



**KOMBINASI KONSENTRASI HORMON 2,4-D DAN KINETIN
TERHADAP INDUKSI KALUS BERANTOSIANIN PADA
TANAMAN SELADA MERAH (*Lactuca sativa* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
NUR IFTITAH
181510501018**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2022**



**KOMBINASI KONSENTRASI HORMON 2,4-D DAN KINETIN
TERHADAP INDUKSI KALUS BERANTOSIANIN PADA
TANAMAN SELADA MERAH (*Lactuca sativa* L.)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan melengkapi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh:

**NUR IFTITAH
181510501018**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2022

PERSEMBAHAN

Segala Puji bagi Allah Subhannahu Wata'alla yang telah memberikan rahmat, nikmat, hidayah dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ayahanda Abdul Latif dan Ibunda Sartun atas segala dukungan, motivasi dan do'a-do'a yang selalu beliau panjatkan.
2. Seluruh saudara yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama ini.
3. Guru-guru sejak Taman Kanak-Kanak (TK), SD (Sekolah Dasar), SMP, SMA, hingga perguruan tinggi, atas bimbingan dan dukungannya.
4. Almamater Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

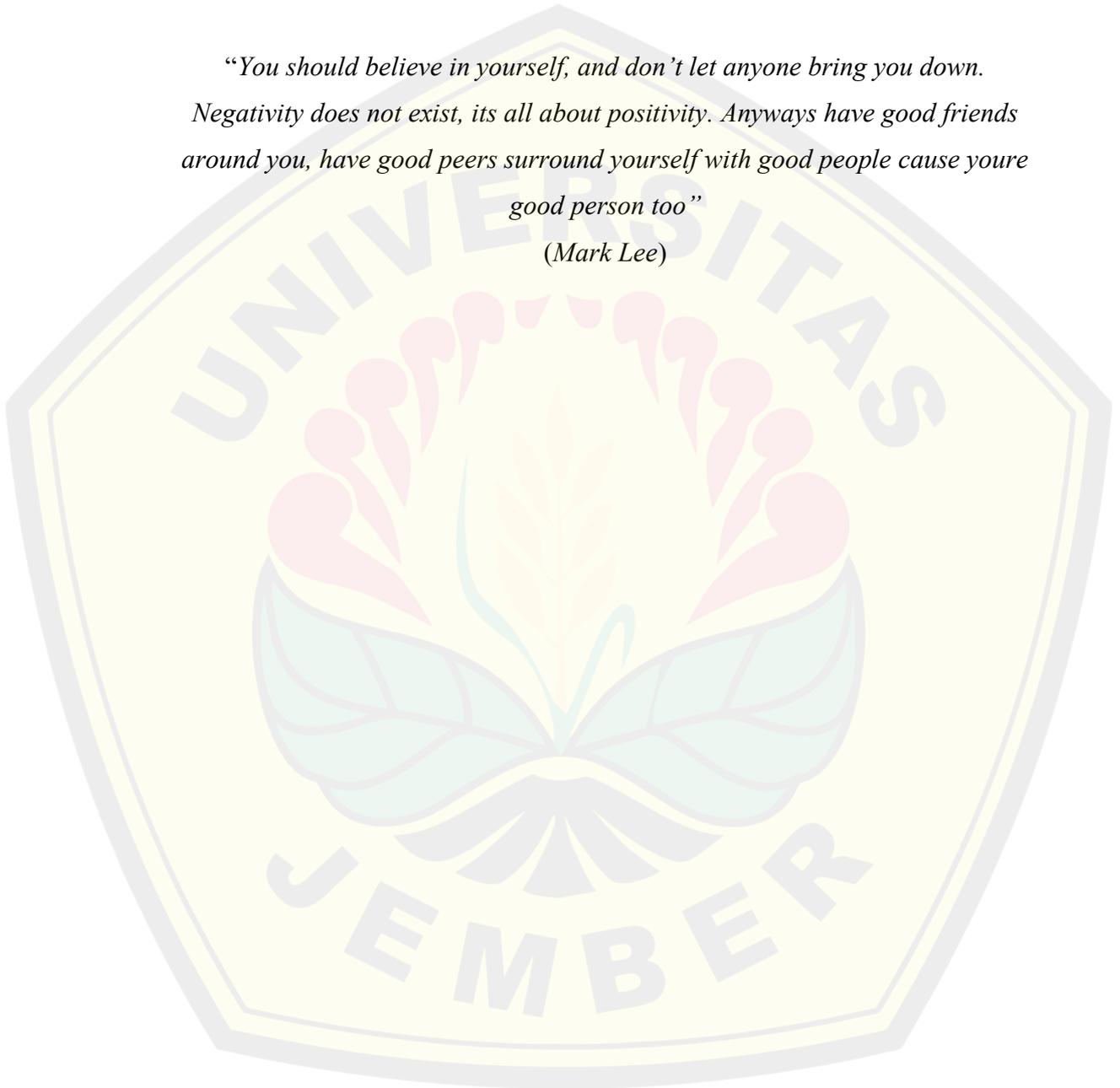
MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(Q.S Al-Mujadalah:11)

“You should believe in yourself, and don't let anyone bring you down. Negativity does not exist, its all about positivity. Anyways have good friends around you, have good peers surround yourself with good people cause youre good person too”

(Mark Lee)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Iftitah

NIM : 181510501018

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Kombinasi Konsentrasi Hormon 2,4-D dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Berantosianin Pada Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa* L.)”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Desember 2022

Yang menyatakam,

Nur Iftitah

NIM 181510501018

SKRIPSI

**KOMBINASI KONSENTRASI HORMON 2,4-D DAN KINETIN
TERHADAP INDUKSI KALUS BERANTOSIANIN PADA
TANAMAN SELADA MERAH (*Lactuca sativa* L.)**



Oleh

NUR IFTITAH

NIM 181510501018

Pembimbing :

Pembimbing Skripsi : Tri Handoyo, SP., Ph.D.
NIP 197112021998021001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Kombinasi Konsentrasi Hormon 2,4-D dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Berantosianin Pada Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa* L.)**” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Jum'at

Tanggal : 7 Oktober 2022

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Dosen Pembimbing Skripsi

Tri Handoyo, SP., Ph.D.
NIP. 197112021998021001

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Ir. Didik Puji Restanto, MS., Ph. D.
NIP. 196504261994031001

Mohammad Ubaidillah, S.Si., M. Agr., Ph. D.
NIP. 198612112019031008

Mengesahkan
Dekan

Prof. Dr. Ir. Soetriono, MP.
NIP. 196403041989021001

RINGKASAN

Kombinasi Konsentrasi Hormon 2,4-D dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Berantosianin Pada Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa* L.); Nur Iftitah, 181510501018; 2022; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Selada merah merupakan tanaman semusim komoditas hortikultura yang berwarna hijau kemerahan. Selada merah memiliki bermanfaat di bidang kesehatan karena adanya kandungan antosianin. Kandungan senyawa antosainin dapat memberikan warna dan kebutuhan obat herbal. Dalam bidang Kesehatan dan pangan kandungan antosainin dibutuhkan dengan jumlah yang tinggi sehingga dibutuhkan produksi antosainin dalam jumlah yang besar. Metode untuk memproduksi senyawa antosainin dengan jumlah yang besar dan waktu yang cepat yaitu menggunakan kultur jaringan tanaman. Penelitian yang akan dilakukan akan menggunakan jenis eksplan yang berasal dari organ vegetatif yaitu biji. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kandungan antosianin pada kalus selada merah (*Lactuca sativa* L.). Penelitian ini dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi – CDAST Universitas Jember pada bulan Februari sampai Juni Tahun 2022. Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan dua faktor yaitu kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin dengan tiga taraf, setiap taraf dari zat pengatur tumbuh dikombinasikan menjadi 9 perlakuan percobaan dan setiap perlakuan diulang 3 kali ulangan sehingga terdapat 27 unit percobaan. Data yang diperoleh, dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi konsentrasi hormon dengan konsentrasi yang seimbang yaitu 2,4-D 2 ppm + kinetin 2 ppm menunjukkan kandungan antosianin yang paling tinggi yaitu sebesar 882,26 mg/L.

Kata Kunci: 2,4-D, antosianin, kalus. kinetin dan selada merah

SUMMARY

Effect of Concentration of 2,4-D and Kinetin Hormones on Anthocyanin Callus Induction in Red Lettuce Plants (*Lactuca sativa* L.); Nur Iftitah, 181510501018; 2022; Agrotechnology Study Program; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Red lettuce is a horticultural commodity that is reddish green in color. Red lettuce has benefits in the health sector because of the anthocyanin content. The content of anthosainin compounds can provide color and the needs of herbal medicines. In the field of health and food, high amounts of anthosainins are needed, so large amounts of anthosine are needed. The method for producing anthosainin compounds in large quantities and in a fast time is using Kultur jaringan tanaman. The research that will be carried out will use the type of explant derived from the vegetative organ, namely seeds. The purpose of this study was to determine the anthocyanin content in red lettuce callus (*Lactuca sativa* L.). This research was conducted at Integrated Laboratory and Center for Technological Innovation – CDAST, University of Jember from February to June 2022. This study was designed using a Completely Randomized Design (CRD). This study used two factors, namely a combination of growth regulators 2,4-D and kinetin with three levels, each level of growth regulators was combined into 9 experimental treatments and each treatment was repeated 3 times so that there were 27 experimental units. The data obtained were analyzed using analysis of variance (ANOVA). If there is a significant difference between the treatments, the analysis will be continued with the 5% DMRT test. Based on the results of the study, it can be concluded that the combination of hormone concentrations with a balanced concentration of 2,4-D 2 ppm + kinetin 2 ppm showed the highest anthocyanin content of 882.26 mg/L.

Keywords: , 2,4-D, anthocyanin, callus, kinetin.and red lettuce.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Kombinasi Konsentrasi Hormon 2,4-D dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Berantosianin Pada Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa L.*)**” dengan baik sebagai syarat menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Soetrisno, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan dukungan dalam bentuk material maupun moral untuk penulis selama mengikuti pendidikan.
2. Bapak Drs. Yagus Wijayanto, MA, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember sekaligus dosen pembimbing akademik yang telah memberikan dukungan, bimbingan dan arahan selama masa perkuliahan dalam bentuk material maupun moral untuk penulis selama mengikuti Pendidikan.
3. Tri Handoyo, SP., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi (DPS) yang dengan penuh kesabaran dan perhatian telah membimbing dan memberi arahan serta meluangkan waktu dan pikiran dalam penulisan skripsi ini.
4. Ir. Didik Puji Restanto, MS., Ph. D. selaku dosen penguji I yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini.
5. Mohammad Ubaidillah, S.Si., M. Agr., Ph. D. selaku dosen penguji II yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini.
6. Bapak/Ibu dosen serta seluruh staf di lingkungan Fakultas Pertanian Universitas Jember atas segala ketulusan dan keikhlasannya dalam membantu penulis selama perkuliahan.

7. Teknisi Laboratorium CDAST yang telah banyak membantu kelancaran penulis dalam melakukan penelitian.
8. Ayahanda Abdul Latif, Ibunda Sartun, dan Adik Vina Rahmawati serta seluruh keluarga besar di Jawa Timur dan Papua Barat yang telah memberikan curahan kasih sayang, dukungan, motivasi, serta do'a yang tulus.
9. Rekan kerja seperjuangan Mila, Abrar, dan Ariadi yang selama ini telah bekerjasama dan memberi dukungan.
10. Kakak-kakak seperjuangan di laboratorium CDAST, yang telah memberikan arahan dan dukungan selama bekerja di laboratorium.
11. Teman seperjuangan Shiella, Merry, Shella, Amanda, Nandita, Dhanti, Fayza, Ryana, Halida, Lailin, Ajeng dan Sandra yang selalu memberikan motivasi serta dukungan selama masa perkuliahan.
12. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut serta membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca sekalian.

