

**PENGARUH pH ASAM TERHADAP REGENERASI TUNAS
DARI EKSPLAN BATANG TANAMAN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Guna Memperoleh Gelar
Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



Disusun Oleh :

AGISTA PUTRI ULAN SARI

2108016092

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2025**

**PENGARUH pH ASAM TERHADAP REGENERASI TUNAS
DARI EKSPLAN BATANG TANAMAN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Guna Memperoleh Gelar
Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



Disusun Oleh :

AGISTA PUTRI ULAN SARI

2108016092

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2025**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Agista Putri Ulan Sari

NIM : 2108016092

Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**"PENGARUH PH ASAM TERHADAP REGENERASI
TUNAS DARI EKSPLAN BATANG TANAMAN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens* (Lour.)
Merr.) SECARA *IN VITRO*"**

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

Semarang, 2 Juni 2025

Pembuat Pernyataan



Agista Putri Ulan Sari

NIM. 2108016092



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl.Prof.Dr.Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : PENGARUH pH ASAM TERHADAP REGENERASI
TUNAS DARI EKSPLAN BATANG TANAMAN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens* (Lour.)
Merr.) SECARA *IN VITRO*
Penulis : Agista Putri Ulan Sari
NIM : 2108016092
Jurusan : Biologi

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

Semarang, 2 Juli 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I,

 04/07

Dian Triastari Armanda, M. Si.
NIP.198312212011012004

Penguji II,



Ira Nallas Sa'adah, M. Si.
NIP.199204032019032021

Penguji III,



Niken Kusumarini, M.Si.
NIP. 198902232019032015

Penguji IV,



Kusrinah, M.Si.
NIP.197711102011012005

Pembimbing I,

 04/07

Dian Triastari Armanda, M. Si.
NIP.198312212011012004

Pembimbing II,



Ira Nallas Sa'adah, M. Si.
NIP. 199204032019032021

NOTA DINAS 1

Semarang, 2 Juni 2025

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum.wr.wb.

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

Judul : PENGARUH PH ASAM TERHADAP
REGENERASI TUNAS DARI EKSPLAN
BATANG TANAMAN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) SECARA
IN VITRO

Penulis : **Agista Putri Ulan Sari**

NIM : 2108016092

Jurusan : Biologi

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

Wassalamu'alaikum.wr.wb.

Pembimbing,



Dian Triastari Armanda, M. Si.

NIP. 198312212011012004

NOTA DINAS 2

Semarang, 3 Juni 2025

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum.wr.wb.

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

Judul : PENGARUH PH ASAM TERHADAP
REGENERASI TUNAS DARI EKSPLAN
BATANG TANAMAN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) SECARA
IN VITRO

Penulis : **Agista Putri Ulan Sari**

NIM : 2108016092

Jurusan : Biologi

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

Wassalamu'alaikum.wr.wb.

Pembimbing II,



Ira Nallas Sa'adah, M. Si.
NIP. 199204032019032021

MOTTO

Allah tidak akan menaruh mimpi dalam hatimu tanpa memberimu kemampuan untuk mewujudkannya. Tidak ada usaha dan kegiatan yang sia-sia, semua pasti ada hikmah dibaliknya. Berjuanglah semaksimal mungkin dan berdoalah karena doa yang kamu langitkan tidak akan pulang dengan tangan kosong, kalau langkah semut saja Allah dengar, lalu bagaimana dengan doa yang selalu kamu ulang?

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan"

(QS. Al- Insyirah:6)

ABSTRAK

Gynura procumbens merupakan salah satu tanaman obat yang umumnya dibudidayakan secara luas dengan metode konvensional karena memiliki potensi senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan terpenoid. Namun, untuk mempercepat regenerasi tanaman secara massal, metode konvensional tersebut membutuhkan waktu lama sehingga diperlukan metode kultur jaringan. Salah satu faktor penting yang memengaruhi keberhasilan regenerasi adalah pH media kultur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH asam dan menentukan rentang pH yang paling optimal terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas eksplan batang *Gynura procumbens* secara *in vitro*. Perlakuan kultur dilakukan selama 4 minggu setelah kultur (4MSK) dengan menggunakan variasi rentang pH yang digunakan meliputi pH 2,7–2,8; 3,7–3,8; 4,7–4,8; dan pH kontrol 5,7–5,8. Analisis data dilakukan menggunakan uji Kruskal Wallis dan Uji lanjutan Post Hoc- Mann Whitney. Hasil analisis penelitian menunjukkan bahwa pH media berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan. Media dengan pH sangat asam (2,7–3,8) menunjukkan tingkat keberhasilan regenerasi tunas yang rendah. Sebaliknya, media dengan pH mendekati kontrol (4,7–5,8) menunjukkan tingkat keberhasilan regenerasi tunas yang tinggi serta optimal untuk regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*.

Kata kunci: *Gynura procumbens*, kultur *in vitro*, pH media, regenerasi tunas

ABSTRACT

Gynura procumbens is one of the medicinal plants that is generally widely cultivated using conventional methods because it has the potential for secondary metabolite compounds flavonoids, saponins, and terpenoids. However, to accelerate mass plant regeneration, the conventional method takes a long time so that a tissue culture method is needed. One important factor that affects the success of regeneration is the pH of the culture media. This study aims to determine the effect of acidic pH and determine the most optimal pH range on the success rate of *Gynura procumbens* stem explant shoot regeneration in vitro. The culture treatment was carried out for 4 weeks after culture (4MSK) using variations in the pH range used including pH 2.7–2.8; 3.7–3.8; 4.7–4.8; and control pH 5.7–5.8. Data analysis was carried out using the Kruskal Wallis test and the Post Hoc-Mann Whitney follow-up test. The results of the research analysis showed that the pH of the media had a significant effect on explant growth. Media with a very acidic pH (2.7–3.8) showed a low success rate of shoot regeneration. In contrast, media with a pH close to the control (4.7–5.8) showed a high success rate of shoot regeneration and was optimal for shoot regeneration from explants of life-grafting stems (*Gynura procumbens*) in vitro.

Keywords: *Gynura procumbens*, in vitro culture, media pH, shoot regeneration

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 : 158/1987 dan Nomor : 0543b/U/1987. Penyimpangan penulisan kata sandang [al-] disengaja secara konsisten supaya sesuai teks Arabnya.

ا	A	ط	tj
ب	B	ظ	zj
ت	T	ع	'
ث	s\	غ	G
ج	J	ف	F
ح	h}	ق	Q
خ	Kh	ك	K
د	D	ل	L
ذ	z\	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ه	H
ش	Sy	ء	'
ص	s}	ي	Y
ض	d}		

Bacaan Madd :

a > = a panjang

i > = i panjang

u > = u panjang

Bacaan Diftong :

au = و° ا

ai = ي° ا

I = ي° ا

KATA PENGANTAR

Ucapan syukur alhamdulillah, penulis panjatkan kepada Allah Swt yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat dan salam, peneliti haturkan kepada Nabi Muhammad saw., keluarga-Nya, para sahabat-Nya, dan tabiin-Nya dengan harapan semoga mendapatkan syafaat-Nya di hari akhir nanti. Aamiin.

Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berjasa dalam membantu, baik dalam penelitian maupun dalam penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini, peneliti sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Nizar, M.Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
2. Prof. Dr. Musahadi, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
3. Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech., selaku Ketua Prodi Biologi UIN Walisongo Semarang yang senantiasa memberikan bimbingan dan arahan kepada peneliti;
4. Dian Triastari Armanda, M. Si., selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan arahan selama penulisan skripsi sehingga skripsi terselesaikan secara sistematis;

5. Ira Nailas Sa'adah, M. Si., selaku Pembimbing II yang senantiasa memberikan dukungan, fasilitas, bimbingan dan arahan serta kesempatan kepada peneliti untuk berkontribusi dalam riset payung sehingga penelitian dan penulisan skripsi berjalan dengan lancar;
6. Niken Kusumarini, M. Si., dan Kusrinah, M. Si., selaku Penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk menguji, memberikan arahan dan bimbingan kepada peneliti sehingga skripsi terselesaikan dengan baik;
7. Tara Puri Ducha Rahmani, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan arahan dan bimbingan sejak semester I hingga semester 7;
8. Kusrinah, M. Si., selaku dosen wali pengganti yang telah memberikan arahan dan bimbingan di semester 8 hingga akhir penyusunan skripsi;
9. Sumiati, S. Pd., dan Bapak Erwin Edy Wibowo, A. Md., selaku laboran di Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang selalu memberikan arahan selama proses penelitian;
10. Bapak dan Ibu tercinta, Bapak Afandi Suwandi dan Ibu Mariah yang dengan segala pengorbanan dan kerja kerasnya selalu memberi semangat, kasih sayang, nasihat, ridho dan doanya dalam setiap langkah perjalanan hidup peneliti;

11. Kedua kakak perempuan, Andi Liana Sari, S. Kep., Ners. dan Aprilliani Novita Sari, S. Farm. yang selalu memberikan semangat, dukungan, motivasi, kasih sayang dan doanya dalam setiap langkah peneliti;
12. Adik perempuan, Nadia Saiyidatul Ummah yang selalu memberikan dukungan, semangat dan doanya dalam setiap langkah peneliti;
13. Kedua kakak ipar, Arif Yusuf Iriyanto dan apt. Imron Mustain, S. Farm. yang selalu memberi semangat dan motivasi hingga terselesainya studi peneliti;
14. Keponakan tersayang, Saffana Alesha Almahyra Riflina dan alm. Ahmad Ammar Rasyid yang senantiasa menghadirkan kebahagiaan kepada peneliti;
15. Keluarga besar alm. Simbah Sarmi dan alm. Simbah Sulami yang selalu mendoakan dan memberikan restu untuk kesuksesan anak cucunya;
16. Keluarga besar Bapak Samali dan keluarga KKN MMK Posko 3 wilayah Desa Kledung yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, fasilitas dan doa kepada peneliti;
17. Novita Hermayani, S. Si., selaku pembimbing kerja praktik yang telah memberikan inspirasi, ilmu, semangat dan pengalamannya kepada peneliti. Terimakasih juga kepada Bapak Budi sekeluarga serta seluruh anggota PT. Selektani

Induk Usaha atas kesempatan, ilmu dan pengalaman yang telah diberikan kepada peneliti;

18. Almarhumah Vanessa Tri Hapsari, partner penelitian yang semasa hidupnya senantiasa memberikan dukungan dan semangat sehingga peneliti berani mengambil keputusan dan melangkah maju. Terimakasih atas pengalaman dan pelajaran yang mampu mendewasakan peneliti menjadi pribadi yang mandiri dan ikhlas atas segala kehilangan dan kegagalan sebagai bentuk proses penempatan menghadapi dinamika hidup. Semoga Allah SWT melapangkan jalanmu dan menerangi tempat peristirahatanmu;
19. Yunita Widya, Siti Maulidya, Athiva Aztiana, Irfan Akbar, Ahmad Juwarsyah, Nur Eko dan Asa Chasani yang telah menemani dan ikut berkontribusi dalam perjalanan perkuliahan dari awal hingga akhir;
20. Koniatussa'diyah, Refi Mariska, Tsabita, Novita, Nurfa, Nafis, Ainia, Amira, Anjelia, Alzena, Maya dan teman-teman Biologi angkatan 2021 yang telah memberikan dukungan dan semangat selama perkuliahan;
21. Rekan satu perjuangan, Nofita Muza Jannah, Dela Rahmasari, Sri Noor Aini, Nityasa Respati Pratidina, Firda Octavia, Airin Nova Sahara, Maulida Amalia dan Abdala Isnafia Arifaini yang selalu memberikan semangat, doa,

- dukungan dan bersedia mendengarkan keluhan kesah selama melakukan penelitian dan penulisan skripsi;
22. Sosok yang kehadirannya belum diketahui namanya tapi telah tertulis di *lauhul mahfudz*, terima kasih karena tanpa disadari menjadi salah satu sumber semangat untuk memantaskan diri dan berusaha menjadi lebih baik dari sebelumnya. Semoga berjumpa di versi terbaik masing-masing;
23. Semua pihak yang telah memberikan dukungan, doa dan membantu terselesainya penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Hanya ucapan terima kasih yang dapat peneliti sampaikan dan semoga Allah Swt. membalas semua kebaikan mereka. Kritik dan saran yang membangun selalu peneliti harapkan demi sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat, khususnya bagi peneliti. Aamiin.

Semarang, 2 Juni 2025

Peneliti

Agista Putri Ulan Sari
NIM. 2108016092

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS 1	iv
NOTA DINAS 2	v
MOTTO	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
TRANSLITERASI ARAB- LATIN	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	9
A. KAJIAN TEORI	9
1. Klasifikasi <i>Gynura Procumbens</i>	9
2. Morfologi <i>Gynura Procumbens</i>	10
3. Manfaat Tanaman <i>Gynura procumbens</i>	12
4. Kultur Jaringan	14
5. Faktor yang Berpengaruh pada Keberhasilan Kultur Jaringan	16
6. Regenerasi Tunas.....	19
7. Pengaruh pH pada Kultur Jaringan.....	24
B. Kajian Penelitian yang Relevan.....	26
C. Kerangka Berpikir	37
D. Hipotesis Penelitian.....	38
BAB III METODE PENELITIAN	39
A. Jenis Penelitian.....	39

B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	41
C. Populasi dan Sampel Penelitian	41
D. Definisi Operasional Variabel.....	41
E. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data.....	42
F. Teknik Analisa Data.....	54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	57
A. Pengaruh pH Asam Terhadap Tingkat Keberhasilan Regenerasi Tunas <i>Gynura procumbens</i>	57
1. Jumlah Tunas.....	63
2. Panjang Tunas	71
3. Persentase Tumbuh.....	76
4. Berat Segar	80
5. Berat Kering.....	84
B. Jenis pH Optimal untuk Regenerasi Tunas <i>Gynura procumbens</i>	90
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	93
A. Simpulan.....	93
B. Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA.....	95
LAMPIRAN	110
RIWAYAT HIDUP	145

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 2.1	Kajian Penelitian Relevan	27
Tabel 3.1	Kerangka Percobaan Rancangan Acak Lengkap	40
Tabel 4.1	Rata-rata Jumlah Tunas per eksplan pada berbagai perlakuan pH	64
Tabel 4.2	Hasil Post Hoc Mann Whitney jumlah tunas	67
Tabel 4.3	Rata-rata Panjang Tunas pada berbagai perlakuan pH	71
Tabel 4.4	Hasil Post Hoc Mann Whitney panjang tunas	74
Tabel 4.5	Rata-rata Persentase Tumbuh Tunas pada berbagai perlakuan pH	77
Tabel 4.6	Hasil Post Hoc Mann Whitney persentase tumbuh	79
Tabel 4.7	Rata-rata Berat Segar pada berbagai perlakuan pH	81
Tabel 4.8	Hasil Post Hoc Mann Whitney berat segar	83

Tabel 4.9	Rata-rata Berat Kering pada	85
	berbagai perlakuan pH	
Tabel 4.10	Hasil Post Hoc Mann Whitney	87
	berat kering	

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Daun, batang dan bunga <i>Gynura procumbens</i>	11
Gambar 2.2	Kerangka berpikir penelitian	37
Gambar 4.1	Kondisi eksplan batang <i>Gynura procumbens</i> setelah 28 hari kultur	59
Gambar 4.2	Grafik rata-rata jumlah tunas	65
Gambar 4.3	Pertumbuhan tunas selama 4 MSK perlakuan (a) pH 2,7-2,8; (b) pH 3,7-3,8	69
Gambar 4.4	Pertumbuhan tunas selama 4 MSK perlakuan pH 4,7-4,8 (c); pH 5,7-5,8 (d)	69
Gambar 4.5	Grafik rata-rata panjang tunas	72
Gambar 4.6	Perbandingan panjang tunas pada masing-masing perlakuan	75
Gambar 4.7	Grafik rata-rata persentase tumbuh	78
Gambar 4.8	Grafik rata-rata berat segar planlet	81
Gambar 4.9	Grafik rata-rata Berat Kering	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1	Pembuatan larutan stok	110
Lampiran 2	Rumus pengenceran HCl dan NaOH	112
Lampiran 3	Pengamatan jumlah tunas pada beberapa perlakuan dilakukan pada 1 MSK hingga 4 MSK	113
Lampiran 4	Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Jumlah Tunas (4MSK)	114
Lampiran 5	Hasil Pengamatan panjang tunas pada beberapa perlakuan dilakukan pada 4 MSK	122
Lampiran 6	Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Panjang Tunas (4MSK)	123
Lampiran 7	Hasil Persentase Tumbuh Tunas	125
Lampiran 8	Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Persentase Tumbuh (4MSK)	126
Lampiran 9	Data Penimbangan Berat Segar	127

	Planlet dan Berat Kering Planlet	
Lampiran 10	Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Berat Segar Planlet (4MSK)	128
Lampiran 11	Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Berat Kering Planlet (4MSK)	130
Lampiran 12	Data Indeks Pertumbuhan Tunas	132
Lampiran 13	Kegiatan Riset	133
Lampiran 14	Hasil pengamatan pada minggu pertama setelah kultur (1 MSK)	136
Lampiran 15	Hasil pengamatan pada minggu kedua setelah kultur (2 MSK)	138
Lampiran 16	Hasil pengamatan pada minggu ketiga setelah kultur (3 MSK)	140
Lampiran 17	Hasil pengamatan pada minggu keempat setelah kultur (4 MSK)	142
Lampiran 18	Dokumentasi catatan suhu	144

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara yang terkenal memiliki keanekaragaman tumbuhan yang sangat beragam (Kusmana and Hikmat, 2015). Keanekaragaman tumbuhan tersebut dapat memberikan manfaat di berbagai bidang, salah satunya adalah bidang pengobatan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat dan dibudidayakan secara luas adalah *Gynura procumbens* (Sakinah *et al.*, 2018). Hal tersebut sesuai dengan hasil RISTOJA (Riset Tumbuhan Obat dan Jamu) pada tahun 2012 menyatakan bahwa *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) merupakan salah satu tanaman dalam ramuan obat tradisional yang digunakan oleh 34 etnis di Indonesia (Ristoja, 2012). *G. procumbens* dalam bahasa Melayu dikenal sebagai tanaman “sambung nyawa” yang berarti “perpanjangan hidup” (Rohin *et al.*, 2018).

Pembudidayaan sambung nyawa yang secara luas tersebut dikarenakan tanaman ini memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, dan terpenoid (Yusoff *et al.*, 2019).

Penelitian Sinaga *et al.* (2017) menyatakan bahwa ekstrak daun sambung nyawa memiliki kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan alami (Sinaga *et al.*, 2017). Tanaman sambung nyawa juga memiliki sifat farmakologis seperti anti-inflamasi, antikanker, antidiabetik, aktivitas anti-virus herpes simpleks, aktivitas anti-ulserogenik, aktivitas vasorelaksan, dan aktivitas antiplasmodial (Mou & Dash, 2016; Tan *et al.*, 2016).

Sambung nyawa merupakan tanaman perdu dengan batang berwarna hijau semburat ungu dan memiliki daun berbentuk lanset yang tersusun berselang-seling (Rahman and Asad, 2013). Tanaman ini adalah salah satu tanaman obat kelompok famili Asteraceae yang tersebar luas di Afrika (Sukadeetad *et al.*, 2018). Sambung nyawa juga banyak tersebar di Tiongkok dan wilayah tropis seperti Asia Tenggara meliputi Malaysia, Indonesia, Thailand, Vietnam, Filipina dan Myanmar (Tan *et al.*, 2016).

Budidaya tanaman sambung nyawa dapat dilakukan secara konvensional yaitu dengan cara menanam biji atau melakukan stek (Hasan *et al.*, 2016). Namun, metode konvensional tersebut memiliki keterbatasan, seperti laju perbanyakan yang lambat, rendahnya tingkat keberhasilan dan resiko penyakit yang lebih tinggi (Hasan

et al., 2016). Resiko penyakit yang tinggi tersebut menyebabkan ancaman terhadap tanaman seperti serangan patogen, infeksi jamur, kekeringan , salinitas dan paparan sinar ultraviolet (Rosdiana, 2023). Metode konvensional juga tidak selalu memberikan hasil produksi metabolit sekunder yang optimal (Lestari, 2018).

Penelitian Kusuma *et al.* (2021) tentang penggunaan variasi volume aerasi dan kepadatan inokulum dalam bioreaktor untuk mengoptimalkan produksi biomassa dan metabolit sekunder pada kultur akar adventif *Gynura procumbens* (Lour.) Merr., menyatakan bahwa dalam kondisi optimal terpilih empat flavonoid yang berhasil ditentukan yaitu mirisetin, katekin, quercetin dan kaempferol (Kusuma *et al.*, 2021). Hal inilah yang melatarbelakangi penelitian untuk melakukan metode alternatif di bidang bioteknologi yaitu melalui teknik kultur jaringan (*in vitro*). Kultur jaringan tanaman merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengambil bagian tanaman seperti mengisolasi *cell*, *protoplast*, jaringan, organ dan salah satu bagian tersebut kemudian ditumbuhkan di media bernutrisi dengan kondisi yang steril sehingga keragaman genetik dan produktifitas tanaman lebih optimal (Tilaar *et al.*, 2015).

Keberhasilan suatu teknik kultur jaringan dapat ditentukan oleh beberapa faktor seperti genotipa tumbuhan, media tumbuh, ZPT, lingkungan yang steril dan nutrisi yang optimal (Tilaar *et al*, 2015). Penyerapan nutrisi serta aktivitas enzimatik pada tanaman dapat dipengaruhi oleh pH karena sel dan jaringan tanaman memerlukan konsentrasi pH yang optimal (Bhatia and Ashwath, 2005). Pengaturan pH yang optimal juga berpengaruh terhadap ionisasi gugus asam dan basa dalam mempengaruhi fungsi tunas pada tingkat sel (Sakano, 1990).

Tingkat pH yang optimal juga berfungsi sebagai pengatur aktivitas sitoplasma yang mempengaruhi pembelahan sel dan pertumbuhan tunas sehingga tidak mengganggu fungsi membran sel (Brown *et al*, 1979). Hal ini sesuai dengan penelitian Huda *et al*. (2009) yang menyatakan bahwa pH yang optimal secara langsung mampu mempengaruhi regenerasi tunas (Huda *et al*, 2009). Oleh karena itu, perlu untuk mengoptimalkan tingkat pH khususnya pH asam untuk regenerasi tunas yang maksimal. Penelitian Kharde *et al*. (2021) tentang dampak tingkat pH yang berbeda terhadap organogenesis tidak langsung pada *Bacopa monnieri* (L.) Wettst, menyatakan bahwa pH 4 (asam) meningkatkan parameter

pertumbuhan seperti jumlah tunas, akar, ruas, daun, panjang tunas dan produksi biomassa maksimum per eksplan (Kharde *et al.*, 2021). Penelitian Saadah *et al.* (2019) terkait kultur tunas *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. dalam bioreaktor gelembung tipe balon yang dipengaruhi oleh konsentrasi dan kepadatan inokulum, menyatakan bahwa penelitian ini menemukan bahwa bioreaktor gelembung tipe balon meningkatkan perbanyak tunas secara signifikan (Saadah *et al.*, 2019).

