

**Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan
NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau
(*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko Secara *In Vitro***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat

Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains

dalam Ilmu Biologi



Oleh:

Laily Rofiatun Nadhifah

NIM: 1508016011

BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2020

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Laily Rofiatun Nadhifah

NIM : 1508016011

Jurusan : BIOLOGI

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko Secara *In Vitro*

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, Maret 2020

Pembuat Pernyataan

Laily Rofiatun Nadhifah

NIM: 1508016011



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jalan.Prof. Dr. HamkaKampus 2 Ngaliyan Semarang
50185Telp. (024) 76433366

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh
BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun
Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var.
Kemloko Secara *In Vitro***

Penulis : **Laily Rofiatun Nadhifah**

NIM : 1508016011

Jurusan : Biologi

Telah diujikan dalam sidang *munaqasyah* oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima
sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu
Biologi

Semarang, Maret 2020

DEWAN PENGUJI

Penguji I, Dr. Ling. Rusmadi, S.Thi., M.Si NIDN. 2026018302	Penguji II, Dr.H.Nur Khoiri, M.Ag NIP :19740418 200501 1002
Penguji III, BaiqFarhatulWahida, M. Si NIP. 197502222009122002	Penguji IV, Kusrinah, M.Si NIP. 19771110 201101 2005
Pembimbing I BaiqFarhatulWahida, M. Si NIP. 197502222009122002	Pembimbing II Kusrinah, M.Si NIP. 19771110 201101 2005



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jalan.Prof. Dr. HamkaKampus 2 Ngallyan Semarang 50185Telp.
(024) 76433366

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh
BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun
Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko
Secara *In Vitro*

Penulis : Laily Rofiatun Nadhifah

NIM : 1508016011

Jurusan : Biologi

Telah diujikan dalam sidang *munaqasyah* oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima
sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu
Biologi

Semarang, 27 Maret 2020

DEWAN PENGUJI

Penguji I,

Penguji II,

Dr. Ling. Rusmadi, S.Thi., M.Pd.
NIDN. 2026018302

H. Nur Khoiri, M.Ag
NIDN. 140418 200501 1002

Penguji III,

Penguji IV,

Baiq Farhatul Wahida, M. Si
NIP. 197502222009122002

Kusrihan, M.Si
NIP. 19751110 201101 2005

Pembimbing I

Pembimbing II

Baiq Farhatul Wahida, M. Si
NIP. 197502222009122002

Kusrihan, M.Si
NIP. 19771110 201101 2005



NOTA DINAS

Semarang, Maret 2020

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko Secara *In Vitro***

Penulis : **Laily Rofiatun Nadhifah**

NIM : 1508016011

Jurusan : Biologi

Saya memandang bahwa skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang *munaqasyah*.

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing I



Baiq Farhatul Wahida, M.Si
NIP. 197502222009122002

NOTA DINAS

Semarang, Maret 2020

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko Secara *In Vitro*

Penulis : Laily Rofiatun Nadhifah

NIM : 1508016011

Jurusan : Biologi

Saya memandang bahwa skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang *munaqasyah*.

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing II,



Kusrinah, M.Si

NIP.197711102011012005

ABSTRAK

Judul : Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L*) var. Kemloko Secara *In Vitro*

Nama : Laily Rofiatun Nadhifah

NIM : 1508016011

Tembakau kemloko (*Nicotiana taabacum*) merupakan salah satu komoditi penting bagi petani dan bagi negara, selain dapat digunakan sebagai bahan baku cerutu dan insektisida alami tembakau juga salah satu penunjang bea cukai terbesar bagi negara. Namun mengandalakan bibit dari metode konvensional menggunakan biji memerlukan waktu yang relatif lama dan hasilnya seringkali tidak homogen. Sehingga perlu usaha alternatif untuk mengatasi penyediaan bibit tembakau, misalnya dengan teknik kultur jaringan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh (zpt) BAP dan NAA serta konsentrasi optimum yang yang diberikan oleh zpt terhadap induksi kalus tembakau kemloko (*Nicotiana*

tabacum) secara *in vitro*. Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tidak menambahkan kombinasi zpt (Media A), menambahkan zpt BAP dan NAA dengan perbandingan 1:3 ppm (Media B), 2:2 ppm (Media C), 3:1 ppm (Media D) dengan pengulangan sebanyak 6 unit. analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *One Way ANOVA* dan apabila nilai signifikansi $P < 0,05$ maka dilakukan uji lanjutan yaitu dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Hasil penelitian Menunjukkan bahwa pengaruh kombinasi zpt BAP dan NAA dengan berbagai konsentrasi perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap bobot kalus, volume kalus, serta waktu awal inisiasi kalus. Konsentrasi optimum pada penambahan bobot kalus dengan penambahan kombinasi zpt BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 (Media D), volume kalus dengan penambahan kombinasi zpt BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2 (Media C), inisiasi kalus dengan penambahan kombinasi zpt BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 (Media D).

Kata Kunci: *Nicotiana tabacum*, BAP, NAA, kultur jaringan

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab Latin dalam skripsi ini berpedoman pada (SKB) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158 Tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987.

Konsonan

Daftar huruf bahasa Arab dan transliterasinya ke dalam huruf Latin dapat dilihat pada halaman berikut:

Huruf Arab	Nama	Huruf Latin	Nama
ا	Alif	Tidak Dilambangkan	Tidak Dilambangkan
ب	Ba	B	Be
ت	Ta	T	Te
ث	Śa	Ś	Es (dengan titik di atas)
ج	Jim	J	Je
ح	Ĥa	Ĥ	Ha (dengan titik di atas)
خ	Kha	Kh	Ka dan Ha

د	Dal	D	De
ذ	Zal	Ẓ	Zet (dengan titik di atas)
ر	Ra	R	Er
ز	Zai	Z	Zet
س	Sin	viii	Es
ش	Syin	sy	Es dan Ye
ص	Ṣad	Ṣ	Es (dengan titik di bawah)
ض	Ḍad	Ḍ	De (dengan titik di bawah)
ط	Ṭa	Ṭ	Te (dengan titik di bawah)
ظ	Za	Ẓ	Zet (dengan titik di bawah)
ع	Ain	-	apostrof terbalik
غ	Gain	G	Ge
ف	Fa	F	Ef
ق	Qof	Q	Qi

ك	Kaf	K	Ka
ل	Lam	L	El
م	Mim	M	Em
ن	Nun	N	Ea
و	Wau	W	We
هـ	Ha	H	Ha (dengan titik di atas)
ء	Hamzah	'	Apostrof
ي	Ya	Y	Ye

Hamzah (ء) yang terletak di awal kata mengikuti vokalnya tanpa diberi tanda apa pun. Jika ia terletak di tengah atau di akhir, maka ditulis dengan tanda (').

Vokal

Vokal bahasa Arab, seperti vokal bahasa Indonesia, terdiri atas vokal tunggal atau monoftong dan vokal rangkap atau diftong. Vokal tunggal bahasa Arab yang lambangnya berupa tanda atau harakat, transliterasinya sebagai berikut:

Tanda	Nama	Huruf Latin	Nama
-------	------	-------------	------

أَ	<i>Faṭḥah</i>	A	A
إِ	<i>Kasrah</i>	I	I
أُ	<i>Ḍammah</i>	U	U

Vokal rangkap bahasa Arab yang lambangnya berupa gabungan antara harakat dan huruf, transliterasinya berupa gabungan huruf, yaitu:

Tanda	Nama	Huruf latin	Nama
أَيَّ	<i>Faṭḥah</i> dan Ya	Ai	A dan I
أَوَّ	<i>Faṭḥah</i> dan Wau	Au	A dan U

Maddah

Maddah atau vokal panjang yang lambangnya berupa harkat dan huruf, transliterasinya berupa huruf dan tanda, yaitu:

Harkat dan Huruf	Nama	Huruf dan Tanda	Nama
أَ...ي	<i>Faṭḥah</i> dan Alif atau Ya	ā	a dan garis di atas

يَ	<i>Kasrah</i> dan Ya	ī	i dan garis di atas
وُ	<i>Ḍammah</i> dan Wau	ū	u dan garis di atas

Ta marbūṭah

Transliterasi untuk *ta marbūṭah* ada dua, yaitu: *ta marbūṭah* yang hidup atau mendapat harkat *fatḥah*, *kasrah*, dan *ḍammah*, transliterasinya adalah [t]. Sedangkan *ta marbūṭah* yang mati atau mendapat harkat sukun, transliterasinya adalah [h].

Kalau pada kata yang berakhir dengan *ta marbūṭah* diikuti oleh kata yang menggunakan kata sandang *al* serta bacaan kedua kata itu terpisah, maka *ta marbūṭah* itu ditransliterasikan dengan ha (h).

Syaddah (Tasydīd)

Syaddah atau tasydīd yang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan sebuah tanda tasydīd (ّ), dalam transliterasi ini dilambangkan dengan perulangan huruf (konsonan ganda) yang diberi tanda syaddah.

Jika huruf ع bertasydid di akhir sebuah kata dan didahului oleh huruf kasrah (اِ), maka ia ditransliterasi seperti huruf maddah (ī).

Kata Sandang

Kata sandang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan huruf (alif lam ma'arifah). Dalam pedoman transliterasi ini, kata sandang ditransliterasi seperti biasa, al-, baik ketika ia diikuti oleh huruf syamsiah maupun huruf qamariah. Kata sandang tidak mengikuti bunyi huruf langsung yang mengikutinya. Kata sandang ditulis terpisah dari kata yang mengikutinya dan dihubungkan dengan garis mendatar (-).

Hamzah

Aturan transliterasi huruf hamzah menjadi apostrof (') hanya berlaku bagi hamzah yang terletak di tengah dan akhir kata. Namun, bila hamzah terletak di awal kata, ia tidak dilambangkan, karena dalam tulisan Arab ia berupa alif.

Penulisan Kata Arab yang Lazim digunakan dalam Bahasa Indonesia

Kata, istilah atau kalimat Arab yang ditransliterasi adalah kata, istilah atau kalimat yang belum dibakukan dalam bahasa Indonesia. Kata, istilah atau kalimat yang sudah lazim dan menjadi bagian dari pembendaharaan bahasa Indonesia, atau sudah sering ditulis dalam tulisan bahasa Indonesia, tidak lagi ditulis menurut cara transliterasi di atas. Namun, bila kata-kata tersebut menjadi bagian dari satu rangkaian teks Arab, maka mereka harus ditransliterasi secara utuh.

Lafz Al-Jalālah (الله)

Kata “Allah” yang didahului partikel seperti huruf jarr dan huruf lainnya atau berkedudukan sebagai *muḍāf ilaih* (frasa nominal), ditransliterasi tanpa huruf hamzah.

Adapun *ta marbūṭah* di akhir kata yang disandarkan kepada *Lafz Al-Jalālah*, ditransliterasi dengan huruf [t].

Huruf Kapital

Walau sistem tulisan Arab tidak mengenal huruf kapital (All Caps), dalam transliterasinya huruf-huruf tersebut dikenai ketentuan tentang penggunaan huruf kapital berdasarkan pedoman ejaan Bahasa Indonesia yang berlaku (EYD). Huruf kapital, misalnya, digunakan untuk menuliskan huruf awal nama diri (orang, tempat, bulan) dan huruf pertama pada permulaan kalimat. Bila nama diri didahului oleh kata sandang (al-), maka yang ditulis dengan huruf kapital tetap huruf awal nama diri tersebut, bukan huruf awal kata sandangnya. Jika terletak pada awal kalimat, maka huruf A dari kata sandang tersebut menggunakan huruf kapital (Al-). Ketentuan yang sama juga berlaku untuk huruf awal dari judul referensi yang didahului oleh kata sandang al-, baik ketika ia ditulis dalam teks maupun dalam catatan rujukan (CK, DP, CDK, dan DR).

- Sekretaris Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang.
4. Baiq Farhatul Wahida, M. Si., selaku dosen pembimbing I dan Kusrinah, M. Si., selaku dosen pembimbing II yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, pikiran serta dengan sabar memberikan bimbingan, masukan, dan koreksi dalam proses penyusunan skripsi
 5. Bapak/Ibu Dosen Pengajar yang selama ini menjadi inspirator, megajarkan banyak hal serta pengetahuan dan pengalaman kepada penulis, serta kkepada seluruh staf jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang
 6. Kedua orang tuaku abah Agus Salim dan umi Siti Erna Diyah, saudara kandungku, Fitroh Ulya Salima, Diyah Shofiatus Salima, dan yang terakhir Dina Kanzawas salima yang tak hendi-hentinya mencurahkan do'a, nasehat, dukungan, dan kasih sayang serta dukungan moril maupun materil kepada penulis.
 7. Bapak K.H Amnan Muqodam berserta Ibu N.Hj Rofiqotul Maqiyah selaku pengasuh Pondok Pesantren Putri Tahfidzul Qur'an Al-Hikmah Tugurejo yang telah turut banyak berkorban dan tak henti melimpahkan doa kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
 8. Sahabat-sahabat Biologi dan sahabat Al-Hikmah yang selalu menyemangati penulis.
 9. Semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga amal yang telah diperbuat akan menjadi amal yang shaleh, dan mampu mendekatkan diri kepada Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa pengetahuan yang penulis miliki masih kurang, sehingga skripsi ini masih

jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak guna perbaikan dan penyempurnaan pada penulisan berikutnya.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat, khususnya bagi penulis, *Amin Ya Rabbal Alamin*

Semarang, Maret 2020

Penulis,

Laily Rofiatun N

NIM : 1508016011

DARFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING	iv
ABSTRAK.....	vi
TRANSLITERASI	viii
KATA PENGANTAR	xiv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
 BAB I: PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian.....	7
 BAB II: TINJAUAN PUSTAKA	

A. Landasan Teori	
1. Tembakau(<i>Nicotiana tabacum</i>).....	9
2. Tembakau Kemloko.....	12
3. Kultur <i>in vitro</i> / kultur jaringan.....	14
4. Media kultur <i>in vitro</i> Tembakau.....	18
5. Zat Pengatur Tumbuh.....	20
B. Kajian Pustaka	24
C. Kerangka Pemikiran	27
D. Hipotesis.....	28

BAB III: METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian.....	29
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
C. Alat dan Bahan.....	29
D. Populasi dan sampel penelitian	30
E. Variabel Penelitian	30
F. Parameter Penelitian.....	31
G. Prosedur dan Teknik Pengumpulan data.....	32
H. Teknik Analisa Data.....	37

BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Data	38
1. Identifikasi Sabel.....	38
2. Preparasi Sampel.....	38

B. Hasil Penelitian	39
1. Pertambahan bobot kalus	39
2. Volume kalus	40
3. Induksi kalus	42
4. Morfologi kalus	43
C. Pembahasan	44
1. Bobot kalus	44
2. Volume kalus	49
3. Hari awal muncul kalus	51
4. Morfologi kalus	56
D. Keterbatasan Penelitian	58

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	60
B. Saran	60

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN-LAMPIRAN

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 2.1	Kombinasiperbandingan ZPT auksin dan sitokinin dalam metode Mohr	23
Tabel 3.1	Rancangan unit penelitian	35
Tabel 4.1	Hasil Uji One Way ANOVA Bobot Kalus Tembakau	39
Tabel 4.2	Hasil Uji One way ANOVA Volume Kalus Tembakau	41
Tabel 4.3	Hasil Uji One Way ANOVA Hari Awal induksi Kalus	42
Tabel 4.4	Tabel Descriptives hasil uji Anova pada bobot kalus	47
Tabel 4.5	Tabel Descriptives hasil uji Anova pada volume kalus	50

Tabel 4.6	Tabel Descriptives hasil uji Anova pada kecepatan induksi kalus	53
-----------	---	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1.	<i>Nicotiana tabacum</i> var. kemloko	
Gambar 2.2.	Kerangka pemikiran	27
Gambar 4.1	Rata-rata bobot kalus tembakau	40
Gambar 4.2	Rata-rata penambahan volume kalus tembakau	41
Gambar 4.3	Rata-rata hari awal induksi kalus tembakau	43
Gambar 4.4	Kalus media A, B, C dan D	43
Gambar 4.5	Kontaminasi	45
Gambar 4.6	Penimbangan bobot kalus	47
Gambar 4.7	Pengukuran volume kalus	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Tabel hasil pengamatan
Lampiran 2	Pengolahan data SPSS
Lampiran 3	Formula media MS
Lampiran 4	Dokumentasi selama penelitian
Lampiran 5	Daftar riwayat hidup

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Allah SWT menciptakan alam semesta ini tentu tidak dengan tanpa alasan, dan semua yang Ia ciptakan pasti memiliki nilai serta manfaat. Seperti firmanNya dalam surah Ali Imron ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ ۗ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا ۖ سُبْحَانَكَ قَوْلًا عَذَابِ النَّارِ

Artinya:

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka periharalah kami dari siksa neraka”

Ayat ini mengundang kita untuk berpikir, karena sesungguhnya dalam penciptaan benda-benda seperti matahari, bulan, dan jutaan gugusan bintang yang terdapat di langit serta kejadian dan perputaran bumi pada porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang perbedaannya, baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya terdapat tanda-tanda

kemahakuasaan Allah bagiulūl-albāb, yakni orang-orang yang memiliki akal yang murni (Shihab, 2002)

Tembakau yang Allah ciptakan merupakan salah satu komponen penyusun alam tentu saja memiliki banyak kegunaan, sehingga adanya tindakan diskriminasi pada tanaman tembakau ini tidak dibenarkan karena dapat dianggap sebagai bentuk kufur akan salah satu nikmat Allah berupa tanaman tembakau ini.

Indonesia merupakan penghasil tembakau terbesar di dunia. Produksi tembakau di Indonesia tersebar dari Pulau Sumatera, Jawa, Bali sampai Nusa Tenggara. Lebih dari 100 jenis tembakau yang dihasilkan di Indonesia. Sekitar 200 juta kilogram tembakau yang diproduksi tiap tahunnya di Indonesia, dan merupakan salah satu tanaman yang cukup besar dalam menyumbangkan devisa untuk negara melalui produksi rokok (Nugraha and Agustiningasih 2015)

Pemanfaatan tembakau selain sebagai bahan baku rokok, juga dimanfaatkan dimanfaatkan sebagai pestisida organik diantaranya sebagai pencegah serangan kutu tanaman, membunuh serangga, mencegah daun menggulung, mencegah hama pengerek dan membasmi tikus (Fitri and Migunani 2014), nikotin dalam daun tembakau juga berpotensi sebagai insektisida yang mana

telah direkomendasikan penggunaannya pada tahun 1763 untuk membasmi hama aphid pada tanaman sayuran dan tanaman hias (Sutjipto, 2002 dalam Setyawati 2009). Tanaman tembakau juga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu agen bioremediasi (Rosidah, Anggraito, and Pukan 2014). Dalam penelitian Setyawati (2009) disimpulkan bahwa ekstrak tembakau dapat dimanfaatkan sebagai pengawet bambu petung sekaligus meningkatkan kelenturan bambu karena adanya pengaruh dari alkaloid yang merupakan senyawa organik aktif yang mengandung unsur nitrogen (bersifat sedikit basa) yang dapat memperkuat struktur anatomi bambu (Fatmawati, Nurhidayati, and Jadid 2008). Dalam bidang kesehatan tembakau juga memiliki sumbangsih yang berpengaruh cukup besar, seperti yang diutarakan Ilmiyah and Rahmah, (2012) bahwa dalam tembakau ini memiliki beberapa senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai penangkal radikal bebas. Tembakau dapat pula menghasilkan protein anti-kanker "*Growth Colony Stimulating Factor*" (GCSF) yang berguna bagi penderita kanker (Khanifa 2018),.

Keistimewaan dan manfaat yang besar dari tembakau inilah yang mengakibatkan kebutuhan tembakau di Indonesia meningkat (Nisak, Nurhidayati, and

Purwani 2012), oleh karenanya Indonesia harus tetap meningkatkan produksi tembakau baik secara kuantitas maupun kualitas, melalui berbagai teknik pemuliaan tanaman (Wahidah 2010). Perbanyak dengan metode konvensional menggunakan biji memerlukan waktu yang relatif lama dan hasilnya seringkali tidak homogen. Belum lagi gangguan dari lingkungan yang dapat disebabkan oleh hama dan penyakit misalnya, maupun cekaman lingkungan yang mana dapat mengganggu keberhasilan pembibitan tanaman. Oleh karenanya penerapan teknologi pengendalian penyakit perlu digalakan seperti penggunaan bibit unggul bebas penyakit. Salah satu alternatifnya yaitu dengan menggunakan teknik kultur jaringan.

