

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) BAP DAN 2,4-D
TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA
LINALOOL DAN α -PINENE PADA KALUS ZODIA
(*Evodia suaveolens* Scheff)**



Oleh :

Maria Kusumawati

19133890 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) BAP DAN 2,4-D
TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA
LINALOOL DAN α -PINENE PADA KALUS ZODIA
(*Evodia suaveolens* Scheff)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

derajat Sarjana Farmasi (S.F)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh :

Maria Kusumawati

19133890 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) BAP DAN 2,4-D
TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA
LINALOOL DAN α -PINENE PADA KALUS ZODIA
(*Evodia suaveolens* Scheff)**

Oleh :

**Maria Kusumawati
19133890 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 04 April 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. Octari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Supriyadi, M. Si.
Pembimbing Pendamping

Dra. Kartinah W., SU.

Penguji :

1. D. Andang A.W., S. P., M. Si.

1.

2. Tri Wijayanti, MPH., Apt.

2.

3. Destik Wulandari, S. Pd., M. Si.

3.

4. Dr. Supriyadi, M. Si.

4.

PERSEMBAHAN

Dengan penuh syukur, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa membangkitkan semangat
dari dalam diri saya,
2. Bapak Parno, Ibu Parti dan Mas Nataniel yang senantiasa
memberi dorongan untuk selalu semangat,
3. Bapak Harun, Mami Murti dan Kamuku, Mas Agustinus
Wijanarko yang selalu mengingatkan saya untuk selalu berdoa
dalam segala hal,
4. Ibu Kost Sultan, Ani Munandar, Dwi S Skh dan Rere Purwodadi
selalu menyempatkan untuk mendukung menyusun skripsi,
5. Care Group Mojosoongo, Kak Yoga, Ko Ivan, Ayu, Ce Intan,
Elvinia, Yudha dan Rhury yang menyelipkan namaku disetiap
doa kalian,
6. Rossa Omega, rekan kerja yang sama-sama memberi dukungan.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 04 April 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Kusumawati', written over a horizontal line.

Maria Kusumawati

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya yang begitu besar yang selalu menyertai penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) BAP DAN 2,4-D TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA LINALOOL DAN α -PINENE PADA KALUS ZODIA (*Evodia suaveolens* Scheff)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini terdapat hal-hal yang kurang sempurna, sehubungan dengan keterbatasan penulis. Walaupun demikian, penulis telah berusaha semaksimal mungkin agar isi dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

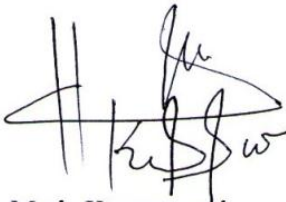
Penulis juga menyadari skripsi ini dapat terselesaikan tentu tidak terlepas dari bimbingan, pengarahan, saran, dan bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Supriyadi, M.Si., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W., SU., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. D. Andang A.W., S. P., M.Si., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.

6. Destik Wulandari, S. Pd., M. Si., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
7. Tri Wijayanti, MPH., Apt., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
8. DP2M yang bekerja sama dengan Kopertis Wilayah VI, telah memberi dana untuk dapat terlaksananya penelitian ini.
9. Teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu, selalu mendukung dan membantu hingga skripsi ini selesai.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan memberikan limpahan berkat kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kekurangan serta kesalahan yang tidak disadari penulis. Penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca, demi perbaikan penulisan selanjutnya dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kefarmasian.

Penulis,



Maria Kusumawati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Zodia (<i>Evodia suaveolens</i> Scheff)	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Morfologi tanaman.....	4
3. Daerah penyebaran dan penanaman.....	5
4. Kegunaan.....	5

5. Kandungan kimia	5
B. Kultur Jaringan Tumbuhan (<i>Plant Tissue Culture</i>)	6
C. Media Tumbuh.....	7
D. Zat Pengatur Tumbuh	7
E. Linalool dan α -pinene	8
F. Sterilisasi.....	9
G. Kalus	10
H. Ekstraksi	11
I. Kromatografi Gas	12
J. Landasan Teori	12
K. Hipotesis	14
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Populasi dan Sampel	15
B. Variable Penelitian.....	15
1. Identifikasi variabel utama.....	15
2. Klasifikasi variabel utama.....	15
3. Definisi operasional variabel utama.....	16
C. Bahan dan Alat	16
1. Bahan.....	16
1.1. Bahan sampel	16
1.2. Bahan kimia	16
1.3. Media tumbuh	17
2. Alat.....	17
D. Jalannya Penelitian	17
1. Identifikasi tanaman	17
2. Pengambilan bahan atau sampel	17
3. Pembuatan media Murashige Skoog (MS)	17
3.1. Larutan makronutrien.....	18
3.2. Larutan mikronutrien	18
3.3. Vitamin.....	18