Penelitian pengaruh pH pada kultur jaringan dan kultur tunas *G. procumbens* sudah dilakukan, namun penelitian tentang pengaruh pH pada kultur jaringan yang spesifik terhadap regenerasi tunas dari eksplan batang *G. procumbens* belum banyak dilakukan sehingga memberikan kontribusi baru pada ilmu kultur jaringan. Pemilihan eksplan batang dilakukan karena eksplan batang memiliki jaringan meristematik aktif dengan kemampuan pembelahan sel yang tinggi untuk induksi regenerasi tunas serta responsif terhadap stimulasi hormonal terutama sitokinin (George *et al.*, 2008). Beberapa penelitian terkait eksplan batang pada tanaman lain, seperti penelitian oleh Klerk *et al.* (2008) tentang pengaruh pH media dan MES terhadap pembentukan akar adventif dari cakram batang pohon apel, menunjukkan

bahwa eksplan batang pohon apel sangat cocok untuk mempelajari pengaruh pH terhadap perakaran karena ukurannya sangat kecil, sehingga meminimalkan peran eksplan itu sendiri (Klerk *et al.*, 2008). Pendekatan secara *in vitro* untuk menentukan pH optimal dalam riset ini juga dapat membuka peluang dalam produksi bibit tanaman secara komersial atau penelitian lanjutan tentang metabolit sekunder serta produksi bahan baku obat dari *Gynura procumbens* dalam skala besar (Lestari, 2018). Pada dasarnya, pH optimal pada kultur jaringan adalah 5,8 hingga 6,0 (Shi *et al.*, 2017). Riset ini juga memberikan analisis mendalam tentang bagaimana pengaruh pemberian kadar pH asam yang berbeda mampu mempengaruhi berbagai aspek pertumbuhan tanaman secara spesifik. Pemilihan pH asam dalam riset ini didasarkan pada beberapa studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa kondisi asam sering kali meningkatkan aktivitas enzimatik tertentu dan merangsang diferensiasi sel yang mendukung regenerasi tunas lebih baik dibandingkan kondisi basa (Kharde *et al.*, 2021).

B. Rumusan Masalah

1. Apakah pH asam berpengaruh terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*?
2. Rentang pH berapakah yang optimal untuk regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

1. Menganalisis ada tidaknya pengaruh pH asam terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*.
2. Menentukan pH optimal untuk regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya sebagai berikut.

1. Manfaat Teoritis

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang pengaruh pH asam terhadap proses regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro* sehingga dapat memberikan informasi tentang pH optimal

untuk regenerasi tunas pada tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) serta dapat dijadikan dasar untuk pengembangan teknik kultur jaringan pada tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*).

2. Manfaat Praktis

- a. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan motivasi peneliti lain untuk meneliti lebih lanjut dan mendalam mengenai pengaruh pH asam terhadap proses regenerasi tunas dari eksplan batang sambung nyawa (*Gynura procumbens*) secara *in vitro*.
- b. Penelitian ini dapat memberikan data ilmiah yang dapat mendukung penggunaan dan pengembangan tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) sebagai tanaman obat.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Klasifikasi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

Gynura procumbens (Lour.) Merr. dalam bahasa Melayu disebut dengan istilah sambung nyawa yang berarti "perpanjangan kehidupan" sedangkan dalam bahasa Cina disebut dengan *Bai Bing Cao* yang berarti "100 penyakit" (Rohin *et al.*, 2018). *G. procumbens* merupakan salah satu tanaman obat kelompok famili Asteraceae yang tersebar luas di Afrika (Sukadeetad *et al.*, 2018). *G. procumbens* juga banyak tersebar di Tiongkok dan wilayah tropis seperti Asia Tenggara meliputi Malaysia, Indonesia, Thailand, Vietnam, Filipina dan Myanmar (Tan *et al.*, 2016).

Famili Asteracea memiliki bunga yang khas yang menjadikan ciri utamanya yaitu bunga berbentuk tabung (Lolita *et al.*, 2022). Famili Asteraceae juga memiliki tipe bunga *epigenous* dengan susunan bunga majemuk padat berbentuk seperti cakram yang lebih dikenal dengan sebutan bunga cawan (Lolita *et al.*, 2022). Bunga Asteraceae juga tidak

memiliki sepal karena sepal tereduksi menjadi pappus. (Megawati *et al.*, 2017).

Tingkatan takson *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) adalah sebagai berikut

Kingdom : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

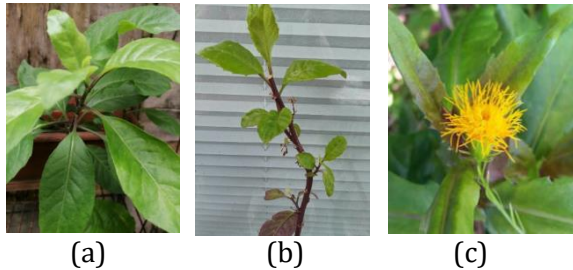
Genus : *Gynura* Cass.

Spesies : *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

2. Morfologi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

Gynura procumbens (Lour.) Merr. merupakan tanaman yang dapat tumbuh setinggi 1-3m dengan batang berwarna hijau semburat ungu (Yusoff *et al.*, 2019). Tanaman ini memiliki helaian daun berbentuk bulat telur dengan panjang daun hingga 6 cm, lebar daun 1,5-5 cm dan berwarna hijau muda (Yusoff *et al.*, 2019). Tanaman ini juga memiliki ujung daun yang runcing, pangkal daun membulat, pinggir daun bergerigi dan pertulangan daunnya menyirip (Sinaga *et al.*, 2017). *G. procumbens* juga menghasilkan bunga dalam perbungaan panjang

yang menggantung dengan kepala bunga berbentuk malai, berwarna oranye hingga kuning (Lin, 2015).



Gambar 2.1 (a) daun (b) batang, (c) bunga *Gynura procumbens* (Lour.) Merr (plantnet. com, 2024; stuartXchange, 2025)

G. procumbens memiliki akar berserat (serabut) hingga berbonggol (penebalan akar) (Lin, 2015). *G. procumbens* dapat tumbuh dengan baik di tempat teduh dengan intensitas cahaya 25-50% dan pH tanah sekitar 5,5-7,0 (Yusoff *et al.*, 2019). *G. procumbens* banyak ditemukan di dataran rendah sampai ketinggian 120 mdpl dengan iklim sedang sampai basah dan curah hujan antara 1500 – 3500 mm/tahun (Suryandari *et al.*, 2020). *G. procumbens* juga mampu tumbuh dengan baik pada suhu udara antara 20-30°C (Yusoff *et al.*, 2019).

3. Manfaat Tanaman *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

Gynura procumbens (Lour.) Merr. atau sambung nyawa merupakan tanaman endemik Indonesia yang dikenal kaya akan kandungan senyawa bioaktif sehingga dalam penggunaannya dimanfaatkan sebagai obat herbal (Tan *et al.*, 2016). *G. procumbens* mengandung banyak senyawa seperti steroid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid (Quyen *et al.*, 2019). *G. procumbens* juga mengandung senyawa fenolik, asam lemak, asam okso monokarboksilat, porfirin, dan fragmen klorofil (Septaningsih *et al.* 2022).

Tanaman sambung nyawa telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional secara sistemik maupun secara aplikasi topical untuk pengobatan berbagai jenis penyakit (Krishnan *et al.*, 2015). Secara sistemik, *G. procumbens* dapat digunakan sebagai sayuran dalam masakan, teh herbal, bahan baku jamu dan bahkan dimanfaatkan sebagai salad atau ulam (Yusoff *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan daun *G. procumbens* tidak memiliki efek toksik sehingga aman dikonsumsi (Rohin *et al.*, 2018). Secara

sistematik, *G. procumbens* juga dimanfaatkan sebagai obat berbagai penyakit seperti sembelit, hipertensi, migrain, diabetes melitus, infeksi saluran kemih, kanker, dan sebagai agen antiinflamasi dan antialergi (Perry, 1980). Tanaman sambung nyawa juga dapat dimanfaatkan sebagai obat pereda ketidaknyamanan ginjal, meredakan peradangan dan rematik, (Tan *et al.*, 2016). Secara aplikasi topical, *Gynura procumbens* dapat digunakan sebagai pengobatan demam dan ruam (Yusoff *et al.*, 2019).

Pemanfaatan sambung nyawa sebagai tanaman herbal juga merupakan bukti nyata adanya kekuasaan Allah SWT dalam mengatur alam semesta. Allah menciptakan tanah yang subur pasti akan menumbuhkan tumbuhan yang baik yang memungkinkan tanaman sambung nyawa tumbuh subur dan memberikan banyak manfaat bagi umat manusia. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam QS. Al- A'raf ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبَتْ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ
نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

“Dan tanah yang baik , tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seijin Allah; dan tanah yang buruk, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah kami mengulang-ulangi ayat-ayat bagi orang-orang yang bersyukur.”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa pertumbuhan tanaman adalah salah satu tanda kekuasaan Allah yang menciptakan keseimbangan alam bahkan menumbuhkan tanaman yang bermanfaat bagi umat manusia seperti tanaman sambung nyawa. Hal ini sesuai dengan penjelasan M. Quraish Shihab dalam Kitab Tafsir al-Mishbah yang menjelaskan bahwa tanah di muka bumi ini terdiri atas tanah yang baik dan subur yaitu apabila disirami hujan maka dapat menumbuhkan berbagai macam tanaman serta terdiri atas tanah yang tidak baik atau tandus yaitu tanah yang meskipun disirami hujan lebat namun tidak dapat menumbuhkan tanaman (Rosyadi, 2020).

4. Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah metode yang digunakan untuk mengambil atau memisahkan bagian tumbuhan (sel, jaringan atau organ) dan kemudian membudidayakannya dalam kondisi lingkungan aseptik dan steril (Sulistiani and Yani 2012). Teknik kultur jaringan berkembang dari adanya teori totipotensi sel yang dikemukakan oleh Schwan dan Schleiden pada Tahun 1983 (Sulistiani and Yani 2012). Teori totipotensi sel menyatakan bahwa sel

tumbuhan mempunyai informasi genetik dan sarana fisiologis yang mampu membentuk tanaman baru dan utuh apabila ditumbuhkan di lingkungan yang sesuai (Sulistiani and Yani 2012).

Menurut Dwiyani (2015) dalam bukunya yang berjudul "*Kultur Jaringan Tanaman*", teknik kultur jaringan bermanfaat untuk berbagai kegiatan diantaranya:

1. *Genetic Transformation /*Rekayasa genetika.

Teknik kultur jaringan seringkali dimanfaatkan dalam transformasi genetik atau rekayasa genetika karena kegiatan tersebut biasanya membutuhkan transfer gen yang dilakukan secara *in vitro*, menumbuhkan target seperti *protocorm like bodies* serta dapat melahirkan tanaman transgenik secara *in vitro* melalui kultur kalus dan tunas (Dwiyani, 2015).

2. Perbanyak GM (*Genetically Modified*) *Plants* menjadi tanaman transgenik.

Teknik kultur Jaringan tanaman dapat dimanfaatkan dalam perbanyak tanaman transgenik yang memiliki karakteristik agronomi yang spesifik sesuai dengan *gene of interest* yang disisipkan sehingga dihasilkan tanaman yang

genetis identik dengan induknya (anakan yang seragam dan identik secara genetik dengan induknya) (Dwiyani, 2015).

3. Memperbanyak tanaman hibrida dengan sifat unggul

Teknik kultur jaringan dapat dimanfaatkan dalam memperbanyak tanaman hibrida dan mempertahankan sifat unggul yang dimiliki. Tanaman hibrida merupakan tanaman yang dihasilkan dari hasil persilangan antara dua tanaman yang memiliki karakter yang berbeda sehingga karakter yang dihasilkan adalah perpaduan dari tanaman yang berasal dari dua tetua (Dwiyani, 2015).

4. Memperbanyak tanaman yang tidak memiliki biji
Teknik kultur jaringan dapat dimanfaatkan dalam memperbanyak tanaman tanpa biji seperti pisang sehingga tetap dihasilkan tanaman dengan bibit yang seragam unggul dan sehat (Dwiyani, 2015).

5. Faktor yang Berpengaruh pada Keberhasilan Kultur Jaringan

Berdasarkan pernyataan Abbas (2011) dalam bukunya yang berjudul "*Prinsip Dasar Teknik Kultur*

Jaringan” tahun 2011, menjelaskan bahwa faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan meliputi

1) Faktor media

Medium yang baik adalah medium yang mengandung unsur pokok media meliputi senyawa anorganik dan senyawa organik. Senyawa anorganik meliputi unsur mineral yang sangat penting untuk kehidupan tanaman seperti Mg, Ca, N, Fe, Zn, Mo C, H, O dan beberapa unsur esensial lainnya. Senyawa organik meliputi sumber nitrogen seperti Pyridoxine (vitamin B6), asam nikotinat (vitamin B3), dan calcium pantotenat (vitamin B5), dan inositol juga diketahui meningkatkan pertumbuhan tanaman yang dikultur secara *in vitro* serta sebagai sumber karbon yang banyak digunakan pada kultur *in vitro* (sukrosa, glukosa, fruktosa maltose, galaktosa, mannose, dan laktosa.).

2) Hormon tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) penting ditambahkan ke dalam medium untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik. ZPT yang banyak digunakan untuk kultur jaringan adalah

kelompok auksin (IBA, NAA, NOA, 2,4,5-T, p-CPA, dan 2,4-D. IBA dan NAA), sitokinin (BAP, 2-ip dan kinetin.), dan giberelin (GA3).

3) Agar-agar

Agar-agar merupakan polisakarida yang diperoleh dari rumput laut dan eksplan ditanam pada permukaan medium. Konsentrasi agar yang umum digunakan adalah 0.8 - 1.0%.

4) Derajat keasaman (pH)

Nilai pH medium yang digunakan umumnya adalah 5,8.

5) Faktor tanaman

Pertumbuhan eksplan secara in vitro sangat ditentukan oleh genotip umur tanaman, keadaan fisiologis tanaman induk, jenis jaringan, fase perkembangan tanaman induk, posisi jaringan pada tanaman induk, ukuran eksplan, musim, pelukaan, dan metode inokulasi.

6) Faktor lingkungan

Faktor lingkungan (fisik) yang mempengaruhi kultur in vitro adalah cahaya, suhu, kelembapan, air, oksigen, karbon dioksida, dan arus listrik.

6. Regenerasi Tunas

Regenerasi tanaman merupakan proses tanaman memperbaiki atau mengganti struktur yang rusak berdasarkan totipotensi dan pluripotensi sel-selnya (Long *et al.*, 2022). Regenerasi tanaman dapat terbentuk dari jaringan atau organ dewasa, massa kalus yang tidak terorganisir, atau bahkan satu sel (Long *et al.*, 2022). Regenerasi tanaman mengacu pada pembaruan fisiologis, perbaikan, atau penggantian jaringan pada tanaman (Ikeuchi *et al.*, 2016).

Regenerasi tanaman dalam kultur jaringan terjadi melalui embriogenesis somatik atau organogenesis (Hill and Schaller, 2013). Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari jaringan somatik tanaman (Sulistiani and Yani, 2012). Organogenesis adalah proses pembentukan organ, baik tunas atau akar. Organogenesis bertujuan untuk memperbaiki tingkat multiplikasi, produksi tanaman transgenik, dan memperbanyak klon (Saputro *et al.*, 2020).

Menurut Long *et al.* (2022), regenerasi tanaman dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu

1. Sumber eksplan

Eksplan adalah bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk perbanyakan tanaman yang dapat berupa bagian pucuk muda, batang muda, kotiledon, hipokotil, endosperma, *ovary* muda, *anther* (kantong serbuk sari), embrio, dan lain-lain (Fitriasih, 2020). Pemilihan eksplan yang cocok merupakan salah satu faktor yang sangat penting untuk keberhasilan perbanyakan tanaman in vitro (Manawadu *et al.*, 2016). Fase respon perkembangan eksplan salah satunya ditandai dengan munculnya tunas (Long *et al.*, 2022). Tunas adalah proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi (Ochat & Power, 1992; Hendaryono & Wijayani, 2012).

2. Pengatur pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Regulators*)

Regenerasi tanaman secara in vitro bergantung pada penambahan hormon eksogen dan respons terhadap hormon-hormon selama kultur jaringan (Bernula *et al.*, 2020). Secara umum, respons eksplan terhadap PGR (*Plant Growth Regulators*)

terdiri dari tiga tahap yaitu sel eksplan yang dikulturkan menerima sinyal hormon tanaman untuk menginduksi dedifferensiasi berikutnya, karena pengaruh keseimbangan hormon tanaman, instruksi diferensiasi untuk sel-sel tertentu dalam jaringan tanaman diberikan sehingga menjadi dasar untuk diferensiasi organ-organ tertentu kemudian morfogenesis tanaman terjadi secara independen dari hormon eksogen (Ye *et al.*, 2012).

3. Media kultur

Regenerasi tanaman dalam kultur jaringan juga dapat dipengaruhi oleh media kultur seperti *Murashige and Skoog* (MS), N6, *Woody Plant Medium* (WPM), dan B5 yang digunakan untuk induksi kalus dan diferensiasi tunas (Long *et al.*, 2022). Selain itu, sumber karbon atau gula juga merupakan komponen penting yang memengaruhi regenerasi tanaman dalam media kultur (Long *et al.*, 2022). Gula (glukosa, sukrosa, dan maltose) menyediakan energi dan sebagai pengatur utama lingkungan permeasi (Long *et al.*, 2022).

Molekul gula kecil dapat menembus ke dalam sel hidup dan mendehidrasi embrio somatik, sehingga mendorong pematangan embrio somatik (Kaviani, 2011). Komponen lain, seperti manitol dan ion logam, yang ditambahkan ke media kultur juga dapat memengaruhi kemampuan regenerasi eksplan (Simonović *et al.*, 2021).

Berdasarkan faktor regenerasi tanaman, tunas yang beregenerasi merupakan salah satu indikator keberhasilan dalam kultur jaringan (Long *et al.*, 2022). Pembentukan tunas atau induksi tunas pada *Gynura procumbens* dapat dipengaruhi oleh senyawa nitrogen organik, asam organik serta keseimbangan hormon sitokinin dan auksin (Manawadu *et al.*, 2016). Pada induksi tunas, umumnya konsentrasi sitokinin lebih tinggi daripada konsentrasi auksin sehingga regenerasi tunas *Gynura procumbens* dilakukan dengan penambahan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi (Sulistiani and Yani, 2012).

Sitokinin merupakan ZPT yang memiliki struktur kimia menyerupai adenin dengan rantai samping didominasi atom karbon (C) dan hidrogen (H) yang terletak pada nitrogen di bagian puncak cincin purin

(Asra *et al.*, 2020). Sitokinin memiliki bentuk dasar berupa 6-amino purin atau disebut dengan adenin yang berperan sebagai penentu aktivitas setiap jenis sitokinin (Asra *et al.*, 2020). Sitokinin berperan dalam mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, meningkatkan klorofil daun, serta memperlambat proses penuaan pada tanaman (Hapsani, 2016). Penambahan sitokinin pada media kultur bertujuan untuk meningkatkan pembelahan sel dan diferensiasi tunas yang berasal dari kalus dan organ tanaman (Prasetyorini, 2019). Sitokinin dapat berupa kinetin, zeatin, BAP (6-Benzimaminopuril), Thidiazuron, dan 2-iP (Asra *et al.*, 2020).

Induksi tunas juga dapat dipengaruhi oleh hormon auksin. Hormon auksin merupakan hormon yang berperan dalam perpanjangan sel dan organ, pembentukan akar, menginduksi tunas apikal, menginduksi akar, menginduksi kalus dan merangsang pembungaan (Sulistiani and Yani, 2012). Pembentukan tunas atau induksi tunas pada *Gynura procumbens* juga dapat dipengaruhi oleh kondisi hormonal dan lingkungan (Manawadu *et al.*, 2016). Kondisi lingkungan yang optimal dapat

dipengaruhi oleh penggunaan pH optimal sehingga regenerasi tunas maksimum berpengaruh secara langsung (Bhatia and Ashwath, 2005).

7. Pengaruh pH pada Kultur Jaringan

Nilai pH atau derajat keasaman merupakan indeks konsentrasi ion hidrogen ($[H^+]$) dalam air yang mempengaruhi sebagian besar proses kimia dan biologis (Boyd *et al.*, 2011). Nilai pH substrat atau medium merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi lingkungan fisiko-kimia selama perkembangan jaringan tanaman secara *in vitro* (Chen *et al.*, 2014). Nilai pH substrat secara langsung memengaruhi ketersediaan nutrisi di rizosfer dan penyerapan nutrisi oleh tanaman (Ferrarezi *et al.*, 2022). Hal ini memengaruhi pemanfaatan komponen medium seperti unsur makro dan mikro serta zat pengatur tumbuh (De Klerk *et al.*, 2008). Nilai pH medium dapat berperan sebagai indikator utama dalam menentukan waktu subkultur yang optimal (Thorpe *et al.*, 2007). Nilai pH medium juga dapat berperan untuk memfasilitasi atau menghambat ketersediaan nutrisi dalam medium misalnya penyerapan amonium *in vitro* (Thorpe *et al.*, 2007).

Derajat keasaman (pH) medium juga dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai alat diagnostik untuk beberapa gejala pertumbuhan abnormal, seperti nekrosis, yang disebabkan oleh kekurangan nutrisi akibat kondisi asam (Chen *et al.*, 2014). Peran penting pH salah satunya adalah dapat membedakan pengaruh berbagai aspek termasuk efek pada eksplan, medium itu sendiri, serta antarmuka antara eksplan dan medium (Thorpe *et al.*, 2007).

Derajat keasaman (pH) juga dapat mengatur kelarutan garam, memengaruhi penyerapan bahan-bahan dalam medium, serta zat tambahan yang berperan sebagai pengatur pertumbuhan tanaman (Thorpe *et al.*, 2007). Kondisi ini juga memengaruhi reaksi kimia yang dapat berdampak pada efisiensi pembentukan gel pada agar (Thorpe *et al.*, 2007). Variasi pH dapat berpengaruh terhadap morfogenesis *in vitro* dengan meningkatkan atau menghambat pembentukan dan perkembangan jaringan (Khan *et al.*, 1986).

