BAP 0.5 ppm dan NAA 0.5 yang menghasilkan rerata berat segar kalus sebesar 0,684 gram dan penelitian yang dilakukan oleh (Dakshayini et al. 2016) dengan kombinasi NAA 1 ppm + BAP 0,25 ppm yang menghasilkan rerata berat segar kalus sebesar 10.52 gram dan NAA 2 ppm + BAP 0.375 ppm yang menghasilkan rerata berat segar kalus sebesar 17,55 gram.

Pada tabel juga menunjukkan pertumbuhan dari kalus cenderung menurun seiring dengan pemberian konsentrasi BAP dan NAA yang semakin tinggi. Sehingga dapat dilihat pemberian konsentrasi BAP dan NAA yang lebih rendah dapat menghasilkan berat segar kalus yang lebih tinggi sedangkan pemberian NAA dan NAA yang sesuai dengan hormon endogen dan eksogen akan membuat kalus tumbuh dengan baik. Hal ini dapat dilihat Kalus dengan kombinasi BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm mendapatkan berat yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan BAP 4 ppm dikarenakan pemberian auksin memiliki peran dalam proses morfogenesis, dan induksi dari kalus.

Berat segar kalus umumnya terbentuk atas air dan karbohidrat. Perbedaan massa kalus juga disebabkan karena adanya perbedaan tekstur kalus dan kemampuan suatu jaringan saat absorbs air. Tekstur kalus sangat mempengaruhi berat segar yang dihasilkan seperti yang bisa dilihat pada tabel 4.2 dan 4.3 kalus dengan berat segar tinggi cenderung memiliki tekstur kalus remah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Anggraeni et al. 2022) menyatakan semakin remah kalus yang dihasilkan maka pembelahan sel semakin cepat sehingga ada penambahan massa kalus dan peningkatan berat.

Zat pengatur tumbuh yang diberikan seperti auksin dalam kombinasi yang tepat dapat memicu sekresi ion H^+ untuk keluar dari dinding sel yang mengakibatkan pengasaman pada dinding sel dan K^+ diambil lalu mengurangi potensial air dalam sel sehingga air dapat dengan mudah masuk dan membuat sel menjadi membesar (Rahayu, et al 2003).

Sedangkan BAP dalam jumlah yang tepat dapat digunakan untuk mengendalikan pembelahan sel (Schaller et al. 2014). Proses sintesis dari

sitokinin atau BAP dimulai dari saat sitokinin diterima oleh HK2, HK3, HK4 yang akan memulai pensinyalan fosforilasi pada retikulum endoplasma. Setelah adanya pengikatan sitokinin gugus fosforil akan ditransfer dari HK ke protein (HPT). HPT akan mentranslokasi dari sitoplasma ke nucleus sehingga mengaktifkan transkripsi ARR. Melalui hal ini, sitokinin akan mempengaruhi banyak aspek biologis yang mempengaruhi pembelahan sel (Wu et al. 2021).

Rerata berat kalus terendah dimiliki oleh perlakuan BAP 4 ppm disebabkan oleh perkembangan kalus yang tidak sejalan dengan produksi metabolit sekunder dan eksplan cenderung memproduksi metabolit sekunder dibandingkan perkembangan kalus (Mariamah 2017). Menurut (Anggraeni et al. 2022) kecilnya berat segar kalus disebabkan karena hormon yang diberikan tidak memiliki kemampuan untuk merangsang sel yang akan membelah.

Selain itu, berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan hormon sitokinin endogen pada perlakuan BAP 4 ppm sudah cukup tinggi sehingga tidak membutuhkan sitokinin endogen yang terlalu banyak yang menyebabkan kalus tumbuh dengan rerata berat segar yang rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Setiawati et al. 2019) pada tanaman *C. morifolium* dengan konsentrasi BAP 1 ppm + NAA 1 ppm yang mendapat berat segar sebesar 1.39 gram, BAP 1.5 ppm + NAA 3 ppm yang mendapat berat segar sebesar 0.42 gram dan BAP 2 ppm + NAA 2 ppm yang mendapat berat segar sebesar 0,34 gr. Penelitian ini menunjukkan bahwa zat pengatur tumbuh BAP efektif digunakan pada konsentrasi yang rendah dan pada konsentrasi yang tinggi BAP akan menghambat pertumbuhan dari sel.

4.2.2 Berat Kering Kalus

Data pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap berat kering kalus tanaman *Tithonia diversifolia* didapat dengan menimbang kalus yang sudah dipanen setelah diinkubasi selama 4 minggu dan dikeringkan hingga mencapai berat konstan. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA menunjukkan berbagai perbedaan terhadap berat kering subkultur kalus tanaman *Tithonia diversifolia* seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.5 yang menunjukkan adanya perbedaan berat segar pada masing masing perlakuan.