Jember, 1 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vi
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Selada Merah (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	3
2.2 Kultur Jaringan	3
2.3 Zat Pengatur Tumbuh	4
2.3.1 Auksin.....	5
2.3.2 Sitokinin	5
2.4 Antosianin.....	5
2.5 Hipotesis	6
BAB 3. METODE PENELITIAN	7
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	7
3.2 Persiapan Penelitian.....	7

3.3 Pelaksanaan Penelitian	7
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	7
3.3.2 Prosedur Penelitian.....	8
3.3.3 Variabel Pengamatan	10
3.4 Analisis data	11
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
4.1 Kondisi Umum Penelitian	12
4.2 Hasil Percobaan Penelitian.....	12
4.2.1 Pengaruh hormon 2,4-d dan kinetin terhadap waktu pembentukan kalus	13
4.2.2 Pengaruh hormon 2,4-d dan kinetin terhadap waktu muncul pigmen antosianin	15
4.2.3 Pengaruh hormon 2,4-d dan kinetin terhadap pigmen merah antosianin pada kalus.....	17
4.2.4 Pengaruh hormon 2,4-d dan kinetin terhadap berat segar kalus.....	19
4.2.5 Pengaruh hormon 2,4-d dan kinetin terhadap kandungan antosianin	20
4.2 Pembahasan	21
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	25
5.1 Kesimpulan.....	25
5.2 Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Kombinasi Perlakuan.....	8
Tabel 4.1	Nilai F-Hitung dari analisis ragam seluruh variabel pengamatan12	



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1	Eksplan biji selada merah.....	12
Gambar 4.2	Perlakuan 2,4-D dan Kinetin terhadap waktu pembentukan kalus	13
Gambar 4.3	Hasil pengamatan pengaruh hormon 2,4-D dan Kinetin dari semua perlakuan terhadap pembentukan kalus menggunakan mikroskop Binokular	14
Gambar 4.4	Pengaruh hormon 2,4-D dan Kinetin waktu muncul pigmen antosianin.....	15
Gambar 4.5	Hasil pengamatan pengaruh hormon 2,4-D dan Kinetin dari semua perlakuan terhadap waktu muncul pigmen antosianin menggunakan mikroskop Binokular.....	16
Gambar 4.6	Hasil pengamatan pigmen merah antosianin pertama kali muncul menggunakan Buku Pedoman Munsell Color Chart.	17
Gambar 4.7	Hasil pengamatan pigmen merah antosianin sebelum dianalisis menggunakan Buku Pedoman Munsell Color Chart	18
Gambar 4.8	Pengaruh 2,4-D dan Kinetin terhadap berat segar kalus	19
Gambar 4.9	Pengaruh 2,4-D dan Kinetin terhadap kandungan antosianin ..	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Dokumentasi Penelitian	31
Lampiran 2.	Hasil Analisis Data.....	32



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selada merah (*Lactuca sativa* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura sayuran yang dibudidayakan dengan ciri khas warna merah keunguan pada bagian daun dan bagian bawah sampai pangkal berwarna hijau muda (Idha dkk., 2018). Selada merah memiliki kandungan yang bermanfaat sebagai antioksidan kesehatan tubuh yaitu senyawa antosianin (Cheng *et al.*, 2014). Kandungan senyawa antosianin dapat dijadikan obat herbal untuk kesehatan tubuh dan antioksidan.

Antosianin adalah senyawa kimia organik yang berperan memberikan fungsi fisiologis seperti memberi warna pada tanaman dan antioksidan bagi tubuh (Priska dkk., 2018). Kebutuhan obat herbal yang mengandung antosianin tinggi dapat memberikan manfaat untuk menjaga metabolisme tubuh dan mencegah berbagai penyakit. Saat ini bahan bioaktif seperti antosianin diperoleh dari tanaman atau bagian lainya yang meliputi daun, bunga dan buah. Dalam perkembangannya untuk menghasilkan sumber bahan yang mengandung antosianin dapat dilakukan dengan Kultur jaringan Tanaman.

Kultur jaringan tanaman melakukan budidaya tanaman dilingkungan steril dengan salah satu kegiatannya menginduksi sel kalus untuk mengetahui kandungan antosianin pada tanaman selada merah. Kultur jaringan tanaman mempunyai salah satu teknologi untuk memperbanyak metabolit sekunder khususnya yang memiliki manfaat menghasilkan antosianin pada tingkat sel. Media yang dapat digunakan pada kegiatan teknik kultur jaringan adalah media MS (*Murashige dan Skoog*) yang diperlukan untuk pertumbuhan bahan tanam seperti eksplan (Siregar, 2020).

Pada media MS diberikan perlakuan kombinasi hormon untuk merangsang pertumbuhan sehingga diperlukan perlakuan pemberian atau kombinasi hormon seperti auksin dan sitokinin salah satunya 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy Acetic Acid*) dan kinetin. Pemberian kombinasi konsentrasi hormon dapat mempengaruhi kandungan antosianin, hal ini dapat diketahui dari penelitian yang dilakukan oleh Abeda *et al* (2014) bahwa perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin dapat

meningkatkan akumulasi metabolit sekunder dalam pembentukan kalus berantosianin. Induksi antosiain pada sel kalus dipengaruhi oleh komposisi media khususnya keberadaan hormon 2,4-D dan kinetin sehingga penelitian ini akan dilaksanakan tentang kombinasi hormon.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin terhadap induksi kalus kaya kadar antosianin pada selada merah?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin pada induksi kalus berantosianin selada merah (*Lactuca sativa* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terhadap peran auksin 2,4-D dan kinetin pada media untuk meningkatkan produktivitas antosianin.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selada Merah (*Lactuca sativa* L.)

Tanaman selada merupakan tanaman semusim yang berbentuk daun dan membentuk krop yang menarik dari bentuknya yang merangkai. Selada dapat tumbuh baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi dengan pencahayaan yang cukup. Terdapat beberapa tipe seperti selada krop atau selada telur, selada rapuh, selada daun dan selada batang (Haryanto dkk., 2006). Selada merah memiliki tinggi 20-30 cm dan memiliki akar tunggang serabut dan menempel pada batang. Tanaman selada merah juga dapat ditanam di dataran tinggi maupun dataran rendah. Umur tanam selada merah rata-rata 30-40 hari sampai bisa di panen daunnya.

Selada merah merupakan sayuran yang menyehatkan untuk dikonsumsi yang mengandung pigmen warna merah yaitu antosianin sebagai sumber antioksidan (Febrianto dan Kiki ., 2019). Antioksidan alami dari tanaman dapat berperan untuk menangkal radikal bebas dan mencegah serangan berbagai penyakit (Pisoschi & Negulescu, 2012). Kandungan antioksidan ini banyak dimanfaatkan pada bidang kesehatan khususnya pada pembuatan obat herbal salah satunya adalah antosianin (Priska dkk., 2018).

2.2 Kultur Jaringan

Teknik kultur jaringan (*Tissue culture*) merupakan teknik menumbuhkan tanaman yang menggunakan bahan tanam seperti jaringan atau bagian tanaman yang ditumbuhkan pada kondisi steril (Anitasari dkk., 2018). Kultur jaringan dapat bermanfaat untuk melestarikan dan memperbanyak genotip tanaman seperti induknya. Selain itu manfaat kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang singkat, namun memiliki sifat dan kualitas yang sama. Kultur jaringan memiliki dasar berupa totipotensi. Prinsip totipotensi dengan menggunakan bagian tanaman asal yang ditumbuhkan, akan dapat tumbuh sesuai pada sifat dengan regenerasi menjadi tanaman yang lengkap (Fehér, 2019). Tahapan kultur jaringan meliputi kegiatan inisiasi, multiplikasi, induksi akar dan

aklimatisasi. Inisiasi meliputi persiapan dan sterilisasi eksplan agar terbebas dari kontaminasi. Multiplikasi adalah tahapan perbanyakkan eksplan dengan subkultur yang dilakukan secara berulang untuk mempertahankan stok bahan tanaman. Pengakaran sebagai tahap akhir sebelum planlet dipindahkan ke konsisi luar. Sedangkan tahapan aklimatisasi merupakan pemindahan dan adaptasi planlet yang sebelumnya pada kondisi *in vitro* ke kondisi luar (Kurnianingsih dkk., 2020). Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa factor seperti eksplan yang digunakan, media, zat pengatur tumbuh, dan kondisi lingkungan. Eksplan merupakan bagian atau organ tanaman yang diambil dengan ukuran mikroskopik sebagai bahan tanam. Sumber eksplan yang digunakan dapat berupa daun, akar, batang, bunga, akar, keping biji yang sudah disterilisasi (Shofiyani dan Neni., 2015).

Media juga berperan penting dalam keberhasilan kultur jaringan. Media merupakan sumber nutrisi sebagai regenerasi eksplan dan multiplikasi. Media berupa padatan gel seperti agar dan media cair berupa nutrisi yang dilarutkan. Seringkali media juga diberikan nutrisi tambahan berupa vitamin atau senyawa lain untuk membantu regenerasi yang dibutuhkan oleh tanaman (Karjadi dan Buchory A., 2008). Media MS (*Murasage & Skoog*) merupakan jenis media dengan formula yang sering digunakan pada teknik kultur jaringan. Media MS memiliki kandungan komposisi nutrisi yang lengkap sehingga mendukung perkembangan dan pertumbuhan eksplan (Mahadi dkk., 2016). Pada media MS juga cocok ditambahkan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokonin sebagai perangsang pertumbuhan dan deferensiasi eksplan dengan kombinasi konsentrasi.

2.3 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan salah satu senyawa sintesis yang dapat mempengaruhi proses fisiologi pada tanaman. ZPT sebagai hormon tumbuh yang dapat mempengaruhi regenerasi tanaman melalui pembelahan sel, pembesaran sel dan deferensiasi. Jenis ZPT yang sering digunakan pada teknik kultur jaringan seperti auksin, sitokinin. Auksin dan sitokinin sering kali digunakan pada penelitian untuk menginduksi kalus secara *in vitro* (Busaifi dkk., 2021). Pemanfaatan zat

pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang dikombinasikan pada kultur kalus secara *in vitro* akan meningkatkan akumulasi metabolit sekunder seperti munculnya pigmen warna merah yaitu antosianin (Wonganu, 2007).

2.3.1 Auksin

Auksin merupakan senyawa yang berperan dalam pertumbuhan tanaman dengan kemampuannya melakukan diferensial fisiologis pada tanaman seperti merangsang pertumbuhan akar (Zhao, 2010). Auksin memiliki beberapa jenis antara lain 2,4-d, IAA, IBA, dan NAA. Penambahan auksin pada kultur jaringan dapat berfungsi untuk memacu pembentukan fitohormon yang tersedia secara alami pada tanaman sehingga tanaman dapat memproduksi fitohormon secara baik. Salah satu hormon auksin yang sering digunakan dalam penelitian kultur jaringan *in vitro* khususnya penginduksian kalus yaitu 2,4-D. Hormon 2,4-D merupakan golongan auksin sintesis tunggal yang aktivitasnya dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel eksplan sehingga memacu pertumbuhan kalus.

2.3.2 Sitokinin

Sitokinin merupakan golongan senyawa pengatur tumbuh yang berperan dalam proses pembelahan sel serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Hariadi dkk., 2019). Sitokinin berfungsi untuk memacu factor pembelahan sel dan pembentukan tunas jaringan tanaman, namun cenderung menghambat pertumbuhan akar. Sitokinin mempunyai sifat didegradasi oleh enzim sehingga memiliki daya rangsang yang lebih kuat dan tahan lama, serta lebih efektif digunakan untuk menginduksi sel kalus (Huda dkk., 2020). Beberapa macam sitokinin seperti kinetin, zeatin, BAP, 2iP dan TDZ. Menurut Abeda *et al.*, (2014) kandungan kinetin dapat merangsang pertumbuhan kalus berantosianin pada kalus.

2.4 Antosianin

Antosianin merupakan golongan pigmen alami berupa zat berwarna merah sampai biru yang terdapat pada tanaman (Lestari dkk., 2019). Antosianin sebagai turunan senyawa polifenol yang tersebar di berbagai jenis tumbuhan dan memiliki peran fisiologis. Kandungan senyawa antosianin biasanya terdapat di berbagai tanaman seperti selada merah, bayam, beras hitam, kol merah, kembang kol, dll.