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Kajian penelitian terdahulu bertujuan untuk mengetahui hasil penelitian sebelumnya serta digunakan sebagai bahan perbandingan dan sumber acuan dalam

menganalisis hasil penelitian. Maka dalam kajian penelitian terdahulu ini peneliti mencantumkan hasil-hasil penelitian terdahulu sebagai berikut :

Tabel 2.1 Kajian Penelitian Relevan

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
1.	In Vitro Propagation of Commercially Used Krymsk 5® (<i>Prunus fruticosa</i> × <i>Prunus lannesiana</i>) Cherry Rootstock: Impact of Sugar Types and pH Levels (Athanasios Tsafouros dan A. Petros Roussos, 2024)	Eksperimental in vitro dengan penggunaan eksplan ujung nodus/ pucuk, variasi jenis gula (sukrosa, fruktosa, glukosa dan sorbitol), serta variasi pH (4,5; 5,0; 5,2; 5,5; 5,8; 6,0; 6,2 dan 6,5)	Penambahan fruktosa mempengaruhi proliferasi tunas sehingga menunjukkan kinerja yang lebih unggul dibandingkan dengan gula lain. Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa tingkat pH yang rendah, penggunaan jenis dan rasio gula yang sesuai bermanfaat untuk peningkatan dan pengoptimalan perbanyakan in vitro batang bawah ceri Krymsk 5®.	Pada penelitian Tsafouros dan Roussos (2024) menggunakan Krymsk, jenis variasi gula (sukrosa, fruktosa, glukosa dan sorbitol) serta penggunaan jenis variasi pH 4,5; 5,0; 5,2; 5,5; 5,8; 6,0; 6,2 dan 6,5, sedangkan pada penelitian ini menggunakan tanaman <i>Gynura procumbens</i> dan tidak menggunakan jenis variasi gula serta jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.
2.	Effects Of Different	Eksperimental in	Tingkat pH yang berbeda	Pada penelitian Kharde <i>et al.</i>

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	pH Levels On Indirect Organogenesis In <i>Bacopa Monnieri</i> (L.) Wettst (Ashok V. Kharde, Vijaykumar D. Deshmukh dan Bhagwan K. Talekar, 2021)	vitro dengan penggunaan eksplan daun dan variasi pH (3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0)	berpengaruh terhadap organogenesis tidak langsung pada eksplan daun <i>Bacopa monnieri</i> . Berdasarkan penelitian tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pH 4,0 meningkatkan parameter pertumbuhan (jumlah tunas, akar, buku, daun, panjang tunas dan produksi biomassa maksimum per eksplan) tertinggi dibandingkan dengan tingkat pH lainnya serta penggunaan tingkat pH memengaruhi organogenesis, pertumbuhan dan produksi biomassa secara tidak	(2021) menggunakan <i>Bacopa Monnieri</i> (L.) Wettst serta penggunaan jenis variasi pH 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 sedangkan pada penelitian ini menggunakan eksplan batang <i>Gynura procumbens</i> dan jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
			langsung pada <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst secara in vitro.	
3.	Regenerasi Kalus Sambung Nyawa { <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.} In Vitro (Sitti Fatimah Syahid dan Lusia Seti, 2021)	Eksperimental in vitro dengan penggunaan variasi konsentrasi 2,4-D (0,1; 0,3; 0,5 mg L ⁻¹) secara tunggal atau kombinasi dengan BA (0,1; 0,3 dan 0,5 mg L ⁻¹) dan beberapa konsentrasi BAP (0; 0,1; 0,5 dan 1,0 mg L ⁻¹) kombinasi dengan kinetin	Media terbaik untuk induksi kalus adalah 0,5 mg L ⁻¹ 2,4-D + 0,5 mg L ⁻¹ BA sehingga terbentuk struktur kalus yang rapuh, tidak berakar, dan berwarna putih kekuningan. Regenerasi kalus diperoleh pada kombinasi 0,1 mg L ⁻¹ BA + 0,1 mg L ⁻¹ kinetin dan 0,1 mg L ⁻¹ BA + 0,5 mg L ⁻¹ kinetin dengan persentase rendah.	Pada penelitian Syahid dan Seti (2021) menggunakan jenis variasi konsentrasi ZPT dan terfokus pada regenerasi kalus sedangkan pada penelitian ini terfokus pada regenerasi tunas dan menggunakan jenis variasi pH.

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
		(0,1 dan 0,3 mg-1)		
4.	Aeration Volume and Inoculum Density Using in Bioreactor to Optimized Biomass Production and Secondary Metabolites in <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr. Adventitious Roots Culture (Dannis Yuda Kusuma, Alfinda Novi Kristanti,	Eksperimental in vitro, ekstraksi dan HPLC dengan penggunaan variasi volume aerasi dan kepadatan inoculum	Secara keseluruhan, volume aerasi dan kepadatan inoculum awal akar adventif <i>G. procumbens</i> dalam BTBB 3 L telah terbukti secara signifikan mempengaruhi biomassa dan produksi metabolit sekunder serta volume aerasi maupun kepadatan inoculum awal tidak mempengaruhi pH media. Berdasarkan penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa dalam kondisi optimal terpilih 4 flavonoid yaitu mirisetin, katekin, quercetin, dan kaempferol, berhasil	Pada penelitian Kusuma <i>et al.</i> (2021) menggunakan variasi volume aerasi dan kepadatan inoculum serta terfokus pada pengoptimalan kultur akar sedangkan pada penelitian ini berfokus pada kultur regenerasi tunas dan tidak menggunakan jenis variasi volume aerasi dan kepadatan inoculum namun menggunakan jenis variasi pH.

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	Anjar Tri Wibowo, Tan Boon Chin, Yosephine Sri Wulan Manuhara, 2021)		ditentukan.	
5.	Shoots Culture of <i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr. in Balloon Type Bubble bioreactor Influenced by Sucrose Concentration and Inoculums Density (Ira Nailas Saadah, Alfinda Novi Kristanti,	Eksperimental in vitro dengan penggunaan eksplan nodus batang dengan pengaruh dipengaruhi oleh konsentrasi sukrosa (10, 30 dan 50 g LG1) dan kepadatan inokulum (5, 10 dan 15 eksplan).	Perbanyakkan tunas dan indeks pertumbuhan tertinggi diperoleh pada perlakuan sukrosa 50 g LG1 dan 5 eksplan sebagai inokulum awal dan masing-masing terdapat 9,36 tunas/eksplan dan 13,8 tunas/eksplan. Penelitian ini menemukan bahwa tunas <i>G. procumbens</i> yang dikultur dalam bioreaktor gelembung tipe balon meningkatkan perbanyakkan tunas secara	Pada penelitian Saadah <i>et al.</i> (2019) menggunakan variasi konsentrasi sukrosa dan kepadatan inokulum serta terfokus pada peningkatan jumlah tunas <i>G. procumbens</i> dalam bioreaktor gelembung tipe balon sedangkan pada penelitian ini berfokus pada kultur regenerasi tunas dan tidak menggunakan jenis variasi konsentrasi sukrosa dan kepadatan inokulum serta dikultur dalam bioreaktor

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	Popy Hartatie Hardjo and Yosephine Sri Wulan Manuhara, 2019)		signifikan.	gelembung tipe balon namun menggunakan jenis variasi pH yang dikultur dalam media MS.
6.	Effect of pH on Callus Induction and Shoot Regeneration from Cotyledon and Leaf and Hypocotyl Explants of <i>Tomato</i> (Rizwan Rashid, Bhat, J.A., Mohd Iqbal Bhat dan Bilal Ahmad Bhat, 2018)	Eksperimen in vitro dengan penggunaan eksplan daun dan variasi pH 4,5- 7,0 (4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0)	Regenerasi tunas terjadi pada pH asam (4,5-6,0) dan pH optimalnya adalah pH 5,5 dengan persentase 65,30% menghasilkan tunas. Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa tingkat pH berperan efektif dalam aktivitas enzim dan pengatur tumbuh yang memengaruhi fungsi sel serta tanaman secara keseluruhan serta sistem ini menjadi dasar untuk produksi tomat transgenic	Pada penelitian Rashid <i>et al.</i> (2018) menggunakan eksplan daun tomat serta penggunaan jenis variasi pH 4,5- 7,0 (4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0) sedangkan pada penelitian ini menggunakan eksplan batang <i>Gynura procumbens</i> dan jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
7.	Biomass and Flavonoid Production of <i>Gynura procumbens</i> (L.) Merr Adventitious Root Culture in Baloon type Bubble bioreactor Influenced by Elicitation (Hanik Faizah, Mulyadi Tanjung, Hery Purnobasuki dan Yosephine Sri Wulan Manuhara, 2018)	Eksperimental in vitro dengan penggunaan balloon type bubble bioreactor, uji TLC dan HPLC	Berbagai konsentrasi ekstrak <i>S. cereviceae</i> dan CuSO4 mempengaruhi biomassa dan produksi flavonoid akar adventif <i>G. procumbens</i>. Berdasarkan penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa Ekstrak <i>S. Cereviceae</i> dan CuSO4 pada konsentrasi rendah dapat meningkatkan produksi biomassa dan kandungan flavonoid akar adventif <i>G. procumbens</i>.	Pada penelitian Faizah <i>et al.</i> (2018) menggunakan eksperimental in vitro dalam bioreaktor gelembung tipe balon sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode eksperimental in vitro dalam media MS dan jenis variasi pH
8.	Medium pH	Eksperimen in	Pada kisaran pH yang lebih	Pada penelitian Shi <i>et al.</i>

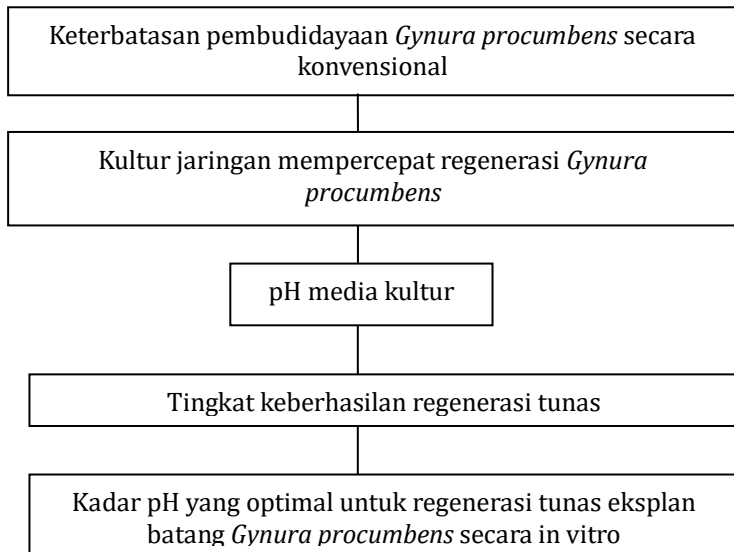
No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	between 5.5 and 7.5 has Minimal Effects on Tissue Culture of <i>Apple</i> (Xiaoxin Shi Lili Yang, Guijun Yan, Guoqiang Du, 2017)	vitro dengan penggunaan eksplan daun apel dan variasi pH 5,5-7,5 (5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5)	rendah yaitu 5,0–5,5, tanaman muda dapat disubkultur dan tumbuh secara normal. Berdasarkan penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa kisaran pH media yang relatif luas (5,5–7,5) cocok untuk kultur jaringan apel sehingga penggunaan pH tidak selalu menyesuaikan pH media ke 5,8–6,0 dalam kultur jaringan apel.	(2017) menggunakan eksplan daun apel serta penggunaan jenis variasi pH 5,5- 7,5 sedangkan pada penelitian ini menggunakan eksplan batang <i>Gynura procumbens</i> dan jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.
9.	Pengaruh Nilai pH Media Scaring Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan (<i>Populus alba</i> L.) dengan Uji Kultur	Eksperimen in vitro dengan penggunaan eksplan pucuk <i>Populus alba</i> L dan variasi tiga nilai pH medium	Hasil analisis varians setelah 35 hari budidaya in vitro menunjukkan bahwa untuk semua parameter morfologi yang diperiksa, pengaruh substrat yang diuji sebagai faktor variasi tidak hanya	Pada penelitian Vuksanović <i>et al.</i> (2016) menggunakan eksplan pucuk <i>Populus alba</i> serta penggunaan jenis variasi pH 3,0, 4,0 dan 5,5, sedangkan pada penelitian ini menggunakan tanaman

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	In Vitro (Vanja Vuksanović, Branislav Kovačević, Saša Orlović, Marko Kebert, Marina Katanić, 2016).	yang diuji 3,0, 4,0 dan 5,5,	signifikan secara statistik, tetapi juga sangat kuat. Selain itu, hasil sebagian besar parameter yang diuji menunjukkan bahwa pengaruh genotipe yang diuji sebagai faktor variasi adalah signifikan secara statistik.	<i>Gynura procumbens</i> dan jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.
10.	Antioxidant Potential in Different Parts and Callus of <i>Gynura procumbens</i> and Different Parts of <i>Gynura bicolor</i> (Vijendren Krishnan, Syahida Ahmad	Uji antioksidan meliputi DPPH, FRAP, TFC, TPC	Aktivitas antioksidan yang tinggi ditemukan pada akar <i>G. procumbens</i> dibandingkan dengan ekstrak lain yang diuji. Sehingga dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami baru untuk penyembuhan penyakit dan suplemen kesehatan.	Pada penelitian Krishnan <i>et al.</i> (2015) menggunakan metode uji antioksidan dari Bagian Kalus <i>Gynura procumbens</i> dan <i>Gynura bicolor</i> sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode eksperimental in vitro

No.	Judul (Author, Tahun)	Metode	Hasil/ Kesimpulan	Gap Research
	dan Maziah Mahmood, 2015)			
11.	Effects of plant growth regulators, carbon sources and pH values on callus induction in <i>Aquilaria malaccensis</i> leaf explants and characteristics of the resultant calli (Shashita Jayaraman, Nurul Hazwani Daud, Rasmina Halis dan Rozi Mohamed, 2014)	Eksperimen in vitro dengan penggunaan eksplan daun, kombinasi ZPT, sumber karbon (sukrosa, fruktosa, glukosa) dan pH (5,0; 5,5; 5,7; 6)	kalus yang berasal dari daun <i>A.malaccensis</i> berhasil diinduksi pada media MS dengan berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh, sumber karbon, dan pH yang paling efektif adalah sukrosa 15 g/L yang ditambah dengan 1,1 μ M NAA dan 2,2 μ M BAP pada pH 5,7. M	Pada penelitian Jayaraman <i>et al.</i> (2014) menggunakan eksplan daun <i>Aquilaria malaccensis</i> , kombinasi ZPT, sumber karbon serta penggunaan jenis variasi pH 5,0; 5,5; 5,7; 6 sedangkan pada penelitian ini menggunakan eksplan batang <i>Gynura procumbens</i> dan jenis variasi pH yang digunakan juga berbeda. Jenis variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8.

C. Kerangka Berpikir

Gynura procumbens umumnya dibudidayakan dengan metode konvensional namun metode tersebut memiliki keterbatasan, sehingga diperlukan metode kultur jaringan untuk mempercepat regenerasi tanaman secara cepat dan massal. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan regenerasi adalah pH media kultur. pH dapat mempengaruhi tingkat keberhasilan regenerasi tunas dari eksplan batang *Gynura procumbens* sehingga diperlukan kadar pH yang optimal untuk mendukung regenerasi tunas secara in vitro. Kerangka berpikir pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kerangka Berpikir Penelitian

D. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka berfikir di atas, didapatkan hipotesis penelitian sebagai berikut

H0: pH asam tidak berpengaruh terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas dari eksplan batang *Gynura procumbens* secara *in vitro*.

H1: pH asam berpengaruh terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas dari eksplan batang *Gynura procumbens* secara *in vitro*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain eksperimental yang dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari faktor tunggal. Metode penelitian kuantitatif merupakan penelitian yang menggunakan statistik untuk olah data sehingga data yang diperoleh dan hasil yang didapatkan berupa angka (Sahir, 2021). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat sehingga diketahui tingkat keeratannya (Ningsih *et al.*, 2021).

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemberian kadar pH terdiri dari 4 taraf perlakuan yaitu pH asam 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan pH kontrol 5,7-5,8. Pemilihan pH 5,7- 5,8 sebagai kontrol karena pH medium pada kultur jaringan tanaman umumnya disesuaikan menjadi 5,8 hingga 6,0 (Shi *et al.*, 2017). Perlakuan pengulangan pada penelitian ini didasarkan pada rumus Federer sebagai berikut: **$t(n-1) \geq 15$**

keterangan:

t: banyaknya perlakuan

n: banyaknya ulangan

maka diperoleh hitungan sebagai berikut

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n = 19/4 \implies n = 4,75$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka dapat diketahui bahwa setiap perlakuan dengan pengulangan minimal 5 kali, sehingga terdapat 20 unit percobaan dan setiap pengulangan terdapat 3 eksplan sehingga jumlah keseluruhan terdapat 60 eksplan.

Tabel 3.1 Kerangka Percobaan Rancangan Acak Lengkap

Ulangan	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

Keterangan

A: kadar pH asam 2,7-2,8

B: kadar pH asam 3,7-3,8

C: kadar pH asam 4,7-4,8

D: kadar pH kontrol 5,7-5,8

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024- Mei 2025 di Laboratorium Kultur Jaringan Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang beralamat di Jl. Prof. Dr. Hamka, Ngaliyan, Kec. Ngaliyan, Kota Semarang, Jawa Tengah 50185 dan di Laboratorium Kultur Jaringan Program Studi Biologi Universitas Negeri Semarang.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman *Gynura proumbens*. Kriteria dari populasi yang digunakan yaitu batang *G. procumbens* dengan percabangan yang rimbun dan segar. Kemudian sampel diambil sesuai dengan perlakuan yang digunakan, sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah batang *G. procumbens* dengan perlakuan pemberian kadar pH yang berbeda.

D. Definisi Operasional Variabel

Variabel dalam penelitian ini diantaranya yakni:

- 1) Variabel bebas : Pemberian kadar pH asam yang berbeda yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan kontrol 5,7-5,8 (pH sebelum di autoklaf).
- 2) Variabel terikat :

- Kuantitatif yakni rata-rata jumlah tunas, rata-rata panjang tunas (cm), presentase tumbuh tunas, berat segar, berat kering dan indeks pertumbuhan.
 - Kualitatif yakni morfologi tunas dan warna tunas
- 3) Variabel kontrol : Komposisi media, cahaya dan suhu ruang inkubasi ($22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$).

E. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah *Simple Random Sampling* (pengambilan acak sederhana) yang merupakan metode pengambilan sampel yang dilakukan secara acak tanpa memperhatikan tingkatan atau kelompok populasi (Fauzy, 2019). Penelitian ini menggunakan teknik *Simple Random Sampling* karena pengambilan sampel eksplan batang sambung nyawa dipilih secara acak dari seluruh populasi sambung nyawa yang ditanam sehingga setiap tanaman sambung nyawa memiliki peluang yang sama untuk dipilih sebagai sampel.

Instrumen pengumpulan data yang digunakan pada penelitian ini meliputi:

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya botol kultur, spatula, batang pengaduk, gelas ukur, gelas beaker, erlenmeyer, cawan petri, baki

plastik, hotplate, *autoclave*, neraca analitik, pipet tetes, mikropipet, scalpel, pinset, *Laminar Air Flow (LAF)*, gunting, rak kultur, kulkas, pH meter, bunsen, spidol, penggaris.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi eksplan batang sambung nyawa, media MS (Murashige & Skoog), bubuk agar, sukrosa, akuades, *Benzyl Amino Purine (BAP)*, *Indole Acetic Acid (IAA)*, larutan HCL 1N, larutan NaOH 1N, vitamin, mio-inositol, alkohol 70%, alohol 96%, fungisida, Chlorox (Bayclin), detergen (*Sunlight*), mikrotip, *aluminium foil*, tisu, kertas saring, kertas coklat, plastik anti panas, karet, plastik *seal* dan *gloves*.

b. Metode

1. Sterilisasi ruangan dan peralatan

Seluruh ruangan laboratorium kultur jaringan dibersihkan dua kali setiap minggu untuk menghilangkan sampah dan debu. Pembersihan dilakukan dengan menyapu dan mengepel lantai menggunakan larutan desinfektan. Selain itu, ruang tanam disterilkan melalui proses fumigasi yang dilaksanakan setiap dua minggu sekali. Fumigasi dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan formalin 2% pada dinding ruangan serta

larutan Chlorox 5% pada lantai, terutama di ruang tanam.

Proses sterilisasi alat diawali dengan menyiapkan semua peralatan yang akan digunakan, seperti pinset, scalpel, cawan petri, botol kultur, gelas beaker, erlenmeyer, dan gelas ukur. Seluruh peralatan dicuci menggunakan detergen, kemudian dibilas dengan air hingga bersih. Setelah itu, alat tanam seperti scalpel, pinset, dan cawan petri dibungkus dengan kertas cokelat, dimasukkan ke dalam plastik, dan diikat dengan karet. Mikrotip dimasukkan ke dalam *jar glass*. Alat-alat gelas, seperti gelas beaker, erlenmeyer, dan gelas ukur, ditutup pada bagian mulutnya dengan *aluminium foil*, kemudian dibungkus rapat menggunakan plastik seal. Seluruh peralatan tersebut selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 60 menit.

2. Pembuatan media

Media tanam yang digunakan pada penelitian ini adalah media MS dengan kadar pH yang berbeda yaitu pH 2,7-2,8; 3,7-3,8; 4,7-4,8 dan 5,7-5,8 serta penggunaan media MS dengan perlakuan

ZPT BAP 4 mg/ L dan IAA 2 mg/ L. Penggunaan media dengan perlakuan ZPT tersebut didasarkan pada penelitian Saadah et al. (2019) terkait penelitian kultur tunas *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. dengan menumbuhkan nodus batang *G. procumbens*.

Langkah pertama dalam pembuatan media kultur untuk erlenmeyer berkapasitas 200 mL diawali dengan menyiapkan seluruh larutan stok, yang terdiri atas larutan stok makronutrien, mikronutrien, vitamin, Fe, dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), yang telah dibuat sebelumnya. Pada langkah kedua, larutan stok makronutrien sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer 200 mL, diikuti dengan penambahan larutan stok mikronutrien sebanyak 0,2 mL, larutan stok vitamin sebanyak 0,8 mL, serta larutan stok Fe sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan ZPT berupa BAP dengan konsentrasi 4 ppm dan IAA dengan konsentrasi 2 ppm (prosedur pembuatan lingkungan stok terlampir pada lampiran).

Langkah ketiga dilakukan dengan menambahkan 0,02 gram myo-inositol, kemudian 6 gram sukrosa, dan akuades hingga mencapai

volume akhir 200 mL dalam erlenmeyer yang telah berisi larutan stok. Pengukuran pH media dilakukan menggunakan pH meter sesuai perlakuan, yaitu pada jarak pH 2,7–2,8; 3,7–3,8; 4,7–4,8; dan 5,7–5,8. Apabila pH media terlalu basa, dilakukan penyesuaian dengan penambahan larutan NaOH 1N secara bertahap (5 tetes per kali penambahan), sedangkan jika pH terlalu asam, penyesuaian dilakukan dengan penambahan larutan HCl 1N. Penyesuaian pH medium umumnya dilakukan menggunakan larutan HCl atau NaOH karena keduanya merupakan asam dan basa kuat yang terionisasi sempurna di dalam larutan sehingga lingkungan tumbuh eksplan menjadi konsisten dan stabil (George *et al.*, 2008). Setelah pH sesuai, agar sebanyak 8 gram ditambahkan ke dalam larutan tersebut. Proses pembuatan media ini diulangi sebanyak jumlah perlakuan yang diperlukan.

Langkah keempat dilakukan dengan memanaskan media di atas *hotplate* hingga muncul bulir-bulir uap air pada permukaan lingkungan. Media kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk selama ± 20 menit

hingga seluruh komponen larut dan homogen. Pada langkah kelima, setelah proses pemanasan, media dituangkan ke dalam botol kultur steril masing-masing sebanyak 20 mL. Botol kultur yang telah terisi media kemudian ditutup rapat menggunakan plastik yang diikat dengan karet, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

3. Sterilisasi Media

Media yang telah dipanaskan dituangkan ke dalam botol kultur hingga mencapai tanda batas volume yang ditentukan, kemudian ditutup rapat menggunakan penutup plastik tahan panas. Seluruh botol kultur selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 20 menit. Media steril kemudian disimpan di ruang inkubasi hingga digunakan pada tahap selanjutnya.

4. Sterilisasi Akuades

Akuades dimasukkan ke dalam botol, kemudian ditutup rapat menggunakan aluminium foil dan dibungkus rapat dengan segel plastik. Botol berisi akuades selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1

atm selama 60 menit. Akuades steril tersebut digunakan sebagai larutan sterilisasi eksplan.

5. Sterilisasi *Laminar Air Flow*

Sterilisasi *Laminar Air Flow* (LAF) dilakukan dengan menyalakan lampu ultraviolet (UV) selama 60 menit sebelum digunakan untuk memastikan permukaan ruang kerja bebas dari kontaminasi mikroba. Setelah itu, lampu UV dimatikan dan diganti dengan lampu penerangan biasa. Permukaan meja kerja LAF kemudian disemprot secara merata menggunakan alkohol 70% dan dibersihkan dengan tisu steril untuk menghilangkan sisa partikel debu atau mikroorganisme. Seluruh peralatan yang akan digunakan, seperti pinset, scalpel, cawan petri, botol kultur, serta bahan lain yang diperlukan, disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% sebelum dimasukkan ke dalam ruang kerja LAF.