Pada tabel 4.5 didapatkan hasil bahwa kalus pada masing-masing perlakuan memiliki berat kering yang berbeda beda. Data berat kering ini kemudian diolah dengan menggunakan uji statistic. Data berat kering kalus terdistribusi normal dengan nilai $p > 0.05$ (lampiran) kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal wallis* karena data tidak memenuhi persyaratan uji anova. Berdasarkan uji *Kruskal wallis* yang telah dilakukan, nilai Asymp sig sebesar $0.000 > 0.05$ sehingga dilanjutkan dengan melakukan uji *Mann whitney* untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing masing perlakuan sehingga hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.6. Pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa kombinasi ZPT paling baik untuk mendapatkan berat kering kalus adalah BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm dan BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm. Berat kering dari kalus semakin kecil seiring dengan tingginya pemberian BAP tunggal seperti pada BAP 1 ppm, BAP 3 ppm, BAP 4 ppm, dan BAP 5 ppm.

4.6 rerata berat kering kalus *Tithonia diversifolia*

Perlakuan	Rerata berat kering	Sign Kruskal Wallis ($\alpha = 0.05$)
A	0.17 ± 0,06	0.000
B	0.22 ± 0,02	
C	0.23 ± 0,03	
D	0.22 ± 0,02	
E	0.13 ± 0,06	
F	0.28 ± 0,24	
G	0.27 ± 0,38	
H	0.07 ± 0,04	
I	0.21 ± 0,23	
J	0.09 ± 0,04	
K	0.06 ± 0,03	
L	0.08 ± 0,03	

Sumber: (Dokumentasi pribadi)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.7 hasil uji mann whitney berat kering kalus *Tithonia diversifolia*

Perlakuan	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
A												
B	0,251											
C	0.175	0,465										
D	0,251	0,917	0,465									
E	0,251	0,028*	0,028*	0,047*								
F	0,602	0,295	0,251	0,374	0,117							
G	0,465	0,117	0,117	0,117	0,754	0,117						
H	0,028*	0,009*	0,009*	0,009*	0,076	0,009*	0,175					
I	0,602	0,117	0,117	0,117	0,917	0,251	0,917	0,117				
J	0,028*	0,009*	0,009*	0,009*	0,602	0,028*	0,251	0,465	0,347			
K	0,016*	0,009*	0,009*	0,009*	0,076	0,009*	0,047*	0,917	0,076	0,602		
L	0,016*	0,009*	0,009*	0,009*	0,173	0,009*	0,249	0,600	0,249	0,753	0,346	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: *=perbedaan signifikan uji mann whitney ($p \text{ value} < 0.05$) A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Berdasarkan nilai mann whitney dari tabel 4.7 dapat dilihat bahwa perlakuan H, I, J, K dan L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan A ($p = 0,028, 0,016$). Perlakuan E, H, J, K, L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan B, D ($p = 0,009, 0,028, 0,047$). Perlakuan H, J, K, L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan F ($p = 0,009$

dan 0,0028). Perlakuan G memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan K ($p = 0,047$). Perbedaan yang signifikan dari kalus tanaman *T. diversifolia* ini diikuti dengan rata-rata berat kering kalus yang kecil yang dapat dilihat pada tabel 4.7

Beberapa factor dapat menjadi penyebab perbedaan signifikan pada berat kering kalus adalah kombinasi ZPT yang diberikan, dan sukrosa yang terkandung di dalam media. Berat kering kalus menunjukkan adanya aktivitas kalus terhadap berbagai kombinasi ZPT. Penggunaan ZPT auksin pada media dapat mempengaruhi metabolisme RNA yang memiliki peran dalam mengontrol metabolisme protein yang dilakukan selama proses transkripsi molekul RNA (Shofiyani et al. 2017).

Pengaruh dari pemberian ZPT ini dapat dilihat pada penelitian yang dilakukan oleh (Sugiharto et al. 2019) dan (Babiker et al. 2021) Pada penelitian (Sugiharto et al. 2019) dengan kombinasi BAP 0.5 ppm + NAA 0.5 ppm menghasilkan berat kering kalus sebesar 0,044gram dan pada penelitian (Babiker et al. 2021) dengan kombinasi BAP 0.1 ppm menghasilkan berat kering kalus sebesar 0.15 gr dan BAP 0,2 yang menghasilkan berat kering kalus sebesar 0.18. Kedua penelitian ini menunjukkan bahwa berat kering kalus sangat dipengaruhi oleh hormon auksin dan sitokinin eksogen dan endogen.

Penggunaan auksin juga dinilai dapat memicu pertumbuhan dari kalus pada penelitian ini. Hasil berat kering kalus dapat dilihat pada tabel 4.5 Berat kering kalus dengan kombinasi NAA memiliki berat kering lebih tinggi dibandingkan dengan berat kering dengan BAP tunggal. (Rahayu et al. 2003) yang menyatakan bahwa penggunaan auksin dapat menjadi pemacu dari

pertumbuhan kalus dengan adanya pertumbuhan ukuran dan berat kering kalus yang tidak dapat kembali. Pertumbuhan ini memiliki kaitan dengan bertambahnya volume, jumlah sel, terbentuknya protoplasma baru, dan meningkatnya massa.

Sedangkan rerata berat terkecil didapatkan dari kombinasi BAP 4 ppm dengan rerata berat 0,06. Kecilnya rerata berat kering kalus diduga disebabkan oleh ketidak seimbangan zat pengatur tumbuh yang merupakan komponen penting dalam meningkatkan inisiasi kalus (Astutik et al. 2022). Kecilnya berat kering kalus yang didapatkan sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Hariyati et al, 2016) pada tanaman *chrysanthemum* dengan konsentrasi BAP 2 ppm yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi BAP yang diberikan pada suatu media maka semakin terhambat pula pertumbuhan dari kalus. Rendahnya berat kering yang didapatkan pada penelitian ini juga dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kemampuan dari suatu jaringan dengan jaringan lain saat absorbs air.