Konsep dasar dari kultur jaringan didasarkan atas sifat totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan, yaitu potensi dari sel tumbuhan untuk tumbuh apabila distimulasi dengan benar dan sesuai. Artinya suatu jaringan tumbuhan yang diambil dari bagian manapun apabila ditumbuhkan dalam media yang sesuai, dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang sempurna (Widyastuti dan Jesicca, 2018)

Kultur jaringan tumbuhan adalah menumbuhkan dan memperbanyak sel, jaringan, dan organ dalam media

padat atau cair di bawah kondisi aseptik dan terkendali (Purita et al., 2017), juga menghasilkan bibit yang bebas patogen (George dan Sherrington, 1984 dalam Sintha, 2017).

Pada umumnya penelitian awal mengenai kultur jaringan tumbuhan melibatkan kultur kalus pada tanaman tembakau, wortel, petunia, dan lain-lain. Pada tanaman-tanaman ini, pendekatan umum adalah memanipulasi keseimbangan sitokinin dan auksin yang diberikan guna mengatur pola pertumbuhan untuk memproduksi pucuk atau akar (Taji, Dodd, and Williams, 2006).

Untuk menunjang keberhasilan kultur jaringan maka perlu diperhatikan faktor - faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Salah satu faktor yang berpengaruh adalah media dan zat pengatur tumbuh (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Pada saat ini dikenal dua hormon yang mempengaruhi diferensiasi tanaman yang dibutuhkan dalam kultur jaringan yaitu: hormon auksin untuk merangsang perkembangan akar, dan sitokinin untuk merangsang perkembangan tunas, kedua zat pengatur tubuh ini sangat menentukan arah pertumbuhan jaringan tersebut. Pemberian ZPT dari luar adalah untuk mengubah nisbah ZPT yang ada pada tanaman. Perubahan nisbah tersebut mengubah laju

pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Gunawan, 1988; dalam widyastuti, 2018).

Pada penelitian ini digunakan hormon sintetis auksin berupa NAA, karena NAA mempunyai sifat lebih stabil dari pada IAA. Sedangkan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP, karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Penggunaan zat pengatur tumbuh apabila digunakan dengan konsentrasi rendah dapat merangsang dan mempercepat proses pertumbuhan tanaman, namun sebaliknya apabila digunakan dalam jumlah besar atau konsentrasi tinggi justru dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat mematikan tanaman. Untuk itu perlu dikaji penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif dalam merangsang induksi tunas tanaman tembakau (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012)

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diajukan di atas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah di antaranya:

1. Adakah pengaruh zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. Kemloko?
2. Berapakah konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. Kemloko?

C. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang akan diteliti, tujuan yang ingin dicapai diantaranya adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. kemloko
2. Mengetahui konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. kemloko

D. Manfaat

Setelah dilaksanakannya penelitian diharapkan dapat membawa manfaat di antaranya:

1. Bagi ilmu pengetahuan, dapat menambah wawasan keilmuan mengenai pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum L*)Var. kemloko
2. Bagi peneliti lain dapat dimanfaatkan sebagai bahan perbandingan serta acuan untuk penelitian selanjutnya
3. Bagi perusahaan penggiat tembakau, dapat dijadikan sebagai sarana untuk memperbanyak koleksi tembakau yang seragam dan mendapatkannya dalam waktu yang relatif singkat

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tembakau (*Nicotiana tabacum*)

Dalam klasifikasi tanaman, tembakau masih termasuk kerabat dekat terung-terungan (famili Solanaceae). Solanaceae merupakan famili yang cukup besar, tidak kurang dari 85 genus termasuk di dalam famili ini. Dari sekian banyak species, yang mempunyai arti ekonomi paling tinggi diantaranya species *Nicotiana tabacum* yang memiliki kadar nikotin rendah yaitu 0,6%. (Setiawan dan Yani, 1993).

Secara sistematis klasifikasi tanaman tembakau sebagai berikut ini.

Kingdim	: Plantae
Divis	: Dicotyledonae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Sub-famnil	: Nicotianae
Genus	: Nicotiana
Species	: <i>Nicotiana tabacum</i>

(Tjitrosoepomo,2007)

Tembakau kemloko memiliki akar hingga bunga yang lengkap, secara morfologi dijelaskan sebagai berikut

a. Akar

Memiliki akar tunggang yang panjangnya kurang lebih 50-75 cm dan memiliki banyak akar serabut serta bulu akar (Setiawan dan Yani, 1993).

b. Batang

Pohonnya berbatang tegak dengan ketinggian rata-rata mencapai 250 cm, akan tetapi kadang-kadang dapat mencapai tinggi sampai 4 m apabila syarat-syarat tumbuh baik (Indriana 2016), Batangnya berbentuk bulat seperti silinder (Jas 2013), Batangnya berwarna hijau dan hampir seluruh bagiannya ditumbuhi bulu-bulu halus berwarna putih (Setiawan dan Yani, 1993), Batang bertekstur agak lunak tetapi kuat dan semakin keujung semakin kecil. Pada setiap buku batang, selain ditumbuhi daun, juga ditumbuhi tunas aksilar (Usmadi dan Hartana, 2007). Batang tanaman ini biasanya memiliki sedikit cabang, dan

hampir seluruhnya diumbui bulu-bulu halus berwarna putih, dan disekitar bulu-bulu tersebut terdapat kelenjar-kelenjar yang mengeluarkan zat pekat dengan bau yang menyengat. (setiawan dan yani, 1992)

c. Daun

Daun lebar berbentuk lonjong serta memiliki bau tak sedap dan menyengat (Jas 2013), pada bagian ujungnya runcing, dan kedudukan daun pada batang tegak (Abdullah, 1982 dalam Indriana, 2016), antara daun dan batang tembakau dihubungkan oleh tangkai daun yang pendek atau tidak bertangkai sama sekali, ukuran daun cukup bervariasi menurut keadaan tempat tumbuh dan jenis tembakau yang di tanam. Sedangkan ketebalan dan kehalusan daun dipengaruhi oleh keadaan kering dan banyaknya curah hujan (Setiawan dan Yani, 1992).

d. Bunga

Bunga tembakau termasuk bunga majemuk yang berbentuk malai, masing-masing seperti terompet, dan memiliki kelopak bunga yang berlekuk dan memiliki lima buah pancung. (Setiawan dan Yanni, 1992)

Pada bagian mahkota bunganya memiliki warna merah muda sampai merah, dan berbentuk terompet panjang (Abdullah, 1982 dalam Indriana, 2016)

e. Biji

Biji tembakau sangat kecil sehingga dalam 1 cm³ dengan berat kurang lebih 0,5 gram berisi sekitar 6000 butir biji (Setiawan dan Yani, 1992)

2. Tembakau kemloko

Tembakau Temanggung varietas Genjah Kemloko berasal dari desa Kemloko Kecamatan Tlogomulyo Kabupaten Temanggung yang menurut produsen rokok besar adalah tembakau terbaik di Temanggung bahkan di Indonesia. Varietas tersebut dikembangkan oleh Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat di Malang menjadi Kemloko 1, Kemloko 2, dan Kemloko

3. Tembakau jenis Kemloko 1 dan Kemloko 2 adalah jenis tanaman tembakau yang dibudidayakan pada dataran rendah sedangkan Kemloko 3 khusus untuk dataran tinggi. Tembakau varietas lainnya yang ada adalah Gober Togog, Genjah Kenanga, Crumpung, dan Genjah Mawar. Namun demikian, varietas tersebut tidak terlalu dikenal di Temanggung (Puspita, 2011)

Tembakau temanggung menghasilkan tembakau dengan mutu srinthil yaitu dengan kadar nikotin yang paling tinggi, yakni sekitar 20%. Setelah melalui riset dari Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas) yang berkantor di Malang, Jawa Timur, diketahuilah bahwa ternyata kondisi alam, cuaca, dan struktur tanah di daerah Temanggung memang mampu memberikan panen tembakau dengan kualitas terbaik di dunia (Khanifa 2018)

Tembakau Temanggung merupakan bahan baku penting untuk rokok kretek, karena berperan sebagai sumber pemberi rasa dan aroma yang khas (Rochman, Suwarso, and Murdiyati 2007)

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L) varietas Kemloko dapat ditanam di dataran tinggi 700 m d.p.l. sampai dengan 1500 m d.p.l., curah hujan yang dibutuhkan antara 2.200-3.100 mm/tahun dengan 8-9

bulan basah dan 3-4 bulan kering. Daerah penanamannya sampai saat ini masih terpusat di lereng gunung Sumbing dan gunung Sindoro Kabupaten Temanggung (Basuki *et al.* 2000)

3. Kultur *In Vitro* / Kultur Jaringan

Kultur jaringan bila diartikan ke dalam bahasa Jerman disebut *gewebe kultur*, dalam bahasa Inggris disebut *tissue culture*, dalam Bahasa Belanda disebut *weefsel* atau *weefsel cultuur* (Widyastuti dan Jessica, 2018). Kultur jaringan/Cultur *in vitro* adalah istilah umum yang ditujukan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman seperti batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdeferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Kultur jaringan merupakan proses dimana potongan-potongan kecil dari jaringan hidup diisolasi dari suatu organisme dan tumbuh secara aseptik untuk periode yang tidak terbatas pada media nutrisi dalam kondisi yang terkendali (Ali *et al.* 2007). Dasar dari pembuatan

kultur jaringan adalah teori totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan yang menjelaskan bahwa setiap sel merupakan suatu satuan otonomi dan mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Isnandza 2015). Hal ini menunjukkan bahwa setiap sel adalah unit hidup, ini berarti bahwa sel yang telah mengalami diferensiasi dalam organisme multiselular masih mengandung informasi genetik dari bentuk sebelumnya (Azizan and Risda 2018)

Metode kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, dimana tidak bergantung pada musim. Keunggulan lain dari kultur jaringan yaitu memperoleh sifat fisiologidan morfologi sama persisdengan tanaman induknya (Hendaryono dan Wijayani, 1994 dalam Desriatin, 2009).

Beberapa manfaat kultur jaringan tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006), dapat memeperbanyak klon dengan cepat dengan hasil seragam secara genetik, dan mampu menyediakan bahan tanaman bebas patogen, dapat pula digunakan untuk mendapatkan hibrid dari spesies tanaman yang tidak cocok (incompatible) baik melalui kultur embrio maupun kultur ovul, dapat memproduksi tanaman

sepanjang tahun karena kultur jaringan tanaman tidak tergantung musim, serta dapat memperbanyak secara vegetatif terhadap spesies tanaman yang sulit diperbanyak dapat diperoleh melalui kultur jaringan

Menurut Hendaryono, 1994 dalam Ningsih, 2015), dengan mengisolasi dari tanaman induknya dan kemudian menumbuhkannya di dalam atau di atas media, sel-sel eksplan yang tadinya dorman dihadapkan pada kondisi stress sehingga metabolismenya berubah. Respon yang terlihat pertama kali adalah terbentuknya jaringan penutup luka. Sel-sel itu akan terus membelah, yang mana jika pembelahannya tidak terkendali maka akan membentuk massa sel yang tidak terorganisasi, yang disebut kalus

Kalus merupakan jaringan *amorfo* yang terdiri dari sekumpulan massa sel parenkim ber dinding tipis yang aktif membelah (Retno, 2017). Tahapan induksi kalus adalah suatu tahapan yang penting dalam budidaya kultur jaringan, karena dari tahapan inilah selanjutnya untuk mendapatkan tanaman utuh atau untuk tujuan lain sesuai dengan yang diinginkan (Putri 2008). Kultur kalus sering digunakan untuk memperoleh tanaman bebas virus, embriogenesis somatic, regenerasi varian

genetika dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Zulkarnain, 2009 dalam Hartanti, Maharani, & Sukamto, 2017). Potensi terbesar penggunaan kultur kalus adalah dimana sel-sel kalus dapat dipisahkan dan diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi embrio somatik. Secara morfologi, embrio ini mirip dengan yang ada pada biji, namun tidak seperti embrio biji, mereka secara genetik bersifat idenetik dengan tanaman induknya (Widyastuti dan jessica, 2018).

Umumnya eksplan yang berasal dari jaringan tanaman yang masih muda (juvenil) lebih mudah tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan jaringan yang telah terdiferensiasi lanjut. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem seperti daun tembakau yang masih muda lebih mudah tumbuh dan beregenerasi karena memiliki sel-sel yang aktif membelah dengan dinding sel yang belum kompleks sehingga lebih mudah dimodifikasi dalam kultur (Erawati, Fisdiana, and Humaida 2017), Namun kemampuan pembentukan kalus dari jaringan juga bergantung dari beberapa hal seperti: (1) umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi; (2) musim pada waktu bahan tanam diisolasi; (3) bagian tanaman

yang dipakai dan (4) jenis tanaman (Gunawan, 1987 dalam (Putri 2008).

4. Media Kultur *In Vitro* Tembakau

Medium kultur merupakan lingkungan buatan untuk sel ataupun organ tanaman yang akan dikulturkan, sehingga media kultur ini harus mampu mencukupi semua kebutuhan baik nutrisi maupun hormon untuk menunjang pertumbuhan secara maksimal (Retno, 2017). Oleh karena kebanyakan species tanaman menghendaki medium yang berbeda, pemilihan medium yang paling sesuai kadang kala menghadapi suatu masalah tertentu, jika tidak adanya informasi yang memadai mengenai media suatu species biasanya teknik kultur dimulai dengan menggunakan medium MS, hal ini dikarenakan media MS mengandung konsentrasi garam yang relatif tinggi dibandingkan dengan media lainnya, medium ini juga mengandung nitrat yang tinggi, dan telah digunakan pada kultur jaringan berbagai tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006). Medium yang dikembangkan oleh Murashige and Skoog (MS) (lampiran 3) untuk kultur tembakau digunakan secara luas untuk kultivasi kalus pada agar demikian juga kultur suspensi sel dalam

medium cair. Media MS ini memiliki keistimewaan tersendiri, karena memiliki kandungan nitrat, kalium dan amoniumnya tinggi (Wetter dan Constabel, 1991)..

Secara umum kebutuhan sel/jaringan yang dikultur dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

1 Nutrisi Anorganik

Terdapat 12 unsur hara esensial untuk pertumbuhan tanaman dan sejumlah unsur hara lain yang dilaporkan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman pada kultur *in vitro*. Untuk pertumbuhan yang normal di dalam kultur jaringan, unsur-unsur esensial ini harus disertakan di dalam medium (Taji, Dodd, and Williams, 2006)

2 Nutrisi Organik

Walaupun tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* juga mampu mensintesis senyawa-senyawa ini, diyakini bahwa tanaman tersebut memproduksinya dalam jumlah yang tidak mencukupi, misalnya sejumlah vitamin untuk pertumbuhan yang sehat, sehingga satu atau beberapa macam vitamin harus ditambahkan ke dalam medium. Di antaranya adalah tiamin yang

merupakan vitamin penting, niasin, piridoksin dan myo-inositol juga seringkali ditambahkan (Taji, Dodd, and Williams 2006).

3 Sumber karbon

Tanaman di dalam kultur jaringan tumbuh secara heterotrop dan karenanya tidak dapat mensintesis sumber karbon sendiri dalam jumlah yang cukup, sehingga perlu dimasukkan suatu sumber karbon (biasanya sukrosa) ke dalam medium. Biasanya sukrosa dengan konsentrasi 1 – 5% digunakan sebagai sumber karbon, namun sumber-sumber karbon lainnya telah pula digunakan termasuk glukosa, maltosa, galaktosa dan laktosa. Bila sukrosa diotoklaf, maka terjadi hidrolisis yang menghasilkan glukosa dan fruktosa yang dapat digunakan secara lebih efisien oleh tanaman di dalam kultur (Taji, Dodd, and Williams 2006)

5. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan suatu senyawa yang dihasilkan pada suatu bagian dari tanaman dan bergerak di dalam jaringan-jaringan untuk mempengaruhi aktifitas sel pada bagian lain (Taji,

Dodd, and Williams, 2006). Keberadaan hormon dan zat pengatur tumbuh dalam kegiatan kultur jaringan adalah mutlak karena kegiatan kultur jaringan umumnya menggunakan bahan tanam berupa sel, jaringan atau organ dan budidayanya terkendali. Dalam kegiatannya, proses tumbuh dan berkembangnya eksplan dapat disesuaikan dengan harapan, misalnya menjadi kalus saja, organogenesis ataupun embriogenesis (Putri 2008).

Beberapa zat pengatur tumbuh yang umumnya digunakan dalam teknik kultur jaringan adalah:

a. Auksin

Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Hendaryono, 1994 dalam K, Nurhidayati and Purwani, 2012). Auksin umumnya meningkatkan inisiasi akar dan pertumbuhan kalus, namun menghambat pertumbuhan pucuk

dan pertumbuhan tunas lateral (Taji, Dodd, and Williams 2006).

b. Sitokinin

Sitokinin merupakan nama kelompok hormon tumbuh yang sangat penting sebagai pemacu pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan. Salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel dalam kultur jaringan tanaman adalah 6-Benzil Amino Purine (BAP)(Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Sitokinin yang diproduksi di dalam akar memainkan peranan penting pada aktifitas kambial di dalam batang, dengan cara ini hormon menjadi alat “komunikasi” antar bagian-bagian yang berbeda pada tanaman dan memungkinkan terjadinya pertumbuhan yang terkoordinasi pada keseluruhan tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006). Sebagai zat pengatur tumbuh, sitokinin juga mempunyai fungsi antara lain :

- 1) Memacu perkembangan, pembesaran, dan pembelahan sel serta berperan dalam penundaan senescence (penuaan), dengan

jalan sitokinin menghambat penguraian protein.

- 2) Mengarahkan transport hara, yaitu memberi signal ke arah mana zat hara akan dibawa atau ditransport.
- 3) Mendorong proses morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pembentukan umbi pada kentang, pemecahan dormansi, pembukaan stomata, dan pembungaan.
- 4) Menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar, dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus (Santoso dan Nursandi, 2001 dalam Erawati, Fisdiana and Humaida, 2017)

Metode Mohr merupakan kunci keberhasilan dalam kultur jaringan. Berikut ini tabel kombinasi ZPT auksin sitokinin dalam metode Mohr.

Tabel 2.1 Kombinasi perbandingan ZPT auksin dan sitokinin dalam metode Mohr

ZPT	Dosis kombinasi perbandingan ZPT (ppm)					
Sitokinin	0	1	2	3	4	5
Auksin	5	4	3	2	1	0

Hasil petumbuhan	Akar saja	Akar dan tunas	Tunas saja
------------------	-----------	----------------	------------

(Mohr dan Schopfer, 1978 dalam Hendaryono, 1994 dalam (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012)

Meskipun nutrisi makro dan mikro dari media kultur *in vitro* mungkin tidak berbeda jauh dari species ke species, untuk hasil kalus yang sukses dan regenerasi tanaman, konsentrasi zat pengaruh tumbuh (baik auksin dan sitokinin) sangat penting dan spesifik untuk genitip, jenis eksplan, dan kebutuhan peneliiian (S. Ahmad and Spoor 1999)

B. Kajian Pustaka

Penelitian yang relevan dengan penelitian ini diantaranya adalah:

Penelitian yang dilakukan oleh Nisak K., Tutik Nurhidayati., dan Kristanti I. Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP mampu merespon pembentkan kalus serta berpengaruh terhadap jumlah tunas dan akar. Proliferasi tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 4 ppm (rata- rata 52,5 tunas/eksplan), sedangkan

proliferasi akar tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 0,3 ppm dan BAP 0 ppm (rata-rata 6,5 akar/eksplan). Kalus yang didapatkan dominan berwarna putih dan tekstur kompak.