Selama proses penanaman eksplan, aliran udara LAF tetap dinyalakan untuk menjaga kondisi steril di area kerja. Tangan peneliti juga disterilkan dengan alkohol 70% sebelum melakukan pekerjaan di dalam LAF, dan diulangi

setiap kali kontak dengan permukaan yang tidak steril terjadi.

6. Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan di luar *Laminar Air Flow* (LAF) mengikuti prosedur standar. Eksplan batang *Gynura procumbens* yang telah dipotong dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dicuci bersih di bawah aliran air mengalir. Selanjutnya, eksplan dicuci menggunakan larutan detergen selama 15 menit untuk menghilangkan partikel debu dan kotoran, kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Setelah tahap pencucian, eksplan direndam dalam larutan fungisida selama 30 menit untuk mengurangi risiko kontaminasi jamur.

Eksplan kemudian dibilas menggunakan 1–2 botol akuades steril hingga bersih dari sisa fungisida. Eksplan batang yang telah bersih selanjutnya dipindahkan ke dalam ruang LAF untuk proses sterilisasi permukaan secara aseptik. Sterilisasi aseptik dilakukan dengan merendam eksplan dalam larutan Chlorox 20% selama 10 menit sambil digoyangkan secara perlahan untuk

memastikan seluruh permukaan eksplan terendam dan terkena lingkungan secara merata.

Setelah perendaman, larutan Chlorox dibuang ke dalam gelas beaker steril. Eksplan kemudian dibilas menggunakan akuades steril sebanyak 3–4 kali, masing-masing bilasan dilakukan selama 2–3 menit, hingga sisa larutan Chlorox hilang seluruhnya. Akuades steril bekas bilasan dikumpulkan ke dalam gelas steril yang telah disiapkan sebelumnya. Eksplan batang yang telah selesai disterilisasi ditutup pada bagian mulut erlenmeyer menggunakan aluminium foil steril, dan disimpan di dalam ruang LAF hingga digunakan pada tahap inokulasi selanjutnya.

7. Inokulasi

Langkah pertama yang dilakukan adalah memastikan kedua tangan peneliti serta seluruh peralatan yang akan dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow* (LAF) telah disterilkan dengan penyemprotan alkohol 70%. Pada tahap inokulasi, plastik penutup botol yang berisi media kultur dibuka secara perlahan dan dijaga agar tetap berada dekat dengan api bunsen guna menjaga kondisi steril. Pinset yang akan digunakan

dicelupkan terlebih dahulu ke dalam alkohol 70%, kemudian dipijarkan di atas nyala bunsen hingga berwarna merah untuk memastikan kondisi steril.

Eksplan batang *Gynura procumbens* diambil menggunakan pinset steril dengan cara dijepit perlahan, kemudian diletakkan pada permukaan kaca bedah (cawan petri steril). Eksplan selanjutnya dipotong beberapa menjadi bagian dengan ketentuan pemotongan dilakukan pada setiap nodus. Bagian eksplan yang telah dipotong kemudian ditanam ke dalam botol kultur berisi media, dengan jumlah tiga eksplan per botol. Botol kultur ditutup rapat menggunakan plastik tahan panas dan disegel untuk mencegah kontaminasi. Seluruh botol kultur selanjutnya disusun pada rak kultur dan dipelihara pada kondisi cahaya sebesar 1000 lux serta suhu $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama empat minggu setelah kultur (4 MSK).

8. Data Kuantitatif

Parameter yang diamati pada pengambilan data secara kuantitatif yaitu:

a) Jumlah Tunas

Tunas yang dihitung adalah pucuk-pucuk kecil yang terbentuk dan tumbuh setelah

diinokulasi kemudian jumlah tunas di rata-rata. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 4 MSK (minggu setelah kultur). Tunas yang dicatat adalah tunas aksiler dan tunas sekunder.

b) Panjang Tunas

Panjang tunas diamati pada akhir pengamatan yaitu 4 MSK (minggu setelah kultur) dengan mengukur panjang tunas yang tumbuh. Panjang tunas diukur dengan menggunakan benang agar arah beloknya tanaman juga dapat terukur. Kemudian, dari panjang benang tersebut lalu diukur menggunakan penggaris kemudian panjang tunas di rata-rata.

c) Presentase Tumbuh Tunas

Presentase tumbuh tunas dilakukan dengan cara menghitung jumlah tunas yang tumbuh dari awal hingga akhir pengamatan.

Rumus yang digunakan % tumbuh tunas = **(jumlah tanaman bertunas) / (jumlah total tanaman) x 100%.**

d) Berat segar

Berat segar diamati dengan cara menimbang tanaman hasil kultur (planlet) dengan timbangan analitik setelah dibersihkan dari media yang menempel. Pengamatan dilakukan 4 minggu setelah kultur (4 MSK).

e) Berat kering

Berat kering diperoleh dari tunas yang dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 48 jam. Indeks pertumbuhan tunas *G. procumbens* dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Indeks pertumbuhan} = \frac{\text{berat kering akhir planlet} - \text{berat kering inokulum awal}}{\text{berat kering inokulum awal}}$$

9. Data Kualitatif

Parameter yang diamati pada pengambilan data secara kualitatif adalah morfologi tunas dengan melihat bentuk tunas (normal atau tidak) dan warna tunas. Bentuk tunas dianggap normal jika memiliki morfologi sehat, yaitu berwarna hijau dan tidak menunjukkan tanda-tanda hiperhidrisitas, seperti batang menebal atau daun menggulung. Sebaliknya, tunas tidak normal sering menunjukkan ciri hiperhidrisitas, termasuk daun transparan, rapuh, memanjang secara tidak

wajar, serta warna abnormal seperti kuning atau terlalu gelap (Polivanova and Bedarev, 2022).

F. Teknik Analisis Data

1. Uji Normalitas

Uji normalitas ialah suatu prosedur untuk menguji suatu variabel independen dan variabel dependen berdistribusi normal atau tidak (Sahir, 2022). Berdasarkan buku "*Metodologi Penelitian*" oleh Syafrida Hafni Sahir (2022), model regresi yang baik seharusnya memiliki analisi grafik dan uji statistik dengan ketentuan, sebagai berikut:

- a. Apabila nilai signifikansi atau nilai probabilitas $> 0,05$ maka, hipotesis diterima karena data tersebut terdistribusi secara normal. Apabila data berdistribusi normal, maka dilanjutkan ke uji ANOVA dan DMRT.
- b. Apabila nilai signifikansi atau nilai probabilitas $< 0,05$ maka, hipotesis ditolak karena data tidak terdistribusi secara normal.

Apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan ke uji non parametric dengan menggunakan uji Kruskal Wallis lalu dilanjutkan uji Post Hoc Mann Whitney.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas yaitu metode statistik yang memiliki tujuan menguji apakah varians antara dua kelompok data atau lebih adalah homogen atau sama (Putri *et al.*, 2023). Tujuan utama dari uji homogenitas adalah untuk menentukan apakah kelompok-kelompok tersebut memiliki variabilitas yang serupa atau berbeda secara signifikan (Putri *et al.*, 2023). Hasil uji homogenitas, jika $p\text{-value} > 0,05$ berarti varians antar kelompok dianggap seragam atau homogen sehingga dapat melanjutkan ke uji ANOVA (Usmadi, 2020).. Namun, jika $p\text{-value} < 0,05$, ini berarti varians antar kelompok berbeda secara signifikan (tidak homogen), dan asumsi homogenitas varians tidak terpenuhi (Usmadi, 2020).

3. Uji ANOVA (*Analysis of Variance*)

Uji ANOVA merupakan metode statistik yang dipergunakan dengan tujuan menganalisis perbandingan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok data yang independen. Tujuan utama dari uji ANOVA adalah menemukan perbedaan signifikan yang muncul antara rata-rata kelompok-kelompok tersebut (Putri *et al.*, 2023). ANOVA membandingkan rata-rata pertumbuhan tunas pada berbagai tingkat pH untuk menentukan perbedaan pH terhadap regenerasi tunas.

4. Uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*)

Apabila hasil ANOVA signifikan, maka dilanjutkan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf α 5%. Uji ini merupakan uji pengaruh yaitu uji yang dapat digunakan untuk menguji perbedaan diantara semua pasangan perlakuan yang menunjukkan hasil paling berbeda secara signifikan (Desiani *et al.*, 2020).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengaruh pH asam terhadap tingkat keberhasilan regenerasi tunas *Gynura procumbens*

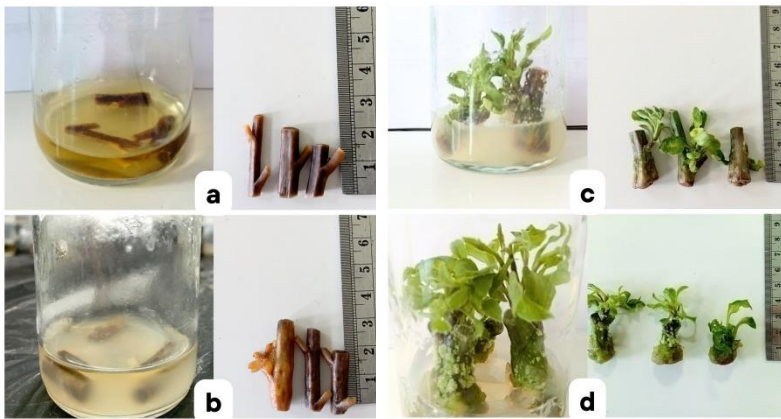
Penelitian ini dilakukan di laboratorium kultur jaringan dengan kondisi ruang steril dan suhu ruang terkontrol ($27^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) dengan masa kultur selama 4 MSK (4 Minggu Setelah Kultur). Eksplan yang digunakan merupakan eksplan batang muda *Gynura procumbens* pada nodus kedua sampai ketujuh. Penggunaan eksplan nodus didasari oleh keberadaan jaringan meristematik di bagian aksiler sehingga menjadi salah satu faktor pendukung kecepatan waktu induksi tunas (Bhojwani & Dantu, 2013). Penelitian Ikeuchi *et al.* (2016) menyatakan bahwa tunas pada tanaman memiliki kemampuan memulihkan meristem apikal ketika sebagian meristemnya mengalami kerusakan dan jika keseluruhan meristem apikal terpotong, tanaman akan merespons dengan membentuk organ baru melalui diferensiasi meristem lateral, seperti tunas aksiler (Ikeuchi *et al.*, 2016).

Eksplan batang *Gynura procumbens* kemudian dikulturkan pada media MS dengan perlakuan pH berbeda yaitu pH 2,7–2,8; pH 3,7–3,8; pH 4,7–4,8 dan kontrol pH 5,7–5,8. Pertumbuhan tunas mulai terlihat pada hari ke-7 hingga ke-28 setelah tanam tergantung pada perlakuan pH. Pada perlakuan pH 2,7–2,8 (Gambar 4.1a), eksplan menunjukkan gejala perubahan warna menjadi kecoklatan (*browning*), media tampak keruh, tingkat nekrosis yang lebih tinggi sejak minggu pertama bahkan tunasnya tidak terbentuk.

Pada perlakuan pH 3,7–3,8 (Gambar 4.1b), eksplan menunjukkan gejala pencoklatan ringan. Meskipun demikian, kondisi planlet terlihat lebih baik dibandingkan perlakuan sebelumnya. Tunas mulai muncul pada hari ke-14, namun jumlahnya terbatas, pertumbuhannya tidak normal, dan ukurannya pendek. Pada hari ke-21, eksplan mengalami *browning* yang kemudian berkembang menjadi nekrosis.

Perlakuan pH 4,7–4,8 (Gambar 4.1c) menghasilkan eksplan yang lebih stabil secara visual dengan eksplan cenderung hijau, planlet tetap segar, dan sebagian besar eksplan berhasil membentuk tunas pada minggu pertama (hari ke-6) setelah kultur serta tampak tumbuh lebih panjang dibandingkan pada pH sebelumnya. Sementara

itu, perlakuan pH 5,7-5,8 sebagai kontrol (Gambar 4.1d) menghasilkan kondisi terbaik. Perlakuan ini menunjukkan planlet yang tetap segar, tidak mengalami nekrosis, tanpa pencoklatan, media terlihat jernih tanpa kontaminasi, kalus terbentuk dan tunas tumbuh lebih cepat dan seragam serta lebih panjang dibandingkan perlakuan lain.



Gambar 4.1 Kondisi eksplan batang *Gynura procumbens* setelah 28 hari kultur pada media dengan perlakuan pH berbeda. Terlihat perbedaan jumlah dan panjang tunas antar perlakuan (a) pH 2,7-2,8; (b) pH 3,7- 3,8; (c) pH 4,7- 4,8; (d) pH 5,7-5,8

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, perlakuan pH 3,7-3,8 menghasilkan regenerasi sedang yang menunjukkan bahwa meskipun masih asam, pH ini mulai mendekati kisaran toleransi fisiologis tanaman sedangkan perlakuan pH 2,7-2,8 menunjukkan tingkat keberhasilan regenerasi tunas yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan pH lainnya. Kondisi

tersebut dikarenakan faktor lingkungan yang memengaruhi eksplan. Faktor lingkungan seperti suhu yang terlalu tinggi ($26^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) dapat menghambat regenerasi tunas. Hal tersebut juga dikarenakan tingkat keasaman yang terlalu tinggi pada media dapat menyebabkan stres fisiologis dan menghambat regenerasi tanaman (Alam *et al.*, 1999).

Penggunaan pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan kerusakan pada struktur sel dan gangguan fisiologis lainnya yang berdampak negatif terhadap pertumbuhan eksplan (Thorpe, 2007). Nilai pH yang terlalu rendah juga dapat berpengaruh terhadap morfogenesis *in vitro* dalam menghambat perkembangan jaringan (Khan *et al.*, 1986). Hal ini sesuai dengan penelitian Visviki and Santikul (2000) yang menyatakan bahwa penggunaan pH rendah mengakibatkan pertumbuhan tanaman dapat melambat secara signifikan (Visviki & Santikul, 2000).

Bligny *et al.* (1997) juga menyatakan bahwa kelebihan asam dapat menurunkan pH sitoplasma sel tanaman yang biasanya sedikit basa saat glikolisis yang merupakan jalur utama metabolisme energi (Bligny *et al.*, 1997). Penggunaan pH yang terlalu asam juga menghambat aktivitas enzim-enzim penting dalam jalur glikolitik

seperti fosfofruktokinase dan piruvat kinase, sehingga produksi ATP terganggu (Plaxton, 1996). Selain itu, rendahnya pH juga dapat menghambat penyerapan kation, penyerapan ion-ion hara esensial seperti K^+ , Ca^{2+} , dan Mg^{2+} (Marschner, 2012). Ketidakseimbangan ionik ini dapat menyebabkan gangguan dalam pembelahan dan pemanjangan sel, serta menurunkan efisiensi fotosintesis karena kerusakan struktur kloroplas (Lambers *et al.*, 2008). Akumulasi ion H^+ dalam sel juga memicu stres oksidatif dan membatasi difusi oksigen ke jaringan dalam, menyebabkan kondisi hipoksia sehingga semakin memperburuk pertumbuhan tanaman (Bligny *et al.*, 1997). Stres akibat pH ekstrem juga dapat memicu pembentukan senyawa reaktif oksigen (ROS) yang dapat merusak jaringan dan menghambat diferensiasi serta pertumbuhan organ baru seperti tunas (Khaliq *et al.*, 2021). ROS ini dapat merusak metabolisme tanaman dan menyebabkan kerusakan yang tidak dapat diperbaiki pada makromolekul penting, termasuk protein, DNA, lipid, dan karbohidrat (Zulfiqara *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian juga dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (pH 5,7–5,8) memang memberikan hasil tertinggi pada hampir semua parameter, namun sebagai pH netral, ini adalah nilai

standar dalam media MS. Oleh karena itu, pH 4,7–4,8 dapat dianggap sebagai batas bawah yang tetap efektif berpengaruh dalam regenerasi tunas secara *in vitro*. Perlakuan pH 4,7–4,8 menunjukkan hasil regenerasi tunas yang lebih baik pada sebagian besar parameter. Perlakuan pH mendekati kontrol tersebut (4,7–5–8) tersebut menunjukkan warna hijau pada eksplan, terjadi pertumbuhan tunas, terjadi pembentukan kalus, dan menghasilkan nilai indeks pertumbuhan yang relatif tinggi. Penelitian Kharde *et al.* (2021) pada *Bacopa monnieri* menyatakan bahwa pH asam sedang (sekitar pH 4) mampu meningkatkan jumlah dan panjang tunas (Kharde *et al.*, 2021).

Kondisi pH 4,7–4,8 terjadi karena kisaran pH tersebut memungkinkan berlangsungnya penyerapan ion hara penting seperti Ca^{2+} , K^+ , dan Mg^{2+} , yang berperan dalam menjaga keseimbangan osmotik, stabilitas membran, dan aktivitas enzim (Marschner, 2012). Kisaran pH 4,7–4,8 juga membantu mempertahankan pH sitoplasma agar tetap stabil sehingga proses glikolisis dan respirasi aerobik juga stabil (Taiz & Zeiger, 2002). Kondisi ini dapat mempertahankan struktur kloroplas dan mitokondria, sehingga fotosintesis dan respirasi berjalan secara normal (Lambers *et al.*, 2008).

Berdasarkan pembahasan sebelumnya, maka dapat diketahui bahwa pH asam berpengaruh signifikan terhadap keberhasilan regenerasi tunas. Pengaruh tersebut dapat ditinjau lebih dalam mengenai pengaruh fisiologis pH terhadap respons pertumbuhan eksplan batang *Gynura procumbens* secara *in vitro* melalui analisis terhadap masing-masing parameter meliputi jumlah tunas, panjang tunas, persentase tumbuh, berat segar, berat kering dan indeks pertumbuhan.

1) Jumlah Tunas

Jumlah tunas merupakan salah satu indikator utama dalam keberhasilan regenerasi eksplan secara *in vitro*. Pembentukan tunas ditandai dengan adanya pembengkakan atau penebalan berupa tonjolan (calon tunas) pada permukaan eksplan di bagian atas ataupun bagian bawah potongan eksplan (tunas) yang ditanam (Mawaddah *et al.*, 2021). Pembentukan tunas tersebut menunjukkan aktivitas meristematik dan respon eksplan terhadap media yang digunakan (George *et al.*, 2008). Pengamatan jumlah tunas perlu dilakukan karena untuk mengetahui tingkat efektivitas perlakuan pH pada media yang diberikan untuk mendukung proses pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

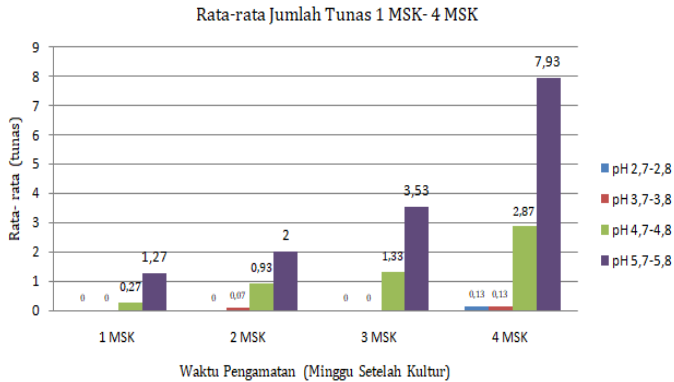
Jumlah tunas mengacu pada total tunas yang tumbuh dari eksplan batang sambung nyawa yang dikulturkan. Pengamatan jumlah tunas pada beberapa perlakuan dilakukan pada 1 MSK hingga 4 MSK sesuai pada Lampiran 3. Berdasarkan data diperoleh, nilai rata-rata sesuai pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rata-rata Jumlah Tunas per eksplan pada berbagai perlakuan pH

Pengamatan Rata-rata Jumlah Tunas (Tunas)				
Perlakuan	1 MSK	2 MSK	3 MSK	4 MSK
pH 2,7-2,8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	$0,13 \pm 0,35$
pH 3,7-3,8	0 ± 0	$0,07 \pm 0,25$	0 ± 0	$0,13 \pm 0,35$
pH 4,7-4,8	$0,27 \pm 0,45$	$0,93 \pm 1,38$	$1,33 \pm 2,31$	$2,87 \pm 3,75$
pH 5,7-5,8	$1,27 \pm 0,98$	$2 \pm 2,00$	$3,53 \pm 3,99$	$7,93 \pm 5,03$

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa perlakuan rata-rata jumlah tunas tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan kontrol pH 5,7-5,8 yaitu dengan rata-jumlah tunas sebanyak 7,93 tunas per eksplan, diikuti oleh perlakuan pH 4,7-4,8 dengan rata-rata jumlah tunas sebanyak 2,87 tunas per eksplan sedangkan untuk perlakuan pH 2,7-2,8 dan pH 3,7-3,8 dengan rata-rata 0,13 tunas merupakan perlakuan dengan nilai terendah. Berdasarkan hasil juga dapat diketahui bahwa pH 3,7-3,8 mengalami penyusutan pada minggu ketiga setelah

kultur. Perbedaan rata-rata jumlah tunas pada setiap perlakuan juga ditampilkan dalam Gambar 4.2 berikut.



Gambar 4.2 Grafik rata-rata jumlah tunas

Berdasarkan pada grafik (Gambar 4.2), terlihat perbedaan pada pertumbuhan jumlah tunas di setiap minggunya. Perlakuan pH 5,7–5,8 memberikan hasil yang paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Grafik ini memperjelas bahwa peningkatan pH dari sangat asam (2,7–2,8) ke pH yang lebih mendekati kontrol (5,7–5,8) berhubungan dengan peningkatan jumlah tunas yang terbentuk. Sementara itu, pada pH yang terlalu rendah (2,7–2,8), jumlah tunas yang terbentuk sangat sedikit.

Hasil uji normalitas jumlah tunas menunjukkan bahwa data pada perlakuan pH 2,7–2,8; 3,7–3,8; dan 4,7–4,8 tidak terdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$),

sementara perlakuan pH 5,7–5,8 berdistribusi normal ($\text{sig} > 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, maka data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik ANOVA karena tidak semua data memenuhi asumsi normalitas, sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis (Lampiran 4). Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap jumlah tunas menunjukkan nilai Asymp.sig 0,00 sehingga memenuhi asumsi uji Kruskal-Wallis yaitu nilai Asymp.sig $< 0,05$ yang berarti perlakuan pemberian pH asam berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah tunas planlet tanaman sambung nyawa.

Analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan pada berbagai pH (Tabel 4.2). Berdasarkan hasil post hoc pada Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa pada pengamatan 1 MSK, tidak terdapat perbedaan nyata antara pH 2,7–2,8 dan pH 3,7–3,8 ($\text{sig} = 1.000$), namun terdapat perbedaan nyata dengan pH 4,7–4,8 ($\text{sig} = 0,01$) dan pH 5,7–5,8 ($\text{sig} = 0,00$). Hal serupa juga terlihat antara pH 3,7–3,8 yang menunjukkan perbedaan signifikan terhadap pH 4,7–4,8 dan pH 5,7–5,8 ($p < 0,05$).