Selain zat pengatur tumbuh, sukrosa pada media juga berpengaruh dalam pertumbuhan kalus. Sukrosa berperan sebagai sumber karbon pada tanaman yang dapat meningkatkan pertumbuhan dari kalus secara optimal. Apabila sumber karbon telah terpenuhi maka sel akan berkembang dengan cepat sehingga sel memiliki kemampuan untuk membelah secara optimal. Pembelahan secara optimal ini dapat menghasilkan tingginya pertumbuhan kalus. Kombinasi dari ZPT dan sukrosa pada media tanam dapat memacu pertumbuhan dan proses metabolisme yang ada pada sel dan hal ini lah yang menyebabkan meningkatnya massa kering kalus (Shofiyani et al. 2017).

Selain pengaruh zat pengatur tumbuh dan sukrosa, berat kering dari kalus dapat terbentuk karena adanya akumulasi dari bahan organik dan mineral yang dibutuhkan dalam pertumbuhan kalus (Shofiyani et al, 2017). Ukuran berat kering dapat dihasilkan dari menghilangnya air pada kalus sehingga berat yang dihasilkan menurun dibandingkan dengan berat segar (Ulva et al. 2019). Meskipun massa air pada kalus telah menghilang, namun masih terdapat biomassa yang dapat digunakan untuk mengetahui metabolit sekunder pada kalus (Anggraeni et al. 2022).

4.2.2 Lebar Kalus

Data pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap luas kalus tanaman *Tithonia diversifolia* didapat dengan mengukur lebar permukaan yang sudah dipanen setelah diinkubasi selama 4 minggu secara horizontal menggunakan penggaris. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA menunjukkan berbagai perbedaan terhadap lebar subkultur kalus tanaman *Tithonia diversifolia* seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.7 yang menunjukkan adanya perbedaan berat segar pada masing masing perlakuan.

Pada tabel 4.8 didapatkan hasil bahwa kalus pada masing-masing perlakuan memiliki lebar yang berbeda beda. Data lebar ini kemudian diolah dengan menggunakan uji statistic. Data lebar kalus terdistribusi normal dengan nilai $p > 0.05$ (lampiran) kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal wallis* karena data tidak memenuhi persyaratan uji anova. Berdasarkan uji *Kruskal wallis* yang telah dilakukan, nilai Asymp sig sebesar $0.000 > 0.05$ sehingga dilanjutkan dengan melakukan uji *Mann whitney* untuk mengetahui

perbedaan nyata pada masing masing perlakuan. Hasil dari uji *mann whitney* untuk lebar kalus dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.8 rerata lebar kalus tanaman *Tithonia diversifolia*.

Perlakuan	Rerata lebar (cm)	Sign. Kruskal wallis ($\alpha = 0.05$)
A	2.74 $\pm$ 0,92	0.000
B	4.05 $\pm$ 0,89	
C	3.85 $\pm$ 0,37	
D	3.90 $\pm$ 0,45	
E	2.45 $\pm$ 1,03	
F	3.05 $\pm$ 0,44	
G	2.25 $\pm$ 0,43	
H	2.20 $\pm$ 0,62	
I	2.00 $\pm$ 0,30	
J	1.94 $\pm$ 0.52	
K	2.10 $\pm$ 0.57	
L	2.35 $\pm$ 0,74	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Tabel 4.9 Uji *Mann Whitney* lebar tanaman *Tithonia diversifolia*

Perlakuan	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
A												
B	0.059											
C	0,093	1,000										
D	0,075	0,916	0,914									
E	0,600	0,047	0,044*	0,044*								
F	0,293	0,045	0,027*	0,027*	0,245							
G	0,278	0,008*	0,008*	0,008*	0,916	0,033						
H	0,416	0,009*	0,009*	0,009*	0,750	0,044	0,914					
I	0,071	0,009*	0,008*	0,008*	0,672	0,011	0,219	0,338				
J	0,072	0,009*	0,009*	0,009*	0,463	0,016	0,220	0,287	0,913			
K	0,206	0,009*	0,009*	0,009*	0,751	0,036	0,515	0,752	0,915	0,617		
L	0,599	0,021*	0,016*	0,016*	0,832	0,090	0,746	0,916	0,395	0,341	0,527	

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2023)

Keterangan: *=perbedaan signifikan uji mann whitney ($p \text{ value} < 0.05$) A= BAP 0 ppm + NAA 0 ppm (kontrol), B = BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm, C = BAP 1 ppm + NAA 0.1 ppm, D = BAP 1 ppm + NAA 0.5 ppm, E = BAP 2 ppm + NAA 0.05 ppm, F = BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm, G = BAP 2 ppm + NAA 0.5 ppm, H = BAP 1 ppm I = BAP 2 ppm, J = BAP 3 ppm, K = BAP 4 ppm, L BAP 5 ppm