Penelitian lain yang dilakukan oleh: Rani Fitriana Puteri, Evie Ratnasari, dan Isnawati. Pada penelitiannya pemberian konsentrasi yang paling optimal untuk menghasilkan kecepatan waktu induksi dan viabilitas kalus daun sirsak adalah penambahan NAA dengan konsentrasi 3 mg/l dan BAP dengan konsentrasi 1 mg/l, yaitu menghasilkan biomassa kalus sebesar 0,551 mg dan menghasilkan waktu induksi tercepat, yaitu 7 hari.

Penelitian serupa yang dilakukan oleh Emita Kresnawati dari Universitas Muhammadiyah Surakarta tahun 2006. Dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada perlakuan 2 mg/l kinetin dan 1 mg/l NAA dapat memberi pengaruh secara optimum dengan kecepatan pembentukan kalus pada tanaman nilam pada hari ke-9 dengan tekstur yang terbentuk yaitu kompak dan warna putih kecoklatan.

Penelitian oleh Titin Aisyah Fatmawati, Tutik Nurhidayati, Nurul Jadid tahun 2008 dengan judul "Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP Pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum*

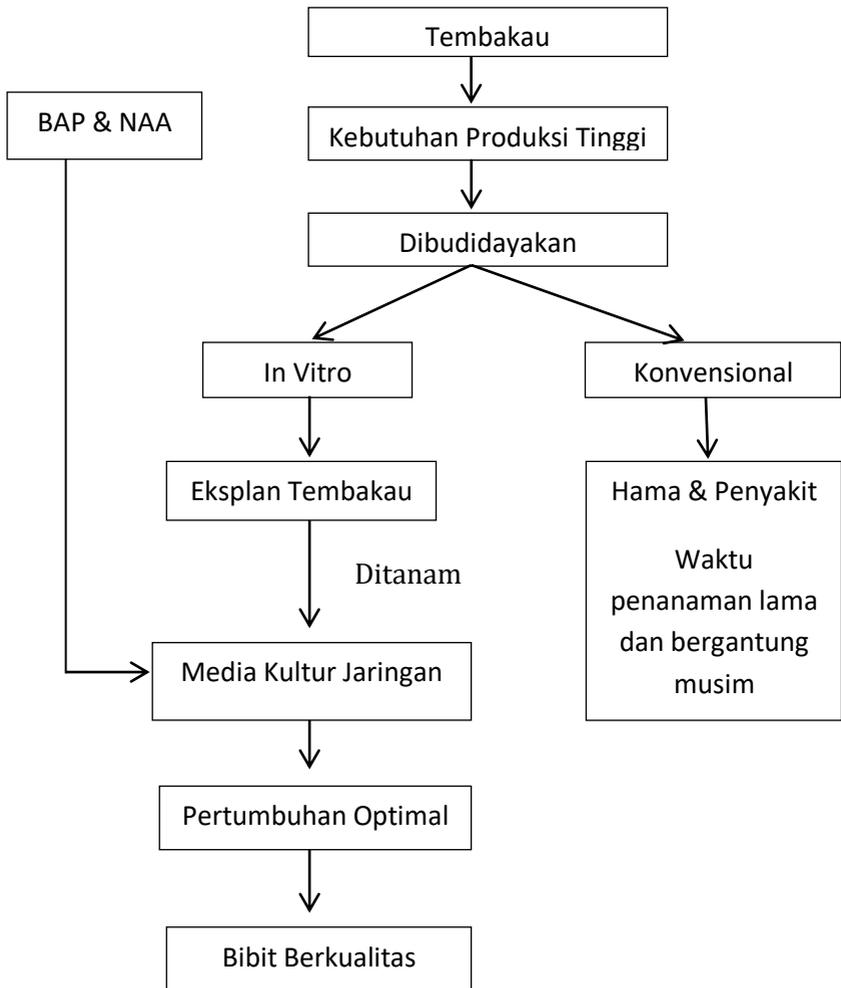
L. var Prancak 95". Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kombinasi BAP 1 ppm dan IAA 0,5 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu dengan rata-rata jumlah tunas sebanyak 34 tunas/eksplan sedangkan jumlah akar terbanyak didapatkan dari kombinasi IAA 1 ppm and BAP 0 ppm dengan rata-rata jumlah akar sebanyak 4 akar/eksplan.

Penelitian yang dilakukan putri septiana dari Universitas jember tahun 2015 mengenai modifikasi BAP dan IAA pada tanaman tembakau varietas H-382. Dari penelitiannya menunjukkan bahwa kalus tembakau muncul pada perlakuan media tanpa tambahan BAP

\

C. Kerangka Pemikiran

Kerangka pemikiran penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut



Gambar 2.2 Kerangka Pemikiran

D. Hipotesis

1. H_A : Terdapat pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA pada induksi kalus tembakau kemloko (*Nicotina tabacum*) secara *in vitro*.
2. H_0 : Tidak terdapat pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA pada induksi kalus tembakau kemloko (*Nicotina tabacum*) secara *in vitro*

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan pendekatan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif. Pendekatan penelitian yang digunakan yaitu berupa pendekatan penelitian eksperimental murni, sebab pada penelitian ini menggunakan pengontrolan variabel, pemberian perlakuan dan dilakukan adanya pengujian hasil. Metode penelitian ini bersifat validasi atau menguji, yaitu menguji pengaruh satu atau lebih variabel terhadap variabel lain, variabel yang memberi pengaruh dikelompokkan sebagai variabel bebas (independent variabel) dan variabel yang dipengaruhi dikelompokkan sebagai variabel terikat (dependent variabel) (Harini, 2018).

B. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium kultur jaringan tumbuhan UIN Walisongo Semarang pada bulan September 2019 – Januari 2019

C. Alat dan bahan

1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya botol kultur, botol gelap, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet ukur, spatula, pengaduk, pinset, kalpel, mata pisau, kompor listrik, autoklaf, kulkas, LAFC (*Laminar Air flow Cabinet*), timbangan

analitik, magnetic stirrer, bunsen, korek api, filler (pipump), sprayer, kertas pH/indikator pH, kertas label, aluminium foil, plastik, karet, plastik wrap, tisu, masker, lateks, kamera, dan alat tulis

2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya alkohol 70%, bleach 10%, akuades steril, zat pengatur tumbuh auksin (NAA), zat pengatur tumbuh sitokinin (BAP), stok makronutrien (NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4), stok mikronutrien (), stok besi (), stok vitamin (), HCL 1 N, KOH 1N, daun tembakau (*Nicotiana tabacum*)

D. Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini berupa daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang diambil daun tegiga sampai kelima dari pucuk yang diperoleh dari kebun pemurnian tembakau dinas Pertanian dan Perkebunan Kabupaten Temanggung. Sedangkan sampel pada penelitian ini menggunakan sampel potongan daun muda tembakau kemloko (*Nicotiana tabacum*)

E. Variabel penelitian

Variabel merupakan segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga didapatkan informasi tentang hal tersebut, untuk kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2016)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang ditambahkan pada media kultu jaringan tembakau (*Nicotiana tabacum*). Variabel terikat pada penelitian ini

adalah pertumbuhan kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) dimana parameter pertumbuhan yang diamati adalah hari munculnya kalus pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum*), volume kalus, berat segar kalus, warna kalus, tekstur kalus. Variabel kontrol pada penelitian ini adalah varietas tanaman, kondisi laboratorium kultur jaringan meliputi suhu dan pencahayaan

F. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati selama penelitian ini diantaranya:

1) Saat muncul kalus (HST)

Pengamatan dilaksanakan dengan mencatat hari pada saat kalus pertama kali muncul. Adanya kalus ini ditandai dengan adanya benjolan-benjolan yang saling berjejal pada permukaan eksplan.

2) Volume sel kalus

Volume sel kalus dihitung pada akhir penelitian. Perhitungan volume kalus dilakukan dengan mencatat volume air yang bertambah saat kalus dicelupkan dalam air ada volume tertentu.

3) Berat segar kalus

Perhitungan berat segar kalus dilakukan pada akhir penelitian, dengan menimbang kalus dengan menggunakan timbangan analitik.

4) Morfologi kalus

Morfologi kalus diamati pada akhir penelitian, dengan melihat bagaimana tekstur serta warna kalus yang didapatkan

G. Prosedur dan teknik pengumpulan data

1. Prosedur Penelitian

a Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini berupa satu set alat diseksi (pisau, pisau scalpel, gunting), botol kultur, tutup botol, dan petridish, terlebih dahulu dicuci bersih dengan menggunakan detergen lalu dibilas dengan menggunakan air mengalir. Alat yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan untuk kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas ataupun koran, setelah itu alat yang akan digunakan diautoklaf dengan pengaturan suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

Sebelum menggunakan LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), LAFC dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70% dan dilanjutkan dengan sterilisasi dengan menggunakan lampu UV selama kurang lebih 2 jam.

b Cara Pengambilan dan Sterilisasi Sampel

Sampel daun muda tembakau diambil dari kebun pemurnian tembakau kemloko Dinas Pertanian dan Perkebunan Kabupaten Temanggung, daun yang akan digunakan dipilih dengan kualitas bagus dan bebas hama penyakit supaya didapatkan hasil yang maksimal. Selanjutnya dilakukan sterilisasi daun tembakau. Sterilisasi permukaan eksplan berupa daun ini ada 2 tahap yaitu:

- 1 Daun tembakau muda (daun kedua sampai ketiga dari pucuk) dibilas dengan air mengalir hingga bersih
- 2 Daun tembakau dimasukkan ke dalam 70 % etanol selama 5 menit. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 menit. Potongan daun tembakau disterilisasi dengan 10% sodium hypochlorite (Bayclin™) selama \pm 5 menit. Kemudian dibilas tiga kali dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali sambil digojog. Selanjutnya eksplan diambil dengan pinset dan ditiriskan pada kertas saring. (Fowke, et al., 1983 dalam K, Nurhidayati and Purwani, 2012)

c Pembuatan Media

- 1 Menyiapkan gelas beker 200 ml yang berisi Aquades dengan ukuran yang ditentukan
- 2 Menimbang bahan kimia amkronutrien sesuai dengan tabel dan melarutkannya satu per satu. Memasukan stok besi, stok mikronutrien, dan stok vitamin sesuai dengan kebutuhan
- 3 Menimbang myo-inositol sesuai kebutuhan kemudian melarutkannya. Menimbang sukrosa yang telah ditentukan dan melarutkannya
- 4 Menaambahkan zat pengatur tumbuh BAP daan NAA sesuai ragam percobaan
- 5 Menaambahkan akuades hingga volume yang dibutuhkan

- 6 Mengukur pH menjadi 5,6 - 6,3 dengan menambahkan HCl atau KOH
- 7 Menimbang agar-agar sesuai dengan yang dibutuhkan dan memasukkannya dalam gelas beker, panaskan sambil diaduk hingga agar-agar larut
- 8 Membagi media ke dalam botol kultur kurang lebih 40 ml/botol. Menutup rapat dengan menggunakan aluminium foil dan memberi label sesuai ragam perlakuan
- 9 Media selanjutnya disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (1 atm)
- 10 Menyimpan medium yang sudah steril ke dalam ruang penyimpanan

d Perlakuan dan Penanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun dengan kondisi bagus dan baik. Selanjutnya media dibuat dengan tingkat zat pengatur tumbuh yang berbeda-beda yang telah ditentukan. Pada perlakuan A berisi media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Perlakuan B berisi media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm dan NAA 3 ppm. Perlakuan C berisi media MS dengan penambahan BAP 2 ppm dan NAA 2 ppm. Perlakuan D berisi media MS dengan penambahan BAP 3 ppm dan NAA 1 ppm. Kemudian dari masing-masing perlakuan ditanam potongan daun tembakau dan

dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali dari setiap perlakuannya, hal ini digunakan untuk melihat pengaruh zat pengatur tumbuh pada konsentrasi mana yang dapat menghasilkan hasil terbaik terhadap tumbuhnya kalus.

e Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 4 minggu (satu bulan)

2. Pengumpulan Data Penelitian

a Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol. Jumlah ulangan didapatkan dengan rumus

$$\begin{aligned}
 (t-1)(r-1) &\geq 15 \\
 (4-1)(r-1) &\geq 15 \\
 3(r-1) &\geq 15 \\
 3r-3 &\geq 15 \\
 r &= 6
 \end{aligned}$$

Dimana t adalah perlakuan dan r adalah ulangan, berdasarkan perhitungan tersebut maka didapatkan jumlah ulangan pada penelitian ini adalah 6 kali ulangan. Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 unit percobaan (tabel 3.1), dan setiap unit percobaan dalam botol kultur berisi 3 potongan daun tembakau sehingga seluruh potongan eksplan yang digunakan adalah 72 eksplan

Pengulangan	Perlakuan			
	A	B	C	D
1	A1	B1	C1	D1

2	A2	B2	C2	D2
3	A3	B3	C3	D3
4	A4	B4	C4	D4
5	A5	B5	C5	D5
6	A6	B6	C6	D6

Tabel 3.1 Rancangan Unit Percobaan

Keterangan:

- 1 Perlakuan A adalah kontrol yaitu penanaman daun tembakau pada media MS0
 - 2 Perlakuan B adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm dan NAA 3 ppm
 - 3 Perlakuan C adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 2 ppm dan NAA 2 ppm
 - 4 Perlakuan D adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 3 ppm dan NAA 1 ppm
- b Teknik Pengumpulan Data
Teknik pengamatan data pada penelitian ini dilakukan dengan cara observasi melakukan pengamatan langsung serta dokumentasi. Pengamatan

dilakukan setiap hari setelah pnanaman. Pengamatan dilakukan dengan mengamati hari pertama munculnya kalus, warna kalus, berat segar, serta volume kalus yang terbentuk.

H. Teknik analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS 20 melalui uji *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui signifikasi pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap induksi kalus daun tembakau. Data yang signifikan dilanjutkan dengan uji

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Data

1. Identifikasi Sampel

Tembakau merupakan tanaman yang masih berkerabat dekat dengan terung-terungan dan tumbuh dengan batang tegak dengan ketinggian rata-rata mencapai 250 cm dengan permukannya ditumbuhi bulu halus berwarna putih (Setiawan dan Yani, 1993), memiliki sistem perakaran tunggang, dan memiliki daun berbentuk lonjong serta memiliki bau tak sedap dan menyengat (Jas 2013)

Tembakau temanggung disebut-sebut sebagai tembakau terbaik karena dapat menghasilkan tembakau dengan kualitas srintil yang mana dimanfaatkan sebagai sumber pemberi rasa dan aroma yang khas (Rochman, Suwarso, and Murdiyati 2007)

2. Preparasi Sampel

Preparasi sampel daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terlebih dahulu dilakukan sterilisasi, hal ini bertujuan agar eksplan terhindar dari mikroorganisme tanpa mematikan eksplan tersebut. Proses awal daun tembakau dimasukkan ke dalam 70 % etanol selama 5 menit. Perendaman dilakukan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme pada sampel yang menyebabkan adanya kontaminan. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak dua kali, hal ini dilakukan untuk menghilangkan sisa dari bahan sterilisasi. . Potongan

daun tembakau disterilisasi dengan 10% sodium hypochlorite (Bayclin™) selama ± 5 menit. Kemudian dibilas tiga kali dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali sambil digojog. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa dari bahan sterilan yang digunakan dalam sterilisasi sampel. Selanjutnya eksplan diambil dengan pinset dan ditiriskan pada kertas saring. Penggunaan kertas saring ini bertujuan agar sisa bahan sterilisasi sebelumnya bisa terserap sehingga ketika dilakukan penanaman eksplan dalam keadaan kering

B. Hasil Penelitian

1. Pertambahan bobot kalus

Rata-rata pertambahan bobot kalus (gr) diamati selama 4 minggu (satu bulan) dan ditimbang pada minggu terakhir yang kemudian disajikan dalam tabel 4.1 Pengolahan data in disajikan menggunakan program SPSS 17.

ANOVA

Bobot

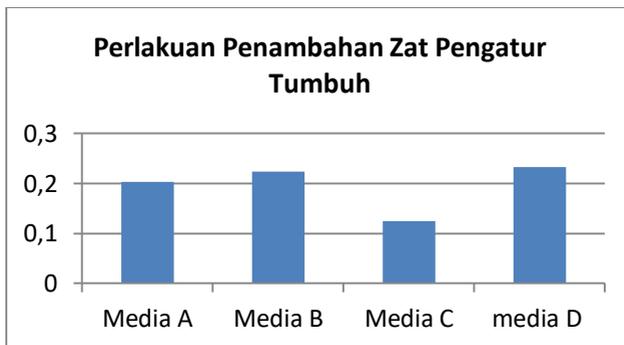
Tabel 4.1 Uji One Way ANOVA Bobot Kalus Tembakau

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.043	3	.014	.849	.483

Within Groups	.339	20	.017		
Total	.382	23			

Berdasarkan *output* data *One Way Anova* diatas, diketahui nilai signifikasi sebesar $0,483 > 0,05$ oleh karenanya, dapat disimpulkan bahwa rata-rata penambahan bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) tidak memiliki perbedaan yang nyata. Perbandingan rata-rata pertambahan bobot kalus tembakau pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut.

Grafik 4.1. Rata-rata Bobot Kalus Tembakau



2. Volume Kalus

Rata-rata volume kalus tembakau yang diolah menggunakan program SPSS 17 di bawah ini menunjukkan nilai signifikasi sebesar $0,829 > 0,05$ sehingga, dapat disimpulkan bahwa penambahan zat

pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA tidak memiliki perbedaan yang nyata/signifikan terhadap penambahan volume kalus tembakau

ANOVA

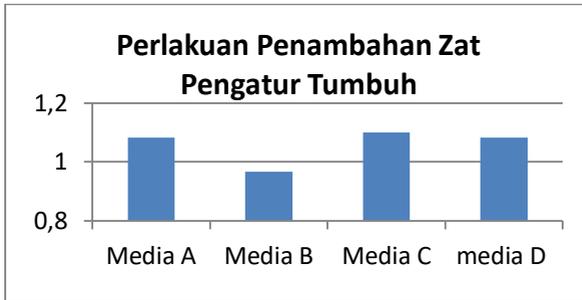
Volume

Tabel 4.2 Uji One way ANOVA Volume Kalus Tembakau

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.068	3	.023	.294	.829
Within Groups	1.550	20	.077		
Total	1.618	23			

Perbandingan rata-rata volume kalus tembakau pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut:

Grafik 4.2. Rata-rata penambahan volume kalus tembakau



3. Induksi Kalus

Rata-rata hari awal kemunculan kalus tembakau disajikan pada tabel 4.3 dimana data diperoleh nilai signifikansi sebesar $0.635 > 0,05$, dapat disimpulkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA tidak berpengaruh secara nyata atau signifikan terhadap hari awal kemunculan kalus tembakau

ANOVA

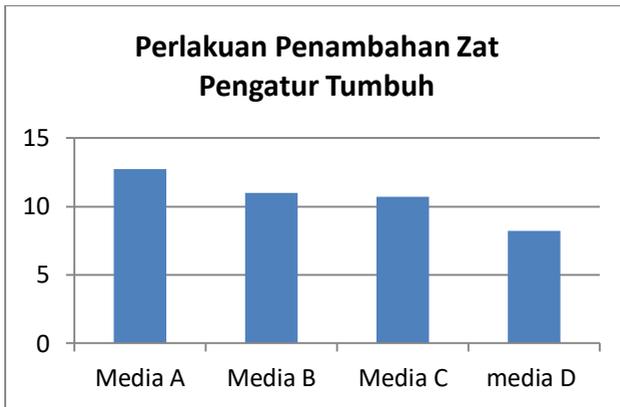
hari muncul kalus

Tabel 4.3 Hasil Uji *One Way ANOVA* hari awal induksi kalus tembakau

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.889	3	20.630	.580	.635
Within Groups	711.889	20	35.594		

Total	773.778	23			
-------	---------	----	--	--	--

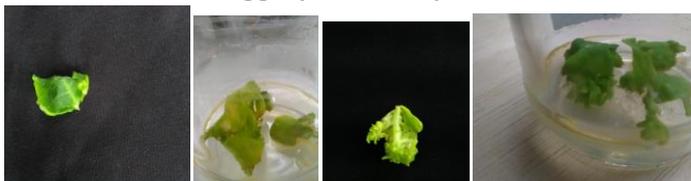
Perbandingan rata-rata awal kemunculan kalus pada tembakau dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut



Grafik 4.3. Rata-rata hari awal induksi kalus tembakau

4. Morfologi kalus

Pengamatan dilakukan setelah pengamatan selama 4 minggu (satu bulan) selesai dilaksanakan.