Tabel 4.2 Hasil Post Hoc Mann Whitney

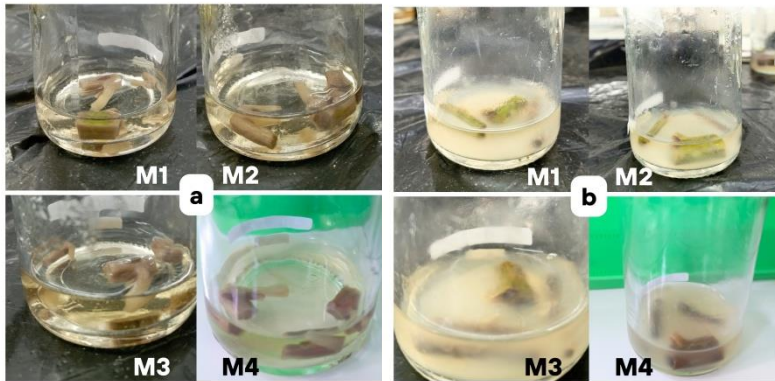
MSK	Perlakuan	Rata-rata (tunas)	Kelompok (Asymp.sig)			
			pH 2,7–2,8	pH 3,7–3,8	pH 4,7–4,8	pH 5,7–5,8
1 MSK	pH 2,7–2,8	0	-	1000 ^{tn}	0,01*	0,00*
	pH 3,7–3,8	0		-	0,01*	0,00*
	pH 4,7–4,8	0,27			-	0,00*
	pH 5,7–5,8	1,27				-
2 MSK	pH 2,7–2,8	0	-	0,317 ^{tn}	0,00*	0,00*
	pH 3,7–3,8	0,07		-	0,02*	0,00*
	pH 4,7–4,8	0,93			-	0,14 ^{tn}
	pH 5,7–5,8	2				-
3 MSK	pH 2,7–2,8	0	-	1000 ^{tn}	0,00*	0,00*
	pH 3,7–3,8	0		-	0,00*	0,00*
	pH 4,7–4,8	1,33			-	0,07 ^{tn}
	pH 5,7–5,8	3,53				-
4 MSK	pH 2,7–2,8	0,13	-	1000 ^{tn}	0,01*	0,00*
	pH 3,7–3,8	0		-	0,01*	0,00*
	pH 4,7–4,8	0,27			-	0,01*
	pH 5,7–5,8	1,27				-

Keterangan: tanda (tn) menunjukkan hasil tidak beda nyata antar perlakuan; tanda (*) menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan; angka **bercetak tebal** menunjukkan nilai rata-rata tertinggi.

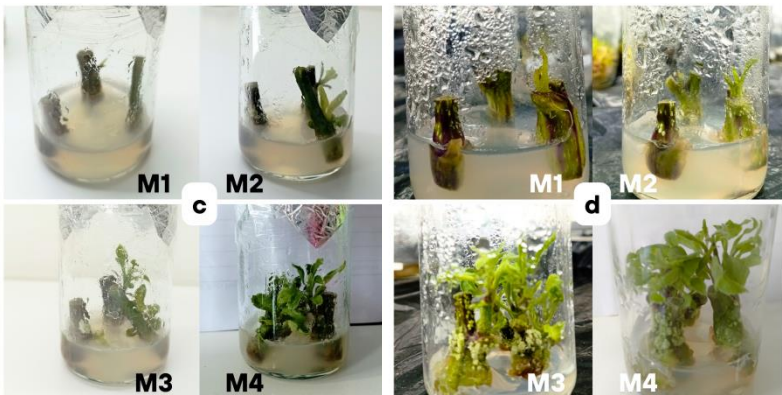
Pada pengamatan 2 MSK, nilai signifikan ($< 0,05$) muncul pada sebagian besar pasangan perlakuan, terutama antara pH 3,7–3,8 dengan pH 4,7–4,8 (sig = 0,02) dan pH 5,7–5,8 (sig = 0,00), menandakan bahwa semakin meningkatnya pH cenderung meningkatkan perbedaan jumlah tunas yang muncul. Hasil pengamatan 3 MSK menunjukkan perbedaan yang lebih signifikan antar kelompok pH, di mana hampir seluruh perbandingan memiliki nilai sig $< 0,05$, terutama antara pH rendah (2,7–2,8 dan 3,7–3,8) dengan pH tinggi (4,7–4,8 dan 5,7–5,8). Kelompok

perlakuan pH 5,7–5,8 menghasilkan rata-rata jumlah tunas terbanyak yaitu 3,53 yang ditunjukkan dengan angka bercetak tebal dalam tabel. Pada pengamatan 4 MSK, pH 5,7–5,8 tetap menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok pH yang lebih rendah dan menghasilkan rata-rata tunas jumlah tunas yang lebih banyak. Perlakuan dengan pH 5,7–5,8 konsisten memberikan hasil tunas terbanyak pada semua waktu pengamatan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin meningkat pH ke arah kontrol cenderung meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Pada minggu pertama, perbedaan signifikan terlihat antara pH 2,7–2,8 dengan pH 4,7–4,8 ($p = 0,01$) dan pH 5,7–5,8 ($p = 0,00$). Perlakuan pH 5,7–5,8 menghasilkan rata-rata 1 tunas, sedangkan pH 2,7–2,8 menghasilkan 0 tunas. Temuan ini konsisten hingga minggu ke-4, di mana pH 5,7–5,8 tetap menunjukkan jumlah tunas tertinggi (1,27 tunas), berbeda nyata dibandingkan pH 2,7–2,8 ($p = 0,01$). Pertumbuhan jumlah tunas selama 4MSK dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Gambar 4.4 berikut.



Gambar 4.3 Pertumbuhan tunas selama 4 MSK perlakuan (a) pH 2,7-2,8; (b) pH 3,7-3,8. M1 (minggu ke-1), M2 (minggu ke-2), M3 (minggu ke-3), M4 (minggu ke-4)



Gambar 4.4 Pertumbuhan tunas selama 4 MSK perlakuan (c) pH 4,7-4,8; (d) pH 5,7-5,8. M1 (minggu ke-1), M2 (minggu ke-2), M3 (minggu ke-3), M4 (minggu ke-4)

Hasil tersebut menunjukkan bahwa kondisi pH asam 4,7-4,8 sampai mendekati kontrol tersebut paling mendukung pembelahan dan diferensiasi sel

tunas pada *Gynura procumbens* dibanding dengan perlakuan pH asam yang lainnya. Hasil ini sejalan dengan penelitian Rashid *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa pH medium asam mendekati netral (4,5-6,0) memberikan hasil terbaik untuk regenerasi tunas pada eksplan dan dapat meningkatkan morfogenesis tunas (Rashid *et al.*, 2018). Penelitian Cao & Tibbitts (1994) mengenai respon kentang terhadap tingkat pH larutan dengan berbagai bentuk nitrogen, juga menyatakan bahwa pertumbuhan tanaman mencapai puncaknya pada tingkat pH 5 dan pH 6 (Cao & Tibbitts, 1994).

Secara fisiologis, paparan sel terhadap pH yang sangat rendah menyebabkan konversi fosfat anorganik menjadi fosfat organik di ekstraseluler (Bhojwani & Dantu, 2015). Hal ini juga disertai dengan penurunan ATP yang menyebabkan berkurangnya pertumbuhan tanaman (Bhojwani & Dantu, 2015). Penurunan pH juga dapat menyebabkan penyerapan kation preferensial dan eksudasi asam organik dari bahan tanaman (Sarma *et al.*, 1990; Yoshihara, 1992). Hal ini mendukung bahwa pH memiliki pengaruh nyata terhadap keberhasilan regenerasi tunas secara *in vitro* (George *et al.*, 2008; Thorpe, 2007). Namun, hal

tersebut berbanding terbalik dengan penelitian Bhatia and Aswath (2005) tentang pengaruh pH media terhadap regenerasi tunas dari eksplan kotiledon tomat, menyatakan bahwa jaringan tomat Cv. Red Coat dapat mentoleransi berbagai macam pH karena respons tunasnya, jumlah tunas yang dihasilkan per eksplan dan respons kalus tidak dipengaruhi oleh pH medium (Bhatia and Ashwath, 2005).

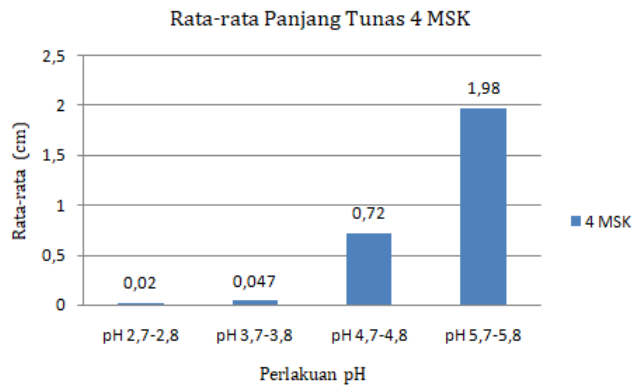
2) Panjang Tunas

Panjang tunas merupakan indikator penting yang menggambarkan tingkat keberhasilan diferensiasi dan pertumbuhan sel eksplan dalam kultur jaringan (George *et al.*, 2008). Data panjang tunas diperoleh dari pengamatan pada minggu terakhir pengamatan (4 MSK) dapat dilihat pada Lampiran 5. Berdasarkan data yang ada, diperoleh nilai rata-rata sesuai pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata-rata Panjang Tunas pada berbagai perlakuan pH

Perlakuan	Rata-rata Panjang Tunas (cm)
pH 2,7-2,8	$0,02 \pm 0,05$
pH 3,7-3,8	$0,047 \pm 0,12$
pH 4,7-4,8	$0,72 \pm 0,97$
pH 5,7-5,8	$1,98 \pm 1,32$

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa perlakuan rata-rata panjang tunas tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan pH 5,7-5,8 yaitu 1,98 cm, diikuti oleh perlakuan pH 4,7-4,8 dengan panjang 0,72 cm sedangkan untuk perlakuan pH 2,7-2,8 dan pH 3,7-3,8 dengan rata-rata 0,02 dan 0,047 cm merupakan perlakuan dengan nilai terendah. Perbedaan rata-rata panjang tunas pada setiap perlakuan juga ditampilkan dalam Gambar 4.5 berikut.



Gambar 4.5 Grafik rata-rata panjang tunas

Pada grafik (Gambar 4.5) dapat dilihat bahwa rata-rata panjang tunas tertinggi rata-rata panjang tunas tertinggi dihasilkan dari perlakuan pH 5,7–5,8 yaitu 1,98 cm dan rata-rata panjang tunas terendah pada perlakuan pH ekstrem 2,7–2,8 yaitu 0,02 cm. Nilai tersebut menunjukkan adanya kecenderungan

peningkatan panjang tunas seiring dengan peningkatan pH hingga mencapai titik optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Staniene and Stanyte (2007) yang menyatakan bahwa pH substrat memengaruhi panjang tunas secara eks vitro maupun in vitro (Stanienė & Stanytė, 2007).

Hasil uji normalitas jumlah tunas menunjukkan bahwa data pada perlakuan pH 2,7–2,8; 3,7–3,8; dan 4,7–4,8 tidak terdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$), sementara perlakuan pH 5,7–5,8 berdistribusi normal ($\text{sig} > 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, maka data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametric ANOVA karena tidak semua data memenuhi asumsi normalitas, sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametric Kruskal-Wallis (Lampiran 6). Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap jumlah tunas menunjukkan nilai Asymp.sig 0,00 sehingga memenuhi asumsi uji Kruskal-Wallis yaitu nilai Asymp.sig $< 0,05$ yang berarti perlakuan pemberian pH asam berpengaruh nyata terhadap parameter panjang tunas planlet tanaman sambung nyawa.

Analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan pada berbagai pH (Tabel 4.4).

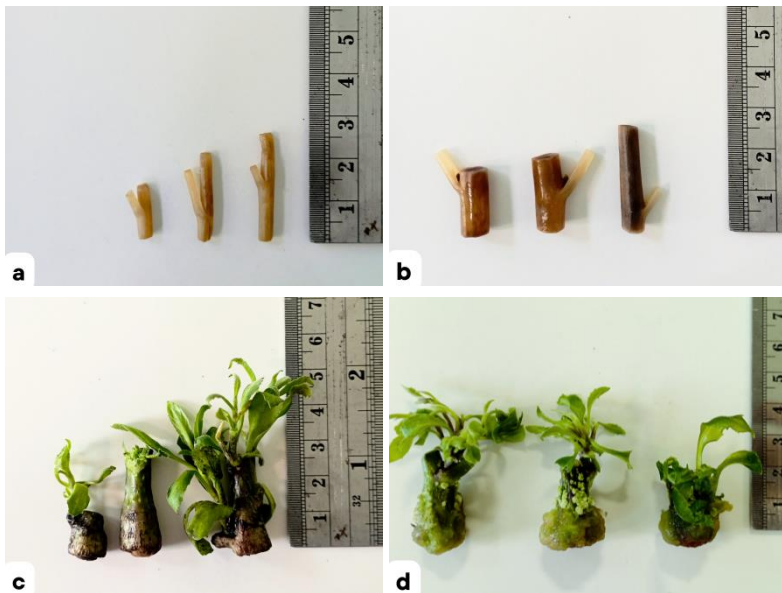
Tabel 4.4 Hasil Post Hoc Mann Whitney

MSK	Perlakuan	Rata-rata (cm)	Kelompok (Asymp.sig)			
			pH 2,7-2,8	pH 3,7-3,8	pH 4,7-4,8	pH 5,7-5,8
4 MSK	pH 2,7-2,8	0,02	-	0,88 ^{tn}	0,01*	0,00*
	pH 3,7-3,8	0,04		-	0,01*	0,00*
	pH 4,7-4,8	0,72			-	0,01*
	pH 5,7-5,8	1,98				-

Keterangan: tanda (**tn**) menunjukkan hasil tidak benda nyata antar perlakuan; tanda (*) menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan; angka **bercetak tebal** menunjukkan nilai rata-rata tertinggi.

Berdasarkan hasil Post Hoc- Mann-Whitney pada Tabel 4.4 dapat dilihat bahwa perlakuan pH 4,7-4,8 secara statistik berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pH 2,7-2,8 dan pH 3,7-3,8, dengan nilai signifikansi masing-masing $p = 0,01$. Hal ini mengindikasikan bahwa pH 4,7-4,8 mampu memberikan respon pertumbuhan tunas yang secara signifikan lebih baik dibandingkan dengan media yang lebih asam. Namun demikian, jika dibandingkan dengan kontrol pada pH 5,7-5,8, perlakuan pH 4,7-4,8 masih menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,01$), yang berarti pertumbuhan pada kontrol tetap lebih optimal. Meskipun demikian, peningkatan panjang tunas dari pH sangat asam ke pH 4,7-4,8 tampak bahwa kisaran ini sudah mulai mendekati kondisi fisiologis yang lebih mendukung pertumbuhan. Perbandingan panjang tunas pada

masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.6 dibawah ini.



Gambar 4.6 Perbandingan panjang tunas pada masing-masing perlakuan (a) pH 2,7-2,8; (b)pH 3,7-3,8; (c)pH 4,7-4,8; dan (d) pH 5,7-5,8

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Bhatia and Aswath (2005) yang menyatakan bahwa pertumbuhan tunas yang lebih baik hanya dapat dicapai pada kisaran pH mendekati kontrol dan panjang tunas berkurang pada pH yang lebih rendah yang menunjukkan bahwa pH memengaruhi pertumbuhan dan secara tidak langsung memengaruhi penyerapan nutrisi pada pH ekstrem

(Bhatia and Aswath, 2005). Penelitian Borkowska (1996) juga menyatakan bahwa kisaran pH mendekati kontrol (pH 5,0) cocok untuk kultur *Vaccinium corymbosum*, tetapi keasaman media yang tinggi (pH 3,0) menghambat pertumbuhan tunas (Borkowska, 1996).

Secara fisiologis, pH rendah dapat secara langsung menghambat dan membatasi penyerapan K, Ca, dan Mg sehingga konsentrasi nutrisi yang rendah mengakibatkan tanaman harus mengeluarkan lebih banyak energi untuk mempertahankan pH fisiologis yang tepat secara internal sehingga memengaruhi pertumbuhan tanaman (Ostrolucka *et al.*, 2010; Zu *et al.*, 2014). Nilai pH medium tidak hanya memengaruhi penyerapan bahan medium tetapi juga reaksi kimia, terutama yang dikatalisis oleh enzim (Thorpe *et al.*, 2008). Aktivitas enzim yang memengaruhi penyerapan beberapa unsur pada membran plasma dan mengatur penyerapan seluruh distribusi Fe tanaman; (Moog and Bruggemann, 1994; Poonnachit and Darnell, 2004).

3) Persentase Tumbuh

Persentase eksplan bertunas merupakan garis besar terkait keberhasilan pada tunas dalam kultur

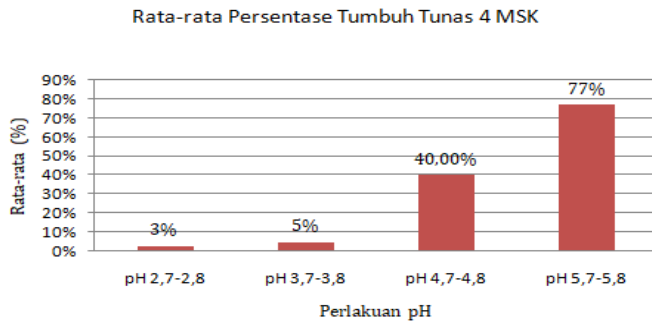
jaringan yang diukur sebagai jumlah rasio eksplan yang menghasilkan tunas dibandingkan dengan total jumlah eksplan yang diamati (Abdillah *et al.*, 2024). Data persentase tumbuh tunas dilakukan dengan cara menghitung jumlah tunas yang tumbuh dari awal hingga akhir pengamatan, dapat dilihat pada Lampiran 7. Berdasarkan data yang ada, diperoleh nilai rata-rata sesuai pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Rata-rata Persentase Tumbuh Tunas pada berbagai perlakuan pH

Perlakuan	Rata-rata Persentase Tumbuh Tunas (%)
pH 2,7-2,8	3% $\pm$ 14,9
pH 3,7-3,8	5% $\pm$ 16,28
pH 4,7-4,8	40% $\pm$ 27,79
pH 5,7-5,8	77% $\pm$ 34,37

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa rata-rata persentase tunas tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan pH 5,7-5,8 yaitu 77% tunas tumbuh, diikuti oleh perlakuan pH 4,7-4,8 yaitu 40% tumbuh tunas dan perlakuan pH 3,7-3,8 yaitu 5% tumbuh tunas sedangkan untuk perlakuan pH 2,7-2,8 dan dengan rata-rata persentase 3% tumbuh tunas merupakan perlakuan dengan nilai terendah.

Perbedaan rata-rata panjang tunas pada setiap perlakuan juga ditampilkan dalam Gambar 4.7 berikut.



Gambar 4.7 Grafik rata-rata persentase tumbuh

Pada Grafik (Gambar 4.7) dapat dilihat bahwa persentase tumbuh tunas tertinggi yaitu pada pH 5,7-5,8 sebesar 77% dan rata-rata persentase terendah pada pH 2,7-2,8 yaitu 3%. Hasil uji normalitas persentase tumbuh tunas menggunakan Kolmogorov-Smirnov, menunjukkan bahwa data pada semua perlakuan pH tidak terdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, maka data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik ANOVA, sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis (Lampiran 8).

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data persentase tumbuh tunas pada berbagai perlakuan pH, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan yang nyata dan signifikan antar perlakuan pH terhadap persentase tunas. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan Mann-Whitney untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang menunjukkan perbedaan signifikan.

Uji lanjut dilakukan menggunakan uji Mann-Whitney antar pasangan perlakuan (pairwise comparisons) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Penyesuaian nilai signifikansi dilakukan dengan metode Bonferroni correction untuk menghindari kesalahan tipe I akibat perbandingan ganda. Nilai signifikansi yang ditampilkan merupakan nilai yang telah disesuaikan, sehingga hanya nilai Adjusted Sig. < 0,05 yang dianggap berbeda nyata.

Tabel 4.6 Hasil Post Hoc Mann Whitney

Perlakuan	Rata-rata (%)	Kelompok (Asymp.sig)			
		pH 2,7-2,8	pH 3,7-3,8	pH 4,7-4,8	pH 5,7-5,8
pH 2,7-2,8	3%	-	1000 ^a	0,00*	0,00*
pH 3,7-3,8	5%		-	0,00*	0,00*
pH 4,7-4,8	40%			-	0,28 ^{tn}
pH 5,7-5,8	77%				-

Keterangan: tanda (tn) menunjukkan hasil tidak beda nyata antar perlakuan; tanda (*) menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan; angka **bercetak tebal** menunjukkan nilai rata-rata tertinggi.

Berdasarkan Tabel 4.6 hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa pH 4,7-4,8 berbeda nyata dengan pH 2,7-2,8 dan 3,7-3,8 ($p < 0,05$), namun

tidak berbeda nyata dengan kontrol pH 5,7–5,8 ($p > 0,05$). Hal ini menegaskan bahwa pH optimal dalam mendukung keberhasilan pertumbuhan adalah pada kisaran mendekati netral hingga sedikit asam, yaitu antara 4,7 hingga 5,8. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin asam pH yang diberikan, maka semakin rendah kemampuan eksplan untuk tumbuh. Hal ini dikarenakan pH dapat mengubah ketersediaan nutrisi dalam medium (Winkle and Pullman, 2003). pH media tanam yang terlalu asam dapat mengganggu kelarutan, kestabilan hormon, dan aktivitas enzim dalam kultur jaringan sehingga menghambat proses metabolisme dan pembelahan sel pada eksplan (George *et al.*, 2008). Nilai pH yang terlalu asam juga dapat menyebabkan toksisitas terhadap jaringan tanaman dan merusak struktur (Ramage & Williams, 2002).

4) Berat Segar

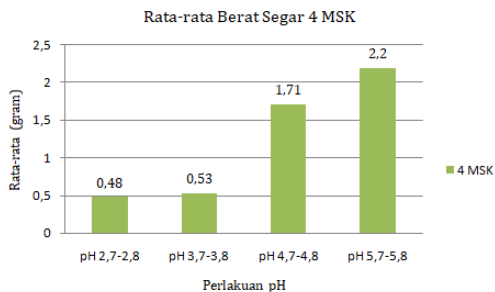
Berat segar merupakan parameter pertumbuhan yang mencerminkan bahwa tunas yang dihasilkan dari proses pembelahan dan perbesaran sel (Abdillah *et al.*, 2024). Data berat segar planlet dapat dilihat pada Lampiran 9. Berdasarkan data yang ada, diperoleh

nilai rata-rata berat segar planlet disajikan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Rata-rata Berat Segar pada berbagai perlakuan pH

Perlakuan	Rata-rata Berat Segar (gram)
pH 2,7-2,8	$0,48 \pm 0,29$
pH 3,7-3,8	$0,53 \pm 0,26$
pH 4,7-4,8	$1,71 \pm 0,77$
pH 5,7-5,8	$2,2 \pm 75,1$

Berdasarkan Tabel 4.7 dapat diketahui bahwa rata-rata berat segar planlet tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan pH 5,7-5,8 yaitu 2,2 gram, diikuti oleh perlakuan pH 4,7-4,8 yaitu 1,71 gram sedangkan untuk perlakuan pH 2,7-2,8 dengan rata-rata total 0,48 gram merupakan perlakuan dengan nilai terendah. Perbedaan rata-rata berat segar pada setiap perlakuan juga ditampilkan dalam Gambar 4.8 berikut.



Gambar 4.8 Grafik rata-rata berat segar planlet

Pada Grafik (Gambar 4.8) dapat dilihat bahwa bahwa perlakuan pH 5,7–5,8 menghasilkan berat segar rata-rata tertinggi yaitu 2,2 gram dan terendah pada pH 2,7–2,8 yaitu 0,48 gram. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi pH media memiliki pengaruh nyata terhadap berat segar planlet. Hasil uji normalitas berat segar planlet menggunakan Kolmogorov-Smirnov, menunjukkan bahwa data pada perlakuan pH 3,7–3,8 dan 5,7–5,8 tidak terdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$), sementara perlakuan pH 2,7–2,8 dan pH 4,7–4,8 berdistribusi normal ($\text{sig} > 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, maka data tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametric ANOVA karena tidak semua data memenuhi asumsi normalitas, sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametric Kruskal-Wallis (Lampiran 10).