Berdasarkan nilai mann whitney dari tabel 4.8 dapat dilihat bahwa

perlakuan G, H, I, J, K, dan L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap

perlakuan B ($p = 0,008, 0,009, 0,021$). Perlakuan E, F, G, H, I, J, K, dan L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan C ($p = 0,008, 0,009, 0,027, 0,016, \text{ dan } 0,044$). Perlakuan E, F, G, H, I, J, K, dan L memiliki perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan D ($p = 0,008, 0,009, 0,027, 0,016, \text{ dan } 0,044$). Perbedaan yang signifikan dari kalus tanaman *T. diversifolia* ini diikuti dengan rata-rata ukuran luas kalus yang besar seperti yang terlihat pada tabel 4.8

Perbedaan ukuran kalus pada penelitian ini disebabkan karena adanya perbedaan penyerapan air dan unsur hara tiap jaringan, kemampuan osmosis, tekanan turgor, dan proses difusi pada sel juga berbeda (Marthani et al, 2016). Kalus yang mampu melakukan diferensiasi akan tumbuh lebih lebar dibandingkan dengan kalus control (Bismi Panglipur et al. 2013).

Pada tabel 4.8 Menunjukkan rerata dari lebar kalus. tabel di atas menunjukkan bahwa konsentrasi paling optimal untuk mendapatkan lebar yang besar adalah BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm. Rerata lebar terus menurun seiring tingginya konsentrasi BAP yang diberikan pada kalus yang menunjukkan menurunnya pertumbuhan kalus yang berbanding terbalik dengan konsentrasi BAP yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi BAP, semakin kecil pula angka lebar kalus.

Lebarnya ukuran kalus pada penelitian ini menunjukkan bahwa kalus mengalami proses pertumbuhan dan pembelahan sel. Auksin yang diberikan pada perlakuan ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm dinilai mampu meningkatkan tekanan osmotik, sintesis protein, dan permeabilitas sel sehingga sel air dapat masuk ke dalam sel dan membuat volume kalus meningkat. Dengan adanya

peningkatan ini maka sumber tenaga pada eksplan juga ikut meningkat. Sel pada tumbuhan akan menjadi lebih besar dengan mengambil air. Membesarnya sel ini ditandai dengan auksin yang melemahkan dinding sel sehingga menyebabkan adanya tekanan turgor yang mendorong pembesaran dari sel. Air yang masuk di dalam sel akan disimpan pada vakuola sehingga sel dapat mengembang tanpa meningkatkan volume sitosolnya (Marthani et al. 2016).

Lebarnya ukuran kalus juga disebabkan oleh seimbangannya kombinasi dari zat pengatur tumbuh. Konsentrasi dari zat pengatur tumbuh yang rendah tidak akan mampu mendorong pertumbuhan dari kalus dan apabila konsentrasi tinggi, maka zat pengatur tumbuh dapat menekan pertumbuhan, pembelahan, dan pemanjangan sel. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan, nilai rerata yang didapat dari control terlihat lebih kecil dibandingkan dengan kombinasi BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm yang menandakan konsentrasi ZPT tidak bisa mencukupi kebutuhan kalus untuk membelah dan kombinasi juga tampak lebih baik dari yang lain. Hal ini menunjukkan eksplan dengan zat pengatur tumbuh yang tinggi dapat menyebabkan sel tidak tumbuh dengan maksimal (Anggraeni et al. 2022).

Pemberian hormon auksin pada penelitian ini mempengaruhi perluasan kalus. Hal ini dapat dilihat dalam nilai rerata bahwa kalus dengan kombinasi NAA memiliki rerata lebih tinggi dibandingkan dengan kalus tanpa NAA atau BAP tunggal. Penelitian ini sejalan dengan pernyataan (Rahman et al. 2021) yang menjelaskan bahwa auksin memiliki pengaruh terhadap pembelahan sel, dan pembesaran jaringan. penambahan auksin dalam media akan menjadikan dinding sel melunak lalu mengaktifkan proton H^+ pada membrane plasma yang

menyebabkan pH dinding hampir sama dengan dinding plasma. Hal ini lalu akan menyebabkan jarak antar dinding sel merenggang dan mempengaruhi penurunan tekanan dinding sel.

Tingkat keefektifan ZPT sangat dipengaruhi oleh konsentrasinya. Penambahan hormon eksogen pada kalus dapat menyebabkan meningkatnya zat pengatur tumbuh endogen pada jaringan sehingga eksplan akan menjadi stress dan membuat eksplan membelah secara terus menerus sehingga ukuran dari eksplan dapat membesar. Perbedaan luas pada setiap perlakuan sangat bergantung pada kepekaan, daya serap kalus, dan zat pengatur tumbuh yang diberikan (Anggraeni et al. 2022).