Gambar 4.4 (A) kalus yang dihasilkan dari media A; (B) Kalus yang dihasilkan dari media B; (C) Kalus yang dihasilkan dari media C; (D) Kalus yang dihasilkan dari media D

C. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dimana BAP dan NAA yang ditambahkan pada media MS menunjukkan hasil yang berbeda-beda diantara semua perlakuan. Sedang parameter yang diamati pada penelitian ini ialah bobot kalus (gr), volume kalus (ml), Hari awal kemunculan kalus, serta warna dan tekstur kalus.

Eksplan dari daun tembakau ditanam dalam media MS dengan beberapa perlakuan. Pada media A (kontrol) hanya menggunakan media MS tanpa penambahan BAP ataupun NAA, media B diberikan perlakuan dengan penambahan BAP serta NAA dengan perbandingan 1:3., media C dengan perlakuan penambahan BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2., dan media D dengan penambahan BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1. Setelah penanaman eksplan tersebut kemudian dilakukan pengamatan selama 4 minggu (satu bulan)

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, ada beberapa eksplan yang pertumbuhannya terhambat. Faktor tersebut diantaranya disebabkan adanya kontaminasi, yang mana faktor kontaminasi ini merupakan kendala yang umum dan sering terjadi dalam perbanyakan secara kultur *in vitro*. Pada penelitian ini ditemukan beberapa jenis kontaminan seperti jamur dan bakteri. Jamur serta bakteri yang muncul pada bagian permukaan media agar ini dapat menghambat pertumbuhan eksplan bahkan kontaminan ini dapat menyebabkan eksplan menjadi mati. Media yang terkontaminasi jamur bagian permukaannya terselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, kuning, serta sedikit berwarna abu-abu, sedangkan media yang terkontaminasi oleh bakteri

tampak berlendir dan berwarna agak kekuningan. Bakteri menurut Setiyoko (1995), yang mungkin berasal dari laboratorium adalah bakteri gram positif (Nisa and Rodinah 2005)

Selain jamur dan bakteri, faktor penghambat lainnya ialah *browning* atau pencoklatan pada bagian eksplan bekas perlukaan. Pencoklatan ini diduga terjadi akibat adanya aktifitas dari enzim *oksidase* yang mengakibatkan terjadinya peningkatan produksi senyawa *fenolik*. Lizawati (2012), mengatakan bahwa peristiwa *browning* pada kalus akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan. Hal ini merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan dan juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol dalam botol kultur (Waryastuti, Setyobudi, and Wardiyati 2017).



Gambar 4.5 (a). kontaminasi jamur (b). kontaminasi bakteri (c). browning

Selain beberapa faktor kontaminasi diatas, faktor sterilitas ruangan juga sangat menentukan terhadap kontaminasi. Ruangan yang sudah steril dapat saja berubah menjadi tidak steril pada saat musim hujan,

sehingga dapat membawa masuknya bakteri dan jamur dari luar, serta dapat meningkatkan kelembaban yang akan mempercepat perkembangan mikroorganismenya. Pengambilan meristem sebagai eksplan harus dilakukan dalam ruang steril (aseptik) agar tidak terkontaminasi (Sunarjono, 2002 Nisa & Rodinah, 2005)

Faktor yang sangat penting dalam kultur *in vitro* salah satunya yaitu media tanam dan penambahan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Dalam penelitian ini digunakan media MS karena memiliki jumlah garam-garam anorganik yang lebih tinggi dari pada media lainnya. Selain itu pada umumnya media MS juga mendukung pertumbuhan berbagai tanaman (Nasution 2013)

Zat pengatur tumbuh pada penelitian ini digunakan BAP dan NAA karena NAA dan BAP merupakan jenis ZPT yang memiliki range (jarak) yang cukup luas dalam memacu (stimulator) dan penghambat suatu pertumbuhan sehingga range konsentrasi NAA dan BAP yang digunakan tidak beresiko menghambat pertumbuhan (Pamungkas 2015)

1. Bobot Kalus

Bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) pada penelitian ini diperoleh dengan menimbang eksplan yang telah ditanam pada akhir penelitian. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada tabel lampiran 2

Data rata-rata peningkatan bobot diuji dengan uji *One Way Anova* menggunakan program SPSS 17 dengan tingkat kepercayaan 95% (tabel lampiran 2).



Gambar. 4.6 a. penimbangan bobot kalus; b. penimbangan boot kalus dari media perlakuan berbeda

Hasil analisis data *One Way Anova* terhadap penambahan bobot kalus dari eksplan tembakau tidak berpengaruh nyata dengan nilai signifikansi $0,483 > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata atau signifikan antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya.

Descriptives

Bobot

Tabel. 4.4 descriptives hasil Anova bobot kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	.20340556	.011370399	.004641946	.19147305	.21533806	.190500	.218933

media B	6	.223988	.18719	.0764	.02754	.420435	.0538	.58640
		89	2700	21100	220	58	00	0
media C	6	.125044	.03421	.0139	.08913	.160951	.0687	.17583
		44	5173	68286	782	07	33	3
media D	6	.232233	.17714	.0723	.04632	.418138	.0400	.52540
		33	8050	20389	786	81	33	0
Total	24	.196168	.12882	.0262	.14176	.250567	.0400	.58640
		06	8573	97022	852	59	33	0

Secara deskriptif (tabel 4.2) dapat diketahui bahwa rata-rata peningkatan bobot eksplan yang ditanam pada media perlakuan A (MS0) adalah 0,203 gr; media perlakuan B (MS + BAP 1 ppm + NAA 3 ppm) adalah 0.223 gr; media perlakuan C (MS + BAP 2 ppm + NAA 2 ppm) adalah 0,125 gr; dan media perlakuan D (MS + BAP 3 ppm + NAA 1 ppm) adalah 0,232 gr. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan bobot tertinggi adalah pada media D (MS + BAP 3 ppm + NAA 1 ppm)

Penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 (media D) menghasilkan rerata bobot kalus tertinggi yaitu 0,232 gr lebih tinggi dibandingkan dengan perbandingan zpt 1:3 (media B) dengan rata-rata bobot yaitu 0,223 gr, media pangan perlakuan penambahan zapt Bap dan NAA dengan perbandingan 2:2 (media C) menghasilkan bobot

rata-rata bobot kalus yaitu 0,125 dan pada media kontrol (media A) rerata bobot kalus yang dihasilkan yaitu 0,203 gr. Hal ini menunjukkan bahwa media tanam pada media D memberikan pengaruh paling tinggi terhadap penambahan bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*)

Media D dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 mendapatkan hasil terbaik dibanding dengan perlakuan pada media lainnya. Sedang rerata terendah didapatkan dari perlakuan media A, minimnya bobot segar kalus yang terbentuk pada penelitian ini lebih banyak disebabkan karena eksplan hanya menghasilkan kalus berupa titik-titik air yang belum berkembang serta faktor lain ialah terdapat beberapa eksplan yang terkena browning

2. Volume Kalus

Volume kalus diukur pada akhir penelitian. Hasil pengamatan peningkatan volume dapat dilihat pada tabel lampiran 1



Gambar 4.7 Pengukuran volume kalus

Data rata-rata peningkatan volume dari ekplan yang ditanam diuji dengan menggunakan uji *One way Anova* menggunakan program SPSS 17 dengan tingkat kepercayaan 95% (Tabel lampiran 2)

Hasil olah data *One Way Anova* terhadap pertambahan volume eksplan menjadi kalus menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata dari penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA . Nilai signifikasi yan diperoleh yaitu sebesar 0.829 dimana nilai tersebut lebih besar dari nilai standard pengujian ($P>0.05$).

Descriptives

Volume

Tabel. 4.5. Descriptive hasil uji Anova volume kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	1.0833	.11690	.04773	.9606	1.2060	.90	1.20
media B	6	.9667	.35024	.14298	.5991	1.3342	.30	1.30

media C	6	1.1000	.17889	.07303	.9123	1.2877	.80	1.30
media D	6	1.0833	.37639	.15366	.6883	1.4783	.40	1.40
Total	24	1.0583	.26526	.05415	.9463	1.1703	.30	1.40

Penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2 (media C) menghasilkan rerata volume kalus tertinggi yaitu 1,10 ml, lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan pada media A dan media D yang menghasilkan rerata 1,083 ml, dan pada media B dengan perbandingan zpt 1:3 dengan volume terendah yaitu 0,966 ml. Hal ini menunjukkan media tanam dengan penambahan zpt BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2 memberikan pengaruh paling tinggi pada pertambahan volume kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*). Proliferasi sel yang dimulai pada bagian eksplan yang terluka mungkin disebabkan oleh akumulasi auksin pada titik cedera, yang merangsang proliferasi sel di hadapan regulator pertumbuhan (N. Ahmad *et al.* 2010)

3. Hari Awal Muncul Kalus

Munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih bening seperti titik-titik air/lendir pada bekas irisan eksplan dan sayatan di permukaan

eksplan yang kemudian berkembang menjadi bulatan-bulatan kecil yang jelas dan agregat kalus (Waryastuti, Setyobudi, and Wardiyati 2017)



Gambar. 4.8 perkembangan eksplan. a. eksplan setelah penanaman b. eksplan mulai membengkak; c. eksplan mulai muncul kalus

Respon perubahan eksplan setelah dikulturkan dapat dikatakan cukup cepat. Pada mulanya, Eksplan mengalami pembengkakan dan pada bagian bekas pemotongan berubah warna dari putih kekuningan menjadi kecoklatan dan beberapa hari setelahnya titik kalus mulai tampak dari eksplan yang ditanam. Terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsang luka (Fowler, 1983). Hal ini kemungkinan berkaitan dengan proses pengambilan nutrisi medium oleh eksplan. Penyerapan unsur hara akan lebih baik karena terjadi kontak langsung antara media dengan bagian abaksial daun (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Rangsang tersebut menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir ke luar sehingga mulai terbentuk kalus (Nisa and Rodinah 2005). Kemunculan kalus pada eksplan yang ditanam diamatai setiap harinya dan dicatat pada hari keberapa titik kalus mulai muncul. Hasil analisis *One Way Anova* terhadap hari awal kemunculan kalus tidak berbeda nyata yaitu dengan nilai signifikansi 0,635 ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan

bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata antara satu perlakuan terhadap perlakuan yang lainnya atau hasilnya hampir sama, sehingga tidak dilakukan uji lanjut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Nisa and Rodinah 2005) bahwa campuran NAA dan kinetin, kultivar pisang, dan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap saat pembentukan kalus.

Descriptives

hari muncul kalus

Tabel. 4.6 Descriptive hasil uji Anova pada induksi kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	12.722222	7.53780595	3.07729639	4.8117800	20.6326644	.00000	20.00000
media B	6	11.000000	4.93963561	2.01659779	5.8161703	16.1838297	5.66667	17.33333
media C	6	10.722222	6.36105046	2.59688798	4.0467092	17.3977353	.00000	15.66667

media D	6	8.2222	4.54931	1.8572	3.44800	12.9964	.0000	12.33
		222	822	5139	55	389	0	333
Total	24	10.6666	5.80021	1.1839	8.21745	13.1158	.0000	20.00
		6667	655	6425	00	833	0	000

Perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh dengan perbandingan BAP dengan NAA 3:1 (media D) menghasilkan rata-rata kecepatan munculkan kalus tercepat yaitu pada hari ke 8,22 jika dibandingkan dengan perlakuan pada media lain. Sedangkan pada media C dengan perbandingan BAP dan NAA 2:2 menghasilkan rata-rata kecepatan tumbuh kalus pada hari ke 10,72, pada media B dengan perbandingan BAP dan NAA 1:2 menghasilkan rata-rata kecepatan kemunculan kalus pada hari ke 11.00. Sedangkan media A (kontrol) menghasilkan rata-rata kecepatan kemunculan kalus paling lama yaitu pada hari ke 12,7.

Rerata kecepatan kemunculan kalus secara statistik tidak berpengaruh nyata terhadap kecepatan kemunculan kalus, nmaun jika ditinjau secara deskriptif terlihat bahwa ada pengaruh dari interaksi adanya penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAAA terhadap kecepatan kemunculan kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*). Hal ini diduga penambahan zat pengatur tumbuh dengan perbandingan BAP dan NAA 3:1 memberikan perimbangan yang tepat dengan zpt endogen, sehingga dapat menunjang kecepatan kemunculan kalus. Keseimbangan zpt endogen dan eksogen harus

pada titik yang menunjang pembelahan sel (Gunawan, 1992). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilaksanakan oleh Ahmad & Spoor, (1999) bahwasanya pertumbuhan kalus terbaik ketika konsentrasi NAA sedikit lebih tinggi dari konsentrasi BAP

Hasil penelitian Yelnititis (2008) menunjukkan bahwa induksi kalus dari eksplan potongan embrio muda *Shorea pinanga* pada perlakuan yang sama terjadi rata-rata 10 hari setelah dikulturkan, sedangkan induksi kalus dari potongan kotiledon *Pinus radiata* terjadi 4 - 5 minggu setelah dikulturkan (Yelnititis 2012). Penelitian lain yang dilakukan oleh (Rahman et al. 2010) memaparkan bahwa induksi kalus tembakau motihari dan sumatra dimulai pada hari ke 6.00 dan 10.60

Perbedaan kedinian induksi kalus pada masing-masing eksplan selain dipengaruhi oleh hormon dan nutrisi dalam media kultur jaringan, perbedaan tersebut dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. dalam penelitian ini eksplan yang digunakan berasal dari bagian daun. Menurut Tjitrosoepomo (2007) daun merupakan salah satu organ tumbuhan yang memiliki pertumbuhan terbatas, sehingga hormon pertumbuhan dalam daun juga terbatas. Hal ini akan berpengaruh juga dalam induksi kalus yang terbentuk dari eksplan daun tersebut.

4. Morfologi kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus yang kompak

dan remah. kalus kompak mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus remah mempunyai tekstur unak da tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak (Sugiyarto and Kuswandi 2014)

Pada umur 4 minggu setelah tanam pada media perlakuan media kontrol (media A) didapatkan kalus dengan tekstur remah dan berwarna putih kekuningan dan bening serta sedikit berair, sedangkan pada perlakuan media B, media C, dan media D didapatkan hasil kalus berupa kalus yang kompak dan padat, serta memiliki warna hijau. Kalus yang hijau ini disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi NAA dan BAP, terutama BAP (sitokinin) yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Dalam pembentukan kalus tampaknya kondisi gelap atau terang tidak memberikan pengaruh terhadap pembentukan kalus, namun memberikan pengaruh terhadap pada kondisi kalus, Kalus yang dibudidayakan dalam cahaya mewakili struktur yang lebih ketat dan bentuk teratur dengan warna kelly, sedangkan kalus dalam gelap menunjukkan dirinya kurang kompak dan tidak teratur dengan warna kuning jerami(Yanjie 1997)

Dalam penelitian ini tektur kalus yang dihasilkan dari perlakuan kombinasi BAP dan NAA berupa kalus kompak hal ini sejalan dengan yang diutarakan oleh Nisak et al., (2012) "Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan

auksin yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Auksin akan melonggarkan serat-serat dinding sel, sehingga dinding sel lebih fleksibel dan nutrisi yang terkandung dalam medium akan masuk secara difusi. Hal ini akan terus berlangsung sampai potensial air dan potensial osmotik seimbang dan sel menjadi turgid. Sel turgid dengan adanya penambahan sitokinin akan mempengaruhi pembelahan dan pemanjangan sel sehingga pembentukan dinding sel semakin cepat dan kalus menjadi kompak". Pada bagian permukaan bawah kalus juga tampak berair, hal ini disebabkan karena permukaan bawah langsung bersentuhan dengan media dan berperan sebagai area penyerapan media (Sugiyarto and Kuswandi 2014)

D. Keterbatasan Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan memiliki beberapa keterbatasan penelitian, diantaranya:

1. Keterbatasan objek penelitian

Penelitian ini hanya terbatas pada satu varietas tembakau saja yaitu tembakau kemloko dan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Perlu dilakukan penelitian menggunakan varietas tembakau lain dan menggunakan zat pengatur tumbuh tidak hanya BAP dan NAA tetapi dengan menggunakan jenis zat pengatur tumbuh yang lain.

2. Keterbatasan waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini juga dipengaruhi oleh waktu serta tempat yang digunakan. Tempat yang digunakan dalam penelitian ini di Laboratorium

kultur jaringan UIN Walisongo Semarang dan permasalahan yang dihadapi dalam penelitian ini ialah lingkungan pada sekitar laboratorium yang kurang mendukung untuk steril, hal ini menjadikan tingkat kontaminasi masih tinggi. Keterbatasan lain yang dihadapi ialah alat serta bahan yang digunakan dalam penelitian ini masih sederhana dan masih perlu pengawasan ketat setiap harinya seperti AC, autoklaf, dan Listrik.

3. Keterbatasan kemampuan

Keterbatasan lain yang dihadapi bahwasanya peneliti menyadai bahwa kemampuan yang dimiliki oleh peneliti dalam melakukan penelitian ini masih sangat kurang, namun disini peneliti berusaha semaksimal mungkin dalam mempelajari serta mengikuti arahan dari dosen maupun dari literatur yang terpercaya

4. Keterbatasan biaya penelitian

Kerbatasan lain yang dihadapi oleh peneliti ialah biaya, hal ini karena bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini cukup banyak dan biaya yang dibutuhkan tidaklah sedikit

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan uji homogenitas parameter pertumbuhan kalus yang akan diamati sebelum digunakan untuk penelitian (pra-riset). Penanaman eksplan dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang dilakukan kurang hati-hati sehingga terjadi kerusakan eksplan baik karena akkontaminasi maupun kecoklatan (*browning*)

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA dengan berbagai perbandingan pada media berpengaruh tidak signifikan terhadap parameter bobot kalus, volume kalus, serta awal hari kemunculan kalus
2. Konsentrasi optimum pada peningkatan bobot kalus yaitu pada perlakuan media D yaitu 0.23 gr, pertambahan volume pada media perlakuan media C yaitu 1.1 ml, dan hari awal kemunculan kalus pada perlakuan media D yaitu 8.2 hari

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan serta kesimpulan diatas maka saran yang peneliti berikan yaitu:

1. Sebaiknya penanaman daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) dilakukan dengan lebih hati-hati guna mengurangi tingkat kerusakan

akibat kontaminasi ataupun kecoklatan (*browning*)

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan zpt tersebut hingga eksplan tembakau benar-benar mengalami pertumbuhan secara maksimal ditinjau dari bobot, volume, hari awal kemunculan kalus dan terstruktur kalusnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, N, M Faisal, M Anis, and I M Aref. 2010. "In Vitro Callus Induction and Plant Regeneration from Leaf Explants of *Ruta Graveolens* L." *South African Journal of Botany* 76(3): 597–600.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2010.03.008>.
- Ahmad, Shafiq, and William Spoor. 1999. "Effects of NAA and BAP on Callus Culture and Plant Regeneration in Curly Kale (*Brassica Oleracea* L .)." *pakistan journal of biological sciences* 2(1): 109–12.
- Ali, Gowher et al. 2007. "Callus Induction and in Vitro Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (*Nicotiana Tabacum* L .) on Media of Different Hormonal Concentrations." *biotechnology* 4(May 2014): 561–66.
- Azizan, muhammad nur azimi bin, and Risda. 2018. "The Effect of BAP and NAA Treatment on Micropropagation of *Cucumis Sativus* . L." *international journal of science and research* (November 2017).
- Desriatin, noer laily. 2009. "PENGARUH KOMBINASI ZAT

PENGATUR TUMBUH IAA DAN KINETIN TERHADAP MORFOGENESIS PADA KULTUR IN VITRO TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana Tabacum* L. Var. Prancak-95).” *kultul jaringan tembakau*.