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data berat segar tunas pada berbagai perlakuan pH, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata dan signifikan antar perlakuan pH terhadap berat segar planlet. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan Post Hoc Mann-Whitney U

untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang menunjukkan perbedaan signifikan (Tabel 4.8).

Tabel 4.8 Hasil Post Hoc- Mann Whitney

Perlakuan	Rata-rata (gram)	Kelompok (Asymp.sig)			
		pH 2,7-2,8	pH 3,7-3,8	pH 4,7-4,8	pH 5,7-5,8
pH 2,7-2,8	0,48 gram	-	0,41 ^{tn}	0,00*	0,00*
pH 3,7-3,8	0,53 gram		-	0,00*	0,00*
pH 4,7-4,8	1,71 gram			-	0,10 ^{tn}
pH 5,7-5,8	2,2 gram				-

Keterangan: tanda (tn) menunjukkan hasil tidak benda nyata antar perlakuan; tanda (*) menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan; angka **bercetak tebal** menunjukkan nilai rata-rata tertinggi.

Berdasarkan Tabel 4. 8 hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa perlakuan pH 2,7-2,8 berbeda sangat nyata dengan pH 4,7-4,8 dan pH 5,7-5,8 ($p = 0,00$) serta tidak berbeda nyata dengan pH 3,7-3,8 ($p = 0,41$). Hal ini menunjukkan bahwa berat segar meningkat secara signifikan ketika pH media mendekati netral. Peningkatan berat segar yang signifikan pada pH 4,7-4,8 (1,71 gram) dan pH 5,7-5,8 (2,2 gram) menunjukkan bahwa pH media yang relatif netral mendukung pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan kondisi asam ekstrem (Thorpe, 2007). Kisaran pH yang efektif digunakan agar tidak memengaruhi reaksi kimia yang dikatalisis oleh enzim selama pertumbuhan kultur (Lin, 2015). Penggunaan pH mendekati netral dapat menunjang ketersediaan garam dalam media tetap dalam bentuk larut untuk

penyerapan nutrisi dan pengatur pertumbuhan tanaman yang optimal (Lin, 2015). Pembentukan berat segar juga dapat dipengaruhi oleh keseimbangan antara hormon pertumbuhan yang ada dalam media. Menurut George *et al.* (2008), kestabilan hormon seperti sitokinin sangat sensitif terhadap perubahan pH, dan aktivitas hormon ini dapat menurun drastis pada pH ekstrem (George *et al.*, 2008).

5) Berat Kering

Berat kering merupakan parameter penting dalam menilai hasil pertumbuhan karena mencerminkan akumulasi biomassa nyata tanpa kandungan udara dan air yang menggambarkan hasil fotosintesis bersih dan pertumbuhan aktual jaringan (Bhojwani & Dantu, 2013). Pengukuran ini dilakukan setelah proses pengeringan sempurna menggunakan oven dengan suhu 40°C. Data berat kering planlet dapat dilihat pada Lampiran 9.

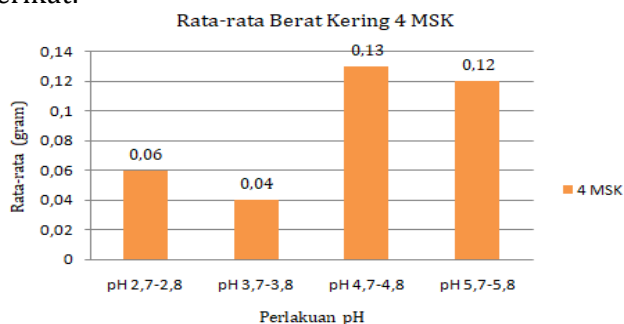
Berdasarkan data yang ada, diperoleh nilai rata-rata berat kering planlet disajikan pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Rata-rata Berat Kering pada berbagai perlakuan pH

Perlakuan	Rata-rata Berat Kering (gram)	Rata-rata Indeks Pertumbuhan Tunas
pH 2,7-2,8	0,06 ± 0,06	0,26
pH 3,7-3,8	0,04 ± 0,02	-0,2
pH 4,7-4,8	0,13 ± 0,05	1,02
pH 5,7-5,8	0,12 ± 0,05	1,05

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat diketahui bahwa rata-rata berat kering planlet tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan pH 4,7-4,8 yaitu 0,13 gram, diikuti oleh perlakuan pH 5,7-5,8 yaitu 0,12 gram sedangkan untuk perlakuan pH 3,7-3,8 dengan rata-rata total 0,04 gram merupakan perlakuan dengan nilai terendah.

Perbedaan rata-rata berat kering pada setiap perlakuan juga ditampilkan dalam Gambar 4.9 berikut.



Gambar 4.9 Grafik rata-rata Berat Kering Planlet

Pada Grafik (Gambar 4.9) dapat dilihat bahwa rata-rata total berat kering tertinggi diperoleh pada perlakuan pH 4,7–4,8 sebesar 0,13 gram, sedangkan terendah pada pH 3,7–3,8 yaitu 0,04 gram. Data ini menunjukkan peningkatan akumulasi biomassa kering seiring naiknya nilai pH menuju kondisi mendekati netral.

Berdasarkan Tabel 4.9 juga dapat diketahui bahwa rata-rata indeks pertumbuhan tertinggi di akhir pengamatan (4 MSK) adalah perlakuan pH 5,7–5,8 yaitu 1,05 menunjukkan bahwa berat kering eksplan meningkat 105% dibandingkan berat inokulum awal, diikuti oleh perlakuan pH 4,7–4,8 yaitu 1,02 (102%) kemudian indeks pertumbuhan untuk perlakuan pH 2,7–2,8 sebesar 0,26 (26%), sedangkan indeks pertumbuhan pada perlakuan pH 3,7–3,8 mengalami penurunan sebesar -0,2.

Hasil uji normalitas berat kering planlet menggunakan Kolmogorov-Smirnov, menunjukkan bahwa data pada perlakuan pH 2,7–2,8 dan 3,7–3,8 tidak terdistribusi normal ($\text{sig} < 0,05$), sementara perlakuan pH 4,7–5,8 dan pH 5,7–5,8 berdistribusi normal ($\text{sig} > 0,05$). Berdasarkan hal tersebut, maka data tersebut tidak memenuhi syarat untuk

dilakukan uji parametric ANOVA karena tidak semua data memenuhi asumsi normalitas, sehingga dilanjutkan dengan uji nonparametric Kruskal-Wallis (Lampiran 11). Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data berat kering planlet pada berbagai perlakuan pH, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata dan signifikan antar perlakuan pH terhadap berat kering planlet. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan Post Hoc Mann-Whitney U untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang menunjukkan perbedaan signifikan (Tabel 4.10).

Tabel 4.10 Hasil Post Hoc- Mann Whitney

Perlakuan	Rata-rata (gram)	Kelompok (Asymp.sig)			
		pH 2,7–2,8	pH 3,7–3,8	pH 4,7–4,8	pH 5,7–5,8
pH 2,7–2,8	0,06 gram	-	0,75 ^{tn}	0,03*	0,00*
pH 3,7–3,8	0,04 gram		-	0,03*	0,00*
pH 4,7–4,8	0,13 gram			-	1000 ^{tn}
pH 5,7–5,8	0,12 gram				-

Keterangan: tanda (tn) menunjukkan hasil tidak benda nyata antar perlakuan; tanda (*) menunjukkan hasil beda nyata antar perlakuan; angka **bercetak tebal** menunjukkan nilai rata-rata tertinggi.

Berdasarkan Tabel 4. 10 hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat Perbedaan berat kering antara pH 3,7–3,8 dengan pH 4,7–4,8 dan pH 5,7–5,8 bersifat signifikan ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa perubahan pH secara nyata

mempengaruhi akumulasi biomassa kering. Selain itu, perlakuan pH 2,7–2,8 juga menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap pH 5,7–5,8 ($p = 0,00$). Hasil ini memperkuat temuan bahwa pH ekstrem asam, menghambat pertumbuhan tanaman secara nyata.

Secara fisiologis, pH media yang optimal akan mendukung kestabilan enzim yang terlibat dalam sintesis protein dan pembentukan dinding sel, serta menjaga kelarutan nutrisi makro dan mikro dalam bentuk yang dapat diserap oleh tanaman (George *et al.*, 2008). Oleh karena itu, pada pH 4,7–4,8 dan pH 5,7–5,8, proses metabolisme berlangsung lebih efisien sehingga mempengaruhi pembentukan jaringan dan berat kering. Sebaliknya, pada pH yang sangat asam, seperti pH 2,7–2,8 dan 3,7–3,8, aktivitas enzim dan efisiensi penyerapan hara menurun, sehingga komponen struktural biosintesis seperti lignin, selulosa, dan penghambatan protein (Sharma *et al.*, 2012). Kondisi ini menyebabkan berkurangnya pembentukan jaringan fungsional, sehingga berat kering planlet menjadi rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian Kharde *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa media dengan pH mendekati

netral (sekitar 4) parameter pertumbuhan dan produksi biomassa secara yang lebih tinggi dibandingkan dengan pH lainnya (Kharde *et al.*, 2021).

Penurunan pH media juga berdampak pada ketersediaan ion hara penting seperti kalsium, magnesium, dan fosfat, yang dapat mengalami presipitasi atau menjadi tidak tersedia secara hayati. Menurut Fageria & Baligar (2008), pH tanah atau media yang terlalu rendah meningkatkan kelarutan logam berat seperti aluminium (Al^{3+}) dan mangan (Mn^{2+}), yang bersifat toksik dapat menghambat pembelahan serta pemanjangan sel (Fageria & Baligar, 2008). Hal ini menyebabkan pertumbuhan tanaman melambat, serta menurunkan akumulasi biomassa seperti berat segar dan berat kering.

Pertumbuhan eksplan yang lebih baik pada pH 4,7–5,8 dapat dikaitkan dengan peningkatan kelarutan dan ketersediaan nutrisi dalam media, serta aktivitas enzim-enzim metabolik yang stabil pada pH mendekati kontrol (Sharma, 2012). Sebaliknya, pH ekstrem (sangat asam) diketahui menimbulkan gangguan terhadap penyerapan unsur hara penting seperti nitrogen dan magnesium, serta

meningkatkan stres oksidatif yang menghambat pembelahan dan pembesaran sel (Marschner, 2012).

B. Rentang pH optimal untuk regenerasi tunas *Gynura procumbens*

Penentuan pH optimal dalam penelitian ini difokuskan pada kisaran pH asam yang bertujuan untuk menguji pengaruh lingkungan asam terhadap keberhasilan regenerasi tunas eksplan batang *Gynura procumbens*. Berdasarkan hasil analisis data dan uji Mann-Whitney, perlakuan pH 4,7–4,8 menunjukkan hasil yang tinggi secara konsisten hampir pada semua parameter regenerasi tunas selama 4MSK, termasuk jumlah tunas (rata-rata 2,87 tunas), panjang tunas (0,72 cm), persentase tumbuh (40%), berat segar (1,71 g), berat kering (0,13 g) dan indeks pertumbuhan (1,02).

Secara fisiologis, kisaran pH 4,7–4,8 berada dalam rentang pH asam lemah yang masih mendukung kinerja enzim, penyerapan nutrisi, dan aktivitas metabolik pada tanaman (Rashid et al., 2018). Pada pH ini, tersedia unsur hara mikro seperti Fe, Mn, Zn, dan Cu berada dalam kondisi optimum, serta aktivitas enzim hidrolitik dan sintetik tidak terganggu, sehingga mendukung regenerasi sel dan pembentukan organ baru (George et al., 2008).

Selain itu, pH asam ringan (mendekati netral) juga mempengaruhi aktivitas pompa proton (H^+ -ATPase) di membran plasma yang menciptakan gradien elektrokimia, sehingga mendukung penyerapan nutrisi dan pergerakan zat terlarut ke dalam sel (Taiz and Zeiger, 2002). Hal ini sesuai dengan penelitian Rashid *et al.* yang menyatakan bahwa perlakuan pH mendekati netral sebagai pH optimal berperan efektif dalam aktivitas enzim dan pengatur tumbuh yang mempengaruhi fungsi sel dari tanaman secara keseluruhan (Rashid *et al.*, 2018).

Meskipun perlakuan pH 5,7–5,8 menghasilkan nilai tertinggi pada beberapa parameter seperti berat segar (2,2 g), indeks pertumbuhan (1,05), dan panjang tunas (3,8 cm), kondisi ini tergolong pH netral dan tidak termasuk dalam rentang fokus penelitian ini. Oleh karena itu, meskipun respon regenerasi tunas pada pH 5,7–5,8 sangat baik, perlakuan ini tidak dapat dinyatakan sebagai pH asam optimal dalam konteks kajian ini. Hasil serupa yang dicapai pada pH 4,7–4,8 menunjukkan bahwa kondisi asam ringan tersebut mampu menyaingi efektivitas pH kontrol dalam mendukung pertumbuhan eksplan, sehingga menjadi pilihan pH optimal dalam penelitian ini.

Sebaliknya, pH terlalu asam seperti 2,7–3,8 menunjukkan hasil rendah hampir di semua parameter. Hal ini dapat disebabkan oleh gangguan keseimbangan ionik dan kerusakan membran sel akibat tingginya konsentrasi ion hidrogen (H^+), yang menyebabkan inaktivasi enzim penting dalam metabolisme sel (Marschner, 2012). Berdasarkan keseluruhan data dan mekanisme fisiologis tersebut, pH 4,7–4,8 dinyatakan sebagai pH asam yang paling optimal dalam mendukung regenerasi tunas eksplan batang *Gynura procumbens* karena mampu menghasilkan respon pertumbuhan dengan fokus penelitian terhadap pengaruh pH asam.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini sebagai berikut

1. Kisaran pH media asam berpengaruh nyata terhadap keberhasilan regenerasi tunas *Gynura procumbens* secara in vitro. Hal ini ditunjukkan oleh perbedaan yang signifikan pada seluruh parameter pengamatan, yaitu jumlah tunas, panjang tunas, persentase tumbuh, berat segar, berat kering, dan indeks pertumbuhan antar perlakuan pH.
2. Perlakuan variasi pH 4,7-4,8 dan pH kontrol 5,7- 5,8 (mendekati kontrol) menjadi titik pH optimal dalam mendukung pertumbuhan dan regenerasi eksplan batang *Gynura procumbens* dibandingkan dengan perlakuan variasi pH 2,7-2,8 dan 3,7-3,8. Kisaran variasi pH 4,7-4,8 dan pH kontrol 5,7- 5,8 (mendekati kontrol) diperoleh nilai tertinggi pada sebagian besar parameter pertumbuhan, termasuk jumlah tunas, panjang tunas, persentase tumbuh tertinggi, dan indeks pertumbuhan.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang penentuan pH optimal untuk regenerasi tunas dari eksplan batang *Gynura procumbens* melalui pendekatan penggunaan rentang pH yang lebih luas.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait analisis kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan melalui planlet *Gynura procumbens*.
3. Tahap aklimatisasi juga disarankan untuk menguji kemampuan adaptasi dan pertumbuhan planlet di lingkungan sehingga regenerasi tanaman dapat berlanjut hingga ke fase pertumbuhan tanaman dewasa secara optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. (2011). *Prinsip dasar teknik kultur jaringan*. Bandung: Penerbit Alfabeta. ISBN 978-602-8800-91-4.
- Abdillah, D. M., Madjid, A., Wardati, I., & Asmono, S. L. (2024). Pengaruh kombinasi ZPT IAA dan BAP terhadap induksi tunas tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) varietas Kasturi 2 secara in vitro. *Jagad Tani: Jurnal Ilmu Pertanian*, 1(2). eISSN 3046-5842.
- Alam, S. M., Naqvi, S. S. M., & Ansari, R. (1999). Impact of soil pH on nutrient uptake by crop plants. In M. Pessarakli (Ed.), *Handbook of plant and crop stress* (pp. 51–60). New York, NY: Marcel Dekker.
- Asra, R., Samarlina, R. A., & Silalahi, M. (2020). *Hormon tumbuhan*. Jakarta: UKI Press.
- Bernula, D., Benkő, P., Kaszler, N., Domonkos, I., Valkai, I., Szóllósi, R., et al. (2020). Timely removal of exogenous cytokinin and the prevention of auxin transport from the shoot to the root affect the regeneration potential of *Arabidopsis* roots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 140, 327–339. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01730-3>
- Bhatia, P., & Ashwath, N. (2005). Effect of medium pH on shoot regeneration from the cotyledonary explants of tomato. *Biotechnology*, 4, 7–10.
- Bligny, R., Gout, E., Kaiser, W. M., Heber, U. W., Walker, D. A., & Douce, R. (1997). pH regulation in acid-stressed leaves of pea plants grown in the presence of nitrate or ammonium salts: Studies involving ³¹P-NMR

spectroscopy and chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1320(2), 142–152.

Brown, D. C. W., Leung, D. W. M., & Thorpe, T. A. (1979). Osmotic requirement for shoot formation in tobacco callus. *Physiologia Plantarum*, 46, 36–41.

Bhojwani, S. S., & Dantu, P. K. (2015). *Plant tissue culture: An introductory text*. Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9>

Borkowska, B. (1996). Wymagania roślin borówki wysokiej pochodzących z in vitro. *Ogrodnictwo*, 2, 17–18.

Boyd, C. E., Tucker, C. S., & Viriyatum, R. (2011). Interpretation of pH, acidity and alkalinity in aquaculture and fisheries. *North American Journal of Aquaculture*, 73, 403–408.
<https://doi.org/10.1080/15222055.2011.620861>

Chen, C. C., Bates, R., & Carlson, J. (2014). Effect of environmental and cultural conditions on medium pH and explant growth performance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) shoot culture. *F1000Research*, 3, Article 298.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.5919.2>

Cao, W., & Tibbitts, T. W. (1994). Responses of potatoes to solution pH levels with different forms of nitrogen. *Journal of Plant Nutrition*, 17(1), 109–126.

De Klerk, G., Hanecakova, J., & Jasik, J. (2008). Effect of medium pH and MES on adventitious root formation from stem disks of apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95, 285–292.

- Desiani, A., Maiyanti, S. I., Cahyawati, D., Bella, P., Jeanni, T., & Apledaria, A. (2020). Rancangan acak lengkap untuk mengetahui pengaruh pemasaran melalui media sosial terhadap penjualan Unique Hijab Bouquet. *Jurnal Infomedia: Teknik Informatika, Multimedia & Jaringan*, 5(2).
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur jaringan tanaman*. Pelawa Sari.
- Fageria, N. K., & Baligar, V. C. (2008). Ameliorating soil acidity of tropical oxisols by liming for sustainable crop production. *Advances in Agronomy*, 99, [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)00407-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)00407-0)
- Faizah, H., Tanjung, M., Purnobasuki, H., & Manuhara, Y. S. W. (2018). Biomass and flavonoid production of *Gynura procumbens* (L.) Merr adventitious root culture in balloon type bubble bioreactor influenced by elicitation. *Asian Journal of Plant Sciences*, 17(2), 107–119. <https://doi.org/10.3923/ajps.2018.107.119>
- Fauzy, A. (2019). *Metode sampling*. Universitas Terbuka.
- Ferrarezi, R. S., Lin, X., Neira, A. C. G., Zambon, F. T., Hu, H., Wang, X., Huang, J.-H., & Fan, G. (2022). Substrate pH influences the nutrient absorption and rhizosphere microbiome of Huanglongbing-affected grapefruit plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 856937. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.856937>
- Fitriasih, S. (2020). *Pengaruh hormon naphthalene acetic acid (NAA) pada eksplan tunas anggrek hitam (Coelogyne pandurata) secara in vitro dan pengembangannya sebagai media pembelajaran Prezi kultur jaringan di*

SMKN 1 Lubuk Dalam [Skripsi, Universitas Islam Riau].
Universitas Islam Riau Repository.

- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed.). Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Hapsani, A. H. (2016). Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Jurnal Agrica Ekstensia*, 10(1).
<https://www.polbangtanmedan.ac.id>
- Hendaryono, D. P. S., & Wijayani, A. (2012). *Teknik kultur jaringan: Pengenalan dan petunjuk perbanyakan tanaman secara vegetatif modern*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hill, K., & Schaller, G. E. (2013). Enhancing plant regeneration in tissue culture: A molecular approach through manipulation of cytokinin sensitivity. *Plant Signaling & Behavior*, 8, e25709.
<https://doi.org/10.4161/psb.25709>
- Huda, K. M. K., Bhuiyan, M. S. R., Zeba, N., Banu, S. A., Mahmud, F., & Khatun, A. (2009). Effect of FeSO₄ and pH on shoot regeneration from the cotyledonary explants of tossa jute. *Plant Omics Journal*, 2(5), 190–196.
- Ikeuchi, M., Ogawa, Y., Iwase, A., & Sugimoto, K. (2016). Plant regeneration: Cellular origins and molecular mechanisms. *Development*, 143, 1442–1451.
<https://doi.org/10.1242/dev.134668>
- Jayaraman, S., Daud, N. H., Halis, R., & Mohamed, R. (2014). Effects of plant growth regulators, carbon sources and pH values on callus induction in *Aquilaria malaccensis*

- leaf explants and characteristics of the resultant calli. *Journal of Forestry Research*, 25(3), 535–540. <https://doi.org/10.1007/s11676-014-0492-8>
- Kaviani, B. (2011). Conservation of plant genetic resources by cryopreservation. *Australian Journal of Crop Science*, 5, 778–800.
- Khan, A., Chauhan, Y. S., & Roberts, L. W. (1986). In vitro studies on xylogenesis in citrus fruit vesicles. II. Effect of pH of the nutrient medium on the induction of cytodifferentiation. *Plant Science*, 46, 213–216. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(86\)90194-9](https://doi.org/10.1016/0168-9452(86)90194-9)
- Khaliq, S., Iqbal, M., Yaseen, W., & Rasheed, R. (2021). The exogenous menadiol diacetate enhances growth and yield by reducing Pb uptake, translocation and its toxicity through tissue nutrients acquisition in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Environmental Technology & Innovation*, 24, 102014. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102014>
- Kharde, A. V., Deshmukh, V. D., & Talekar, B. K. (2021). Effect of different pH levels on indirect organogenesis in *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *The Journal of Oriental Research Madras*, 92(3), 55–62. ISSN: 0022-3301.
- Klerk, G. J. de, Hanecakova, J., & Jasik, J. (2008). Effect of medium-pH and MES on adventitious root formation from stem disks of apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95, 285–292. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9443-3>
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). The biodiversity of flora in Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*, 5(2), 73–81.

- Kusuma, D. Y., Kristanti, A. N., Wibowo, A. T., Chin, T. B., & Manuhara, Y. S. W. (2021). Aeration volume and inoculum density using in bioreactor to optimize biomass production and secondary metabolites in *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. adventitious roots culture. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 12(4), 102–112. <https://doi.org/10.31838/srp.2021.4.16>
- Krishnan, V., Ahmad, S., & Mahmood, M. (2015). Antioxidant potential in different parts and callus of *Gynura procumbens* and different parts of *Gynura bicolor*. *BioMed Research International*, 2015, Article ID 147909. <https://doi.org/10.1155/2015/147909>
- Lambers, H., Chapin, F. S., III, & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology* (2nd ed.). Springer.
- Lestari, E. G. (2018). *Pemanfaatan kultur jaringan untuk perbanyakan, produksi metabolit sekunder dan penyimpanan tanaman obat*. Bogor: IAARD Press, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.
- Lin, K. M. (2015). *Callus and cell culture of Gynura procumbens (Lour.) Merr. (Compositae) using stationary culture system* [Master's thesis, Universiti Sains Malaysia]. Universiti Sains Malaysia Institutional Repository.
- Lolita, A., Hidayat, M., Mahmudah, M., Magfirah, A., Rahmi, G., & Mahmudah, M. (2022). Komposisi famili Asteraceae di kawasan kebun kopi Desa Toeren Antara Kabupaten Aceh Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 10(1), 104–112.