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Das et al, 2006) yang menunjukkan perbedaan lebar kalus pada kombinasi ZPT yang berbeda. Kombinasi ZPT BAP 1 ppm menghasilkan lebar kalus 3,10 cm dan BAP 2 ppm + NAA 0.1 menghasilkan lebar kalus 4,30 cm

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian kombinasi BAP dan NAA tidak mempengaruhi tunas pada *Tithonia diversifolia*. Akan tetapi mempengaruhi pertumbuhan kalus.
2. Pengaruh pemberian BAP dan NAA yang paling optimal untuk berat segar dan lebar ada pada variasi ZPT BAP 1 ppm + NAA 0.05 ppm dengan rata rata berat sebesar 8.06 dan lebar 4.05cm. Pengaruh pemberian BAP dan NAA yang paling optimal untuk berat kering didapatkan dari kombinasi ZPT BAP 2 ppm + NAA 0.1 ppm dengan rata rata berat kering 0.28.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan tunas dengan menggunakan ZPT dan konsentrasi yang berbeda agar mendapatkan konsentrasi yang optimal untuk pertumbuhan tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanatie, A. & Sulistyowati, E., 2015, 'Structure Elucidation Of The Leaf Of Tithonia Diversifolia (Hemsl) Gray', G. Balint, B. Antala, C. Carty, J.-M.A. Mabieme, I.B. Amar & A. Kaplanova (Eds.), *Jurnal Sains Dan Matematika*, 23(4), 101–106.
- Anggraeni, D., Ismaini, L., Imam Surya, M., Rahmi, H. & Nurcahyo Widyodaru Saputro, 2022, 'Inisiasi Kalus Daun Talinum Triangulare (Jacq.) Willd Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid Dan Benzyl Adenine', *Agrikultura*, 33(3), 276–288.
- Anggraini, W., 2018, 'Keanekaragaman Hayati Dalam Menunjang Perekonomian Masyarakat Kabupaten Oku Timur', *Jurnal Aktual*, 16(2), 99.
- Anggresani, L., 2017, 'Uji Total Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kembang Bulan (Thitonia Diversifolia (Hemsley) A. Gray).', *Riset Informasi Kesehatan*, 6(1), 18–23.
- Astutik, M., Suhartanto, B., Umami, N., Suseno, N. & Haq, M.S., 2022, *Auxin And Cytokinin Effect On In Vitro Callus Induction Of Maize (Zea Mays L.) Srikandi Putih*.
- Azwana, A., Mardiana, S. & Zannah, R.R., 2019, 'Efikasi Insektisida Nabati Ekstrak Bunga Kembang Bulan (Tithonia Diversifolia A. Gray) Terhadap Hama Ulat Grayak (Spodoptera Litura F.) Pada Tanaman Sawi Di Laboratorium', *Biolink (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(2), 131–141.
- Babiker, Y.F., Eltorkey, Elmokadem, El-Naggar & Meheissen, M.A.M., 2021, *Establishment Of Callus Cultures Of Chrysanthemum (Dendranthema × Grandiflorum) Var. 'Zembla Yellow'*, Vol. 66.
- Basri, Z., Yusuf, R. & Hawalina, Dan, 2017, *Callus Induction Of Cacao Clone Sulawesi 1 On Various Concentrations Of 2,4-D And Coconut Water Via In Vitro Culture*, Vol. 4.
- Bismi Panglipur, D., Sulistyowati, L., Hidayah, N., Hama Dan Penyakit Tumbuhan, J., Brawijaya, U., Veteran, J., Penelitian Tanaman Pemanis Dan Serat Malang, B. & Karangploso Km, J., 2013, *Uji Ketahanan Kalus Kultivar Tebu (Saccharum Officinarum) Terhadap Penyakit Pokahbung Menggunakan Filtrat Kultur Fusarium Moniliforme Secara In Vitro*, Vol. 1.
- Chawla H. S, 2002, *Introduction To Plant Biotechnology*, Second, Science Publishers, New Hampshire.
- Dakshayini, K., Vaman Rao, C., Karun, A., Bhavyashree, U. & Ujwal, P., 2016, 'High-Frequency Plant Regeneration And Histological Analysis Of Callus In Cichorium Intybus: An Important Medicinal Plant', *Journal Of Phytology*, 8(1).