Selain itu, buah-buahan jenis beri-berian dan beberapa jenis bunga juga memiliki kandungan antosianin. Antosianin sebagai pewarna alami yang memiliki pigmen yang beraneka ragam. Kestabilan pigmen warna antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, cahaya, dan kadar oksigen (Sumanti dkk., 2010).

Antosianin sebagai golongan senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai penghambat dan mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas. Aktivitas antioksidan pada berperan terhadap efek kesehatan yang potensial (Kuspardini dkk., 2016). Antioksidan bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis untuk mencegah resiko penyakit seperti kardiovaskular, diabetes, radang sendi dan kanker (Miguel, 2011). Antosianin yang diproduksi secara alami oleh tumbuhan memiliki potensi yang tinggi serta banyak dimanfaatkan oleh industri makanan sebagai bahan tambahan makanan (BTM) pewarna alami dan bidang farmasi sebagai obat herbal (Badria and Anthony., 2010). Pigmen warna alami yang berpotensi sebagai pewarna alami memiliki kandungan antosianin dapat bermanfaat sebagai sumber konsumsi pengobatan (Ngete dkk., 2020). Berdasarkan (Nomer dkk, 2019) menyatakan bahwa antosianin merupakan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dan memberikan pigmen warna seperti ungu, merah, orange dan biru. Senyawa flavonoid yang memiliki peran sebagai antioksidan seperti antosianin yang mengandung glikosida dapat mencegah pertumbuhan sel kanker (Nirwan dan Sandra., 2005).

2.5 Hipotesis

Terdapat interaksi antara perlakuan kombinasi hormon dengan pertumbuhan kalus berantosianin pada selada merah (*Lactuca sativa* L.).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Januari sampai dengan Juni 2022, bertempat di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi – CDAST Universitas Jember.

3.2 Persiapan Penelitian

Bahan tanam yang digunakan pada penelitian ini adalah benih selada merah (Red Letuce). Bahan media tanam dan analisis meliputi media MS, 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetid acid*), kinetin, sukrosa, agar, dan bahan pendukung lainnya seperti aquades, alkohol 70%, etanol 70%, Natrium hipoklorit 1,2%, spirtus, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, KCl, sodium nitrat, ependof, wrap plastik, dan kertas label.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi LAF (*Laminar Air Flow Cabinet*), gelas ukur, micropipet, bunsen, petridish, peralatan diseksi, *hand sprayer*, pengaduk, gelas bekertre, erlenmeyer, neraca digital, *pH meter*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *autoclave*, sentrifugasi, *vortex*, *dry block*, lemari pendingin, dan *microtip*, *microwave*, dan *spectofotometer*.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D dan faktor kedua yaitu kinetin. Penelitian dilakukan dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan dari konsentrasi kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin yang berbeda.

Faktor D 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetid acid*)

D1 = 1 ppm

D2 = 2 ppm

D3 = 3 ppm

Faktor K (*Kinetin*)

K1 = 1 ppm

K2 = 2 ppm

K3 = 3 ppm

Berdasarkan perlakuan yang diterapkan maka didapat 9 kombinasi perlakuan, dan setiap perlakuan akan diulang 2 kali sehingga akan diperoleh 18 unit satuan percobaan.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan

	K1	K2	K3
D1	D1K1	D1K2	D1K3
D2	D2K1	D2K2	D2K3
D3	D3K1	D3K2	D3K3

Keterangan: D = hormon 2,4-D, K = hormon kinetin

3.3.2 Prosedur Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Ruang

Sterilisasi alat dimulai dengan membersihkan alat-alat terlebih dahulu menggunakan sabun cuci atau detergen dan dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan. Setelah kering, alat-alat dibungkus menggunakan plastik atau aluminium foil untuk selanjutnya dilakukan autoclave pada suhu 121°C selama 90 menit. Setelah dilakukan autoclave, alat-alat dikeringkan menggunakan oven untuk menghilangkan embun air yang tersisa. Sterilisasi ruangan LAF dilakukan dengan menyemprot alcohol 70% dan dibersihkan dengan tisu, setelah itu dilakukan penyinaran UV secara tertutup dan ditutup lagi dengan kain hitam selama 30 menit sebelum ruangan digunakan.

b. Pembuatan Media

Media induksi kalus dengan sedikit modifikasi. Pembuatan media induksi dilakukan dengan menimbang bahan-bahan seperti MS basal 4,43 g/L, 1 g/L sukrosa, 1,1 g/L agar menggunakan neraca analitik dan kemudian dimasukkan pada gelas ukur kecuali agar, kemudian ditambahkan aquades dan ditambahkan zat pengatur tumbuh sesuai konsentrasi yaitu kombinasi 2,4-D dan kinetin kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Media yang telah dibuat diukur pHnya menggunakan pH meter hingga menunjukkan angka 5,7. Jika pH kurang

dari 5,7 ditambahkan NaOH, akan tetapi jika pH lebih dari 5,7 ditambahkan HCl. Setelah itu, larutan media dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan agar kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan di oven. Setelah larutan media di autoclave pada suhu 121°C selama 90 menit. Media yang sudah steril dituang ke dalam petridish yang dilakukan di dalam LAF. Kemudian petridish ditutup dengan plastik wrap untuk mencegah kontaminasi dan disimpan di rak inkubasi selama 7 hari sebelum digunakan.

c. Sterilisasi Eksplan

Eksplan pada penelitian ini menggunakan biji yang disterilisasi dengan perlakuan perendaman etanol 70% selama 1 menit, dibilas dengan larutan hipoklorit 1,2% selama 12 menit, kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali dan biji dikeringkan menggunakan kertas filter atau kertas saring steril.

d. Penanaman Eksplan

Eksplan yang telah disterilisasi kemudian ditanam ke dalam cawan petri pada media kombinasi yang telah dibuat di dalam LAF kemudian di letakkan pada ruang kultur dengan kondisi gelap. Setiap petridish diisi dengan 10 eksplan selada merah yang diulangi sebanyak 3 kali disetiap perlakuan. Eksplan yang telah ditanam selanjutnya diinkubasi dalam ruang kultur dalam kondisi gelap.

e. Pemeliharaan Kalus

Pemeliharaan eksplan kalus selada merah dilakukan dengan menjaga kondisi ruang kultur pada suhu 24°C pada kondisi gelap. Kondisi subkultur penumbuhan kalus berantosianin dilakukan selama 6 minggu kemudian dilakukan pengambilan kalus untuk dilakukannya ekstraksi dan analisis antosianin.

f. Analisis Kandungan Antosianin

Analisis kandungan antosianin diawali dengan mengekstraksi 0,1 gram kalus segar. Kalus kemudian di haluskan dengan larutan etanol 70%. Kalus yang telah di haluskan disentrifugasi selama 10 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm, kemudian supernatant diambil dan diletakkan pada *dry blok* pada suhu 45°C hingga cairan berkurang. Cairan kemudian dicairkan menggunakan etanol dan dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama diencerkan dengan KCL pH 1,0 dan bagian kedua diencerkan menggunakan sodium asetat pH 4,5. Semua sampel

divortex kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Sampel kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer pada gelombang 520nm dan 720nm. Kandungan antosianin dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 1000)}{(l \times \epsilon)}$$

Keterangan:

- A : (A_{520nm} – A_{700nm}) pH 1,0 – (A_{520nm} – A_{700nm}) pH 4,5
 MW : Bobot molekul
 DF : Faktor pengenceran
 l : Tebal kuvet (1 cm)
 (ε) : Koefisien ekstinggi molar sebesar 29.600 (Lee *at al.*, 2005)

3.3.3 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Waktu pembentukan kalus (hari)

Pengamatan munculnya kalus dilakukan setelah kultur eksplan hingga munculnya kalus pertama kali yang divisualisasi menggunakan mikroskop binocular.

b. Waktu Muncul Pigmen Antosianin (hari)

Pengamatan munculnya warna merah pada kalus dilakukan pada saat warna merah pertama kali muncul dan sebelum dilakukan analisis menggunakan mikroskop binocular.

c. Pigmen Merah Antosianin Pada Kalus (hari)

Pengamatan warna kalus diamati pada saat munculnya warna merah pada kalus dan pada saat pemanenan kalus sebelum kalus diekstraksi. Pengamatan kalus diamati menggunakan *Munsell Color Chart*. Hasil pengamatan kalus disajikan dalam bentuk deskriptif.

b. Berat segar kalus (gram)

Pengamatan berat segar kalus dilakukan dengan menimbang kalus pada neraca analitik untuk mengetahui berapa berat kalus yang terbaik. Pengamatan dilakukan sebelum kalus diekstraksi pada saat pemanenan kalus.

d. Kandungan antosianin (mg/L)

Analisis kandungan antosianin dilakukan menggunakan *spektrofotometer* pada gelombang 520nm dan 700nm. Hasil absorbansi digunakan sebagai data untuk menghitung total kandungan antosianin.

3.4 Analisis data

Percobaan pada penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu 2,4-D dan kinetin. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam ANOVA. Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Umum Penelitian

Pada penelitian ini tanaman selada merah yang digunakan sebagai eksplan yaitu biji selada merah varietas Arista. Eksplan biji yang digunakan adalah biji yang tenggelam saat direndam karena mengindikasikan bahwa benih berkualitas baik. Eksplan ditanam pada media *Murishage and Skoog* (MS) dengan menambahkan zat pengatur tumbuh yaitu 2,4-D dan kinetin dengan 9 perlakuan kombinasi. Eksplan yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Eksplan biji selada merah

4.2 Hasil Percobaan Penelitian

Rangkuman nilai F-hitung dari hasil ragam pengaruh kombinasi konsentrasi 24-D dan kinetin terhadap seluruh variabel pengamatan dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 4.1 Rangkuman hasil analisis ragam (F-hitung) pada semua variabel pengamatan

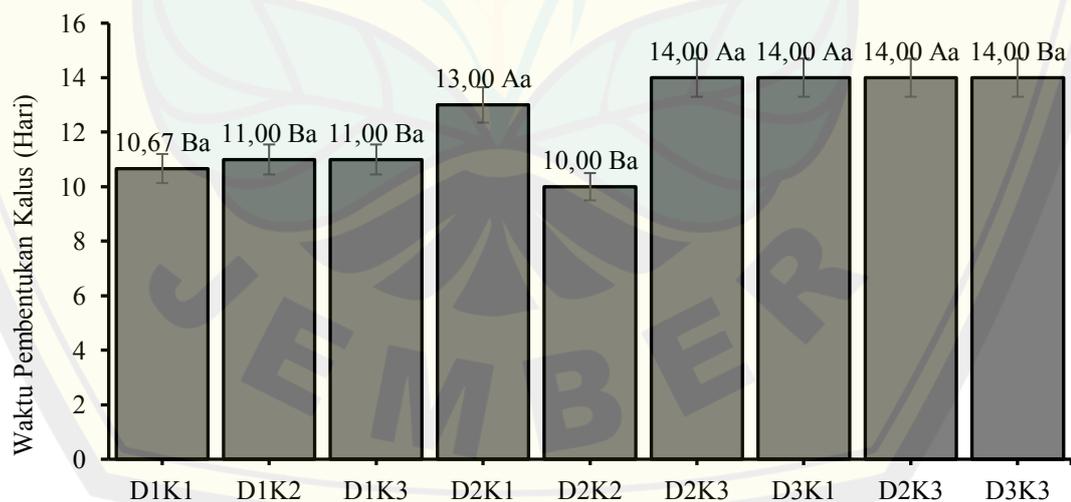
No	Variabel Pengamatan	F-Hitung		
		Konsentrasi 2,4-D (D)	Konsentrasi Kinetin (K)	Interaksi (D x K)
1	Waktu pembentukan kalus	58,90**	11,20**	12,10**
2	Waktu Muncul Pigmen Antosianin	31,00**	13,00**	8,50**
3	Pigmen Merah Antosianin Pada Kalus	Analisis dengan <i>munsel color</i>		
4	Berat Segar Kalus	11,09**	6,06**	12,18**
5	Kandungan Antosianin	6,22*	18,13**	31,03**

Keterangan: * = Berbeda nyata, ** Berbeda sangat nyata, ^{ns} = Berbeda tidak nyata

Berdasarkan hasil analisis ragam pada Tabel 4.1 menunjukkan masing-masing dua faktor tunggal konsentrasi hormon 2,4-D dan konsentrasi kinetin serta kombinasi perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata pada variabel waktu pembentukan kalus, waktu pigmen antosianin muncul, berat segar kalus. Faktor tunggal konsentrasi 2,4-D memberikan hasil yang berbeda nyata pada variabel kandungan antosianin pada kalus serta pada factor tunggal kinetin dan interaksi memberikan hasil yang berbeda sangat nyata. Variabel warna kalus dilakukan analisis dengan *Munsell Color Chart*. Hasil F-hitung yang berbeda nyata selanjutnya dihitung dengan uji lanjut Duncan atau DMRT dengan taraf kepercayaan 95%.