- Long, Y., Yang, Y., Pan, G., & Shen, Y. (2022). New insight into tissue culture plant regeneration mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 926752. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752>
- Manawadu, I., Dahanayake, N., Gamini, S., & Senanayake, N. (2016). Effects of different natural organic additives on in vitro shoot regeneration of *Raphanus sativus* L. var. Beeralu. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4, 219–223.
- Marschner, P. (2012). *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed.). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>
- Mawaddah, S. K., Widyodaru, N., & Lestari, A. (2021). Pemberian naphthalene acetic acid (NAA) dan kinetin terhadap multiplikasi tunas tanaman jahe (*Globba leucantha* var. *bicolor* Holttum) pada kultur in vitro. *Bioma*, 23(1), 43–50.
- Megawati, Sulaeman, S. M., & Pitopang, R. (2017). Keanekaragaman suku Asteraceae di sekitar Danau Kalimpa'a kawasan Taman Nasional Lore Lindu [Diversity of Asteraceae family at Kalimpa'a Lake in Lore Lindu National Park]. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 6(3), 239–253.
- Moog, P. R., & Bruggemann, W. (1994). Iron reductase systems on the plant plasma membrane: A review. *Plant and Soil*, 165, 241–260. <https://doi.org/10.1007/BF00010052>
- Mou, K. M., & Dash, P. R. (2016). A comprehensive review on *Gynura procumbens*. *International Journal of*

Pharmacognosy, 3(4), 167–174.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00052>

- Ningsih, W., Kamaludin, M., & Alfian, R. (2021). Hubungan media pembelajaran dengan peningkatan motivasi belajar siswa pada mata pelajaran PAI di SMP Iptek Sengkol Tangerang Selatan. *Jurnal Tarbawi*, 6(1), 1–10.
- Ochat, S. J., & Power, J. B. (1992). Plant regeneration from cultured protoplast of higher plant. In *Plant biotechnology: Comprehensive biotechnology* (Suppl. 2). Pergamon Press.
- Ostrolucká, M. G., Gajdošová, A., Ondrušková, E., Latečeková, M., & Libiaková, G. (2010). Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52(2), 92–96.
<https://doi.org/10.2478/V10182-010-0029-1>
- Perry, L. M. (Ed.). (1980). *Medicinal plants of East and Southeast Asia: Attributed properties and uses*. The MIT Press.
- Plaxton, W. C. (1996). The organization and regulation of plant glycolysis. *Plant Molecular Biology*, 47, 185–214.
<https://doi.org/10.1007/BF00020418>
- Poonnachit, U., & Darnell, R. (2004). Effect of ammonium and nitrate on ferric chelate reductase and nitrate reductase in *Vaccinium* species. *Annals of Botany*, 93, 399–405. <https://doi.org/10.1093/aob/mch051>
- Prasetyorini. (2019). *Kultur jaringan*. Bogor: LPPM Universitas Pakuan.

- Putri, D. R., Azis, A. D., & Rizqi, M. N. (2023). Analisis rasio keuangan dan financial distress sebelum dan sesudah COVID-19 subsektor food and beverage. *Jurnal Maneksi*, 12(3), xx-xx.
- Quyen, L. T. M., Quynh, N. T. D., Phu, D. H., Nhi, N. T. Y., & Quan, T. L. (2019). Chemical constituents and the inhibition of α -glucosidase of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *Science and Technology Development Journal*, 22(4), 391–399. <https://doi.org/10.32508/stdj.v22i4.1725>
- Rahman, A., & Asad, M. (2013). Chemical and biological investigations of the leaves of *Gynura procumbens*. *International Journal of Biosciences*, 3(4), 36–43. <https://doi.org/10.12692/ijb/3.4.36-43>
- Ramage, C. M., & Williams, R. R. (2002). Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 38, 116–124. <https://doi.org/10.1079/IVP2001277>
- Rashid, R., Bhat, J. A., Bhat, M. I., & Bhat, B. A. (2018). Effect of pH on callus induction and shoot regeneration from cotyledon and leaf and hypocotyl explants of tomato. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 6(2), 806–809. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.5984>
- RISTOJA (Riset Tumbuhan Obat dan Jamu). (2012). *Laporan nasional eksplorasi pengetahuan lokal etnomedisin dan tumbuhan obat berbasis komunitas*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Rohin, M. A. K., Jumli, M. N., Ridzwan, N., Baig, A. A., Latif, A. Z. A., & Hadi, N. A. (2018). Effect of *Gynura procumbens*

- extracts on anti-proliferative activity and its associated morphological changes of human glioblastoma multiforme cell line (U-87). *Pharmacognosy Journal*, 10(3), 492–496. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.3.81>
- Rosdiana, R. (2023). Pengaruh elisitor kitosan dan natrium klorida (NaCl) terhadap pertumbuhan dan kadar senyawa fenolik total tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) melalui stek batang [Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel]. UIN Sunan Ampel Repository.
- Rosyadi, M. M. (2020). *Hak-hak alam semesta dalam QS. Al-A'raf [7]: 56-58 (Analisis terhadap tafsir Al-Misbah)* [Undergraduate thesis, Institut Agama Islam Nahdlatul Ulama]. IAINU Repository.
- Saadah, I. N., Kristanti, A. N., Hardjo, P. H. H., & Manuhara, Y. S. W. (2019). Shoots culture of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. in balloon-type bubble-bioreactor influenced by sucrose concentration and inoculums density. *Asian Journal of Plant Sciences*, 18(2), 85–90.
- Sahir, S. H. (2021). *Metodologi penelitian*. Jogjakarta: Penerbit KBM Indonesia.
- Sakano, K. (1990). Proton/phosphate stoichiometry in uptake of inorganic phosphate by cultured cells of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology*, 93, 479–483.
- Sakinah, D. G., Putra, E. T. S., & Rogomulyo, R. (2018). Produksi dan kadar flavonoid daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) pada tiga fase agroforestri. *Vegetalika*, 7(3), 1–15.

- Saputro, J., Setiari, N., Nurchayati, Y., & Izzati, M. (2020). Respon eksplan batang kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap perlakuan konsentrasi thidiazuron (TDZ) pada media MS secara in vitro. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 5(2).
- Sarma, K. S., Maesatof, K., Hara, T., & Sonoda, Y. (1990). Effect of method of agar addition on post-autoclave pH of the tissue culture media. *Annals of Botany*, 65, 37–40.
- Septaningsih, D. A., Putra, C. A., Suparto, I. H. R., & Rafi, M. (2022). Phytochemical profiling of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. leaves and stem extracts using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(6), 1553–1565.
<https://doi.org/10.22146/ijc.74236>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*.
<https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Shi, X., Yang, L., Yan, G., & Du, G. (2017). Medium pH between 5.5 and 7.5 has minimal effects on tissue culture of apple. *HortScience*, 52(3), 475–478.
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI11443-16>
- Sinaga, M. S., Siagian, P. D., & Ariska, R. (2017). Pemanfaatan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) sebagai antioksidan pada minyak kelapa menggunakan pelarut metanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(2).

- Simonović, A. D., Trifunović-Momčilov, M., Filipović, B. K., Marković, M. P., Bogdanović, M. D., & Subotić, A. R. (2021). Somatic embryogenesis in *Centaurium erythraea* Rafn—Current status and perspectives: A review. *Plants*, 10, 70.
<https://doi.org/10.3390/plants10010070>
- Sukadeetad, K., Nakbanpote, W., Heinrich, M., & Nuengchamning, N. (2018). Effect of drying methods and solvent extraction on the phenolic compounds of *Gynura pseudochina* (L.) DC. leaf extracts and their anti-psoriatic property. *Industrial Crops and Products*, 120, 34–46.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.020>
- Sulistiani, E., & Yani, S. A. (2012). *Produksi bibit tanaman dengan menggunakan teknik kultur jaringan*. Bogor: SEAMEO BIOTROP.
- Suryandari, R. Y., Kasikoen, K. M., Martini, E., & Kumianto, A. (2020). Pandemi COVID-19 dan kearifan lokal penyuluhan budidaya tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) di Dusun Jomblang, Tegaltirto, Berbah, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(2), 167–177.
- Syahid, S. F., & Seti, L. (2021). Regenerasi kalus sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) in vitro. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 10(1), 15–22.
<https://doi.org/10.25077/jbioua.10.1.15-22>
- Stanienė, G., & Stanytė, R. (2007). Adaptation of American cranberry to substrate pH in vitro and ex vitro. *Žemės Ūkio Mokslai*, 14(2), 40–44.

- Tan, H. L., Chan, K. G., Pusparajah, P., Lee, L.H., & Goh, B.H. (2016). *Gynura procumbens*: An overview of the biological activities. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 1–14.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791373/>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant physiology* (3rd ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Tilaar, W., Rantung, J., & Tulung, S. (2015). Induksi tunas dari nodul krisan Kulo dalam media Murashige dan Skoog yang diberi sitokinin [Shoot induction from nodal segments of the Kulo chrysanthemum variety in cytokinin-enhanced Murashige and Skoog growth media]. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Thorpe, T., Stasolla, C., Yeung, E. C., de Klerk, G. J. M., Roberts, A., & George, E. F. (2007). The components of plant tissue culture media II: Organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. In E. F. George, M. A. Hall, & G. J. M. de Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture* (Vol. 1, pp. 115–173). Springer.
- Tsafouros, A., & Roussos, P. A. (2024). In vitro propagation of commercially used Krymsk 5® (*Prunus fruticosa* × *Prunus lannesiana*) cherry rootstock: Impact of sugar types and pH levels. *Agriculture*, 14(1), 120.
<https://doi.org/10.3390/agriculture14010120>
- Usmadi. (2020). Pengujian persyaratan analisis (uji homogenitas dan uji normalitas). *Inovasi Pendidikan*, 7(1).
- Visviki, I., & Santikul, D. (2000). The pH tolerance of *Chlamydomonas applanata* (Volvocales, Chlorophyta).

Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 38, 147–151.
<https://doi.org/10.1007/s002449910032>

Vuksanović, V., Kovačević, B., Orlović, S., Kebert, M., & Katanić, M. (2016). Uticaj pH vrednosti podloge za ožiljavanje na rast i razvoj izbojaka belih topola u kulturi in vitro [Effect of substrate pH values on rooting and shoot development of white poplars in in vitro culture]. *Topola*, (197/198), 51–63.

Van Winkle, S. C., & Pullman, G. S. (2003). The combined impact of pH and activated carbon on the elemental composition of a liquid conifer embryogenic tissue initiation medium. *Plant Cell Reports*, 22, 303–311.
<https://doi.org/10.1007/s00299-003-0686-6>

Ye, X., She, M., Wang, K., & Xu, H. (2012). Identification, cloning, and potential application of genes related to somatic embryogenesis in plant tissue culture. *Acta Agronomica Sinica*, 38, 191–201.
<https://doi.org/10.3724/SP.J.1006.2012.00191>

Yusoff, M. M., Misran, A., Ahmed, O. A., Majid, W. H. D. W., Wahab, P. E. M. W., & Ahmad, N. F. (2019). *Gynura procumbens*: Agronomic practices and future prospect in Malaysia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(2), 421–434.

Yoshihara, T., & Hanyu, H. (1992). pH changes in culture medium with progress of growing stages, callus, multiple shoot, and intact plant of strawberry. *Acta Horticulturae*, (309), 237–244.

Zulfiqara, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M., & Anjum, M. Z. (2019). Lead

toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of Environmental Management*, 250, Article 109557.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109557>

Zu, C., Li, Z., Yang, J., Yu, H., Sun, Y., Tang, H., Yost, R., & Wu, H. (2014). Acid soil is associated with reduced yield, root growth and nutrient uptake in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Agricultural Sciences*, 5, 466–473.
<https://doi.org/10.4236/as.2014.55049>

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=37493#null (diakses pada tanggal 2 Oktober 2024)

[https://identify.plantnet.org/k-world-flora/species/Gynura%20procumbens%20\(Lour.\)%20Merr./data](https://identify.plantnet.org/k-world-flora/species/Gynura%20procumbens%20(Lour.)%20Merr./data) (diakses pada tanggal 2 Oktober 2024)

<https://www.stuartxchange.org/Sabungai> (diakses pada tanggal 24 Juni 2025)

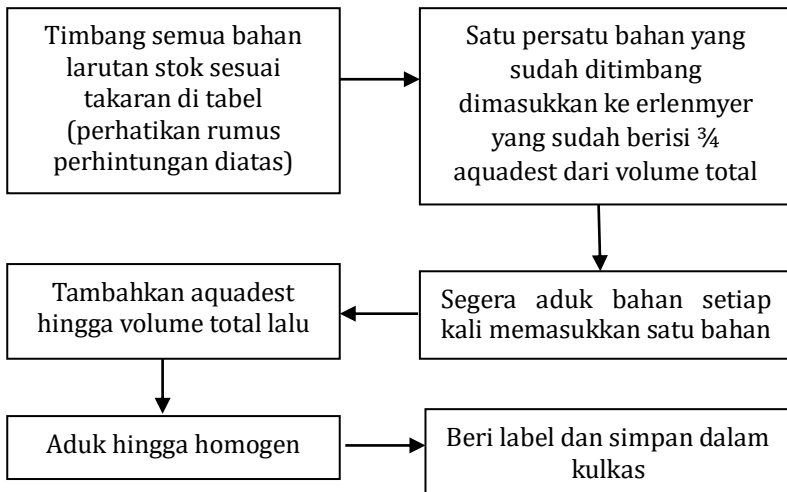
LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Larutan Stok

Rumus Perhitungan Konsentrasi ppm

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg/L}$$

$$\text{Gram} = \frac{\text{konsentrasi dlm media MS} \times \text{volume yg akan dibuat}}{1000 \text{ mL} \quad \text{Pengambilan (mL)}}$$



a. Takaran larutan stok makronutrien

Makronutrien	Konsentrasi (mg/ L)
NH_4NO_3	33.000 mg
KNO_3	38.000 mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.800 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	7.400 mg
KH_2PO_4	3.400 mg

Note: pembuatan stok sebanyak 1L

b. Takaran larutan stok mikronutrien

Mikronutrien	Konsentrasi (mg/ L)
MnSO ₄ . 4H ₂ O	2.230 mg
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	860 mg
H ₃ BO ₃	620 mg
KI	83 mg
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	25 mg
CuSO ₄ . 5H ₂ O	2,5 mg
CoCl ₂ . 6H ₂ O	2,5 mg

Note: pembuatan stok sebanyak 100 mL

c. Takaran larutan stok vitamin

Vitamin	Konsentrasi (mg/ L)
Glycine	100 mg
Nicotinic acid	25 mg
Pyridoxine	25 mg
Thiamine	5 mg

Note: pembuatan stok sebanyak 200 mL

d. Takaran larutan stok Fe

Fe (zat besi)	Konsentrasi (mg/ L)
Na ₂ Edta	1, 492 mg
Fe ₂ SO ₄	1, 112 mg

Note: pembuatan stok sebanyak 200 mL

- e. Takaran larutan stok ZPT (Zat Pengatur Tumbuh)

ZPT	Konsentrasi (mg/ L)
BAP	100 mg
IAA	100 mg

Note: pembuatan stok sebanyak 100 mL

Lampiran 2. Rumus Pengenceran HCl dan NaOH

Rumus pengenceran

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

V_1 = volume larutan sebelum pengenceran
 M_1 = konsentrasi larutan sebelum pengenceran
 V_2 = volume larutan setelah pengenceran
 M_2 = konsentrasi larutan setelah pengenceran

Rumus Normalitas

$$N = \frac{\text{gram} \times \text{val}}{\text{Mr} \times \text{volume}}$$

Lampiran 3. Pengamatan jumlah tunas pada beberapa perlakuan dilakukan pada 1 MSK hingga 4 MSK

Masa Setelah Kultur	Perlakuan	Pengulangan															Total	Rata-rata
		P1			P2			P3			P4			P5				
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
1 MSK	pH 2,7- 2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	pH 3,7- 3,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	pH 4,7- 4,8	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	4	0,266667
	pH 5,7- 5,8	1	1	1	1	3	4	1	2	0	1	1	1	1	1	0	19	1,266667
2 MSK	pH 2,7- 2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	pH 3,7- 3,8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,066667
	pH 4,7- 4,8	0	1	4	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	3	3	14	0,933333
	pH 5,7- 5,8	0	0	0	5	5	5	2	3	0	4	0	0	2	2	2	2	2
3 MSK	pH 2,7- 2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	pH 3,7- 3,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	pH 4,7- 4,8	0	1	5	0	0	8	0	0	0	0	2	0	0	2	2	20	1,333333
	pH 5,7- 5,8	0	0	0	11	10	5	7	5	2	7	0	0	2	2	2	53	3,533333
4 MSK	pH 2,7- 2,8	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0,133333
	pH 3,7- 3,8	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,133333
	pH 4,7- 4,8	0	12	13	0	0	10	0	0	0	1	1	0	2	3	1	43	2,866667
	pH 5,7- 5,8	6	2	11	11	12	9	13	12	8	18	0	8	3	3	3	119	7,933333

Lampiran 4. Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Jumlah Tunas (4MSK)

➤ 1 MSK

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.	15	.	.	15	.
	pH 3,7- 3,8	.	15	.	.	15	.
	pH 4,7- 4,8	.379	15	.000	.616	15	.000
	pH 5,7- 5,8	.402	15	.000	.730	15	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

MST4	
Kruskal-Wallis H	34.658
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 4,7- 4,8	15	11.43	171.50
	pH 5,7- 5,8	15	19.57	293.50
Total		30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	51.500
Wilcoxon W	171.500
Z	-2.769
Asymp. Sig. (2-tailed)	.006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.010 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	15.50
	pH 3,7- 3,8	15	15.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	112.500
Wilcoxon W	232.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	9.00
	pH 5,7- 5,8	15	22.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	15.000
Wilcoxon W	135.000
Z	-4.574
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	9.00
	pH 5,7- 5,8	15	22.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	15.000
Wilcoxon W	135.000
Z	-4.574
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	13.00
	pH 4,7- 4,8	15	18.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	75.000
Wilcoxon W	195.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.126 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	13.00
	pH 4,7- 4,8	15	18.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	75.000
Wilcoxon W	195.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.126 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
b. Not corrected for ties.

➤ **2 MSK**

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.	15	.	.	15	.
	pH 3,7- 3,8	.535	15	.000	.284	15	.000
	pH 4,7- 4,8	.349	15	.000	.718	15	.000
	pH 5,7- 5,8	.241	15	.019	.828	15	.009

a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

	MST4
Kruskal-Wallis H	19.367
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	15.00	225.00
	pH 3,7- 3,8	15	16.00	240.00
	Total	30		

Test Statistics^a

	MST4
Mann-Whitney U	105.000
Wilcoxon W	225.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.775 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 2,7- 2,8	15	12.50
	pH 4,7- 4,8	15	18.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	67.500
Wilcoxon W	187.500
Z	-2.672
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.061 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 2,7- 2,8	15	11.00
	pH 5,7- 5,8	15	20.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	45.000
Wilcoxon W	165.000
Z	-3.461
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 3,7- 3,8	15	12.87
	pH 4,7- 4,8	15	18.13
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	73.000
Wilcoxon W	193.000
Z	-2.212
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.106 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 3,7- 3,8	15	11.20
	pH 5,7- 5,8	15	19.80
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	48.000
Wilcoxon W	168.000
Z	-3.195
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.007 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 4,7- 4,8	15	13.30
	pH 5,7- 5,8	15	17.70
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	79.500
Wilcoxon W	199.500
Z	-1.469
Asymp. Sig. (2-tailed)	.142
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.174 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

➤ 3 MSK

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.	15	.	.	15	.
	pH 3,7- 3,8	.	15	.	.	15	.
	pH 4,7- 4,8	.317	15	.000	.652	15	.000
	pH 5,7- 5,8	.258	15	.008	.851	15	.018

a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

MST4	
Kruskal-Wallis H	24.492
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	15.50	232.50
	pH 3,7- 3,8	15	15.50	232.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	112.500
Wilcoxon W	232.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	187.50
	pH 4,7- 4,8	15	277.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	67.500
Wilcoxon W	187.500
Z	-2.673
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.061 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	187.50
	pH 4,7- 4,8	15	277.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	67.500
Wilcoxon W	187.500
Z	-2.673
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.061 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 4,7- 4,8	15	191.50
	pH 5,7- 5,8	15	273.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	71.500
Wilcoxon W	191.500
Z	-1.808
Asymp. Sig. (2-tailed)	.071
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.089 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	157.50
	pH 5,7- 5,8	15	307.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	37.500
Wilcoxon W	157.500
Z	-3.714
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	157.50
	pH 5,7- 5,8	15	307.50
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	37.500
Wilcoxon W	157.500
Z	-3.714
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

➤ **4 MSK**

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.514	15	.000	.413	15	.000
	pH 3,7- 3,8	.514	15	.000	.413	15	.000
	pH 4,7- 4,8	.322	15	.000	.652	15	.000
	pH 5,7- 5,8	.170	15	.200 [*]	.955	15	.604

^{*}. This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

	MST4
Kruskal-Wallis H	33.186
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

		Ranks		
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	15.50	232.50
	pH 3,7- 3,8	15	15.50	232.50
Total		30		

Test Statistics^a

	MST4
Mann-Whitney U	112.500
Wilcoxon W	232.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 2,7- 2,8	15	12.17
	pH 4,7- 4,8	15	18.83
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	62.500
Wilcoxon W	182.500
Z	-2.479
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.037 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 3,7- 3,8	15	8.57
	pH 5,7- 5,8	15	22.43
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	128.500
Z	-4.555
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 3,7- 3,8	15	12.17
	pH 4,7- 4,8	15	18.83
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	62.500
Wilcoxon W	182.500
Z	-2.479
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.037 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 2,7- 2,8	15	8.57
	pH 5,7- 5,8	15	22.43
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	128.500
Z	-4.555
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 4,7- 4,8	15	11.07
	pH 5,7- 5,8	15	19.93
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	46.000
Wilcoxon W	166.000
Z	-2.791
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.005 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 5. Hasil Pengamatan panjang tunas pada beberapa perlakuan dilakukan pada 4 MSK

PANJANG TUNAS PADA 4 MSK (cm)							
Perlakuan pH	Eksplan	Pengulangan					Rata-rata 5 Pengulangan
		P1	P2	P3	P4	P5	
pH 2,7- 2,8	E1	0	0	0,2	0	0	0,02
	E2	0	0	0,1	0	0	
	E3	0	0	0	0	0	
	Rata-rata	0	0	0,1	0	0	
pH 3,7- 3,8	E1	0	0,4	0	0	0	0,046666667
	E2	0	0,3	0	0	0	
	E3	0	0	0	0	0	
	Rata-rata	0	0,233333	0	0	0	
pH 4,7- 4,8	E1	0	0	0	0,1	2,6	0,72
	E2	1,2	0	0	0,1	1,9	
	E3	2	2,2	0	0	0,7	
	Rata-rata	1,066667	0,733333	0	0,066667	1,733333	
pH 5,7- 5,8	E1	4	3,1	2,1	2,2	3,3	1,986666667
	E2	1,8	4	1,6	0	0	
	E3	2	2,8	1,4	1,5	0	
	Rata-rata	2,6	3,3	1,7	1,233333	1,1	

Ket: kalus
 browning

Lampiran 6. Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Panjang Tunas (4MSK)