Erawati, Dyah Nuning, Usken Fisdiana, and Siti Humaida. 2017. “Peran Benzyl Amino Purine Pada Induksi Tunas Kultur Tembakau White Burley.” *jurnal ilmiah inovasi* 17(3): 127-31.

Fatmawati, titin aisyah, Tutik Nurhidayati, and Nurul Jadid. 2008. “PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH IAA DAN BAP PADA KULTUR JARINGAN TEMBAKAU *Nicotiana Tabacum* L. VAR. Prancak 95.” (1998).

Fitri, Mellisa, and Sumringah Migunani. 2014. “Pembuatan Pestisida Menggunakan Tembakau.” *jurnal inovasi dan kewirausahaan* 3(2): 68-71.

Hartanti, Leni Dwi, Lila Maharani, and Dwi Sucianingtyas Sukamto. 2017. “Perbandingan Kombinasi Konsentrasi ZPT (BAP & NAA) Media WPM Terhadap Induksi Kalus Pada Eksplan Daun Muda Tanaman Karet (*Hevea Brasilliensis* Muell. Arg).” *simbiosis II* (September):

246-54.

Ilmiah, N.F., and S.F. Rahmah. 2012. "Eksistensi Tembakau Menurut Perspektif Agama Dan Sains Dalam Polemik Rokok Di Indonesia." : 1-6.

Indriana, kovertina rakhmi. 2016. "Produksi Bersih Pada Efisiensi Dosis Pupuk N Dan Umur Panen Daun Tembakau Terhadap Kadar Nikotin Dan Gula Pada Tembakau Virginia." *jurnal agrotek indonesia* 1(2): 91-97.

Isnandza, hiqma widya. 2015. "PENGARUH KONSENTRASI BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana Tabacum* L.) MELALUI TEKNIK IN VITRO." universitas jember.

Jas, Admar. 2013. "Tembakau Dan Alkohol, Manfaat Dan Mudaratnya." *the journal of medical school* 46(3): 158-62.

Khanifa, nurma khusna. 2018. "RESISTENSI ATAS PENGENDALIAN TEMBAKAU TERHADAP HAK-HAK

EKONOMI, SOSIAL, DAN BUDAYA DI KALANGAN PETANI SRINTHIL Nurma." *wahana akademika* 5(April): 49–67.

Nasution, sabar sampulan. 2013. "PENGARUH TEKNIK STERILISASI TERHADAP KEBERHASILAN INISIASI EKSPLAN PAULOWNIA (Paulownia Elongata SY. Hu) SECARA IN VITRO." institut pertanian bogor.

Ningsih, putri septinana hargia. 2015. "Induksi Somatik Embryogenesis Secara Lagsung Dengan Modifikasi BAP Dan IAA Pada Tanaman Tembakau (Nicotiana Tabaccum L) Varietas H-382." universitas jember.

Nisa, Chatimatun, and Rodinah. 2005. "KULTUR JARINGAN BEBERAPA KULTIVAR BUAH PISANG (Musa Paradisiaca L.) DENGAN PEMBERIAN CAMPURAN NAA DAN KINETIN." *bioscientiae* 2: 23–36.

Nisak, Tutik Nurhidayati, and kristanti i Purwani. 2012. "Pengaruh Kombinasi Konsentrasi ZPT NAA Dan BAP Pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana Tabacum Var. Prancak 95." *sains dan seni pomits* 1(1): 1–6.

Nugraha, sumedi p, and wanda rusma Agustiningih. 2015.

“Pelatihan Pemanfaatan Limbah Tembakau Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida Nabati.” *seri pengabdian masyarakat 2015* 4(1): 63–67.

Pamungkas, saktiyono sigit tri. 2015. “PENGARUH KONSENTRASI NAA DAN BAP TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS EKSPLAN TANAMAN PISANG CAVENDISH (*Musa Paradisiaca* L.) MELALUI KULTUR IN VITRO.” *gontor AGROTECH science journal* 2(November 2008): 31–45.

Purita, Shela Yaka, Noer Rahmi, and Nur Basuki. 2017. “PERTUMBUHAN PLANLET SUB KULTUR JARINGAN TANAMAN NANAS (*Ananas Comosus* L . Merr) THE INFLUENCE OF GROWTH CONTROL SUBSTANCE OF BAP TYPE ON THE SUB TISSUE CULTURE PLANLETS GROWTH OF PINEAPPLE (*Ananas Comosus* L . Merr).” *jurnal produksi tanaman* 5(7): 1207–12.

Puspita, pratiwi eka. 2011. “ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TEMANGGUNG TOBACCO EXTRACT VARIETY GENJAH KEMLOKO.” institut pertanian bogor.

Putri, nuke isnayanti. 2008. “KAJIAN BERBAGAI KOMPOSISI

MEDIA SERTA KONDISI GELAP DAN TERANG TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN JATI BELANDA (*Guazuma Ulmifolia Lamk.*)” universitas sebelas maret surakarta.

Rahman, M.a. et al. 2010. “IN VITRO REGENERATION OF POPULAR TOBACCO VARIETIES OF BANGLADESH FROM LEAF DISC.” 35(March): 125–34.

Rochman, Fatkhur, Suwarso, and A.s. Murdiyati. 2007. “Galur Harapan Tembakau Temanggung Produksi Tinggi Dan Tahan Penyakit Lincat.” 13(2): 57–65.

Rosidah, Siti, yustinus u Anggraito, and krispinus k Pukan. 2014. “UJI TOLERANSI TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana Tabacum L.*) TERHADAP CEKAMAN KADMIUM (Cd), TIMBAL (Pb), DAN TEMBAGA (Cu) PADA KULTUR CAIR.” *jurnal of life science* 3(2): 68–78.

Shihab, Quraish. Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur’an, Vol. 1, Lentera Hati, Jakarta, 2002

Sintha, Dewi. 2017. “PENGARUH BAP DAN KINETIN TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS PISANG BARANGAN (*Musa Paradisiaca L.*) SECARA IN VITRO.” universitas

bengkulu.

Sugiyarto, Lili, and paramita cahyaningrum Kuswandi. 2014.

“PENGARUH 2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN BENZYL AMINOPURIN (BAP) TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS DAUN BINAHONG (ANREDERA PENGARUH 2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN BENZYL AMINOPURIN CORDIFOLIA L.) SERTA ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL.” *jurnal penelitian saintek* 19(1): 23–30.

Taji, acram m., william a. Dodd, and richard r. Williams. 2006.

Teknik Kultur Jaringan Tanaman. edisi keti. fakultas pertanian universitas jambi.

Wahidah, baiq farhatul. 2010. “Pengaruh Stres Pelaparan Dan

Suhu Tinggi Terhadap Induksi Embriogenesis Mikrospora Tembakau.” *jurnal biologi XIV* 1(April): 1–6.

Waryastuti, defi eka, Lilik Setyobudi, and Tatik Wardiyati.

2017. “PENGARUH TINGKAT KONSENTRASI 2, 4-D DAN BAP PADA MEDIA MS TERHADAP INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK TEMULAWAK (Curcuma Xanthorrhiza Roxb .) EFFECTS OF 2, 4-D AND BAP CONCENTRATION

LEVELS ON MS MEDIA FOR EMBRYOGENIC CALLUS INDUCTION OF JAVA TURMERIC (*Curcuma*.” *jurnal produksi tanaman* 5(1): 140–49.

Yanjie, Chao. 1997. Huazhong agricultural university “Callus Induction and Plant Regeneration From Leaf Explants of Tobacco.” Huazhong agricultural university.

Yelnititis. 2012. “PEMBENTUKAN KALUS REMAH DARI EKSPLAN DAUN RAMIN (*Gonystylus Bancanus* (Miq) Kurz.)” *jurnal pemuliaan tanaman hutan* 6(3): 181–94.

LAMPIRAN 1

1. Tabel Hasil Pengamatan

Eksplan	Induksi	Bobot	Volume
A1	13.667	0.202	1.1
A2	16	0.211	1.2
A3	0	0.190	1.1
A4	20	0.2061	1
A5	8	0.1905	0.9
A6	18.6667	0.218	1.2
B1	6.33	0.229	1.2
B2	15.66	0.16	1
B3	12.66	0.188	1
B4	8.33	0.586	1.3
B5	5.66	0.053	0.3
B6	17.33	0.126	1
C1	15.33	0.119	1
C2	0	0.175	1.3
C3	6	0.126	1.2
C4	12.66	0.127	1.1
C5	15.66	0.132	1.2
C6	14.66	0.068	0.8
D1	11	0.053	0.4
D2	7.33	0.258	1.2
D3	11.33	0.040	0.9
D4	12.33	0.525	1.4
D5	0	0.259	1.3
D6	7.33	0.256	1.3

Lampiran 2.

PENGOLAHAN DATA SPSS

1. Uji test Normalitas, *Descriptives tabel*, Homogenitas, One Way Anova. Pengujian pada kecepatan induksi kalus dari eksplan tembakau (*Nicotiana tabacum* L).

Tests of Normality

media perilaku	media	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hari muncul kalus	media A	.217	6	.200*	.908	6	.422
	media B	.205	6	.200*	.904	6	.400
	media C	.287	6	.134	.819	6	.086
	media D	.256	6	.200*	.850	6	.156

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

hari muncul kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	Minimum	Maximum

			on		Lower Bound	Upper Bound		
medi	6	12.722	7.5378	3.0772	4.8117	20.632	.0000	20.00
a A		2222	0595	9639	800	6644	0	000
medi	6	11.000	4.9396	2.0165	5.8161	16.183	5.666	17.33
a B		0000	3561	9779	703	8297	67	333
medi	6	10.722	6.3610	2.5968	4.0467	17.397	.0000	15.66
a C		2222	5046	8798	092	7353	0	667
medi	6	8.2222	4.5493	1.8572	3.4480	12.996	.0000	12.33
a D		222	1822	5139	055	4389	0	333
Total	24	10.666	5.8002	1.1839	8.2174	13.115	.0000	20.00
		6667	1655	6425	500	8833	0	000

Test of Homogeneity of Variances

hari muncul kalus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.798	3	20	.509

ANOVA

hari muncul kalus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.889	3	20.630	.580	.635
Within Groups	711.889	20	35.594		

Total	773.778	23			
-------	---------	----	--	--	--

2. Uji Test Normalitas, *Descriptives* tabel, Homogenitas, One Way Anova. Pada pengujian pada penambahan bobot dari eksplan tembakau (*Nicotiana tabacum* L)

Tests of Normality

perlakuan media	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
bobot media A	.205	6	.200*	.925	6	.542
media B	.323	6	.051	.797	6	.055
media C	.264	6	.200*	.905	6	.406
media D	.273	6	.184	.873	6	.237

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

Bobot

	N	Mean	Std. Deviasi	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	Minimum	Maximum

			on		Lower Bound	Upper Bound		
medi	6	.2034	.01137	.00464	.191473	.215338	.1905	.2189
a A		0556	0399	1946	05	06	00	33
medi	6	.2239	.18719	.07642	.027542	.420435	.0538	.5864
a B		8889	2700	1100	20	58	00	00
medi	6	.1250	.03421	.01396	.089137	.160951	.0687	.1758
a C		4444	5173	8286	82	07	33	33
medi	6	.2322	.17714	.07232	.046327	.418138	.0400	.5254
a D		3333	8050	0389	86	81	33	00
Total	24	.1961	.12882	.02629	.141768	.250567	.0400	.5864
		6806	8573	7022	52	59	33	00

Test of Homogeneity of Variances

Bobot

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.072	3	20	.051

ANOVA

Bobot

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.043	3	.014	.849	.483

Within Groups	.339	20	.017		
Total	.382	23			

3. Uji tesy Normalitas, *Descriptives* tabel, Homogenitas, dan One Way Anova, pada pengujian volume kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L)

Tests of Normality

media perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
volume media A	.223	6	.200*	.908	6	.421
media B	.371	6	.010	.797	6	.055
media C	.212	6	.200*	.933	6	.607
media D	.288	6	.130	.824	6	.096

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Descriptives

Volume

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		

medi a A	6	1.083 3	.11690	.0477 3	.9606	1.2060	.90	1.20
medi a B	6	.9667	.35024	.1429 8	.5991	1.3342	.30	1.30
medi a C	6	1.100 0	.17889	.0730 3	.9123	1.2877	.80	1.30
medi a D	6	1.083 3	.37639	.1536 6	.6883	1.4783	.40	1.40
Total	24	1.058 3	.26526	.0541 5	.9463	1.1703	.30	1.40

Test of Homogeneity of Variances

Volume

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.608	3	20	.219

ANOVA

Volume

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.068	3	.023	.294	.829
Within Groups	1.550	20	.077		
Total	1.618	23			

LAMPIRAN 3

Tabel .1. Formula medium Murashige & Skoog (1992)

BAHAN		STOK	UNTUK 1 L MEDIUM mg/L	UNTUK MEDIUM mg/200 mL
I	MAKRONUTRIEN			
	NH ₄ NCl ₃		1.650	330
	KNO ₃		1.900	380
	CaCl ₂ .7H ₂ O		440	88
	MgSO ₄ .7H ₂ O		370	74
	KH ₂ PO ₄		170	34
II	BESI	mg/200 ml (40x)	Ambil 5 ml stok	1 ml stok
	Na ₂ EDTA	1.492	(37,3)	7,46
	FeSO ₄ .7H ₂ O	1.112	(27,8)	5,56
III	MIKRONUTRIEN	mg/100 ml (100x)	Ambil 1 ml stok	0,2
	MnSO ₄ .H ₂ O	2.230	(22,3)	4,46
	ZnSO ₄ .4H ₂ O	860	(8,6)	1,72
	H ₃ BO ₃	620	(6,2)	1,24
	KI	83	(0,83)	0,166
	NaMoO ₄ .2H ₂ O	25	(0,25)	0,05
	CuSO ₄ .5H ₂ O	2,5	(0,025)	0,005
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5	(0,025)	0,005	
IV	VITAMIN	mg/200 ml (50x)	Ambil 4 ml stok	0,8 ml stok
	Glycine	100	(2)	0,4
	Nicotimic acid	25	(0,5)	0,1
	Pyridoxine-HCl	25	(0,5)	0,1

	Thiamine-HCl	5	(0,1)	0,02
V	Myo-Inositol		100 mg	20 mg
VI	Sukrosa		30.000 mg	6000 mg
VII	Agar			6000-8000 mg
pH				5.6-6.3

Sumber: Petunjuk Praktikum Kultur Jaringan Tumbuhan
Laboratorium Biologi UIN Walisongo Semarang

LAMPIRAN 4

DOKUMENTASI PROSES PENELITIAN



 <p>7</p>	 <p>8</p>	 <p>9</p>
 <p>10</p>	 <p>11</p>	 <p>12</p>
 <p>13</p>	 <p>14</p>	 <p>15</p>

Keterangan:

- 1 Persiapkn proses autoklaf
- 2 Penimbangan bahan
- 3 Proses pembuatan media MS dengan mengambil larutan stok
- 4 Proses pemasakan media MS

- 5 Proses penanaman eksplan
- 6 Eksplan hasil penanaman
- 7 Eksplan mulai membengkak
- 8 Eksplan mulai tumbuh kalus
- 9 Eksplan mulai tumbuh titik-titik/ bintil kalus
- 10 Penimbangan kalus
- 11 Pengukuran volume kalus
- 12 Kalus yang terbentuk di akhir penelitian
- 13 Kontaminasi bakteri
- 14 Kontaminasi jamur
- 15 Browning

LAMPIRAN 5

RIWAYAT HIDUP

A Identitas Diri

- 1 Nama Lengkap : Laily Rofiatun Nadhifah
- 2 Tempat & Tgl. Lahir : Magelang, 01 Januari 1998
- 3 Alamat Rumah : Dsn. Tinjumoyo 05/03, Ds. Umbulsari, Kec. Windusari, Kab. Magelang
- 4 HP : 083108935203
- 5 E-mail : lailysalim01@gmail.com

B Riwayat Pendidikan

1 Pendidikan formal

- a TK Bangun Siwi Umbulsari (2000)
- b SD Negeri Tinjumoyo (2006)
- c SMP Darul Muttaqien Temanggung (2012)
- d MA Darul Muttaqien Temanggung (2015)

2 Pendidikan Non Formal

- a TPQ Darus Sholihin Tinjumoyo
- b Pondok Pesanten API Tembarak Temanggung
- c Pondok Pesantren Darul Muttaqien Temanggung
- d Pondok Pesantren Putri Tahfidzul Qur'an Al-Hikmah Semarang

Semarang, Maret 2020

BAB I

PENDAHULUAN

E. Latar Belakang

Allah SWT menciptakan alam semesta ini tentu tidak dengan tanpa alasan, dan semua yang Ia ciptakan pasti memiliki nilai serta manfaat. Seperti firmanNya dalam surah Ali Imron ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ ۗ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا ۖ سُبْحَانَكَ قَوْلًا عَذَابِ النَّارِ

Artinya:

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka periharalah kami dari siksa neraka”

Ayat ini mengundang kita untuk berpikir, karena sesungguhnya dalam penciptaan benda-benda seperti matahari, bulan, dan jutaan gugusan bintang yang terdapat di langit serta kejadian dan perputaran bumi pada porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang perbedaannya, baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya terdapat tanda-tanda

kemahakuasaan Allah bagiulūl-albāb, yakni orang-orang yang memiliki akal yang murni (Shihab, 2002)

Tembakau yang Allah ciptakan merupakan salah satu komponen penyusun alam tentu saja memiliki banyak kegunaan, sehingga adanya tindakan diskriminasi pada tanaman tembakau ini tidak dibenarkan karena dapat dianggap sebagai bentuk kufur akan salah satu nikmat Allah berupa tanaman tembakau ini.

Indonesia merupakan penghasil tembakau terbesar di dunia. Produksi tembakau di Indonesia tersebar dari Pulau Sumatera, Jawa, Bali sampai Nusa Tenggara. Lebih dari 100 jenis tembakau yang dihasilkan di Indonesia. Sekitar 200 juta kilogram tembakau yang diproduksi tiap tahunnya di Indonesia, dan merupakan salah satu tanaman yang cukup besar dalam menyumbangkan devisa untuk negara melalui produksi rokok (Nugraha and Agustiniingsih 2015)

Pemanfaatan tembakau selain sebagai bahan baku rokok, juga dimanfaatkan dimanfaatkan sebagai pestisida organik diantaranya sebagai pencegah serangan kutu tanaman, membunuh serangga, mencegah daun menggulung, mencegah hama pengerek dan membasmi tikus (Fitri and Migunani 2014), nikotin dalam daun tembakau juga berpotensi sebagai insektisida yang mana

telah direkomendasikan penggunaannya pada tahun 1763 untuk membasmi hama aphid pada tanaman sayuran dan tanaman hias (Sutjipto, 2002 dalam Setyawati 2009). Tanaman tembakau juga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu agen bioremediasi (Rosidah, Anggraito, and Pukan 2014). Dalam penelitian Setyawati (2009) disimpulkan bahwa ekstrak tembakau dapat dimanfaatkan sebagai pengawet bambu petung sekaligus meningkatkan kelenturan bambu karena adanya pengaruh dari alkaloid yang merupakan senyawa organik aktif yang mengandung unsur nitrogen (bersifat sedikit basa) yang dapat memperkuat struktur anatomi bambu (Fatmawati, Nurhidayati, and Jadid 2008). Dalam bidang kesehatan tembakau juga memiliki sumbangsih yang berpengaruh cukup besar, seperti yang diutarakan Ilmiyah and Rahmah, (2012) bahwa dalam tembakau ini memiliki beberapa senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai penangkal radikal bebas. Tembakau dapat pula menghasilkan protein anti-kanker "*Growth Colony Stimulating Factor*" (GCSF) yang berguna bagi penderita kanker (Khanifa 2018),.