4.2.1 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin terhadap waktu pembentukan kalus

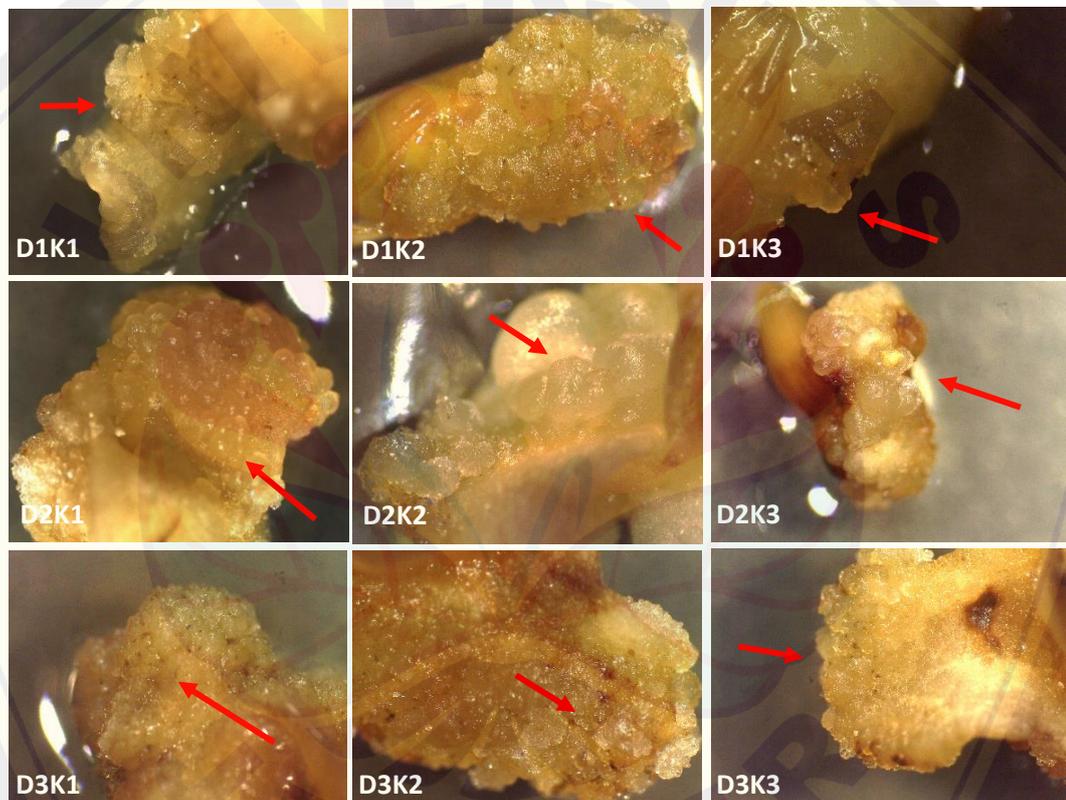
Indikator waktu pembentukan kalus pada teknik kultur jaringan tanaman ditandai dengan munculnya butiran putih kecil pada eksplan yang telah dilakukan pengamatan pada hari ke tujuh setelah tanam dan dilakukan setiap harinya. Berikut parameter hasil pengamatan waktu pembentukan kalus menggunakan uji DMRT taraf 5%. Adanya parameter ini untuk mengetahui interaksi terbaik dari kombinasi perlakuan 2,4-D dan kinetin terhadap waktu pembentukan kalus tanaman selada merah serta disajikan dalam Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Perlakuan 2,4-D dan kinetin terhadap waktu pembentukan kalus

Berdasarkan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa waktu pembentukan kalus tercepat terdapat pada perlakuan kombinasi D2K2 dengan rata-rata pada hari ke-10

setelah tanam. Sedangkan perlakuan kombinasi D2K3, D3K1, D3K2, dan D3K3 menunjukkan kemunculan kalus terlama dengan rata-rata muncul pada hari ke-14 HST. Perlakuan kombinasi D1K1 membentuk kalus selama 10,67 hari setelah tanam. Perlakuan D1K2 dan D1K3 membentuk kalus selama 11 hari setelah tanam. Perlakuan D2K1 membentuk kalus pada hari ke-13 setelah tanam. Pemberian perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin mengakibatkan terjadi interaksi terhadap waktu cepat lamanya pembentukan kalus. Selain itu pemberian ZPT dengan konsentrasi yang seimbang akan mempengaruhi proses pembentukan eksplan menjadi kalus. Pembentukan kalus dalam parameter ini disajikan dalam Gambar 4.3.



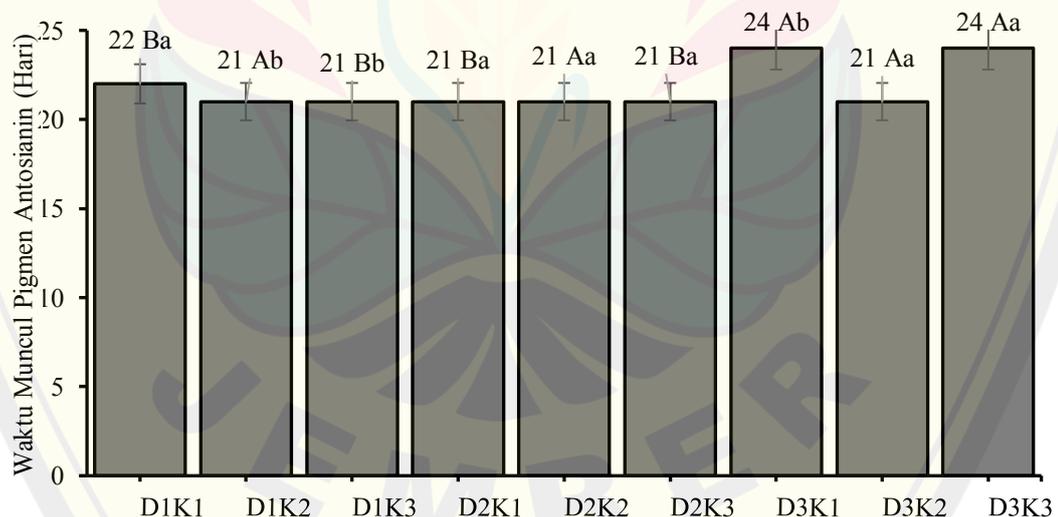
Gambar 4.3 Hasil pengamatan pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin dari semua perlakuan terhadap pembentukan kalus menggunakan mikroskop

Berdasarkan gambar 4.3 menunjukkan awal kemunculan kalus pada setiap perlakuan. Kedinian kalus yang muncul pada setiap perlakuan yang berbeda-beda tergantung kemampuan eksplan dalam menyerap unsur hara. Kalus yang pertama kali muncul akan menunjukkan bulatan-bulatan kecil yang berwarna putih pada

permukaan eksplan. Waktu pembentukan kalus ditentukan dengan perhitungan rata-rata hari yang dibutuhkan eksplan untuk membentuk kalus.

4.2.2 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin terhadap waktu muncul pigmen antosianin

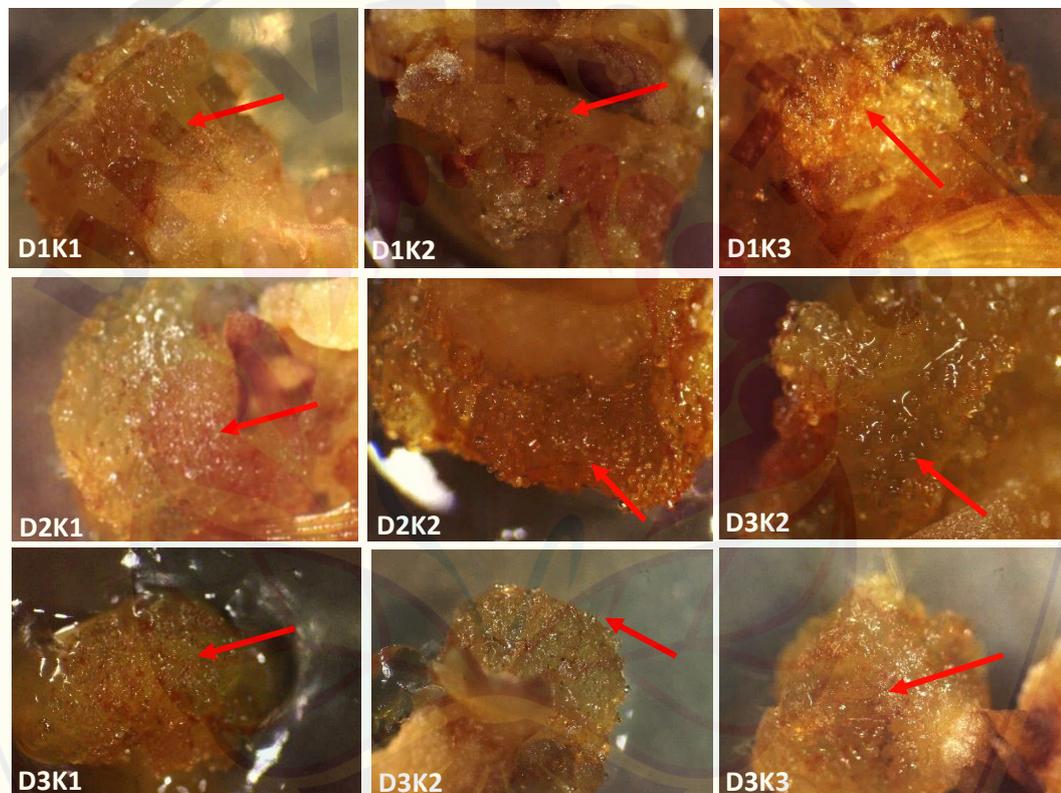
Indikator munculnya warna merah pada kalus ditandai dengan adanya bercak warna merah muda sampai merah pada permukaan kalus. Munculnya pigmen antosianin pada kalus tanaman menunjukkan adanya indikasi kandungan antosianin. Pengamatan kedinian munculnya pigmen antosianin pada kalus tanaman selada merah dilakukan pada minggu ke 3 menggunakan mikroskop Binokular. Kalus dari setiap eksplan yang telah dilakukan pengamatan kemudian dijumlahkan dan dirata-rata untuk mengetahui hasil terbaik kedinian munculnya pigmen antosianin dari kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin terhadap kalus tanaman selada merah. Adanya parameter ini untuk mengetahui interaksi terbaik dari kombinasi perlakuan 2,4-D dan kinetin terhadap kedinian munculnya pigmen antosianin pada kalus tanaman selada merah serta disajikan dalam Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin waktu muncul pigmen antosianin

Berdasarkan gambar 4.4 menunjukkan bahwa waktu munculnya pigmen antosianin kalus tercepat terjadi pada beberapa perlakuan yaitu D1K2, D1K3, D2K1, D2K2, D2K3, dan D3K2 pada hari ke-21 setelah tanam. Kemunculan

pigmen antosianin pada kalus terlama ditunjukkan oleh perlakuan D3K1 dan DK3K3 pada hari ke-24 setelah tanam. Perlakuan D1K1 menunjukkan kemunculan pigmen antosianin pada kalus selama 22 hari setelah tanam. Pemberian perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin mengakibatkan terjadi interaksi terhadap waktu munculnya pigmen antosianin yang ditandai dengan kemunculan pigmen antosianin pada kalus. Pemberian ZPT dengan konsentrasi yang seimbang akan mempengaruhi proses metabolit sekunder sehingga akan menghasilkan perubahan fisiologi pada kalus tanaman. Kemunculan pigmen antosianin pada kalus disajikan dalam Gambar 4.5.