3.4. Pembuatan media MS dan penambahan ZPT BAP dan 2,4-D	19
4. Sterilisasi alat dan entkas	21
5. Sterilisasi sampel / eksplan	21
6. Penanaman eksplan	21
7. Subkultur kalus.....	21
8. Pengamatan	22
8.1. Pertumbuhan kalus	22
8.2. Bobot segar total	22
8.3. Prosentase keberhasilan	22
9. Ekstraksi daun dan kalus daun <i>Zodia (Evodia suaveolens</i> <i>Scheff)</i>	22
10. Analisis kualitatif dan kuantitatif	22
11. Analisis data	23
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	24
A. Hasil Determinasi dan Deskripsi Tanaman	24
1. Determinasi tanaman.....	24
2. Deskripsi tanaman zodia dan pengambilan bahan tanaman.....	24
B. Kultur Jaringan Tumbuhan	25
1. Hasil pembuatan media Murashige Skoog (MS)	25
2. Hasil sterilisasi media, alat dan entkas.....	26
3. Sterilisasi eksplan.....	27
4. Penanaman eksplan	28
5. Subkultur kalus.....	29
C. Hasil Pengamatan	29
1. Prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus dan kontaminasi kalus.....	29
2. Prosentase pertumbuhan akar.....	35
3. Bobot segar kalus daun zodia.....	37
4. Warna dan tekstur kalus pada tiap konsentrasi	39
D. Hasil Analisis Kandungan Senyawa	40

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	43
	A. Kesimpulan	43
	B. Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman <i>Evodia suaveolens</i> Scheff	4
2. Struktur molekul 2,4-D	8
3. Struktur molekul (<i>S</i>) – (+) – linalool dan (<i>R</i>) – (-) – linalool	8
4. Struktur molekul (1 <i>S</i> , 5 <i>S</i>) - atau (-) - α -pinene dan (1 <i>R</i> , 5 <i>R</i>) - atau (+) - α -pinene	9
5. Skema pembuatan medium MS dan MS setengah kuat volume 1 liter	20
6. Grafik keberhasilan eksplan membentuk kalus	31
7. Grafik kontaminasi kalus dalam eksplan	31
8. Waktu induksi kalus setelah penanaman	31
9. Keberhasilan eksplan membentuk kalus setelah inkubasi	32
10. Kontaminasi eksplan pada kalus pada hari ke 7 setelah penanaman	33
11. Grafik pertumbuhan akar pada berbagai konsentrasi.....	36
12. Waktu tumbuh akar setelah penanaman.....	36
13. Pertumbuhan akar pada kalus	37
14. Grafik rerata bobot segar kalus	38
15. Perbedaan warna kalus setelah perlakuan subkultur	39
16. Tekstur remah yang dimiliki kalus.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi unsur hara makro medium MS	18
2. Komposisi unsur hara mikro medium MS	18
3. Komposisi vitamin medium MS	19
4. Hasil pembuatan media Murashige Skoog (MS) setengah kuat dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D.....	25
5. Sterilisasi eksplan daun zodia	27
6. Keberhasilan eksplan membentuk kalus dan kontaminasi kalus	30
7. Waktu induksi kalus	30
8. Pertumbuhan akar pada berbagai konsentrasi.....	35
9. Rata-rata waktu pertumbuhan akar	36
10. Rerata bobot segar kalus	38
11. Warna dan tekstur kalus tiap konsentrasi.....	39
12. Tabel waktu retensi standar dan sampel	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman zodia	47
2. Pembuatan Konsentrasi zat pengatur tumbuh dan larutan sterilisasi	48
3. Gambar alat-alat yang digunakan	50
4. Gambar penanaman eksplan, inkubasi eksplan dan pertumbuhan kalus	54
5. Gambar eksplan yang terkontaminasi	60
6. Gambar pertumbuhan akar pada eksplan	61
7. Gambar penimbangan kalus.....	63
8. Gambar penimbangan daun muda dan daun tua	71
9. Data perhitungan rata-rata kalus dan standar deviasi	72
10. Gambar hasil kromatogram standar α -pinene	73
11. Gambar hasil kromatogram standar linalool	74
12. Gambar hasil kromatogram daun muda	75
13. Gambar hasil kromatogram daun tua	76
14. Gambar hasil kromatogram kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ppm pada media MS Setengah Kuat	77

INTISARI

KUSUMAWATI, M., 2017, PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT) BAP DAN 2,4-D TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA LINALOOL DAN α -PINENE PADA KALUS ZODIA (*Evodia suaveolens* Scheff), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.) mengandung senyawa linalool dan α -pinene yang berfungsi sebagai penghalau nyamuk (*repellant*). Waktu pertumbuhan yang lama dan budidaya zodia yang sulit sehingga perlu dilakukan metode perbanyakan tanaman (kultur jaringan tanaman). Keberhasilan kultur jaringan terutama disebabkan oleh adanya kebutuhan unsur hara dalam medium. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) Benzilaminopurin (BAP) dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) terhadap pembentukan kalus serta identifikasi senyawa linalool dan α -pinene pada kalus zodia (*E. suaveolens* Scheff).