Keistimewaan dan manfaat yang besar dari tembakau inilah yang mengakibatkan kebutuhan tembakau di Indonesia meningkat (Nisak, Nurhidayati, and

Purwani 2012), oleh karenanya Indonesia harus tetap meningkatkan produksi tembakau baik secara kuantitas maupun kualitas, melalui berbagai teknik pemuliaan tanaman (Wahidah 2010). Perbanyak dengan metode konvensional menggunakan biji memerlukan waktu yang relatif lama dan hasilnya seringkali tidak homogen. Belum lagi gangguan dari lingkungan yang dapat disebabkan oleh hama dan penyakit misalnya, maupun cekaman lingkungan yang mana dapat mengganggu keberhasilan pembibitan tanaman. Oleh karenanya penerapan teknologi pengendalian penyakit perlu digalakan seperti penggunaan bibit unggul bebas penyakit. Salah satu alternatifnya yaitu dengan menggunakan teknik kultur jaringan.

Konsep dasar dari kultur jaringan didasarkan atas sifat totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan, yaitu potensi dari sel tumbuhan untuk tumbuh apabila distimulasi dengan benar dan sesuai. Artinya suatu jaringan tumbuhan yang diambil dari bagian manapun apabila ditumbuhkan dalam media yang sesuai, dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang sempurna (Widyastuti dan Jesicca, 2018)

Kultur jaringan tumbuhan adalah menumbuhkan dan memperbanyak sel, jaringan, dan organ dalam media

padat atau cair di bawah kondisi aseptik dan terkendali (Purita et al., 2017), juga menghasilkan bibit yang bebas patogen (George dan Sherrington, 1984 dalam Sintha, 2017).

Pada umumnya penelitian awal mengenai kultur jaringan tumbuhan melibatkan kultur kalus pada tanaman tembakau, wortel, petunia, dan lain-lain. Pada tanaman-tanaman ini, pendekatan umum adalah memanipulasi keseimbangan sitokinin dan auksin yang diberikan guna mengatur pola pertumbuhan untuk memproduksi pucuk atau akar (Taji, Dodd, and Williams, 2006).

Untuk menunjang keberhasilan kultur jaringan maka perlu diperhatikan faktor - faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Salah satu faktor yang berpengaruh adalah media dan zat pengatur tumbuh (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Pada saat ini dikenal dua hormon yang mempengaruhi diferensiasi tanaman yang dibutuhkan dalam kultur jaringan yaitu: hormon auksin untuk merangsang perkembangan akar, dan sitokinin untuk merangsang perkembangan tunas, kedua zat pengatur tubuh ini sangat menentukan arah pertumbuhan jaringan tersebut. Pemberian ZPT dari luar adalah untuk mengubah nisbah ZPT yang ada pada tanaman. Perubahan nisbah tersebut mengubah laju

pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Gunawan, 1988; dalam widyastuti, 2018).

Pada penelitian ini digunakan hormon sintetis auksin berupa NAA, karena NAA mempunyai sifat lebih stabil dari pada IAA. Sedangkan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah BAP, karena BAP lebih tahan terhadap degradasi dan harganya lebih murah (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Penggunaan zat pengatur tumbuh apabila digunakan dengan konsentrasi rendah dapat merangsang dan mempercepat proses pertumbuhan tanaman, namun sebaliknya apabila digunakan dalam jumlah besar atau konsentrasi tinggi justru dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat mematikan tanaman. Untuk itu perlu dikaji penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif dalam merangsang induksi tunas tanaman tembakau (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012)

F. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diajukan di atas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah di antaranya:

3. Adakah pengaruh zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. Kemloko?
4. Berapakah konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. Kemloko?

G. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang akan diteliti, tujuan yang ingin dicapai diantaranya adalah:

3. Mengetahui pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. kemloko
4. Mengetahui konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum* L) Var. kemloko

H. Manfaat

Setelah dilaksanakannya penelitian diharapkan dapat membawa manfaat di antaranya:

4. Bagi ilmu pengetahuan, dapat menambah wawasan keilmuan mengenai pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh NAA dan BAP terhadap induksi kalus tembakau (*Nicotiana tabacum L*)Var. kemloko
5. Bagi peneliti lain dapat dimanfaatkan sebagai bahan perbandingan serta acuan untuk penelitian selanjutnya
6. Bagi perusahaan penggiat tembakau, dapat dijadikan sebagai sarana untuk memperbanyak koleksi tembakau yang seragam dan mendapatkannya dalam waktu yang relatif singkat

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

E. Landasan Teori

6. Tembakau (*Nicotiana tabacum*)

Dalam klasifikasi tanaman, tembakau masih termasuk kerabat dekat terung-terungan (famili Solanaceae). Solanaceae merupakan famili yang cukup besar, tidak kurang dari 85 genus termasuk di dalam famili ini. Dari sekian banyak species, yang mempunyai arti ekonomi paling tinggi diantaranya species *Nicotiana tabacum* yang memiliki kadar nikotin rendah yaitu 0,6%. (Setiawan dan Yani, 1993).

Secara sistematis klasifikasi tanaman tembakau sebagai berikut ini.

Kingdim	: Plantae
Divis	: Dicotyledonae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Sub-famnili	: Nicotianae
Genus	: <i>Nicotiana</i>
Species	: <i>Nicotiana tabacum</i>

(Tjitrosoepomo,2007)

Tembakau kemloko memiliki akar hingga bunga yang lengkap, secara morfologi dijelaskan sebagai berikut

f. Akar

Memiliki akar tunggang yang panjangnya kurang lebih 50-75 cm dan memiliki banyak akar serabut serta bulu akar (Setiawan dan Yani, 1993).

g. Batang

Pohonnya berbatang tegak dengan ketinggian rata-rata mencapai 250 cm, akan tetapi kadang-kadang dapat mencapai tinggi sampai 4 m apabila syarat-syarat tumbuh baik (Indriana 2016), Batangnya berbentuk bulat seperti silinder (Jas 2013), Batangnya berwarna hijau dan hampir seluruh bagiannya ditumbuhi bulu-bulu halus berwarna putih (Setiawan dan Yani, 1993), Batang bertekstur agak lunak tetapi kuat dan semakin keujung semakin kecil. Pada setiap buku batang, selain ditumbuhi daun, juga ditumbuhi tunas aksilar (Usmadi dan

Hartana, 2007). Batang tanaman ini biasanya memiliki sedikit cabang, dan hampir seluruhnya diumbui bulu-bulu halus berwarna putih, dan disekitar bulu-bulu tersebut terdapat kelenjar-kelenjar yang mengeluarkan zat pekat dengan bau yang menyengat. (setiawan dan yani, 1992)

h. Daun

Daun lebar berbentuk lonjong serta memiliki bau tak sedap dan menyengat (Jas 2013), pada bagian ujungnya runcing, dan kedudukan daun pada batang tegak (Abdullah, 1982 dalam Indriana, 2016), antara daun dan batang tembakau dihubungkan oleh tangkai daun yang pendek atau tidak bertangkai sama sekali, ukuran daun cukup bervariasi menurut keadaan tempat tumbuh dan jenis tembakau yang di tanam. Sedangkan ketebalan dan kehalusan daun dipengaruhi oleh keadaan kering dan banyaknya curah hujan (Setiawan dan Yani, 1992).

i. Bunga

Bunga tembakau termasuk bunga majemuk yang berbentuk malai, masing-masing seperti terompet, dan memiliki kelopak bunga yang berlekuk dan memiliki lima buah pancung. (Setiawan dan Yanni, 1992)

Pada bagian mahkota bunganya memiliki warna merah muda sampai merah, dan berbentuk terompet panjang (Abdullah, 1982 dalam Indriana, 2016)

j. Biji

Biji tembakau sangat kecil sehingga dalam 1 cm³ dengan berat kurang lebih 0,5 gram berisi sekitar 6000 butir biji (Setiawan dan Yani, 1992)

7. Tembakau kemloko

Tembakau Temanggung varietas Genjah Kemloko berasal dari desa Kemloko Kecamatan Tlogomulyo Kabupaten Temanggung yang menurut produsen rokok besar adalah tembakau terbaik di Temanggung bahkan di Indonesia. Varietas tersebut dikembangkan oleh Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat di

Malang menjadi Kemloko 1, Kemloko 2, dan Kemloko 3. Tembakau jenis Kemloko 1 dan Kemloko 2 adalah jenis tanaman tembakau yang dibudidayakan pada dataran rendah sedangkan Kemloko 3 khusus untuk dataran tinggi. Tembakau varietas lainnya yang ada adalah Gober Togog, Genjah Kenanga, Crumpung, dan Genjah Mawar. Namun demikian, varietas tersebut tidak terlalu dikenal di Temanggung (Puspita, 2011)

Tembakau temanggung menghasilkan tembakau dengan mutu srinthil yaitu dengan kadar nikotin yang paling tinggi, yakni sekitar 20%. Setelah melalui riset dari Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Balittas) yang berkantor di Malang, Jawa Timur, diketahuilah bahwa ternyata kondisi alam, cuaca, dan struktur tanah di daerah Temanggung memang mampu memberikan panen tembakau dengan kualitas terbaik di dunia (Khanifa 2018)

Tembakau Temanggung merupakan bahan baku penting untuk rokok kretek, karena berperan sebagai sumber pemberi rasa dan aroma yang khas (Rochman, Suwarso, and Murdiyati 2007)

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L) varietas Kemloko dapat ditanam di dataran tinggi 700 m d.p.l. sampai dengan 1500 m d.p.l., curah hujan yang

dibutuhkan antara 2.200-3.100 mm/tahun dengan 8-9 bulan basah dan 3-4 bulan kering. Daerah penanamannya sampai saat ini masih terpusat di lereng gunung Sumbing dan gunung Sindoro Kabupaten Temanggung (Basuki *et al.* 2000)

8. Kultur *In Vitro* / Kultur Jaringan

Kultur jaringan bila diartikan ke dalam bahasa Jerman disebut *gewebe kultur*, dalam bahasa Inggris disebut *tissue culture*, dalam Bahasa Belanda disebut *weefsel* atau *weefsel cultuur* (Widyastuti dan Jessica, 2018). Kultur jaringan/Cultur *in vitro* adalah istilah umum yang ditujukan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman seperti batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdeferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Kultur jaringan merupakan proses dimana potongan-potongan kecil dari jaringan hidup diisolasi dari suatu organisme dan tumbuh secara aseptik untuk periode yang tidak terbatas pada media nutrisi dalam kondisi yang

terkendali (Ali *et al.* 2007). Dasar dari pembuatan kultur jaringan adalah teori totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan yang menjelaskan bahwa setiap sel merupakan suatu satuan otonomi dan mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Isnandza 2015). Hal ini menunjukkan bahwa setiap sel adalah unit hidup, ini berarti bahwa sel yang telah mengalami diferensiasi dalam organisme multiselular masih mengandung informasi genetik dari bentuk sebelumnya (Azizan and Risda 2018)

Metode kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, dimana tidak bergantung pada musim. Keunggulan lain dari kultur jaringan yaitu memperoleh sifat fisiologidan morfologi sama persis dengan tanaman induknya (Hendaryono dan Wijayani, 1994 dalam Desriatin, 2009).

Beberapa manfaat kultur jaringan tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006), dapat memperbanyak klon dengan cepat dengan hasil seragam secara genetik, dan mampu menyediakan bahan tanaman bebas patogen, dapat pula digunakan untuk mendapatkan hibrid dari spesies tanaman yang tidak cocok (incompatible) baik melalui kultur embrio

maupun kultur ovul, dapat memproduksi tanaman sepanjang tahun karena kultur jaringan tanaman tidak tergantung musim, serta dapat memperbanyak secara vegetatif terhadap spesies tanaman yang sulit diperbanyak dapat diperoleh melalui kultur jaringan

Menurut Hendaryono, 1994 dalam Ningsih, 2015), dengan mengisolasi dari tanaman induknya dan kemudian menumbuhkannya di dalam atau di atas media, sel-sel eksplan yang tadinya dorman dihadapkan pada kondisi stress sehingga metabolismenya berubah. Respon yang terlihat pertama kali adalah terbentuknya jaringan penutup luka. Sel-sel itu akan terus membelah, yang mana jika pembelahannya tidak terkendali maka akan membentuk massa sel yang tidak terorganisasi, yang disebut kalus

Kalus merupakan jaringan *amorfo* yang terdiri dari sekumpulan massa sel parenkim berdinding tipis yang aktif membelah (Retno, 2017). Tahapan induksi kalus adalah suatu tahapan yang penting dalam budidaya kultur jaringan, karena dari tahapan inilah selanjutnya untuk mendapatkan tanaman utuh atau untuk tujuan lain sesuai dengan yang diinginkan (Putri 2008). Kultur kalus sering digunakan untuk memperoleh tanaman

bebas virus, embriogenesis somatic, regenerasi varian genetika dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Zulkarnain, 2009 dalam Hartanti, Maharani, & Sukamto, 2017). Potensi terbesar penggunaan kultur kalus adalah dimana sel-sel kalus dapat dipisahkan dan diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi embrio somatik. Secara morfologi, embrio ini mirip dengan yang ada pada biji, namun tidak seperti embrio biji, mereka secara genetik bersifat idenetik dengan tanaman induknya (Widyastuti dan jessica, 2018).

Umumnya eksplan yang berasal dari jaringan tanaman yang masih muda (juvenil) lebih mudah tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan jaringan yang telah terdiferensiasi lanjut. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem seperti daun tembakau yang masih muda lebih mudah tumbuh dan beregenerasi karena memiliki sel-sel yang aktif membelah dengan dinding sel yang belum kompleks sehingga lebih mudah dimodifikasi dalam kultur (Erawati, Fisdiana, and Humaida 2017), Namun kemampuan pembentukan kalus dari jaringan juga bergantung dari beberapa hal seperti: (1) umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi; (2) musim pada

waktu bahan tanam diisolasi; (3) bagian tanaman yang dipakai dan (4) jenis tanaman (Gunawan, 1987 dalam (Putri 2008).

9. Media Kultur *In Vitro* Tembakau

Medium kultur merupakan lingkungan buatan untuk sel ataupun organ tanaman yang akan dikulturkan, sehingga media kultur ini harus mampu mencukupi semua kebutuhan baik nutrisi maupun hormon untuk menunjang pertumbuhan secara maksimal (Retno, 2017). Oleh karena kebanyakan species tanaman menghendaki medium yang berbeda, pemilihan medium yang paling sesuai kadang kala menghadapi suatu masalah tertentu, jika tidak adanya informasi yang memadai mengenai media suatu species biasanya teknik kultur dimulai dengan menggunakan medium MS, hal ini dikarenakan media MS mengandung konsentrasi garam yang relatif tinggi dibandingkan dengan media lainnya, medium ini juga mengandung nitrat yang tinggi, dan telah digunakan pada kultur jaringan berbagai tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006). Medium yang dikembangkan oleh Murashige and Skoog (MS) (lampiran 3) untuk kultur tembakau digunakan secara luas untuk kultivasi kalus

pada agar demikian juga kultur suspensi sel dalam medium cair. Media MS ini memiliki keistimewaan tersendiri, karena memiliki kandungan nitrat, kalium dan amoniumnya tinggi (Wetter dan Constabel, 1991)..

Secara umum kebutuhan sel/jaringan yang dikultur dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

4 Nutrisi Anorganik

Terdapat 12 unsur hara esensial untuk pertumbuhan tanaman dan sejumlah unsur hara lain yang dilaporkan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman pada kultur *in vitro*. Untuk pertumbuhan yang normal di dalam kultur jaringan, unsur-unsur esensial ini harus disertakan di dalam medium (Taji, Dodd, and Williams, 2006)

5 Nutrisi Organik

Walaupun tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* juga mampu mensintesis senyawa-senyawa ini, diyakini bahwa tanaman tersebut memproduksinya dalam jumlah yang tidak mencukupi, misalnya sejumlah vitamin untuk pertumbuhan yang sehat, sehingga satu atau beberapa macam vitamin harus ditambahkan ke

dalam medium. Di antaranya adalah tiamin yang merupakan vitamin penting, niasin, piridoksin dan myo-inositol juga seringkali ditambahkan (Taji, Dodd, and Williams 2006).

6 Sumber karbon

Tanaman di dalam kultur jaringan tumbuh secara heterotrop dan karenanya tidak dapat mensintesis sumber karbon sendiri dalam jumlah yang cukup, sehingga perlu dimasukkan suatu sumber karbon (biasanya sukrosa) ke dalam medium. Biasanya sukrosa dengan konsentrasi 1 - 5% digunakan sebagai sumber karbon, namun sumber-sumber karbon lainnya telah pula digunakan termasuk glukosa, maltosa, galaktosa dan laktosa. Bila sukrosa diotoklaf, maka terjadi hidrolisis yang menghasilkan glukosa dan fruktosa yang dapat digunakan secara lebih efisien oleh tanaman di dalam kultur (Taji, Dodd, and Williams 2006)

10. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan suatu senyawa yang dihasilkan pada suatu bagian dari tanaman dan bergerak di dalam jaringan-jaringan untuk

mempengaruhi aktifitas sel pada bagian lain (Taji, Dodd, and Williams, 2006). Keberadaan hormon dan zat pengatur tumbuh dalam kegiatan kultur jaringan adalah mutlak karena kegiatan kultur jaringan umumnya menggunakan bahan tanam berupa sel, jaringan atau organ dan budidayanya terkendali. Dalam kegiatannya, proses tumbuh dan berkembangnya eksplan dapat disesuaikan dengan harapan, misalnya menjadi kalus saja, organogenesis ataupun embriogenesis (Putri 2008).

Beberapa zat pengatur tumbuh yang umumnya digunakan dalam teknik kultur jaringan adalah:

c. Auksin

Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel (Hendaryono, 1994 dalam K, Nurhidayati and Purwani, 2012). Auksin umumnya meningkatkan inisiasi akar dan pertumbuhan

kalus, namun menghambat pertumbuhan pucuk dan pertumbuhan tunas lateral (Taji, Dodd, and Williams 2006).

d. Sitokinin

Sitokinin merupakan nama kelompok hormon tumbuh yang sangat penting sebagai pemacu pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan. Salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel dalam kultur jaringan tanaman adalah 6-Benzil Amino Purine (BAP)(Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Sitokinin yang diproduksi di dalam akar memainkan peranan penting pada aktifitas kambial di dalam batang, dengan cara ini hormon menjadi alat “komunikasi” antar bagian-bagian yang berbeda pada tanaman dan memungkinkan terjadinya pertumbuhan yang terkoordinasi pada keseluruhan tanaman (Taji, Dodd, and Williams 2006). Sebagai zat pengatur tumbuh, sitokinin juga mempunyai fungsi antara lain :

- 5) Memacu perkembangan, pembesaran, dan pembelahan sel serta berperan dalam penundaan senescence (penuaan), dengan

jalan sitokinin menghambat penguraian protein.

- 6) Mengarahkan transport hara, yaitu memberi signal ke arah mana zat hara akan dibawa atau ditransport.
- 7) Mendorong proses morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pembentukan umbi pada kentang, pemecahan dormansi, pembukaan stomata, dan pembungaan.
- 8) Menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar, dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus (Santoso dan Nursandi, 2001 dalam Erawati, Fisdiana and Humaida, 2017)

Metode Mohr merupakan kunci keberhasilan dalam kultur jaringan. Berikut ini tabel kombinasi ZPT auksin sitokinin dalam metode Mohr.

Tabel 2.1 Kombinasi perbandingan ZPT auksin dan sitokinin dalam metode Mohr

ZPT	Dosis kombinasi perbandingan ZPT (ppm)					
Sitokinin	0	1	2	3	4	5
Auksin	5	4	3	2	1	0

Hasil petumbuhan	Akar saja	Akar dan tunas	Tunas saja
------------------	-----------	----------------	------------

(Mohr dan Schopfer, 1978 dalam Hendaryono, 1994 dalam (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012)

Meskipun nutrisi makro dan mikro dari media kultur *in vitro* mungkin tidak berbeda jauh dari species ke species, untuk hasil kalus yang sukses dan regenerasi tanaman, konsentrasi zat pengaruh tumbuh (baik auksin dan sitokinin) sangat penting dan spesifik untuk genitip, jenis eksplan, dan kebutuhan peneliiian (S. Ahmad and Spoor 1999)

F. Kajian Pustaka

Penelitian yang relevan dengan penelitian ini diantaranya adalah:

Penelitian yang dilakukan oleh Nisak K., Tutik Nurhidayati., dan Kristanti I. Purwani. 2012. Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP mampu merespon pembentkan kalus serta berpengaruh terhadap jumlah tunas dan akar. Proliferasi tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 1 ppm dan BAP 4 ppm (rata- rata 52,5 tunas/eksplan), sedangkan

proliferasi akar tertinggi diperoleh pada perlakuan NAA 0,3 ppm dan BAP 0 ppm (rata-rata 6,5 akar/eksplan). Kalus yang didapatkan dominan berwarna putih dan tekstur kompak.