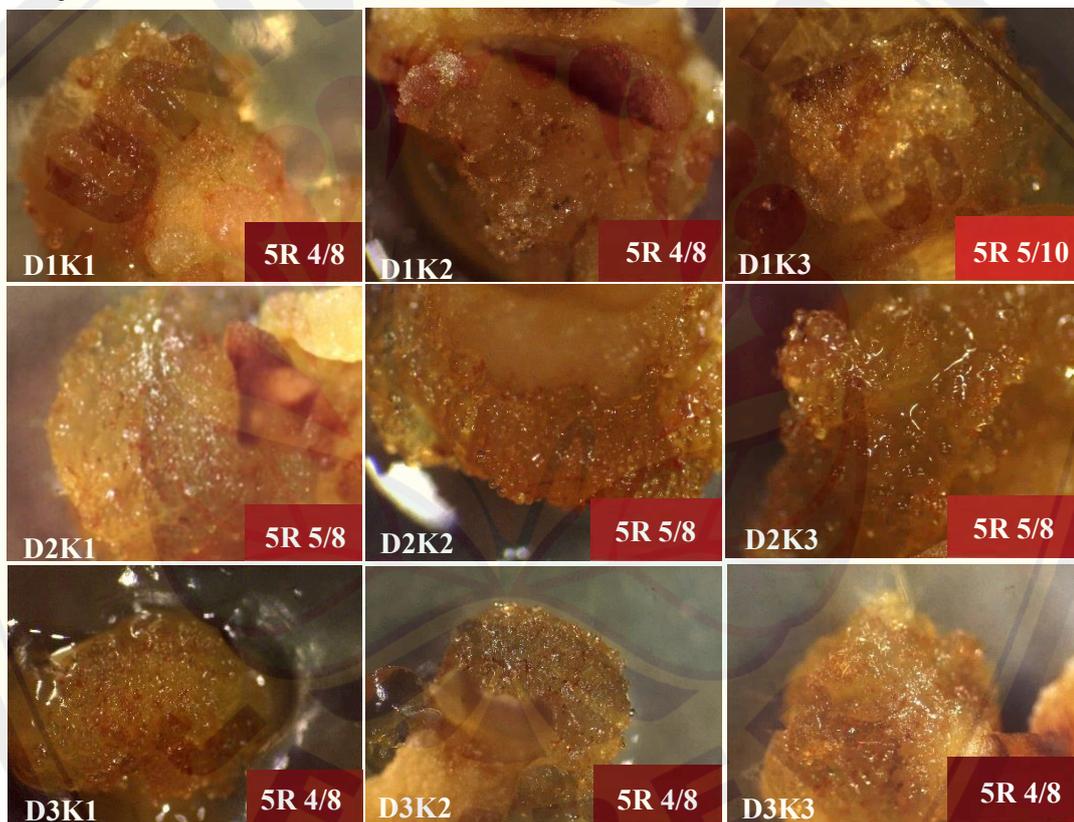


Gambar 4.5 Hasil pengamatan pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin dari semua perlakuan terhadap waktu muncul pigmen antosianin menggunakan mikroskop

Berdasarkan Gambar 4.5 menunjukkan bahwa kediniannya munculnya pigmen antosianin pada kalus ditandai dengan munculnya bercak warna merah yang muncul pada kalus setelah kalus terbentuk. Kediniannya pigmen antosianin pada kalus yang muncul ditentukan dengan perhitungan rata-rata jumlah hari yang dibutuhkan kalus untuk memunculkan pigmen warna merah.

4.2.3 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin terhadap pigmen merah antosianin pada kalus

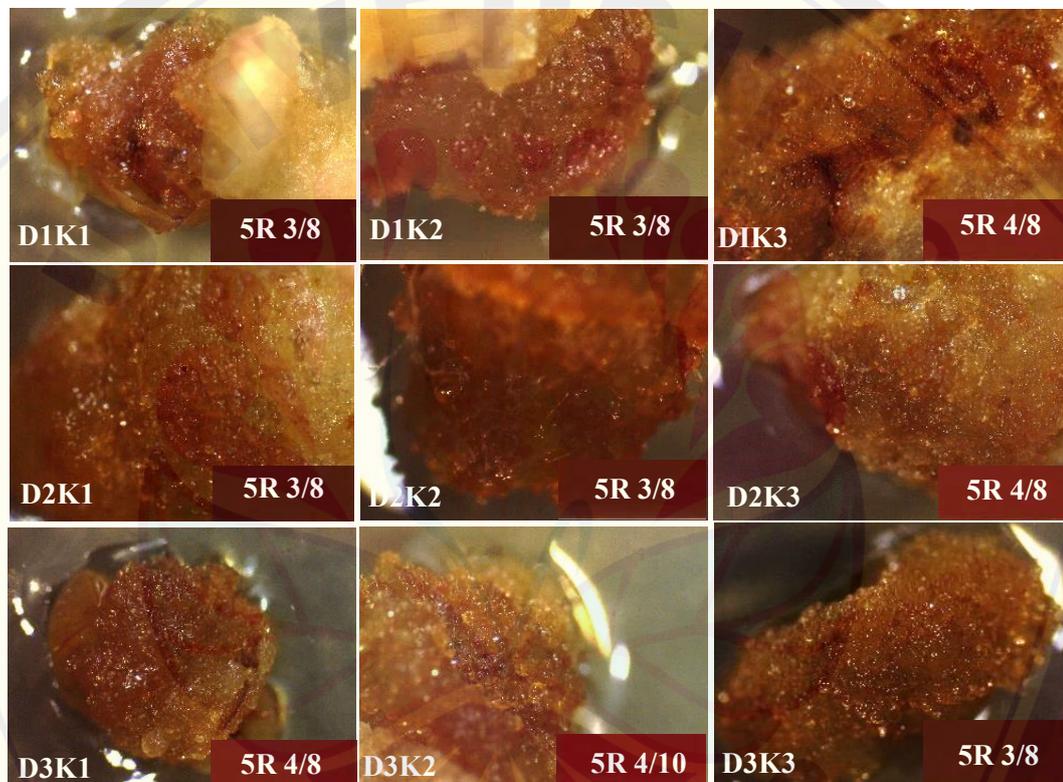
Pengamatan pigmen merah antosianin pada kalus dilakukan pada saat pertama pigmen warna merah muncul dan pada saat kalus akan dipanen untuk dianalisis kandungan antosianinnya. Pengamatan pigmen merah antosianin pada kalus dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokular dengan cara mengambil warna kemudian mencocokkan warna berdasarkan buku pedoman *Munsell Color Chart*. Hasil yang ditampilkan merupakan hasil pengamatan dari setiap perlakuan. Pigmen merah antosianin pada kalus menunjukkan hasil yang berbeda-beda disetiap perlakuan. Pigmen warna merah saat pertama kali muncul disajikan dalam Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil pengamatan pigmen merah antosianin pertama kali muncul menggunakan Buku Pedoman *Munsell Color Chart*

Berdasarkan hasil pengamatan awal munculnya pigmen merah antosianin pada Gambar 4.6 perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin yang berbeda menunjukkan tingkatan warna yang berbeda. Munculnya pigmen warna merah pada kalus menjadi indikator adanya kandungan antosianin pada kalus selada merah.

Kalus yang memunculkan memunculkan bercak-bercak warna merah pada perlakuan D1K3 yaitu 5R 5/10, sedangkan perlakuan D2K1, D2K2 dan D3K1 yaitu 5R 5/8, dan pada perlakuan D1K1, D1K2, D3K1, D3K1, D3K2, D3K3 menunjukkan hasil paling dominan 5R 4/8. Pemberian kombinasi konsentrasi ZPT menimbulkan interaksi munculnya pigmen warna merah sehingga terjadi peningkatan warna menjadi lebih pekat. Munculnya kepekatan pigmen warna merah menandakan adanya indikasi kandungan antosianin yang tinggi pada kalus tanaman selada merah. Pengamatan pigmen merah antosianin pada kalus sebelum dianalisis disajikan dalam Gambar 4.7.



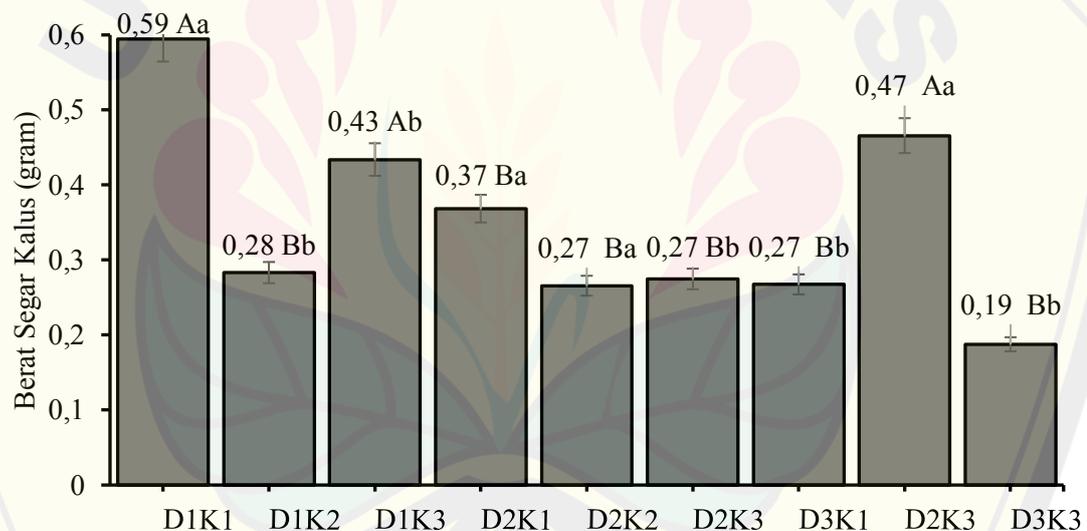
Gambar 4.7 Hasil pengamatan pigmen merah antosianin sebelum dianalisis menggunakan Buku Pedoman *Munsell Color Chart*

Berdasarkan hasil pengamatan pigmen warna merah antosianin sebelum dianalisis pada Gambar 4.7 perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin yang berbeda menunjukkan warna kalus yang berbeda. Pigmen warna merah pada kalus menjadi lebih merah gelap yang menunjukkan adanya kandungan antosianin tinggi. Pada perlakuan D1K1, D1K2, D2K1, dan D3K3 menunjukkan hasil yang dominan sama yaitu 5R 3/8, sedangkan perlakuan D2K2 menunjukkan hasil yaitu 5R 3/10.

Pada perlakuan D1K3, D2K3, dan D3K1 menunjukkan hasil yang sama yaitu 5R 4/8. Sedangkan pada perlakuan D3K2 menunjukkan hasil yaitu 5R 4/10.

4.2.4 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin terhadap berat segar kalus

Berat segar kalus diukur pada tahapan pemanenan diakhir pengamatan sebelum kalus dianalisis antosianin. Pemanenan kalus dilakukan dengan mengambil kalus kemudian dimasukkan ke ependof dan diukur beratnya. Parameter ini dilakukan untuk mengetahui respon terbaik terhadap perlakuan kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin terhadap berat kalus disetiap perlakuan. Interaksi hormon 2,4-D dan kinetin memiliki hasil yang berbeda sangat nyata terhadap berat kalus selada merah. Adanya parameter berat kalus untuk mengetahui interaksi terbaik dari perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin terhadap berat kalus tanaman selada merah serta yang disajikan dalam Gambar 4.6.