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.506	15	.000	.421	15	.000
	pH 3,7- 3,8	.513	15	.000	.429	15	.000
	pH 4,7- 4,8	.337	15	.000	.742	15	.001
	pH 5,7- 5,8	.134	15	.200 [*]	.931	15	.285
*. This is a lower bound of the true significance.							
a. Lilliefors Significance Correction							

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

	MST4
Kruskal-Wallis H	25.660
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
MST4	pH 2,7- 2,8	15	15.37
	pH 3,7- 3,8	15	15.63
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	110.500
Wilcoxon W	230.500
Z	-.140
Asymp. Sig. (2-tailed)	.888
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	.935 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	12.17	182.50
	pH 4,7- 4,8	15	18.83	282.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	62.500
Wilcoxon W	182.500
Z	-2.473
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.037 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	12.23	183.50
	pH 4,7- 4,8	15	18.77	281.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	63.500
Wilcoxon W	183.500
Z	-2.422
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.041 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 4,7- 4,8	15	11.77	176.50
	pH 5,7- 5,8	15	19.23	288.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	56.500
Wilcoxon W	176.500
Z	-2.368
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.019 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	9.70	145.50
	pH 5,7- 5,8	15	21.30	319.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	25.500
Wilcoxon W	145.500
Z	-3.918
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	9.70	145.50
	pH 5,7- 5,8	15	21.30	319.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	25.500
Wilcoxon W	145.500
Z	-3.918
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 7. Hasil Persentase Tumbuh Tunas

persentase = jumlah tanaman bertunas/ jumlah total tanaman x 100%

PERSENTASE TUMBUH TUNAS PADA 4 MSK (%)							
Perlakuan pH	MSK	Pengulangan					
		P1	P2	P3	P4	P5	Rata-rata
pH 2,7- 2,8	1	0%	0%	0%	0%	0%	
	2	0%	0%	0%	0%	0%	
	3	0%	0%	0%	0%	0%	
	4	0%	0%	66,67%	0%	0%	
	Rata-rata	0%	0%	17%	0%	0%	3%
pH 3,7- 3,8	1	0%	0%	0%	0%	0%	
	2	33%	0%	0%	0%	0%	
	3	0%	0%	0%	0%	0%	
	4	0%	66,67%	0%	0%	0%	
	Rata-rata	8%	17%	0%	0%	0%	5%
pH 4,7- 4,8	1	33,30%	33,30%	0%	33,30%	33,30%	
	2	66,70%	33,30%	0%	33,30%	66,70%	
	3	66,70%	33,30%	0%	33,30%	66,70%	
	4	66,70%	33,30%	0%	66,70%	100%	
	Rata-rata	58,35%	33,30%	0%	41,65%	66,68%	40,00%
pH 5,7- 5,8	1	100%	100%	66,70%	100%	66,70%	
	2	0%	100%	66,70%	33,30%	100%	
	3	0%	100%	100%	33,30%	100%	
	4	100%	100%	100%	66,70%	100%	
	Rata-rata	50%	100%	83,35%	58%	91,68%	77%

Lampiran 8. Hasil Analisis Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Persentase Tumbuh (4MSK)

Tests of Normality ^a							
	pH perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persentase Tunas	2,7-2,8	.538	20	.000	.236	20	.000
	3,7-3,8	.520	20	.000	.353	20	.000
	4,7-4,8	.245	20	.003	.873	20	.013
	5,7-5,8	.351	20	.000	.710	20	.000
a. There are no valid cases for Persentase Tunas when pH perlakuan = .000. Statistics cannot be computed for this level.							
b. Lilliefors Significance Correction							

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test

Persentase Tunas across pH perlakuan

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test Summary

Total N	80
Test Statistic	51.498 ^a
Degree Of Freedom	3
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.000

a. The test statistic is adjusted for ties.

Pairwise Comparisons of pH perlakuan					
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
2,7-2,8-3,7-3,8	-1.100	6.719	-.164	.870	1.000
2,7-2,8-4,7-4,8	-25.625	6.719	-3.814	.000	.001
2,7-2,8-5,7-5,8	-40.375	6.719	-6.009	.000	.000
3,7-3,8-4,7-4,8	-24.525	6.719	-3.650	.000	.003
3,7-3,8-5,7-5,8	-39.275	6.719	-5.845	.000	.000
4,7-4,8-5,7-5,8	-14.750	6.719	-2.195	.028	.281
Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.					
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.					
a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.					

Lampiran 9. Data Penimbangan Berat Segar Planlet dan Berat Kering Planlet

BERAT SEGAR PADA 4 MSK (g)							
Perlakuan pH	Eksplan	Pengulangan					
		P1	P2	P3	P4	P5	Rata-rata
pH 2,7- 2,8	E1	0,89	1,08	0,12	0,45	0,25	
	E2	0,8	0,77	0,18	0,22	0,49	
	E3	0,3	0,51	0,21	0,64	0,32	
	Rata-rata	0,663333	0,786667	0,17	0,436667	0,353333	0,482
pH 3,7- 3,8	E1	1,23	0,58	0,37	0,92	0,31	
	E2	0,65	0,64	0,52	0,32	0,26	
	E3	0,65	0,49	0,41	0,37	0,24	
	Rata-rata	0,843333	0,57	0,433333	0,536667	0,27	0,5306667
pH 4,7- 4,8	E1	1,14	1,98	1,37	0,56	1,65	
	E2	1,75	2,04	1,91	0,43	1,45	
	E3	2,65	2,21	3,59	1,61	1,36	
	Rata-rata	1,846667	2,076667	2,29	0,866667	1,486667	1,7133333
pH 5,7- 5,8	E1	2,3	1,43	2,94	1,81	1,12	
	E2	3,06	1,71	3,45	3,42	0,75	
	E3	2,44	2,91	2,75	2,4	0,57	
	Rata-rata	2,6	2,016667	3,046667	2,543333	0,813333	2,204

BERAT KERING PADA 4 MSK (g)							
Perlakuan pH	Eksplan	Pengulangan					
		P1	P2	P3	P4	P5	Rata-rata
pH 2,7- 2,8	E1	0,18	0,2	0,01	0,04	0,04	
	E2	0,12	0,18	0,01	0,06	0,03	
	E3	0,03	0,06	0,02	0,02	0,04	
	Rata-rata	0,11	0,146667	0,013333	0,04	0,036667	0,0693333
pH 3,7- 3,8	E1	0,09	0,04	0,03	0,08	0,03	
	E2	0,03	0,06	0,03	0,03	0,02	
	E3	0,07	0,05	0,04	0,03	0,03	
	Rata-rata	0,063333	0,05	0,033333	0,046667	0,026667	0,044
pH 4,7- 4,8	E1	0,06	0,11	0,08	0,03	0,19	
	E2	0,1	0,12	0,09	0,03	0,09	
	E3	0,15	0,14	0,21	0,11	0,16	
	Rata-rata	0,103333	0,123333	0,126667	0,056667	0,146667	0,1113333
pH 5,7- 5,8	E1	0,13	0,15	0,09	0,09	0,09	
	E2	0,19	0,21	0,09	0,07	0,05	
	E3	0,17	0,14	0,16	0,03	0,03	
	Rata-rata	0,163333	0,166667	0,113333	0,063333	0,056667	0,1126667

Lampiran 10. Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Berat Segar Planlet (4MSK)

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.176	15	.200 [*]	.923	15	.216
	pH 3,7- 3,8	.194	15	.132	.872	15	.036
	pH 4,7- 4,8	.137	15	.200 [*]	.951	15	.539
	pH 5,7- 5,8	.529	15	.000	.295	15	.000
*. This is a lower bound of the true significance.							
a. Lilliefors Significance Correction							

Mann-Whitney Test

Test Statistics^{a,b}

MST4	
Kruskal-Wallis H	36.739
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	14.17	212.50
	pH 3,7- 3,8	15	16.83	252.50
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	92.500
Wilcoxon W	212.500
Z	-.830
Asymp. Sig. (2-tailed)	.407
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.412 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	8.87
	pH 4,7- 4,8	15	22.13
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	13.000
Wilcoxon W	133.000
Z	-4.127
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	9.00
	pH 4,7- 4,8	15	22.00
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	15.000
Wilcoxon W	135.000
Z	-4.045
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 4,7- 4,8	15	12.87
	pH 5,7- 5,8	15	18.13
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	73.000
Wilcoxon W	193.000
Z	-1.638
Asymp. Sig. (2-tailed)	.101
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.106 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	8.60
	pH 5,7- 5,8	15	22.40
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	129.000
Z	-4.293
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Sum of Ranks
MST4	pH 3,7- 3,8	15	8.60
	pH 5,7- 5,8	15	22.40
	Total	30	

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	129.000
Z	-4.294
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 11. Uji Normalitas- Kruskal Wallis- Post Hoc Mann Whitney Berat Kering Planlet (4MSK)

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MST4	pH 2,7- 2,8	.289	15	.001	.778	15	.002
	pH 3,7- 3,8	.278	15	.003	.820	15	.007
	pH 4,7- 4,8	.110	15	.200 [*]	.971	15	.874
	pH 5,7- 5,8	.189	15	.156	.952	15	.552

*. This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

Test Statistics^{a,b}

MST4	
Kruskal-Wallis H	16.719
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4	pH 2,7- 2,8	15	16.00	240.00
	pH 3,7- 3,8	15	15.00	225.00
	Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	105.000
Wilcoxon W	225.000
Z	-.316
Asymp. Sig. (2-tailed)	.752
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.775 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4 pH 2,7- 2,8	15	12.17	182.50
pH 4,7- 4,8	15	18.83	282.50
Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	62.500
Wilcoxon W	182.500
Z	-2.079
Asymp. Sig. (2-tailed)	.038
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.037 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4 pH 2,7- 2,8	15	12.13	182.00
pH 5,7- 5,8	15	18.87	283.00
Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	62.000
Wilcoxon W	182.000
Z	-2.101
Asymp. Sig. (2-tailed)	.036
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.037 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4 pH 3,7- 3,8	15	9.80	147.00
pH 4,7- 4,8	15	21.20	318.00
Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	27.000
Wilcoxon W	147.000
Z	-3.598
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4 pH 3,7- 3,8	15	10.00	150.00
pH 5,7- 5,8	15	21.00	315.00
Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	30.000
Wilcoxon W	150.000
Z	-3.478
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
MST4 pH 4,7- 4,8	15	15.50	232.50
pH 5,7- 5,8	15	15.50	232.50
Total	30		

Test Statistics^a

MST4	
Mann-Whitney U	112.500
Wilcoxon W	232.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

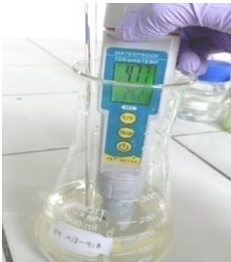
b. Not corrected for ties.

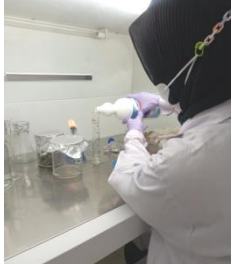
Lampiran 12. Data Indeks Pertumbuhan Tunas

Perlakuan pH	Pengulangan	Eksplan	Berat awal	Berat akhir	Indeks pertumbuhan
pH 2,7-2,8	P1	E1	0,15	0,18	0,2
		E2	0,03	0,12	3
		E3	0,05	0,03	-0,4
	P2	E1	0,5	0,2	-0,6
		E2	0,03	0,18	5
		E3	0,02	0,06	2
	P3	E1	0,02	0,01	-0,5
		E2	0,03	0,01	-0,67
		E3	0,02	0,02	0
	P4	E1	0,02	0,04	1
		E2	0,03	0,06	1
		E3	0,01	0,02	1
	P5	E1	0,01	0,04	3
		E2	0,02	0,03	0,5
		E3	0,02	0,04	1
pH 3,7-3,8	P1	E1	0,15	0,09	-0,4
		E2	0,03	0,03	0
		E3	0,05	0,07	0,4
	P2	E1	0,5	0,04	-0,92
		E2	0,03	0,06	1
		E3	0,02	0,05	1,5
	P3	E1	0,02	0,03	0,5
		E2	0,03	0,03	0
		E3	0,02	0,04	1
	P4	E1	0,02	0,03	0,5
		E2	0,03	0,03	0
		E3	0,01	0,03	2
	P5	E1	0,01	0,03	2
		E2	0,02	0,02	0
		E3	0,02	0,03	0,5
pH 4,7-4,8	P1	E1	0,15	0,06	-0,6
		E2	0,03	0,1	2,3
		E3	0,05	0,15	2
	P2	E1	0,5	0,11	-0,78
		E2	0,03	0,12	3
		E3	0,02	0,14	6
	P3	E1	0,02	0,08	3
		E2	0,03	0,09	2
		E3	0,02	0,21	9,5
	P4	E1	0,02	0,03	0,5
		E2	0,03	0,03	0
		E3	0,01	0,11	10
	P5	E1	0,01	0,19	18
		E2	0,02	0,09	3,5
		E3	0,02	0,16	7
pH 5,7-5,8	P1	E1	0,15	0,13	-0,13
		E2	0,03	0,19	5,3
		E3	0,05	0,17	2,4
	P2	E1	0,5	0,15	-0,7
		E2	0,03	0,21	6
		E3	0,02	0,14	6
	P3	E1	0,02	0,09	3,5
		E2	0,03	0,09	2
		E3	0,02	0,16	7
	P4	E1	0,02	0,09	3,5
		E2	0,03	0,07	1,3
		E3	0,01	0,03	2
	P5	E1	0,01	0,09	8
		E2	0,02	0,05	1,5
		E3	0,02	0,03	0,5

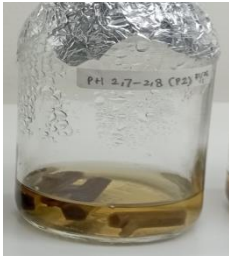
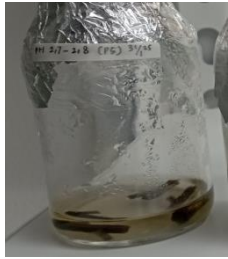
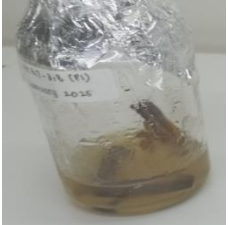
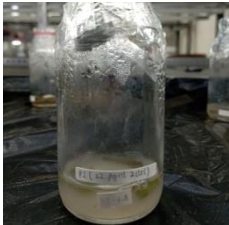
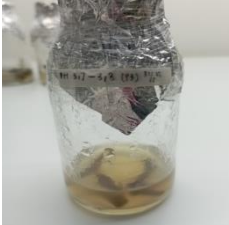
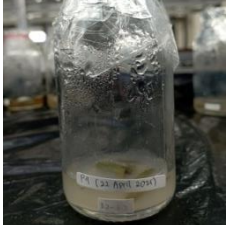
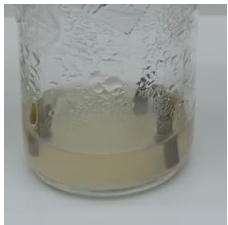
Lampiran 13. Kegiatan Riset

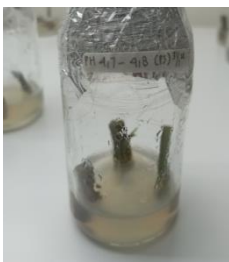
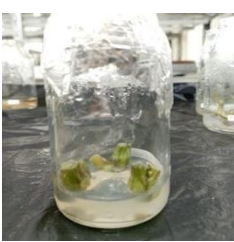
				
Fumigasi ruangan	Sterilisasi alat	Persiapan pembuatan media	Pembuatan media (+ larutan stok)	Gula, agar, myoinositol
				
Penimbangan bahan sebelumnya	4 media siap dicek pH	Cek pH	Perlakuan pH 2,7-2,8	Perlakuan pH 3,7-3,8

				
Perlakuan pH 4,7-4,8	Perlakuan pH 5,7-5,8	Pemanasan media	Penuangan media	Sterilisasi media
				
Pemeliharaan <i>Gynura procumbens</i>	Persiapan eksplan	Inisiasi dengan air detergen	Pemisahan air detergen dengan	Inisiasi dengan air fungisida

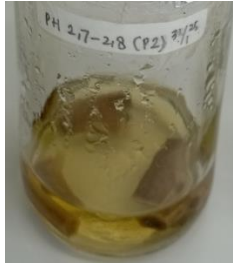
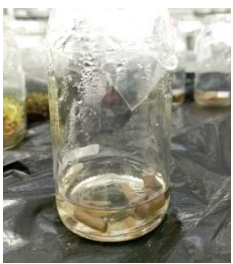
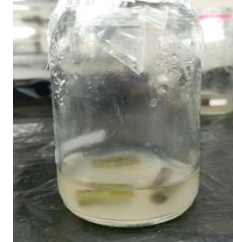
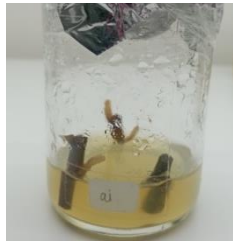
				
Pemisahan dari air fungisida	Persiapan kultur	Inisiasi dengan chlorox	Kultur	Eksplan ditanamkan ke media
				
Inkubasi	Pengambilan data	Penimbangan berat segar	Pengeringan dengan oven 40°C	Penimbangan berat kering

Lampiran 14. Hasil pengamatan pada minggu pertama setelah kultur (1 MSK)

				
pH 2,7-2,8 (P1)	pH 2,7-2,8 (P2)	pH 2,7-2,8 (P3)	pH 2,7-2,8 (P4)	pH 2,7-2,8 (P5)
				
pH 3,7-3,8 (P1)	pH 3,7-3,8 (P2)	pH 3,7-3,8 (P3)	pH 3,7-3,8 (P4)	pH 3,7-3,8 (P5)

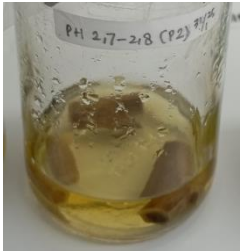
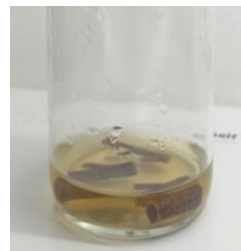
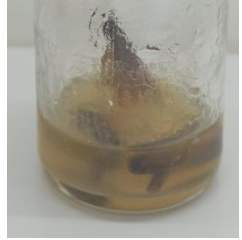
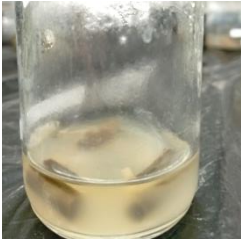
				
pH 4,7-4,8 (P1)	pH 4,7-4,8 (P2)	pH 4,7-4,8 (P3)	pH 4,7-4,8 (P4)	pH 4,7-4,8 (P5)
				
pH 5,7-3,8 (P1)	pH 5,7-3,8 (P2)	pH 5,7-3,8 (P3)	pH 5,7-3,8 (P4)	pH 5,7-3,8 (P5)

Lampiran 15. Hasil pengamatan pada minggu kedua setelah kultur (2 MSK)

				
pH 2,7-2,8 (P1)	pH 2,7-2,8 (P2)	pH 2,7-2,8 (P3)	pH 2,7-2,8 (P4)	pH 2,7-2,8 (P5)
				
pH 3,7-3,8 (P1)	pH 3,7-3,8 (P2)	pH 3,7-3,8 (P3)	pH 3,7-3,8 (P4)	pH 3,7-3,8 (P5)

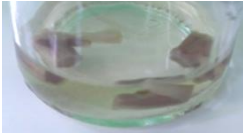
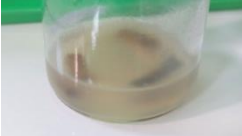
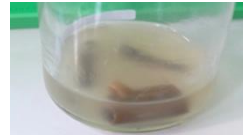
				
pH 4,7-4,8 (P1)	pH 4,7-4,8 (P2)	pH 4,7-4,8 (P3)	pH 4,7-4,8 (P4)	pH 4,7-4,8 (P5)
				
pH 5,7-3,8 (P1)	pH 5,7-3,8 (P2)	pH 5,7-3,8 (P3)	pH 5,7-3,8 (P4)	pH 5,7-3,8 (P5)

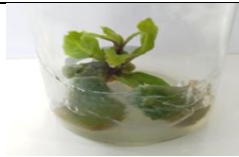
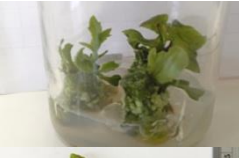
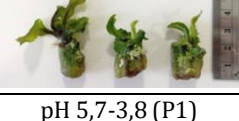
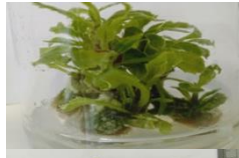
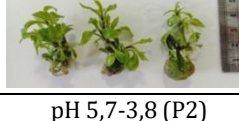
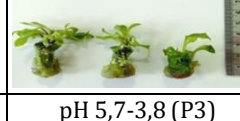
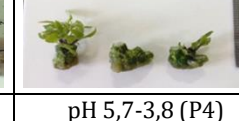
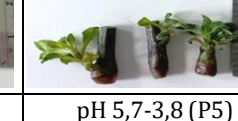
Lampiran 16. Hasil pengamatan pada minggu ketiga setelah kultur (3 MSK)

				
pH 2,7-2,8 (P1)	pH 2,7-2,8 (P2)	pH 2,7-2,8 (P3)	pH 2,7-2,8 (P4)	pH 2,7-2,8 (P5)
				
pH 3,7-3,8 (P1)	pH 3,7-3,8 (P2)	pH 3,7-3,8 (P3)	pH 3,7-3,8 (P4)	pH 3,7-3,8 (P5)

				
pH 4,7-4,8 (P1)	pH 4,7-4,8 (P2)	pH 4,7-4,8 (P3)	pH 4,7-4,8 (P4)	pH 4,7-4,8 (P5)
				
pH 5,7-3,8 (P1)	pH 5,7-3,8 (P2)	pH 5,7-3,8 (P3)	pH 5,7-3,8 (P4)	pH 5,7-3,8 (P5)

Lampiran 17. Hasil pengamatan pada minggu keempat setelah kultur (4 MSK)

 	 	 	 	 
pH 2,7-2,8 (P1)	pH 2,7-2,8 (P2)	pH 2,7-2,8 (P3)	pH 2,7-2,8 (P4)	pH 2,7-2,8 (P5)
 	 	 	 	 
pH 3,7-3,8 (P1)	pH 3,7-3,8 (P2)	pH 3,7-3,8 (P3)	pH 3,7-3,8 (P4)	pH 3,7-3,8 (P5)

 	 	 	 	 
pH 4,7-4,8 (P1)	pH 4,7-4,8 (P2)	pH 4,7-4,8 (P3)	pH 4,7-4,8 (P4)	pH 4,7-4,8 (P5)
 	 	 	 	 
pH 5,7-3,8 (P1)	pH 5,7-3,8 (P2)	pH 5,7-3,8 (P3)	pH 5,7-3,8 (P4)	pH 5,7-3,8 (P5)

Lampiran 18. Dokumentasi catatan suhu

				
26°C	27°C	30°C	26°C	25°C

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Agista Putri Ulan Sari
2. Tempat dan Tanggal Lahir : Kudus, 17 Agustus 2003
3. Alamat Rumah : Ds. Loram Kulon, RT 01 RW
04, Kec. Jati, Kab. Kudus
4. HP : 085860201685
5. Email : agistaputriulansari@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. RA Miftahul Ulum
 - b. SD 5 Loram Kulon
 - c. MTS NU Banat Kudus
 - d. MA NU Banat Kudus
2. Pendidikan Non Formal
 - a. TPQ Tiisaarul Murattilin