Penelitian lain yang dilakukan oleh: Rani Fitriana Puteri, Evie Ratnasari, dan Isnawati. Pada penelitiannya pemberian konsentrasi yang paling optimal untuk menghasilkan kecepatan waktu induksi dan viabilitas kalus daun sirsak adalah penambahan NAA dengan konsentrasi 3 mg/l dan BAP dengan konsentrasi 1 mg/l, yaitu menghasilkan biomassa kalus sebesar 0,551 mg dan menghasilkan waktu induksi tercepat, yaitu 7 hari.

Penelitian serupa yang dilakukan oleh Emita Kresnawati dari Universitas Muhammadiyah Surakarta tahun 2006. Dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada perlakuan 2 mg/l kinetin dan 1 mg/l NAA dapat memberi pengaruh secara optimum dengan kecepatan pembentukan kalus pada tanaman nilam pada hari ke-9 dengan tekstur yang terbentuk yaitu kompak dan warna putih kecoklatan.

Penelitian oleh Titin Aisyah Fatmawati, Tutik Nurhidayati, Nurul Jadid tahun 2008 dengan judul "Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP Pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum*

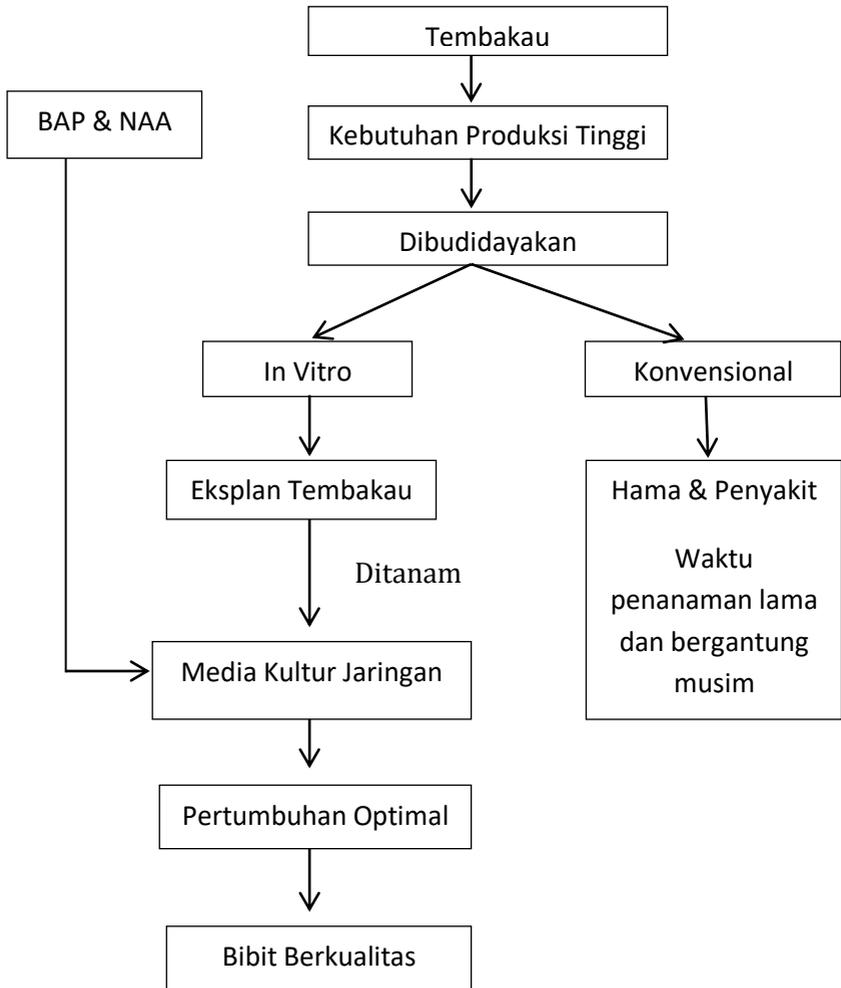
L. var Prancak 95". Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kombinasi BAP 1 ppm dan IAA 0,5 ppm menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu dengan rata-rata jumlah tunas sebanyak 34 tunas/eksplan sedangkan jumlah akar terbanyak didapatkan dari kombinasi IAA 1 ppm and BAP 0 ppm dengan rata-rata jumlah akar sebanyak 4 akar/eksplan.

Penelitian yang dilakukan putri septiana dari Universitas jember tahun 2015 mengenai modifikasi BAP dan IAA pada tanaman tembakau varietas H-382. Dari penelitiannya menunjukkan bahwa kalus tembakau muncul pada perlakuan media tanpa tambahan BAP

\

G. Kerangka Pemikiran

Kerangka pemikiran penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut



Gambar 2.2 Kerangka Pemikiran

H. Hipotesis

3. H_A : Terdapat pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA pada induksi kalus tembakau kemloko (*Nicotina tabacum*) secara *in vitro*.
4. H_0 : Tidak terdapat pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA pada induksi kalus tembakau kemloko (*Nicotina tabacum*) secara *in vitro*

BAB III

METODE PENELITIAN

I. Jenis dan pendekatan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif. Pendekatan penelitian yang digunakan yaitu berupa pendekatan penelitian eksperimental murni, sebab pada penelitian ini menggunakan pengontrolan variabel, pemberian perlakuan dan dilakukan adanya pengujian hasil. Metode penelitian ini bersifat validasi atau menguji, yaitu menguji pengaruh satu atau lebih variabel terhadap variabel lain, variabel yang memberi pengaruh dikelompokkan sebagai variabel bebas (independent variabel) dan variabel yang dipengaruhi dikelompokkan sebagai variabel terikat (dependent variabel) (Harini, 2018).

J. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium kultur jaringan tumbuhan UIN Walisongo Semarang pada bulan September 2019 – Januari 2019

K. Alat dan bahan

3 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya botol kultur, botol gelap, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet ukur, spatula, pengaduk,

pinset, kalpel, mata pisau, kompor listrik, autoklaf, kulkas, LAFC (*Laminar Air flow Cabinet*), timbangan analitik, magnetic stirrer, bunsen, korek api, filler (pipump), sprayer, kertas pH/indikator pH, kertas label, aluminium foil, plastik, karet, plastik wrap, tisu, masker, lateks, kamera, dan alat tulis

4 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya alkohol 70%, bleach 10%, akuades steril, zat pengatur tumbuh auksin (NAA), zat pengatur tumbuh sitokinin (BAP), stok makronutrien (NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4), stok mikronutrien (), stok besi (), stok vitamin (), HCL 1 N, KOH 1N, daun tembakau (*Nicotiana tabacum*)

L. Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini berupa daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang diambil daun tegiga sampai kelima dari pucuk yang diperoleh dari kebun pemurnian tembakau dinas Pertanian dan Perkebunan Kabupaten Temanggung. Sedangkan sampel pada penelitian ini menggunakan sampel potongan daun muda tembakau kemloko (*Nicotiana tabacum*)

M. Variabel penelitian

Variabel merupakan segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga didapatkan informasi tentang hal tersebut, untuk kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2016)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA yang

ditambahkan pada media kultu jaringan tembakau (*Nicotiana tabacum*). Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) dimana parameter pertumbuhan yang diamati adalah hari munculnya kalus pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum*), volume kalus, berat segar kalus, warna kalus, tekstur kalus. Variabel kontrol pada penelitian ini adalah varietas tanaman, kondisi laboratorium kultur jaringan meliputi suhu dan pencahayaan

N. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati selama penelitian ini diantaranya:

5) Saat muncul kalus (HST)

Pengamatan dilaksanakan dengan mencatat hari pada saat kalus pertama kali muncul. Adanya kalus ini ditandai dengan adanya benjolan-benjolan yang saling berjejal pada permukaan eksplan.

6) Volume sel kalus

Volume sel kalus dihitung pada akhir penelitian. Perhitungan volume kalus dilakukan dengan mencatat volume air yang bertambah saat kalus dicelupkan dalam air ada volume tertentu.

7) Berat segar kalus

Perhitungan berat segar kalus dilakukan pada akhir penelitian, dengan menimbang kalus dengan menggunakan timbangan analitik.

8) Morfologi kalus

Morfologi kalus diamati pada khir penelitian, denan melihat bagaimana tekstur serta warna kalus yang didapatkan

O. Prosedur dan teknik pengumpulan data

3. Prosedur Penelitian

f Sterilisasi Alat

Alat yang kan digunakan dalam penelitian ini berupa satu set alat diseksi (pisau, pisau scalpel, gunting), botol kultur, tutup botol, dan petridish, terlebih dahulu dicuci bersih dengan menggunakan detergen lalu dibilas dengan menggunakan air mengalir. Alat yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan untuk kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas ataupun koran, setelah itu alat yang akan digunkan diautoklaf dengan pengaturan suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 30 menit.

Sebelum menggunakan LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), LAFC dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70% dan dilanjutkan dengan sterilisasi dengan menggunakan lampu UV selama kurang lebih 2 jam.

g Cara Pengambilan dan Sterilisasi Sampel

Sampel daun muda tembakau diambil dari kebun pemurnian tembakau kemloko Dinas Pertanian dan Perkebunan Kabupaten Temanggung, daun yang akan digunakan dipilih dengan kualitas bagus dan bebas hama penyakit supaya didapatkan hasil yang maksimal.

Selanjutnya dilakukan sterilisasi daun tembakau. Sterilisasi permukaan eksplan berupa daun ini ada 2 tahap yaitu:

- 3 Daun tembakau muda (daun kedua sampai ketiga dari pucuk) dibilas dengan air mengalir hingga bersih
- 4 Daun tembakau dimasukkan ke dalam 70 % etanol selama 5 menit. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 menit. Potongan daun tembakau disterilisasi dengan 10% sodium hypochlorite (Bayclin™) selama \pm 5 menit. Kemudian dibilas tiga kali dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali sambil digojog. Selanjutnya eksplan diambil dengan pinset dan ditiriskan pada kertas saring. (Fowke, et al., 1983 dalam K, Nurhidayati and Purwani, 2012)

h Pembuatan Media

- 11 Menyiapkan gelas beker 200 ml yang berisi Aquades dengan ukuran yang ditentukan
- 12 Menimbang bahan kimia amkronutrien sesuai dengan tabel dan melarutkannya satu per satu. Memasukan stok besi, stok mikronutrien, dan stok vitamin sesuai dengan kebutuhan
- 13 Menimbang myo-inositol sesuai kebutuhan kemudian melarutkannya. Menimbang sukrosa yang telah ditentukan dan melarukannya

- 14 Menaambahkan zat pengatur tumbuh BAP daan NAA sesuai ragam percobaan
- 15 Menaambahkan akuades hingga volume yang dibutuhkan
- 16 Mengukur pH menadi 5,6 – 6,3 dengan menambahkan HCl atau KOH
- 17 Menimbang agar-agar sesuai dengan yang dibutuhkan dan memasukannya dalam gelas beker, panaskan sambil diaduk hingga agar-agar larut
- 18 Membagi media kedalam botol kultur kurang lebih 40 ml/botol. Menutup rapat dengan menggunakan alluminium foil dan memberi label sesuai ragam perlakuan
- 19 Media selanjutnya disterilisasi selaama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (1 atm)
- 20 Menyimpan medium yang sudah steril kedalam ruang penyimpanan

i Perlakuan dan Penanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun dengan kondisi bagus dan baik. Selanjutnya media dibuat dengan tingkat zat pengatur tumbuh yang berbeda-beda yang telah ditentukan. Pada perlakuan A berisi media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Perlakuan B berisi media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm dan NAA 3 ppm. Perlakuan C berisi media MS dengan penambahan BAP 2 ppm dan NAA 2

ppm. Perlakuan D berisi media MS dengan penambahan BAP 3 ppm dan NAA 1 ppm. Kemudian dari masing-masing perlakuan ditanam potongan daun tembakau dan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali dari setiap perlakuannya, hal ini digunakan untuk melihat pengaruh zat pengatur tumbuh pada konsentrasi mana yang dapat menghasilkan hasil terbaik terhadap tumbuhnya kalus.

j Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 4 minggu (satu bulan)

4. Pengumpulan Data Penelitian

c Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol. Jumlah ulangan didapatkan dengan rumus

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

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$3r-3 \geq 15$$

$$r = 6$$

Dimana t adalah perlakuan dan r adalah ulangan, berdasarkan perhitungan tersebut maka didapatkan jumlah ulangan pada penelitian ini adalah 6 kali ulangan. Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 unit percobaan (tabel 3.1), dan setiap unit percobaan dalam botol kultur berisi 3 potongan daun tembakau sehingga

seluruh potongan eksplan yang digunakan adalah 72 eksplan

Pengulangan	Perlakuan			
	A	B	C	D
1	A1	B1	C1	D1
2	A2	B2	C2	D2
3	A3	B3	C3	D3
4	A4	B4	C4	D4
5	A5	B5	C5	D5
6	A6	B6	C6	D6

Tabel 3.1 Rancangan Unit Percobaan

Keterangan:

- 5 Perlakuan A adalah kontrol yaitu penanaman daun tembakau pada media MS0
- 6 Perlakuan B adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 1 ppm dan NAA 3 ppm
- 7 Perlakuan C adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 2 ppm dan NAA 2 ppm
- 8 Perlakuan D adalah penanaman daun tembakau pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 3 ppm dan NAA 1 ppm

d Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengamatan data pada penelitian ini dilakukan dengan cara observasi melakukan pengamatan langsung serta dokumentasi. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah pnanaman. Pengamatan dilakukan dengan mengamati hari pertama munculnya kalus, warna kalus, berat segar, serta volume kalus yang terbentuk.

P. Teknik analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS 20 melalui uji *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui signifikansi pengaruh zat pengatur tumbuh BAP dan NAA terhadap induksi kalus daun tembakau. Data yang signifikan dilanjutkan dengan uji

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

E. Deskripsi Data

3. Identifikasi Sampel

Tembakau merupakan tanaman yang masih berkerabat dekat dengan terung-terungan dan tumbuh dengan batang tegak dengan ketinggian rata-rata mencapai 250 cm dengan permukannya ditumbuhi bulu halus berwarna putih (Setiawan dan Yani, 1993), memiliki sistem perakaran tunggang, dan memiliki daun berbentuk lonjong serta memiliki bau tak sedap dan menyengat (Jas 2013)

Tembakau temanggung disebut-sebut sebagai tembakau terbaik karena dapat menghasilkan tembakau dengan kualitas srintil yang mana dimanfaatkan sebagai sumber pemberi rasa dan aroma yang khas (Rochman, Suwarso, and Murdiyati 2007)

4. Preparasi Sampel

Preparasi sampel daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terlebih dahulu dilakukan sterilisasi, hal ini bertujuan agar eksplan terhindar dari mikroorganisme tanpa mematikan eksplan tersebut. Proses awal daun tembakau dimasukkan ke dalam 70 % etanol selama 5 menit. Perendaman dilakukan

bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme pada sampel yang menyebabkan adanya kontaminan. Kemudian dibilas dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak dua kali, hal ini dilakukan untuk menghilangkan sisa dari bahan sterilisasi. Potongan daun tembakau disterilisasi dengan 10% sodium hypochlorite (Bayclin™) selama \pm 5 menit. Kemudian dibilas tiga kali dengan aquades steril selama 5 menit sebanyak 3 kali sambil digojog. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa dari bahan sterilan yang digunakan dalam sterilisasi sampel. Selanjutnya eksplan diambil dengan pinset dan ditiriskan pada kertas saring. Penggunaan kertas saring ini bertujuan agar sisa bahan sterilisasi sebelumnya bisa terserap sehingga ketika dilakukan penanaman eksplan dalam keadaan kering

F. Hasil Penelitian

5. Pertambahan bobot kalus

Rata-rata pertambahan bobot kalus (gr) diamati selama 4 minggu (satu bulan) dan ditimbang pada minggu terakhir yang kemudian disajikan dalam tabel 4.1 Pengolahan data ini disajikan menggunakan program SPSS 17.

ANOVA

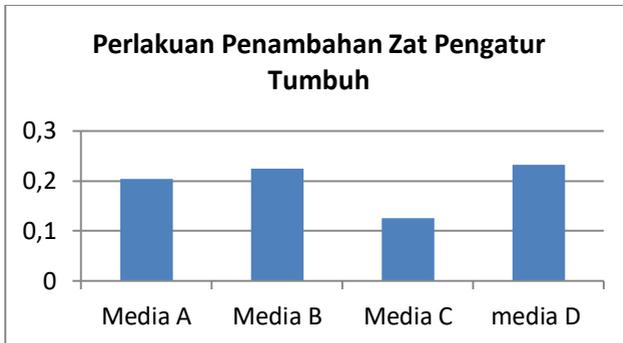
Bobot

Tabel 4.1 Uji One Way ANOVA Bobot Kalus Tembakau

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.043	3	.014	.849	.483
Within Groups	.339	20	.017		
Total	.382	23			

Berdasarkan *output* data *One Way Anova* diatas, diketahui nilai signifikansi sebesar $0,483 > 0,05$ oleh karenanya, dapat disimpulkan bahwa rata-rata penambahan bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) tidak memiliki perbedaan yang nyata. Perbandingan rata-rata pertambahan bobot kalus tembakau pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut.

Grafik 4.1. Rata-rata Bobot Kalus Tembakau



6. Volume Kalus

Rata-rata volume kalus tembakau yang diolah menggunakan program SPSS 17 di bawah ini menunjukkan nilai signifikansi sebesar $0.829 > 0.05$ sehingga, dapat disimpulkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA tidak memiliki perbedaan yang nyata/signifikan terhadap pertambahan volume kalus tembakau

ANOVA

Volume

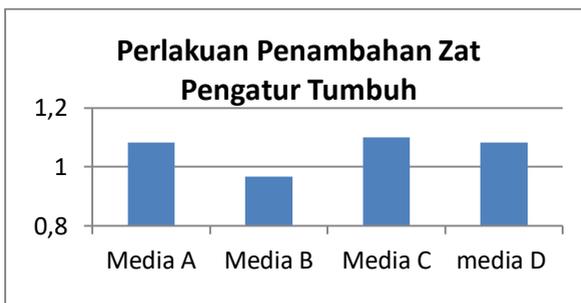
Tabel 4.2 Uji One way ANOVA Volume Kalus Tembakau

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.068	3	.023	.294	.829

Within Groups	1.550	20	.077		
Total	1.618	23			

Perbandingan rata-rata volume kalus tembakau pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut:

Grafik 4.2. Rata-rata penambahan volume kalus tembakau



7. Induksi Kalus

Rata-rata hari awal kemunculan kalus tembakau disajikan pada tabel 4.3 dimana data diperoleh nilai signifikansi sebesar $0.635 > 0,05$, dapat disimpulkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA tidak berpengaruh secara nyata atau signifikan terhadap hari awal kemunculan kalus tembakau

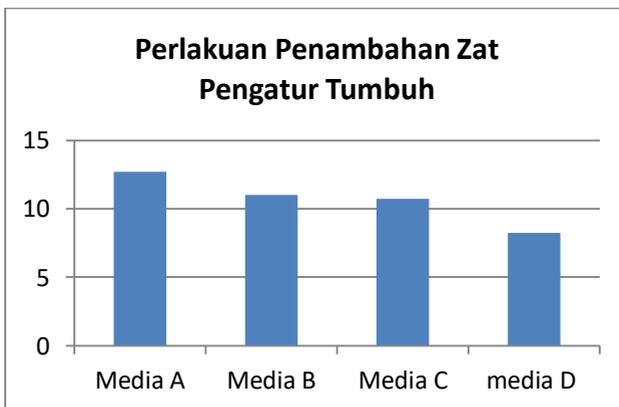
ANOVA

hari muncul kalus

Tabel 4.3 Hasil Uji *One Way ANOVA* hari awal induksi kalus tembakau

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.889	3	20.630	.580	.635
Within Groups	711.889	20	35.594		
Total	773.778	23			

Perbandingan rata-rata awal kemunculan kalus pada tembakau dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut



Grafik 4.3. Rata-rata hari awal induksi kalus tembakau

8. Morfologi kalus

Pengamatan dilakukan setelah pengamatan selama 4 minggu (satu bulan) selesai dilaksanakan.