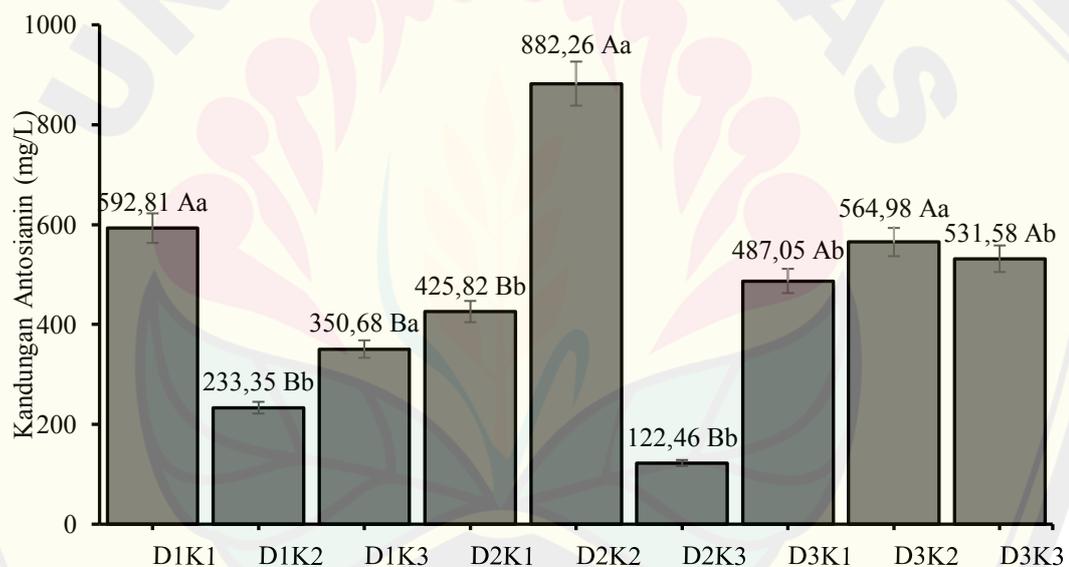


Gambar 4. 8 Perlakuan 2,4-D dan kinetin terhadap berat segar kalus.

Berdasarkan Gambar 4.8 menunjukkan bahwa kalus memiliki berat terbesar dengan rata-rata 0,59 gram pada perlakuan kombinasi konsentrasi D1K1. Sedangkan berat kalus dengan rata-rata terendah ditunjukkan oleh perlakuan D3K3 sebesar 0,19 gram. Perlakuan D1K2 memiliki berat segar kalus sebesar 0,28 gram.

4.2.5 Pengaruh hormon 2,4-D dan kinetin terhadap kandungan antosianin

Indikator kandungan antosianin dilakukan dengan menganalisis kalus selada merah yang telah dipanen dan diukur. Analisis kandungan antosianin dilakukan dengan mengekstraksi sampel kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 520nm dan 700nm. Spektrofotometer akan menunjukkan hasil absorbansi dari yang digunakan untuk menghitung total antosianin pada kalus dengan satuan mg/L. Pada hasil F-hitung uji Anova menunjukkan bahwa interaksi hormon 2,4-D dan kinetin memiliki hasil yang berbeda sangat nyata terhadap rerata kandungan antosianin pada perlakuan yang berbeda. Pemberian perlakuan kombinasi 2,4-D dan kinetin dapat menghasilkan kandungan antosianin paling tinggi 882,26 mg/L pada kalus selada merah. Hasil interaksi 2,4-D dan Kinetin terhadap semua perlakuan disajikan pada Gambar 4.7.



Gambar 4. 9 Pengaruh 2,4-D dan kinetin terhadap kandungan antosianin.

Berdasarkan Gambar 4.9 di atas menunjukkan bahwa kandungan kalus dari induksi kalus tanaman selada merah yang diberikan perlakuan 2,4-D dan Kinetin menghasilkan interaksi kandungan antosianin tertinggi sebesar 882,26 mg/L yang ditunjukkan oleh perlakuan D2K2. Interaksi kombinasi ZPT terhadap kandungan antosianin terendah ditunjukkan oleh perlakuan D2K3 sebesar 122,46 mg/L. kalus memiliki berat segar terbesar dengan rata-rata 0,59 gram pada perlakuan kombinasi konsentrasi D1K1. Sedangkan berat segar kalus dengan rata-rata terendah

ditunjukkan oleh perlakuan D3K3 sebesar 0,19 gram. Perlakuan D1K2 memiliki berat segar kalus sebesar 0,28 gram.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil analisa penelitian, interaksi antara pemberian kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D dan kinetin terhadap waktu pembentukan kalus menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Pemberian hormon dengan konsentrasi yang berbeda juga menyebabkan interaksi terhadap variabel waktu pembentukan kalus, waktu munculnya pigmen antosianin pada kalus, pigmen warna merah antosianin pada kalus, berat segar, kalus dan kandungan antosianin pada kalus tanaman selada merah. Pemberian kombinasi konsentrasi hormon 2,4-D dan kinetin pada media sebagai nutrisi serapan eksplan akan merangsang cepatnya pembelahan sel pada jaringan ekplan (Melisa, 2018).

Berdasarkan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa pemberian 2,4-D dan kinetin berpengaruh nyata terhadap waktu pembentukan kalus. Kalus lebih cepat muncul terhadap perlakuan kombinasi 2,4-D 2 ppm dan kinetin 2 ppm dibandingkan perlakuan lainnya dengan rerata waktu muncul 10 hari setelah tanam. Pemberian konsentrasi auksin 2 ppm pada MS akan dapat menstimulasi sel kalus untuk aktif membelah (Ariati dkk., 2013). Selain itu modifikasi MS dengan konsentrasi 2 ppm sitokinin akan mampu mempercepat induksi kalus (Indah & Dini, 2013). Pemberian hormon yang seimbang akan mampu mendorong kemampuan sel lebih aktif membelah, akan tetapi jika pemberian hormon sitokinin lebih banyak akan menghambat pertumbuhan sel kalus sehingga memunculkan sel tunas dan poliferasi pada saat sel aktif membelah (Nurhanifah dkk., 2021). Pemberian hormon auksin 2,4-D pada media dapat menstimulasi pembelahan sel sehingga menyebabkan pembentukan jaringan kalus pada eksplan (Fanata dan Dallyyah, 2020). Penambahan hormon auksin 2,4-D dan sitokinin kinetin akan mampu mempengaruhi stimulasi pertumbuhan biji, sehingga interaksi kedua hormon akan mengalami proses pembelahan dan pembesaran (Lestari, 2013). Munculnya kalus disebabkan adanya aktivitas 2,4-D yang dapat merangsang sel untuk melakukan pembelahan sehingga kalus akan cepat muncul, sedangkan kinetin ditambahkan

akan menyebabkan penambahan ukuran dan memicu pemanjangan sel. Perbedaan waktu munculnya kalus terhadap semua perlakuan selain dipengaruhi oleh pemberian hormon juga dipengaruhi oleh kemampuan jaringan dalam menyerap nutrisi (Mahadi *et al.*, 2016).

Pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap munculnya pigmen antosianin pada kalus selada merah. Munculnya pigmen antosianin dilakukan dengan menghitung hari munculnya warna sejak eksplan ditanam. Pigmen warna merah lebih cepat muncul pada perlakuan D1K1, D1K2, D2K1, D2K2, D2K3, D3K2, dan D3K3 dari pada perlakuan lainnya dengan rerata 21,00 setelah tanam. Produksi metabolit sekunder yang berupa antosainin kemunculannya pada kalus ditandai oleh munculnya warna merah yang produksinya dapat dipengaruhi oleh komposisi zat pengatur tumbuh pada media. Pemberian zat pengatur tumbuh dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia melalui kerja enzim (Faramayuda dkk., 2016). Menurut Silvina dkk., (2022) bahwa kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin dapat meningkatkan pertumbuhan kalus seperti 2,4-D akan memicu pembelahan sel sehingga kalus cepat terbentuk dan kinetin dapat memicu perkembangan sel. Pada pertumbuhan kalus yang dapat dipengaruhi hormon auksin untuk pembelahan sel, auksin juga rentan terhadap adanya cahaya dan suhu tinggi akibatnya auksin dapat terdegradasi sehingga pertumbuhan kalus akan terhambat (Ariany dkk., 2013).

Pengamatan pigmen merah antosianin pada kalus dilakukan pada saat kalus pertama kali memunculkan warna merah dengan kalus yang akan dipanen sebelum dianalisis kandungan antosainiannya menunjukkan hasil yang berbeda. Gambar 4.6 yang diamati saat pertama kali warna merah muncul dari keseluruhan perlakuan yang diberikan menunjukkan peningkatan warna pada saat kalus dipanen yaitu warna kalus menjadi lebih pekat. Hasil dari pencocokan warna paling dominan terjadi pada perlakuan konsentrasi D1K1, D1K2, D3K1, D2K3, dan D3K3 dengan hasil 5R 4/8. Berdasarkan Gambar 4.7 pada pengamatan kalus saat pemanenan menunjukkan hasil yang paling dominan dengan nilai 5R 3/8 pada perlakuan D1K1, D1K2, D2K1 dan D3K3. Munculnya pigmen merah antosianin pada kalus menandakan kalus tumbuh dengan baik, hasil penelitian ini menunjukkan semua

perlakuan menghasilkan kalus dengan warna merah, namun memiliki tingkat kecerahan dan kekuatan warna dasar yang berbeda. Semakin pekat warna merah pada kalus menunjukkan adanya kandungan antosianin yang tinggi (Azmi dkk., 2018). Menurut Priska dkk., (2018) biji memiliki sumber kandungan antosianin yang tinggi karena memiliki sel vakuola dan semakin pekat warna yang dihasilkan menunjukkan kandungan antosianin yang semakin tinggi. Selain itu kombinasi auksin dan sitokinin akan memberikan tekanan osmotik pada media sehingga sel dalam eksplan tanaman akan mengalami peningkatan stress dan mengakibatkan produktivitas antosianin yang lebih tinggi (Ariany dkk., 2013). Perubahan warna kalus yang dari merah kecoklatan menandakan adanya penurunan kemampuan sel kalus sehingga berpengaruh terhadap aktivitas pembelahannya. Berdasarkan Rasud & Bustaman, (2020) warna yang berubah pada kalus dapat disebabkan oleh adanya zat fenolik yang bersifat toksik yang keluar sehingga mengakibatkan penurunan kemampuan pembelahan sel pada kalus atau biasa disebut dengan browning. Hal ini diungkapkan juga oleh Hendrayono dan Wijayanti., (1994) yang menyatakan bahwa ekplan yang teroksidasi menjadi kecoklatan atau browning disebabkan oleh senyawa fenolik yang bersifat toksik.

Pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan kinetin juga berpengaruh terhadap variabel berat kalus. Menurut Satria dkk., (2019) menyatakan bahwa pemberian hormon 2,4-D akan mampu merangsang pembelahan sel sehingga akan terjadi pembekakan dan hormon kinetin ditambahkan akan memicu pembelahan ukuran sel sehingga kalus akan membesar. Berdasarkan Gambar 4.8 perlakuan konsentrasi 2,4-D 1 ppm dan kinetin 1 ppm menunjukkan berat kalus tertinggi daripada perlakuan lainnya sebesar 0,59 gram. Penambahan auksin dan sitokinin yang seimbang akan mampu mendukung pertumbuhan kalus seperti perbesaran ukuran sel (Indah, 2013). Berat segar kalus yang tinggi disebabkan oleh kemampuan kalus dalam menyimpan materi yaitu air sehingga kalus mengandung banyak air (Setiawati dkk., 2019).