- Das, K., Dang, R. & Rajasekharan, P.E., 2006, 'Establishment And Maintenance Of Callus Of Stevia Rebaudiana Bertoni Under Aseptic Environment', *Natural Product Radiance*, 5(5), 373–376.
- Ekawati, Y., Anggraeni, A., Dyah Prawestri, A. & Nurtjahya, E., 2022, 'Induksi Kalus Sisik Umbi Lilium Longiflorum Thunb. Oleh Auksin Dan Sitokinin, Serta Respons Pertumbuhannya Secara In Vitro', *Agrosainstek: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, 6(2), 28–37.
- Fazili, M.A., Bashir, I., Ahmad, M., Yaqoob, U. & Geelani, S.N., 2022, 'In Vitro Strategies For The Enhancement Of Secondary Metabolite Production In Plants: A Review', *Bulletin Of The National Research Centre*, 46(1).
- Hapsoro, D. & Yusnita, 2018, *Kultur Jaringan : Teori Dan Praktik*, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Harahap, F., Hasanah, A., Insani, H., Harahap, N.K., Pinem, M.D., Edi, S., Sipahutar, H. & Silaban, R., 2019, *Kultur Jaringan Nanas*, Penerbit Media Sahabat Cendekia, Surabaya.
- Harefa, D., Nias Selatan, S., Kunci, K. & Tanaman Obat Keluarga, P., 2020, 'Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (Toga)', *Indonesian Journal Of Civil Society*, 2(2), 28–36.
- Hariyati, M., Bachtiar, I. & Sedijani, P., 2016, 'Induksi Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemum Morifolium*) Dengan Pemberian Benzil Amino Purin (Bap) Dan Dichlorofenoksi Acetil Acid (2,4 D)', *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa*, 2(1).
- Hasan, A.H., Sekolah, B., Penyuluhan, T. & Medan, P., No Date, *Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus*.
- Hendriyani, E., Warseno, T., Kadek Erosi Undaharta Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan Dan Kebun Raya -Lipi Jl Ir Juanda No, N.H. & Barat, J., 2020, 'Pengaruh Jenis Eksplan Dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (Zpt) Terhadap Induksi Kalus Begonia Bimaensis Undaharta & Ardaka Secara In Vitro', *Buletin Kebun Raya*, 23(1), 82–90.
- Herawati, D., Zakiah Jurusan Biologi, Z., Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, F., Tanjungpura Jl Hadari Nawawi, U.H. & Barat, K., 2021, 'Multiplikasi Anggrek *Dendrobium* Sp. Dengan Penambahan Ekstrak Jagung (*Zea Mays*) Dan Naphthalaene Acetic Acid (Naa) Secara In Vitro', *Bioma*, 6(1), 38–47.
- Ilyas, S., Mattjik, Nurhayati.A., Suharsono, G.A., Wattimena, Chozin, Sudirman.Yahya.Muhammad.A., Susanto, S., Aziz, Sandra.A., Sopandie, D., Hardjowigeno, S. & Kusmana, C., 2017, *Peningkatan Produksi, Manfaat Dan Sustainability Biodiversitas Tanaman Indonesia*, Vol. 1, Pt Penerbit Ipb Press, Bogor.
- Indah, P.N., Indah, P.N. & Ermavitalini, D., 2013, 'Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum Inophyllum* Linn.) Pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-

- Benzylaminopurine (Bap) Dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)', *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 2(1), E1–E6.
- Indra Duwi Fanata, W., Edo Setiawan, D., Mar, Idah, Sholikhah, Atus, Studi Agroteknologi, P., Pertanian, F., Jember Jl Kalimantan, U., Tegalboto, K., Kalimantan, J. & Artikel, I., 2022, 'Pengaruh Penambahan Inhibitor Etilen Dan Senyawa Antioksidan Terhadap Regenerasi Kalus Padi Mentik Wangi Susu', *Agrikultura*, 33(2), 236–246.
- Jana, S., Sivanesan, I. & Jeong, B.R., 2013, 'Effect Of Cytokinins On In Vitro Multiplication Of Sophora Tonkinensis', *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 3(7), 549–553.
- Kandungu, J., Anjarwalla, P., Mwaura, L., Ofori, D.A., Jammadass, R., Stevenson, P.C. & Smith, P., 2013, 'Pesticidal Plant Leaflet. Tithonia Diversifolia (Hemsl.) A. Gray', *Kew Royal Botanic Gardens, World Agroforestry Centre*, 12(24), 34–45.
- Karunia Illahi, A., Ratnasari, E., Dewi, S.K., Biologi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A. & Surabaya, N., 2022, 'The Effect Of 2,4-D On Callus Growth Of Diospyros Discolor Willd In Media Ms In Vitro', *Lenterabio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(3), 369–377.
- Kemenag, 2019, *Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an*.
- Kerebba, N., Oyedeji, A.O., Byamukama, R. & Kuria, S.K., 2019, 'Pesticidal Activity Of Tithonia Diversifolia (Hemsl.) A. Gray And Tephrosia Vogelii (Hook F.); Phytochemical Isolation And Characterization: A Review', *South African Journal Of Botany*, 121, 366–376.
- Kusuma Dewi, Y. & Amelia Riyandari, B., 2020, 'Potensi Tanaman Lokal Sebagai Tanaman Obat Dalam Menghambat Penyebaran Covid-19', *Jurnal Pharmascience*, 07(02), 112–128.
- Lestari, E.G., 2010, 'Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan', *Jurnal Agrobiogen*, 7(1), 63–68.
- Mahadi, I., Syafi'i Dan, W. & Agustiani, S., 2015, 'Kultur Jaringan Jeruk Kasturi (Citrus Microcarpa) Dengan Menggunakan Hormon Kinetin Dan Naftalen Acetyl Acid (Naa)', *Dinamika Pertanian*, 30(1), 37–44.
- Mahadi, I., Syafi'i, W. & Sari, Y., 2017, 'Induksi Kalus Jeruk Kasturi (Citrus Microcarpa) Menggunakan Hormon 2,4-D Dan Bap Dengan Metode In Vitro', *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84–89.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., Sari, Y., Studi, P., Biologi, P., Keguruan, F. & Pendidikan, I., 2018, 'Pengaruh Pemberian Hormon 2,4-D Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Kalus Jeruk Kasturi (Citrus Microcarpa)', *Biogenesis*, 12(2), 97–101.