Gambar 4.4 (A) kalus yang dihasilkan dari media A; (B) Kalus yang dihasilkan dari media B; (C) Kalus yang dihasilkan dari media C; (D) Kalus yang dihasilkan dari media D

G. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dimana BAP dan NAA yang ditambahkan pada media MS menunjukkan hasil yang berbeda-beda diantara semua perlakuan. Sedang parameter yang diamati pada penelitian ini ialah bobot kalus (gr), volume kalus (ml), Hari awal kemunculan kalus, serta warna dan tekstur kalus.

Eksplan dari daun tembakau ditanam dalam media MS dengan beberapa perlakuan. Pada media A (kontrol) hanya menggunakan media MS tanpa penambahan BAP ataupun NAA, media B diberikan perlakuan dengan penambahan BAP serta NAA dengan perbandingan 1:3., media C dengan perlakuan penambahan BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2., dan media D dengan penambahan BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1. Setelah penanaman eksplan tersebut kemudian dilakukan pengamatan selama 4 minggu (satu bulan)

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, ada beberapa eksplan yang pertumbuhannya terhambat. Faktor tersebut diantaranya disebabkan adanya kontaminasi, yang mana faktor kontaminasi ini merupakan kendala yang umum dan sering terjadi dalam perbanyakan secara kultur *in vitro*. Pada penelitian ini ditemukan beberapa jenis kontaminan seperti jamur dan bakteri. Jamur serta bakteri yang muncul pada bagian permukaan media agar ini dapat menghambat pertumbuhan eksplan bahkan kontaminan ini dapat menyebabkan eksplan menjadi mati. Media yang terkontaminasi jamur bagian permukaannya terselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, kuning, serta sedikit berwarna abu-abu, sedangkan media yang terkontaminasi oleh bakteri tampak berlendir dan berwarna agak kekuningan. Bakteri menurut Setiyoko (1995), yang mungkin berasal dari laboratorium adalah bakteri gram positif (Nisa and Rodinah 2005)

Selain jamur dan bakteri, faktor penghambat lainnya ialah *browning* atau pencoklatan pada bagian eksplan bekas perlukaan. Pencoklatan ini diduga terjadi akibat adanya aktifitas dari enzim *oksidase* yang mengakibatkan terjadinya peningkatan produksi senyawa *fenolik*. Lizawati (2012), mengatakan bahwa peristiwa *browning* pada kalus akibat adanya metabolisme senyawa fenol yang bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan. Hal ini merupakan tanda terjadinya kemunduran fisiologis eksplan dan juga menandakan terjadinya sintesis senyawa fenol dalam

botol kultur (Waryastuti, Setyobudi, and Wardiyati 2017).



Gambar 4.5 (a). kontaminasi jamur (b). kontaminasi bakteri (c). browning

Selain beberapa faktor kontaminasi diatas, faktor sterilitas ruangan juga sangat menentukan terhadap kontaminasi. Ruangan yang sudah steril dapat saja berubah menjadi tidak steril pada saat musim hujan, sehingga dapat membawa masuknya bakteri dan jamur dari luar, serta dapat meningkatkan kelembaban yang akan mempercepat perkembangan mikroorganisme. Pengambilan meristem sebagai eksplan harus dilakukan dalam ruang steril (aseptik) agar tidak terkontaminasi (Sunarjono, 2002 Nisa & Rodinah, 2005)

Faktor yang sangat penting dalam kultur *in vitro* salah satunya yaitu media tanam dan penambahan zat pengatur tumbuh yang sesuai. Dalam penelitian ini digunakan media MS karena memiliki jumlah garam-garam anorganik yang lebih tinggi dari pada media lainnya. Selain itu pada umumnya media MS juga mendukung pertumbuhan berbagai tanaman (Nasution 2013)

Zat pengatur tumbuh pada penelitian ini digunakan BAP dan NAA karena NAA dan BAP merupakan jenis ZPT yang memiliki range (jarak) yang cukup luas dalam me

macu (stimulator) dan penghambat suatu pertumbuhan sehingga range konsentrasi NAA dan BAP yang digunakan tidak beresiko menghambat pertumbuhan (Pamungkas 2015)

5. Bobot Kalus

Bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*) pada penelitian ini diperoleh dengan menimbang eksplan yang telah ditanam pada akhir penelitian. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada tabel lampiran 2

Data rata-rata peningkatan bobot diuji dengan uji *One Way Anova* menggunakan program SPSS 17 dengan tingkat kepercayaan 95% (tabel lampiran 2).



Gambar. 4.6 a. penimbangan bobot kalus; b. penimbangan boot kalus dari media perlakuan berbeda

Hasil analisis data *One Way Anova* terhadap pertambahan bobot kalus dari eksplan tembakau tidak berpengaruh nyata dengan nilai signifikansi $0,483 > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata atau signifikan antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya.

Descriptives

Bobot

Tabel. 4.4 descriptives hasil Anova bobot kalus

	N	Mean	Std. Deviasi on	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minim um	Maximu m
					Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	.203405 56	.01137 0399	.0046 41946	.19147 305	.215338 06	.1905 00	.21893 3
media B	6	.223988 89	.18719 2700	.0764 21100	.02754 220	.420435 58	.0538 00	.58640 0
media C	6	.125044 44	.03421 5173	.0139 68286	.08913 782	.160951 07	.0687 33	.17583 3
media D	6	.232233 33	.17714 8050	.0723 20389	.04632 786	.418138 81	.0400 33	.52540 0
Total	24	.196168 06	.12882 8573	.0262 97022	.14176 852	.250567 59	.0400 33	.58640 0

Secara deskriptif (tabel 4.2) dapat diketahui bahwa rata-rata peningkatan bobot eksplan yang ditanam pada media perlakuan A (MS0) adalah 0,203 gr; media perlakuan B (MS + BAP 1 ppm + NAA 3 ppm) adalah 0.223 gr; media perlakuan C (MS + BAP

2 ppm + NAA 2 ppm) adalah 0,125 gr; dan media perlakuan D (MS + BAP 3 ppm + NAA 1 ppm) adalah 0,232 gr. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan bobot tertinggi adalah pada media D (MS + BAP 3 ppm + NAA 1 ppm)

Penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 (media D) menghasilkan rerata bobot kalus tertinggi yaitu 0,232 gr lebih tinggi dibandingkan dengan perbandingan zpt 1:3 (media B) dengan rata-rata bobot yaitu 0,223 gr, media pengan perlakuan penambahan zapt Bap dan NAA dengan perbandingan 2:2 (media C) menghasilkan bobot rata-rata bobot kalus yaitu 0,125 dan pada media kontrol (media A) rerata bobot kalus yang dihasilkan yaitu 0,203 gr. Hal ini menunjukkan bahwa media tanam pada media D memberikan pengaruh paling tinggi terhadap pertambahan bobot kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*)

Media D dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dengan perbandingan 3:1 mendapatkan hasil terbaik dibanding dengan perlakuan pada media lainnya. Sedang rerata terendah didapatkan dari perlakuan media A, minimnya bobot segar kalus yang terbentuk pada penelitian ini lebih banyak disebabkan karena eksplan hanya menghasilkan kalus berupa titik-titik air yang belum berkembang serta faktor lain ialah terdapat beberapa eksplan yang terkena browning

6. Volume Kalus

Volume kalus diukur pada akhir penelitian. Hasil pengamatan peningkatan volume dapat dilihat pada tabel lampiran 1



Gambar 4.7 Pengukuran volume kalus

Data rata-rata peningkatan volume dari eksplan yang ditanam diuji dengan menggunakan uji *One way Anova* menggunakan program SPSS 17 dengan tingkat kepercayaan 95% (Tabel lampiran 2)

Hasil olah data *One Way Anova* terhadap pertambahan volume eksplan menjadi kalus menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata dari penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA . Nilai signifikansi yang diperoleh yaitu sebesar 0.829 dimana nilai tersebut lebih besar dari nilai standard pengujian ($P > 0.05$).

Descriptives

Volume

Tabel. 4.5. Descriptive hasil uji Anova volume kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	1.0833	.11690	.04773	.9606	1.2060	.90	1.20
media B	6	.9667	.35024	.14298	.5991	1.3342	.30	1.30
media C	6	1.1000	.17889	.07303	.9123	1.2877	.80	1.30
media D	6	1.0833	.37639	.15366	.6883	1.4783	.40	1.40
Total	24	1.0583	.26526	.05415	.9463	1.1703	.30	1.40

Penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dengan perbandingan 2:2 (media C) menghasilkan rerata volume kalus tertinggi yaitu 1,10 ml, lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan pada media A dan media D yang menghasilkan rerata 1,083 ml, dan pada media B dengan perbandingan zpt 1:3 dengan volume terendah yaitu 0,966 ml. Hal ini menunjukkan media tanam dengan penambahan zpt BAP dan NAA

dengan perbandingan 2:2 memberikan pengaruh paling tinggi pada penambahan volume kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*). Proliferasi sel yang dimulai pada bagian eksplan yang terluka mungkin disebabkan oleh akumulasi auksin pada titik cidera, yang merangsang proliferasi sel di hadapan regulator pertumbuhan (N. Ahmad *et al.* 2010)

7. Hari Awal Muncul Kalus

Munculnya kalus pada eksplan ditandai dengan pembengkakan atau munculnya jaringan berwarna putih bening seperti titik-titik air/lendir pada bekas irisan eksplan dan sayatan di permukaan eksplan yang kemudian berkembang menjadi bulatan-bulatan kecil yang jelas dan agregat kalus (Waryastuti, Setyobudi, and Wardiyati 2017)



Gambar. 4.8 perkembangan eksplan. a. eksplan setelah penanaman b. eksplan mulai membengkak; c. eksplan mulai muncul kalus

Respon perubahan eksplan setelah dikulturkan dapat dikatakan cukup cepat. Pada mulanya, Eksplan mengalami pembengkakan dan pada bagian bekas pemotongan berubah warna dari putih kekuningan menjadi kecoklatan dan beberapa hari setelahnya titik kalus mulai tampak dari eksplan yang ditanam. Terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsang luka (Fowler, 1983). Hal ini kemungkinan berkaitan dengan proses pengambilan

nutrisi medium oleh eksplan. Penyerapan unsur hara akan lebih baik karena terjadi kontak langsung antara media dengan bagian abaksial daun (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Rangsang tersebut menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir ke luar sehingga mulai terbentuk kalus (Nisa and Rodinah 2005). Kemunculan kalus pada eksplan yang ditanam diamatai setiap harinya dan dicatat pada hari keberapa titik kalus mulai muncul. Hasil analisis *One Way Anova* terhadap hari awal kemunculan kalus tidak berbeda nyata yaitu dengan nilai signifikansi 0,635 ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata antara satu perlakuan terhadap perlakuan yang lainnya atau hasilnya hampir sama, sehingga tidak dilakukan uji lanjut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Nisa and Rodinah 2005) bahwa campuran NAA dan kinetin, kultivar pisang, dan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap saat pembentukan kalus.

Descriptives

hari muncul kalus

Tabel. 4.6 Descriptive hasil uji Anova pada induksi kalus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	Minimum	Maximum

			n		Lower Bound	Upper Bound		
media A	6	12.722 2222	7.53780 595	3.0772 9639	4.81178 00	20.6326 644	.0000 0	20.00 000
media B	6	11.000 0000	4.93963 561	2.0165 9779	5.81617 03	16.1838 297	5.666 67	17.33 333
media C	6	10.722 2222	6.36105 046	2.5968 8798	4.04670 92	17.3977 353	.0000 0	15.66 667
media D	6	8.2222 222	4.54931 822	1.8572 5139	3.44800 55	12.9964 389	.0000 0	12.33 333
Total	24	10.666 6667	5.80021 655	1.1839 6425	8.21745 00	13.1158 833	.0000 0	20.00 000

Perlakuan penambahan zat pengatur tumbuh dengan perbandingan BAP dengan NAA 3:1 (media D) menghasilkan rata-rata kecepatan munculkan kalus tercepat yaitu pada hari ke 8,22 jika dibandingkan dengan perlakuan pada media lain. Sedangkan pada media C dengan perbandingan BAP dan NAA 2:2 menghasilkan rata-rata kecepatan tumbuh kalus pada hari ke 10,72, pada media B dengan perbandingan BAP dan NAA 1:2 menghasilkan rata-rata kecepatan kemunculan kalus pada hari ke 11.00. Sedangkan media A (kontrol)

menghasilkan rata-rata kecepatan kemunculan kalus paling lama yaitu pada hari ke 12,7.

Rerata kecepatan kemunculan kalus secara statistik tidak berpengaruh nyata terhadap kecepatan kemunculan kalus, nmaun jika ditinjau secara deskriptif terlihat bahwa ada pengaruh dari interaksi adanya penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAAA terhadap kecepatan kemunculan kalus tembakau (*Nicotiana tabacum*). Hal ini diduga penambahan zat pengatur tumbuh dengan perbandingan BAP dan NAA 3:1 memberikan perimbangan yang tepat dengan zpt endogen, sehingga dapat menunjang kecepatan kemunculan kalus. Keseimbangan zpt endogen dan eksogen harus pada titik yang menunjang pembelahan sel (Gunawan, 1992). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilaksanakan oleh Ahmad & Spoor, (1999) bahwasanya pertumbuhan kalus terbaik ketika konsentrasi NAA sedikit lebih tinggi dari konsentrasi BAP

Hasil penelitian Yelnititis (2008) menunjukkan bahwa induksi kalus dari eksplan potongan embrio muda *Shorea pinanga* pada perlakuan yang sama terjadi rata-rata 10 hari setelah dikulturkan, sedangkan induksi kalus dari potongan kotiledon *Pinus radiata* terjadi 4 - 5 minggu setelah dikulturkan (Yelnititis 2012). Penelitian lain yan dilakukan oleh (Rahman et al. 2010) memaparkan bahwa induksi kalus tembakau motihari dan sumatra dimulai pada hari ke 6.00 dan 10.60

Perbedaan kedinian induksi kalus pada masing-masing eksplan selain dipengaruhi oleh hormon dan nutrisi dalam media kultur jaringan, perbedaan tersebut dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. dalam penelitian ini eksplan yang digunakan berasal dari bagian daun. Menurut Tjitrosoepomo (2007) daun merupakan salah satu organ tumbuhan yang memiliki pertumbuhan terbatas, sehingga hormon pertumbuhan dalam daun juga terbatas. Hal ini akan berpengaruh juga dalam induksi kalus yang terbentuk dari eksplan daun tersebut.

8. Morfologi kalus

Berdasarkan tekstur dan komposisi selnya, kalus dapat dibedakan menjadi kalus yang kompak dan remah. kalus kompak mempunyai tekstur padat dan keras, yang tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat, sedangkan kalus remah mempunyai tekstur unak da tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak (Sugiyarto and Kuswandi 2014)

Pada umur 4 minggu setelah tanam pada media perlakuan media kontrol (media A) didapatkan kalus dengan tekstur remah dan berwarna putih kekuningan dan bening serta sedikit berair, sedangkan pada perlakuan media B, media C, dan media D didapatkan hasil kalus berupa kalus yang kompak dan padat, serta memiliki warna hijau. Kalus yang hijau ini disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi NAA dan BAP, terutama BAP

(sitokinin) yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya (Nisak, Nurhidayati, and Purwani 2012). Dalam pembentukan kalus tampaknya kondisi gelap atau terang tidak memberikan pengaruh terhadap pembentukan kalus, namun memberikan pengaruh terhadap pada kondisi kalus, Kalus yang dibudidayakan dalam cahaya mewakili struktur yang lebih ketat dan bentuk teratur dengan warna kelly, sedangkan kalus dalam gelap menunjukkan dirinya kurang kompak dan tidak teratur dengan warna kuning jerami(Yanjie 1997)

Dalam penelitian ini tektur kalus yang dihasilkan dari perlakuan kombinasi BAP dan NAA berupa kalus kompak hal ini sejalan dengan yang diutarakan oleh Nisak et al., (2012) “Tekstur kalus yang kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air di dalam sel. Auksin akan melonggarkan serat-serat dinding sel, sehingga dinding sel lebih fleksibel dan nutrisi yang terkandung dalam medium akan masuk secara difusi. Hal ini akan terus berlangsung sampai potensial air dan potensial osmotik seimbang dan sel menjadi turgid. Sel turgid dengan adanya penambahan sitokinin akan mempengaruhi pembelahan dan pemanjangan sel sehingga pembentukan dinding sel semakin cepat dan kalus menjadi kompak” . Pada bagian permukaan bawah kalus juga tampak berair, hal ini disebabkan karena permukaan bawah langsung bersentuhan dengan

media dan berperan sebagai area penyerapan media (Sugiyarto and Kuswandi 2014)

H. Keterbatasan Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan memiliki beberapa keterbatasan penelitian, diantaranya:

5. Keterbatasan objek penelitian

Penelitian ini hanya terbatas pada satu varietas tembakau saja yaitu tembakau kemloko dan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA. Perlu dilakukan penelitian menggunakan varitas tembakau lain dan menggunakan zat pengatur tumbuh tidak hanya BAP dan NAA tetapi dengan menggunakan jenis zat pengatur tumbuh yang lain.

6. Keterbatasan waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini juga dipengaruhi oleh waktu serta tempat yang digunakan. Tempat yang digunakan dalam penelitian ini di Laboratorium kultur jaringan UIN Walisongo Semarang dan permasalahan yang dihadapi dalam penelitian ini ialah lingkungan pada sekitar laboratorium yang kurang mendukung untuk steril, hal ini menjadikan tingkat kontaminasi masih tinggi. Keterbatasan lain yang dihadapi ialah alat serta bahan yang digunakan dalam penelitian ini masih sederhana dan masih perlu pengawasan ketat setiap harinya seperti AC, autoklaf, dan Listrik.

7. Keterbatasan kemampuan

Keterbatasan lain yang dihadapi bahwasanya peneliti menyadaari bahwa kemampuan yang

dimiliki oleh peneliti dalam melakukan penelitian ini masih sangat kurang, namun disini peneliti berusaha semaksimal mungkin dalam mempelajari serta mengikuti arahan dari dosen maupun dari literatur yang terpercaya

8. Keterbatasan biaya penelitian

Kerbatasan lain yang dihadapi oleh peneliti ialah biaya, hal ini karena bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini cukup banyak dan biaya yang dibutuhkan tidaklah sedikit

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan uji homogenitas parameter pertumbuhan kalus yang akan diamati sebelum digunakan untuk penelitian (pra-riset). Penanaman eksplan dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang dilakukan kurang hati-hati sehingga terjadi kkerusakan eksplan baik karena akkontaminasi maupun kecoklatan (*browning*)

BAB V

PENUTUP

C. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini sebagai berikut:

- 3 Penambahan zat pengatur tumbuh berupa BAP dan NAA dengan berbagai perbandingan pada media berpengaruh tidak signifikan terhadap parameter bobot kalus, volume kalus, serta awal hari kemunculan kalus

4. Konsentrasi optimum pada peningkatan bobot kalus yaitu pada perlakuan media D yaitu 0.23 gr, penambahan volume pada media perlakuan media C yaitu 1.1 ml, dan hari awal kemunculan kalus pada perlakuan media D yaitu 8.2 hari

D. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan serta kesimpulan diatas maka saran yang peneliti berikan yaitu:

3. Sebaiknya penanaman daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) dilakukan dengan lebih hati-hati guna mengurangi tingkat kerusakan akibat kontaminasi ataupun kecoklatan (*browning*)
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan zpt tersebut hingga eksplan tembakau benar-benar mengalami pertumbuhan secara maksimal ditinjau dari bobot, volume, hari awal kemunculan kalus dan terkestur kalusnya