Kandungan antosianin pada kalus dianalisis pada saat kalus berumur 30 hari setelah tanam. Berdasarkan Gambar 4.8 interaksi dari analisis kandungan antosianin menunjukkan hasil yang berbeda-beda disetiap perlakuan. Perlakuan

kombinasi 2,4-D 2 ppm dan kinetin 2 ppm menunjukkan kandungan antosainin tertinggi sebesar 882,26 mg/L. Kombinasi konsentrasi hormon auksin dan sitokinin yang seimbang dapat menghasilkan kalus dengan kandungan antosianin yang lebih tinggi dibandingkan apabila hanya menggunakan hormon tunggal (Valler, 2016). Jika penambahan hormon auksin lebih tinggi atau diberikan secara tunggal saja maka akan menurunkan akumulasi kandungan antosianin sehingga pertumbuhan kalus meingkat dan menyebabkan kalus membengkak lebih besar sehingga berat kalus yang tinggi, akan tetapi modifikasi media MS dengan hormon auksin dan sitokinin akan mampu meningkatkan akumulasi kandungan antosianin (Maharik *et al.*, 2009). Modifikasi media kultur dengan pemberian kombinasi hormon seperti auksin dan sitokinin akan lebih memudahkan dalam produksi antosianin melalui kultur kalus. Kultur kalus secara *in vitro* dapat meningkatkan ketersediaan metabolit sekunder seperti kandungan antosianin melalui pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh (Purwaningrum, 2013). Pemberian hormon auksin dan sitokinin akan menstimulan keluarnya kandungan antosianin yang ditandai pada penampakan fisiologi atau pigmen, terutama kinetin dapat membantu merangsang pigmen warna sehingga akan menunjukkan adanya indikasi kandungan antosainin (Chaudhary & Mukhopadhyay., 2012). Pada gambar pengamatan pigmen merah antosianin pada kalus yang terindikasi adanya kandungan antosianin pada Gambar 4.7 terdapat beberapa bagian yang masih berwarna putih, hal ini terjadi karena bagian ini mengisolasi sehingga mempertahankan warna putihnya. Berdasarkan Abeda *et al.*, (2014) kalus dapat mempertahankan warna pigmentasinya selama subkultur sehingga pigmen antosianin akan terkumpul pada garis sel. Pada pertumbuhan kalus yang dapat dipengaruhi hormon auksin untuk pembelahan sel, auksin juga rentan terhadap adanya cahaya dan suhu tinggi akibatnya auksin dapat terdegradasi sehingga pertumbuhan tanaman akan terhambat.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemanfaatan kultur jaringan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh ke dalam media dapat memberikan hasil yang nyata dari parameter waktu pembentukan kalus tercepat pada 10 HST, waktu muncul pigmen antosianin pada kalus tercepat muncul pada 21 HST, pigmen merah antosianin pada kalus menunjukkan warna paling dominan pada saat warna merah muncul dengan nilai 5R 4/8 dan sebelum dianalisis dengan nilai 5R 4/10, berat kalus sebesar 0,59 dan pemberian kombinasi konsentrasi hormon dengan konsentrasi yang seimbang memberikan respon kandungan antosianin yang paling tinggi yaitu sebesar 882,26 mg/L.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menemukan jenis dan konsentrasi hormon lainnya agar dapat memicu pembentukan kalus lebih cepat pada tanaman sehingga menghasilkan kandungan antosianin yang tinggi dari pemberian kombinasi konsentrasi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

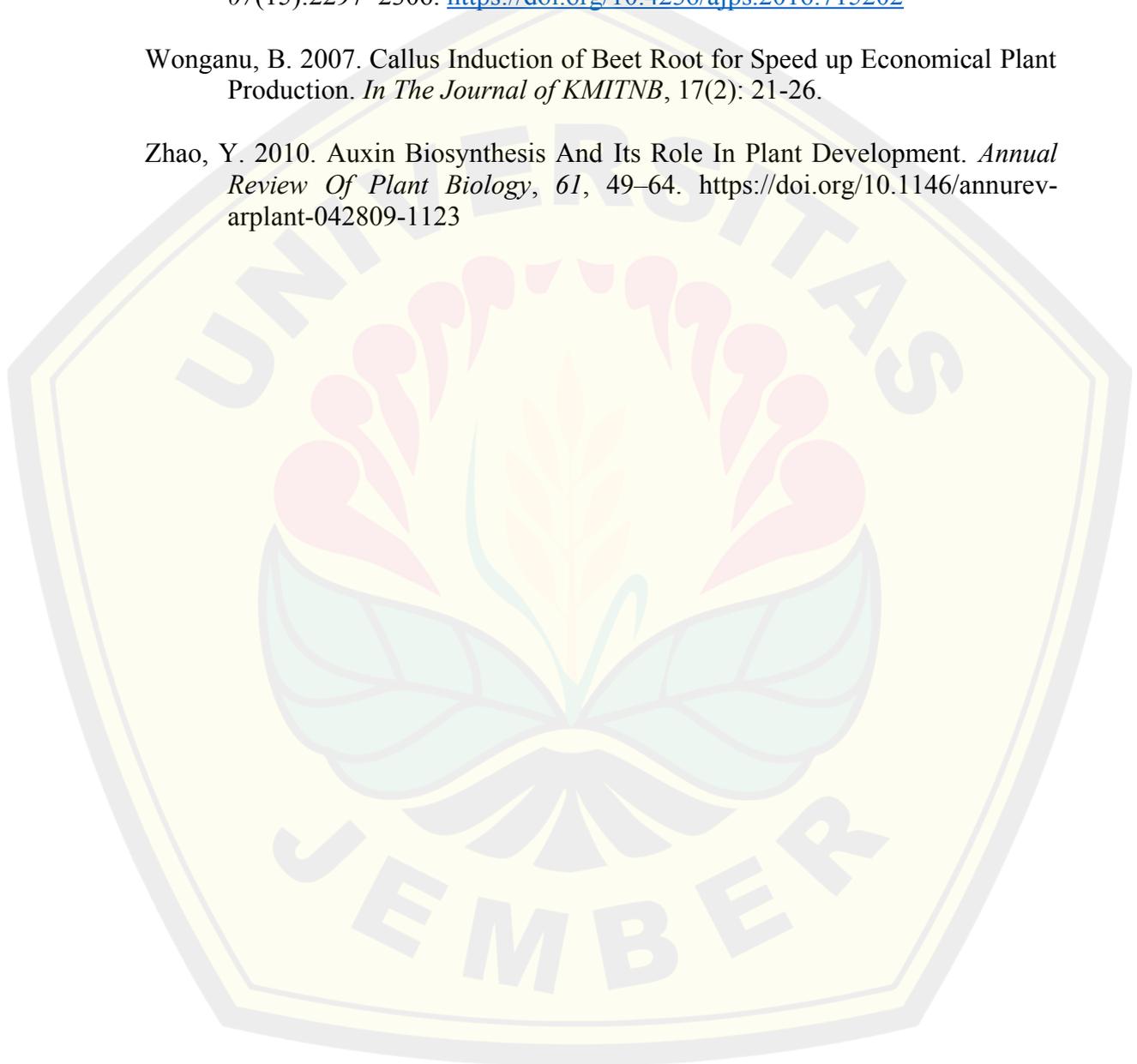
- Abeda, H. Z., Modeste K. K., Kicho D. Y., Edmond K., R. Sylvere S., M. Kone and H. T. Kaouakou. 2014. Production and Enhancement of Anthocyanin in Callus line of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Moussa Koné. *International Journal of Recent Biotechnology*, 2(1):45-56. www.ijrbp.com
- Anitasari, S. Dian, D. N, Rikhma S., Ida A. A., Dan Made R. Defiana. 2018. *Dasar Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Yogyakarta:Deepublish.
- Ariany, S. P., Sahiri, N., & Syakur, A. (2013). Pengaruh Kuantitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Antosianin Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) Dc) Secara In Vitro.
- Ariati, N. S., Waeniati, Muslimin, dan I N. Suwastika. 2013. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Media MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP Dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science Desember*, (1)1:74-84.
- Azmi, Y., Purwoko, B. S., Saraswati Dewi, I., Syukur, M., & Suhartini, D. T. 2018. Kultur Antera Hasil Persilangan Padi Lokal Beras Hitam dengan Varietas Budidaya (Fatmawati dan Inpari 13). *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 45(3), 228. <https://doi.org/10.24831/jai.v45i3.12544>
- Busaifi, R., Lestari, R. 2021. Induksi Kalus Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) Pada Berbagai Kombinasi 2,4D dan BAP Secara In Vitro. *Jurnal Evolusi*, 5(1): 50-57.
- Chaudhary, B., & Mukhopadhyay, K. 2012. Induction Of Anthocyanin Pigment In Callus Cultures Of *Solanum melongena* L. In Response To Plant Growth Regulators And Light. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(1), 76–080. www.iosrphr.org
- Cheng, D. M., Pogrebnyak, N., Kuhn, P., Krueger, C. G., Johnson, W. D., & Raskin, I. 2014. Development And Phytochemical Characterization Of High Polyphenol Red Lettuce With Anti-Diabetic Properties. *PLoS ONE*, 9(3):1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091571>
- Faizul Huda, M., Indriyani, S., & Widoretno, W. 2020. Effect of Benzyl Adenine Concentration on Callus Induction of Geranium Plants (*Pelargonium graveolens* L'Her) from Petiole and Leaf Explants. *Life Sci*, 10(1):20-23

- Faramayuda, F., Elfahmi, R. Sigit Ramelan. 2016. Optimasi Induksi Kalus Tanaman Cabe Jawa (*Piper Retrofractum* Vahl) Dengan Berbagai Variasi Zat Pengatur Tumbuh. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 21–25.
- Farid A. Badria and Anthony Ananga. 2010. Flavonoids: A Coloring Model for Cheering up Life. *IntechOpen*(1):1-71.
- Febrianto dan Kiki S. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Selada Merah (*Lactuca Sativa* Var. *Acephala*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenyl-2-Picrylhydrazyl (Dpph). *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(2), 36–41.
- Fehér, A. 2019. Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean In The Era Of Molecular Plant Biology?. *In Frontiers in Plant Science Frontiers Media S.A.*, 10:1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536>
- Hariadi, H., Riniarti, M., Hapsoro, D. 2019. Pengaruh Arang Aktif, Benziladenin, Dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Tunas Jati Solomon (*Tectona Grandis* Linn. F) In Vitro. *Jurnal Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati*, 5(2):21-30.
- Haryanto, E. Suhartini, T. Rahayu Dan E. Rahayu. 2006. *Sawi Dan Selada*. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Hendaryono, D. dan Wijayanti, A. 1994. *Telstik Kuktur Jaringan*. Yogyakarta:Kanisius.
- Idha, M. E., Ninuk, D. 2018. Pengaruh Macam Media Tanam Dan Dosis Pupuk Npk Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Selada Merah (*Lactuca Sativa* Var. *Crispa*). *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(4), 398–406.
- Indah, P. N. , dan D. E. 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 Pomits*, 2(1):1-6.
- Fanata, W. I. Dwi., Dallyyah H. Qudsiyah. 2020. Bioteknologi & Biosains Indonesia Daya Regenerasi Kalus Dan Tunas In Vitro Padi Varietas Tarabas Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*, 7(2):250-258. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Jungmin, Lee. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal Of AOAC International*, 88:1269-1278.

- Karjadi dan Buchory A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. In *J. Hort*, 18(4):380-384.
- Kurnianingsih, R., Ghazali, M., Rosidah, S., Muspiah, A., Astuti, P., & Nikmatullah, A. 2020. Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 4(5), 888–889. <https://doi.org/10.31764/jmm.v4i5.3049>
- Kuspradini, H., Rosiarto, A. M., Putri, A. S., & Kusuma, I. W. 2016. Antioxidant And Toxicity Properties of Anthocyanin Extracted From Red Flower Of Four Tropical Shrubs. *Nusantara Bioscience*, 8(2):135–140. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n080201>
- Lestari, Endang. , T. N. , dan S. N. 2013. Pengaruh Konsentrasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Biji Dendrobium laxiflorum J.J Smith secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1):43-47.
- Lestari, N. K. D., N.Wayan D., Ida A. Astarini., dan N. L. Arpiwi. 2019. *Bioteknologi In Vitro Lili*. Yogyakarta:DeePublish
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. 2016. Callus Induction of Calamansi (*Citrus microcarpa*) Using 2,4-D and BAP Hormones by in vitro Methods. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84–89. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Maharik, N., Souad E., and H. Taha. 2009. Anthocyanin Production in Callus Cultures of *Crataegus Sinaica* Boiss. *International Journal of Academic Research*, 1(1):30-34. www.ijar.lit.az
- Miguel, M. G. 2011. Anthocyanins: Antioxidant And/Or Anti-Inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(06), 07–15.
- Ngete, A. F., Rara, I., Mutiara. 2020. Penggunaan Pewarna Alami Sebagai Upaya Meningkatkan Kualitas. *I(2)*, 130–135.
- sumanti dan Sandra A. 2006. Multiplikasi dan Pigmentasi Antosianin Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L) DC) In Vitro. *Bul. Agron.* (34) (2) 112-118
- Nomer, Ni Made G. R., Agus S. D., dan K. A. Nocianitri. 2019. Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, (82), 216–225.