- Mardhiyetti, M., Syarif, Z., Jamarun, N. & Suliansyah, I., 2017, 'Pengaruh Bap (Benzil Adenin Purin) Dan Naa (Naphthalen Acetic Acid) Terhadap Eksplan Tanaman Turi (Sesbania Grandiflora) Dalam Media Multiplikasi In Vitro', *Pastura*, 5(1), 35–38.
- Mariamah, M.R.L., 2017, 'Pertumbuhan Kalus Tanaman Markisa (Passiflora Sp.) Dengan Penambahan Naphtalene Acetic Acid (Naa) Dan 6-Benzyl Amino Purine (Bap)', *Jurnal Protobiont*, 6(2), 37–41.
- Marthani, Q.K., Anggraito, Y.U. & Rahayu, E.S., 2016, 'Kalogenesis Eksplan Setengah Biji Koro Benguk (Mucuna Pruriens L.) Secara In Vitro Menggunakan Bap Dan Naa'.
- Martínez, M.E., Poirrier, P., Prüfer, D., Schulze, C., Jorquera, L., Ferrer, P., Díaz, K. & Chamy, R., 2018, 'Kinetics And Modeling Of Cell Growth For Potential Anthocyanin Induction In Cultures Of Taraxacum Officinale G.H. Weber Ex Wiggers (Dandelion) In Vitro', *Electronic Journal Of Biotechnology*, 36, 15–23.
- Mastuti, R., 2017, *Dasar-Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*, Ub Press, Malang.
- Muhsinin, S., Shahnai, F., Ahmad, T. & Marliani, L., 2021, 'Study Of Ugt73ah1 Gene Expression In Centella Asiatica L. From Tissue Culture Using Semi-Quantitative Pcr Method', *International Journal Of Pharmaceutical And Phytopharmacological Research*, 11(1), 167–172.
- Nasution, N.H. & Nasution, I.W., 2022, *Induksi Kalus Manggis (Garcinia Mangostana L.)*, Pt. Nasya Expanding Management, Pekalongan.
- Neal, Stewart.C., 2016, *Plant Biotechnology And Genetics: Principles, Techniques, And Application*, Second, John Wiley And Sons, Inc, Hoboken, New Jersey.
- Ning Tyas, K., Susanto, S., Saraswati Dewi, I., Nurul Khumaida, Dan, Meranti, J., Ipb Darmaga Bogor, K. & Besar Penelitian Dan Pengembangan Bioteknologi Dan Sumber Daya Genetik Pertanian Jln Tentara Pelajar, B., 2016, 'Organogenesis Tunas Secara Langsung Pada Pamelon (Citrus Maxima (Burm.) Merr.)', *Botanic Gardens Bulletin*, 19(1), 1–10.
- Nur Azimi Azizan, M. & Risda, 2017, 'The Effect Of Bap And Naa Treatment On Micropropagation Of Cucumis Sativus.L', *Article In International Journal Of Science And Research*, 6.
- Nyoman, N., Arieswari, N., Astarini, I.A., Putu, N., Astiti, A. & Pramana, J., 2018, 'In Vitro Callus Induction Of "Shiraz" Grape (Vitis Vinifera L.) Using Different Medium And Growth Regulator Combination', *International Journal Of Biosciences And Biotechnology*, 6(1), 25–33.
- Okello, D., Yang, S., Komakech, R., Chung, Y., Rahmat, E., Gang, R., Omujal, F., Lamwaka, A. V. & Kang, Y., 2021, 'Indirect In Vitro Regeneration Of The Medicinal Plant, Aspilina Africana, And Histological Assessment At Different Developmental Stages', *Frontiers In Plant Science*, 12.

- Pratiwi, D.R., Wening, S., Supena, N., Sediawati, R.D. & Yenni, Y., 2020, 'Kultur Jaringan Kelapa Sawit: Tantangan Dan Peluangnya', *Warta Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 25(1), 1–10.
- Putri Anjani, F., Rusmiyanto, E. & Zakiah Zulfa, 2022, 'Pertumbuhan Kultur Kalus Yang Diinduksi Dari Eksplan Hipokotil Lakum (*Causonis Trifolia* (L.) Mabb. & J.Wen) Dengan Penambahan Naa (Naphthalene Acetic Acid) Dan Bap (6-Benzyl Amino Purin)', *Buletin Kebun Raya*, 25(2), 96–102.
- Rahayu, B., Solichatun & Anggarwulan, E., 2003, 'Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Pembentukan Dan Pertumbuhan Kalus Serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha Indica* L.', *Biofarmasi*, 1(1), 1–6.
- Rahman, Nurhamidar, Fitriani, H., Rahman, Nurhaidar & Hartati, N.S., 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), 119–126.
- Ramírez-Mosqueda, M.A., Cruz-Cruz, C.A., Atlahua-Temoxtle, J. & Bello-Bello, J.J., 2019, 'In Vitro Conservation And Regeneration Of *Laelia anceps* Lindl', *South African Journal Of Botany*, 121, 219–223.
- Rasud, Y. & Bustaman, B., 2020a, 'Induksi Kalus Secara In Vitro Dari Daun Cengkeh (*Syzigium Aromaticum* L.) Dalam Media Dengan Berbagai Konsentrasi Auksin', *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72.
- Rasud, Y. & Bustaman, B., 2020b, 'Induksi Kalus Secara In Vitro Dari Daun Cengkeh (*Syzigium Aromaticum* L.) Dalam Media Dengan Berbagai Konsentrasi Auksin', *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72.
- Rasud, Y. & Bustaman, B., 2020c, 'Induksi Kalus Secara In Vitro Dari Daun Cengkeh (*Syzigium Aromaticum* L.) Dalam Media Dengan Berbagai Konsentrasi Auksin', *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72.
- Sakina, S., Anwar, S. & Florentina, K., 2019, 'In Vitro Dendrobium Orchid (*Dendrobium* Sp.) Plantlet Growth In Different Concentration Of Bap And Naa', *Jurnal Pertanian Tropik*, 6(3), 430–437.
- Salim, M.A., 2020, *Islam Dan Biologi*, Alauddin University Press, Kabupaten Gowa.
- Sapoetro, T.S., Hasibuan, R., Hariri, A.M. & Wibowo, L., 2019, 'Uji Potensi Daun Kipahit (*Tithonia Diversifolia* A. Gray) Sebagai Insektisida Botani Terhadap Larva Spodoptera Litura F. Di Laboratorium', *Jurnal Agrotek Tropika*, 7(2), 371–381.
- Sariningtias, N.W., Poerwanto, R. & Gunawan, E., 2014, *Penggunaan Benzil Amino Purin (Bap) Pada Okulasi Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*) The Use Of Benzyl Amino Purines (Bap) On Budding Mandarins*, Vol. 5, Desember.