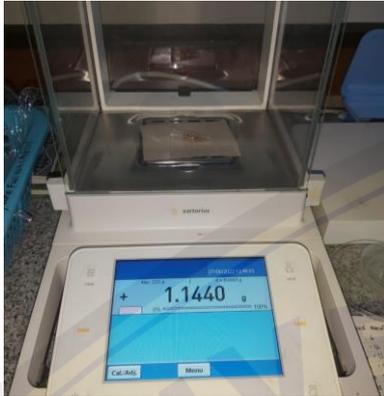
- Nurhanifah, R. A., Supriyatna, A., & Adawiyah, A. 2021. Induksi Tunas Anggrek (*Dendrobium* sp) Var. Kumala menggunakan BAP (6-Benzyl Amino Purine) Dan Air Kelapa Secara In-Vitro. *Gunung Djati Conference Series*, 6:155-162. <https://conference.uinsgd.ac.id/index.php/>
- Melisa, Okta A. 2018. Pemberian Kombinasi 2,4-D Dan Kinetin Terhadap Induksi Protocorm Like Bodies (Plb) Anggrek *Grammatophyllum Scriptum* Secara In Vitro. *Journal of Biology Education*, 1(1), 33. <http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/jbe>
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2012). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01). <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., & Dala Ngapa, Y. 2018. Review: Antosianin Dan Pemanfaatannya. In *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 6(2):79-97.
- Purwaningrum, Y. 2013. Kultur Kalus Sebagai Penghasil Metabolit Sekunder Berupa Pigmen. *Agriland*, 2(2), 117–127.
- Rasud, Y., & Bustaman, B. 2020. In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Setiawati, T., Ayalla, A., Witri, A. 2019. Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). In *Jurnal EduMatSains*, 3(2):119-132.
- Shofiyani, A., dan Neni D.. 2015. Pengembangan Metode Sterilisasi Pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia galangal* L) . *AGRITECH*, 17(1), 55–64.
- Silvina, F., Isnaini, I., & Ningsih, W. 2022. Induksi Kalus Daun Binahong Merah (*Basella rubra* L.) Dengan Pemberian 2,4-D Dan Kinetin. *Jurnal Agro*, 8(2), 274–286. <https://doi.org/10.15575/14273>
- Siregar, Dwi. O. A. 2020. Morfologi Pertumbuhan *Nepenthes* Dengan Konsentrasi Nitrogen Berbeda Pada Medium Ms (Murashige-Skoog). *Jurnal Education and Development*, 8(2):317-319. <http://www.morfologi/akar/tanaman.com>
- Sumanti, D. M., Ayu Pratamawati. 2010. Stabilitas Pigmen Antosianin Kubis Merah (*Brassica Oleraceae* Var *Capitata* L.F. *Rubra* (L.) Thell) Terenkapsulasi Pada Minuman Ringan Yang Dipasteurisasi, 12(1):41-49

- Satria, M. Teguh, Neliyati dan Jasminarni. 2019. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (Dichlorophenoxyacetid-Acid) Dan Kinetin Terhadap Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Kayu Manis (Cinnamomun Burmanii). *Journal Agroecotenia*, 2(1): 39-51.
- Valler, A. Largado D. 2016. In-Vitro Production of Anthocyanin in *Sesbania grandiflora* (Red Katuray) as Influenced by Varying Concentrations of 2,4-D and BA Added on MS Medium. *American Journal of Plant Sciences*, 07(15):2297–2306. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.715202>
- Wonganu, B. 2007. Callus Induction of Beet Root for Speed up Economical Plant Production. *In The Journal of KMITNB*, 17(2): 21-26.
- Zhao, Y. 2010. Auxin Biosynthesis And Its Role In Plant Development. *Annual Review Of Plant Biology*, 61, 49–64. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-1123>

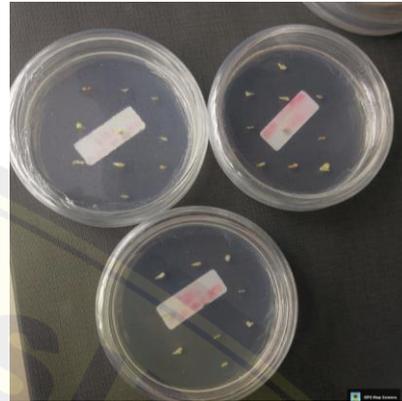


LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



a. Penimbangan sampel kalus



b. Induksi kalus menggunakan biji



c. Ekstraksi kalus



d. Menginkubasi sampel ekstraksi



e. Analisis kandungan antosianin



e. Mensentrifugasi sampel

Lampiran 2. Hasil Analisis Data

Tabel 4.1 Nilai F-Hitung dari analisis ragam seluruh variabel pengamatan.

No	Variabel Pengamatan	F-Hitung		
		Konsentrasi 2,4-D (D)	Konsentrasi Kinetin (K)	Interaksi (D x K)
1	Waktu pembentukan kalus	58,90**	11,20**	12,10**
2	Waktu muncul pigmen antosianin	31,00**	13,00**	8,50**
3	Pigmen merah antosianin pada kalus	Analisis dengan <i>munsel color</i>		
4	Berat Segar Kalus	11,09**	6,06**	12,18**
5	Kandungan Antosianin	6,22*	18,13**	31,03**

A. Waktu pembentukan kalus

Data waktu pembentukan kalus

Waktu Pembentukan Kalus (hari)						
Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Rata-rata
D1	K1	11	11	10	32	10,67
	K2	11	11	11	33	11,00
	K3	11	11	11	33	11,00
D2	K1	14	14	11	39	13,00
	K2	10	10	10	30	10,00
	K3	14	14	14	42	14,00
D3	K1	14	14	14	42	14,00
	K2	14	14	14	42	14,00
	K3	14	14	14	42	14,00
Total		113	113	109	335	12,41
Rata-rata		12,56	12,56	12,11		

Tabel 2 Arah (Total)

	K1	K2	K3	Total
D1	32,00	33,00	33,00	98,00
D2	39,00	30,00	42,00	111,00
D3	42,00	42,00	42,00	126,00
Total	113,00	105,00	117,00	335,00

Tabel 2 Arah (Rata-Rata)

	K1	K2	K3	Rata-rata
D1	10,67	11,00	11,00	10,89
D2	13,00	10,00	14,00	12,33
D3	14,00	14,00	14,00	14,00
Rata-rata	12,56	11,67	13,00	12,41

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	Notasi
Perlakuan	8	69,85	8,73	23,57	2,51	3,71	**
D	2	43,63	21,81	58,90	3,55	6,01	**
K	2	8,30	4,15	11,20	3,55	6,01	**
D x K	4	17,93	4,48	12,10	2,93	4,58	**
Galat	18	6,67	0,37				
Total	26	76,52					
CV	5,79						

A. Kediniian Munculnya Warna Merah Pada Kalus

Awal Muncul Merah Kalus (HST)						
Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Rata-rata
D1	K1	21	21	24	66	22,00
	K2	21	21	21	63	21,00
	K3	21	21	21	63	21,00
D2	K1	21	21	21	63	21,00
	K2	21	21	21	63	21,00
	K3	21	21	21	63	21,00
D3	K1	24	24	24	72	24,00
	K2	21	21	21	63	21,00
	K3	24	24	24	72	24,00
Total		195	195	198	588	21,78
Rata-rata		21,667	21,667	22,000		

Tabel 2 Arah (Total)

	K1	K2	K3	Total
D1	66,00	63,00	63,00	192,00
D2	63,00	63,00	63,00	189,00
D3	72,00	63,00	72,00	207,00
Total	201,00	189,00	198,00	588,00

Tabel 2 Arah (Rata-Rata)

	K1	K2	K3	Rata-rata
D1	22,00	21,00	21,00	21,33
D2	21,00	21,00	21,00	21,00
D3	24,00	21,00	24,00	23,00
Rata-rata	22,33	21,00	22,00	21,78

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	Notasi
Perlakuan	8	40,67	5,08	15,25	2,51	3,71	*
D	2	20,67	10,33	31,00	3,55	6,01	**
K	2	8,67	4,33	13,00	3,55	6,01	**
D x K	4	11,33	2,83	8,50	2,93	4,58	**
Galat	18	6,00	0,33				
Total	26	46,67					
CV	8,08						

B. Berat Segar Kalus

Berat Kalus						
Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Rata-rata
D1	K1	0,522	0,770	0,491	1,783	0,594
	K2	0,253	0,260	0,337	0,850	0,283
	K3	0,355	0,547	0,400	1,302	0,434
D2	K1	0,342	0,402	0,362	1,105	0,368
	K2	0,217	0,294	0,286	0,797	0,266
	K3	0,289	0,277	0,258	0,824	0,275
D3	K1	0,280	0,239	0,284	0,802	0,267
	K2	0,482	0,404	0,512	1,397	0,466
	K3	0,177	0,197	0,189	0,563	0,188
Total		2,915	3,389	3,119	9,424	0,349
Rata-rata		0,324	0,377	0,347		

Tabel 2 Arah (Total)

	K1	K2	K3	Total
D1	1,78	0,85	1,30	3,93
D2	1,11	0,80	0,82	2,73
D3	0,80	1,40	0,56	2,76
Total	3,69	3,04	2,69	9,42

Tabel 2 Arah (Rata-Rata)

	K1	K2	K3	Rata-rata
D1	0,59	0,28	0,43	0,44
D2	0,37	0,27	0,27	0,30
D3	0,27	0,47	0,19	0,31
Rata-rata	0,41	0,34	0,30	0,35

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	Notasi
Perlakuan	8	0,39	0,05	10,38	2,51	3,71	*
D	2	0,10	0,05	11,09	3,55	6,01	**
K	2	0,06	0,03	6,06	3,55	6,01	**
D x K	4	0,23	0,06	12,18	2,93	4,58	**
Galat	18	0,09	0,00				
Total	26	0,48					
CV	8,59						

C. Kandungan Antosianin

Total Antosianin						
Perlakuan		U1	U2	U3	Total	Rata-rata
D1	K1	459,22	684,65	634,56	1778,43	592,81
	K2	257,53	242,13	200,39	700,05	233,35
	K3	384,07	359,03	308,93	1052,03	350,68
D2	K1	475,92	442,52	359,03	1277,46	425,82
	K2	1043,68	901,74	701,35	2646,77	882,26
	K3	192,04	83,49	91,84	367,38	122,46
D3	K1	542,71	500,97	417,47	1461,15	487,05
	K2	517,67	584,46	592,81	1694,94	564,98
	K3	500,97	584,46	509,32	1594,74	531,58
Total		4373,81	4383,46	3815,70	12572,96	465,67
Rata-rata		485,98	487,05	423,97		

Tabel 2 Arah (Total)

	K1	K2	K3	Total
D1	1778,43	700,05	1052,03	3530,51
D2	1277,46	2646,77	367,38	4291,61
D3	1461,15	1694,94	1594,74	4750,83
Total	4517,05	5041,76	3014,15	12572,96

Tabel 2 Arah (Rata-Rata)

	K1	K2	K3	Rata-rata
D1	592,81	233,35	350,68	392,28
D2	425,82	882,26	122,46	476,85
D3	487,05	564,98	531,58	527,87
Rata-rata	501,89	560,20	334,91	465,67

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	F-hit	F-tab (5%)	F-tab (1%)	Notasi
Perlakuan	8	1172854,31	146606,79	21,60	2,51	3,71	**
D	2	84419,87	42209,94	6,22	3,55	6,01	*
K	2	246120,43	123060,22	18,13	3,55	6,01	**
D x K	4	842314,00	210578,50	31,03	2,93	4,58	**
Galat	18	122166,47	6787,03				
Total	26	1295020,77					
CV	0,26						