- Sasmita, F.W., Susetyarini, E., Husamah, H. & Pantiwati, Y., 2017, 'Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Alloxan', *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 34(1), 22–31.
- Sathyanarayana, B.N. & Varghese, Dalia.B., 2007, *Plant Tissue Culture: Practices And New Experimental Protocols*, I. K. International Pvt Ltd, New Delhi, India.
- Schaller, G.E., Street, I.H. & Kieber, J.J., 2014, *Cytokinin And The Cell Cycle*, *Current Opinion In Plant Biology*, 21, 7–15.
- Setiawati, T., Ayalla, A., Witri, A. & Raya Bandung-Sumedang Km, J., 2019, *Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum Morifolium* Ramat.) Dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (Zpt)*, Vol. 3.
- Shofiyani, A., Agus, D. & Purnawanto, M., 2017, 'Pertumbuhan Kalus Kencur (*Kaemferia Galanga* L) Pada Komposisi Media Dengan Perlakuan Sukrosa Dan Zat Pengatur Tumbuh (2,4 D Dan Benzil Aminopurin)', *Agritech*, 55–64.
- Silvina, F., Isnaini, I. & Ningsih, W., 2021a, 'Induksi Kalus Daun Binahong Merah (*Basella Rubra* L.) Dengan Pe,Berian 2,4-D Dan Kinetin', *Jurnal Agro*, 8(2), 274–286.
- Silvina, F., Isnaini, I. & Ningsih, W., 2021b, 'Induksi Kalus Daun Binahong Merah (*Basella Rubra* L.) Dengan Pe,Berian 2,4-D Dan Kinetin', *Jurnal Agro*, 8(2), 274–286.
- Simangunsong, D., Djulia, E. & Gultom, T., 2022, *Tumbuhan Penghasil Pestisida Alami Di Kawasan Toba*, Yayasan Kita Menulis, Medan.
- Sipayung, P., Matanari, J., Lafau, M.B., Sulastri, Y.S., Ginting, B.B., Sihombing, D.R., Pandiangan, M. & Giawa, T., 2018, *The Effect Of Activated Charcoal Dose And Benzyl Amino Purine Concentration On The Growth Of Orchid Plantlets In Murashige And Skoog Media In Vitro*, *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science*, Vol. 205, Institute Of Physics Publishing.
- Sugiharto, S., Setiti Wida Utami, E., Nurokhman, A., Faizah, H. & Sri Wulan Manuhara, Y., 2019, *Effect Of Plant Growth Regulator And Explant Types On In Vitro Callus Induction Of Gynura Procumbens (Lour.) Merr*, Vol. 14.
- Tutthoyyibah, W., Tutthoyyibah, W., Reine Suci Wulandari & Darwati, H., 2015, 'Penambahan Auksin Dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Tunas Dan Akar Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk) Secara In Vitro In Vitro Addition Of Auxin And Cytokinin To Growth Of Sshoot And Root Of Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk)', *Jurnal Hutan Lestari*, 3(1), 43–50.
- Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E. & Setiari, N., 2019, *Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 Dari Jenis Eksplan Dan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda Secara In Vitro*.

- Wu, W., Du, K., Kang, X. & Wei, H., 2021, *The Diverse Roles Of Cytokinins In Regulating Leaf Development*, *Horticulture Research*, 8(1).
- Yaacob, J.S., Hwei, L.C., Taha, R.M., Mat Nor, N.A. & Aziz, N., 2012, 'Pigment Analysis And Tissue Culture Of *Amaranthus Cruentus* L.', *Acta Horticulturae*, 958, 171–178.
- Yanti, D. & Isda, N.M., 2021, 'Induksi Tunas Dari Eksplan Nodus Jeruk Kasturi (*Citrus Microcarpa* Bunge.) Dengan Penambahan 6 Benzyl Amino Purine (Bap) Secara In Vitro', *Biospecies*, 14(1), 53–58.
- Yüzbaşıoğlu, E., Dalyan, E., Bona, M. & Öz, G., 2012, 'In Vitro Propagation Of Endemic Plant *Centaurea Arifolia* Boiss. Taxa', *Iufs Journal Of Biology*, 71(2), 121–127.