Eksplan daun zodia ditumbuhkan dalam media MS Setengah Kuat dengan kombinasi perbandingan zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0:2 ppm; 0,5:1,5 ppm; 1:1 ppm; 1,5:0,5 ppm dan 2:0 ppm. Kalus daun zodia dipanen dan diekstraksi dengan *n*-heksan. Filtrat *n*-heksan dianalisis dengan kromatografi gas.

Penambahan ZPT BAP dan 2,4-D pada media MS setengah kuat mempercepat pertumbuhan dan pembentukan kalus. Konsentrasi 1 : 1 ppm adalah konsentrasi terbaik dan tercepat dalam pertumbuhan dan pembentukan kalus. Kalus zodia tidak mengandung senyawa α -pinene dan linalool.

Kata kunci : eksplan daun zodia, media Murashige Skoog (MS) setengah kuat, BAP, 2,4-D, kromatografi gas.

ABSTRACT

KUSUMAWATI, M., 2017, COMBINED EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATOR (PGR) BENZYLAMINOPURIN (BAP) AND 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) ON THE FORMATION OF CALLUSES AND IDENTIFICATION OF LINALOOL AND α -PINENE COMPOUNDS ON ZODIA CALLUSES (*E. suaveolens* Scheff.) SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

*Zodia leaves (Evodia suaveolens Scheff.) contains linalool and α -pinene compounds that serve as mosquito repellent. A long time to growth and the difficult culture zodia so needed plant propagation methods (tissue culture plants). The success of tissue culture is mainly caused by the presence of nutrient needs in the medium. The purposes of this research are to determine the effect of a combination of plant growth regulator (PGR) Benzylaminopurin (BAP) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on the formation of calluses and identification of linalool and α -pinene compounds on calluses zodia (*E. suaveolens* Scheff.)*

Zodia leaves explant have grown on MS medium half strong with combined ratio of growth regulators BAP : 2,4-D 0:2 ppm; 0,5:1,5 ppm ; 1:1 ppm; 1,5:0,5 ppm ; 2:0 ppm. Zodia leaves calluses were harvested and extracted using n-hexane. The filtrate of n-hexane were analyzed by gas chromatography.

The addition of PGR BAP and 2,4-D on MS medium half strong are to accelerate the growth and formation of calluses. Consentration 1 : 1 ppm is the best and fastest concentration in the growth and formation of calluses. Zodia calluses are not containing α -pinene and linalool compounds.

Keywords : *zodia leaves explants, Murashige Skoog (MS) Medium half strong, BAP, 2,4-D, gas chromatography.*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang mengalami dua musim yaitu musim hujan dan musim kemarau. Musim hujan dapat menyebabkan penyakit yang disebabkan oleh nyamuk seperti chikungunya, demam berdarah dengue (DBD) atau malaria. Wabah penyakit ini dapat menyebabkan endemi di wilayah tertentu baik desa maupun kota (Marwati, 2011).

Masyarakat melakukan berbagai upaya untuk membasmi nyamuk, karena menimbulkan kejadian luar biasa hingga kematian. Masyarakat dihimbau untuk menjaga kebersihan dan menghindari air yang menggenang. Masyarakat biasanya menggunakan obat-obat anti nyamuk yang beredar di pasaran, namun hanya sebagian masyarakat yang berminat dalam penggunaan obat anti nyamuk ini. Penyebab masyarakat kurang berminat dalam menggunakan obat anti nyamuk dikarenakan asap atau bau yang kurang disukai dan bisa menyebabkan keracunan (Marwati, 2011). Obat anti nyamuk ini berupa zat kimia yang mengandung racun dan sangat berbahaya bagi kesehatan. Obat nyamuk berbahaya bagi manusia karena kandungan bahan aktif yang termasuk golongan organofosfat. Bahan aktif ini adalah Dichlorovynil dirnethyl phosfat (DDVP), Propoxur (Karbamat) dan Diethyltoluamide, yang merupakan jenis insektisida pembunuh serangga (Dahniar, 2011).

Sebagian masyarakat berupaya memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang dapat mencegah gigitan nyamuk. Tumbuh-tumbuhan anti nyamuk dapat berfungsi sebagai tanaman hias sehingga masyarakat berminat untuk membudidayakan dan merawatnya. Tumbuhan anti nyamuk salah satunya adalah tumbuhan Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff). Budidaya tanaman Zodia mampu memberikan fungsi ganda yaitu sebagai tanaman hias dan tumbuhan anti nyamuk (Marwati, 2011).

Kebutuhan bibit jumlah besar sering tidak dapat dipenuhi dengan hanya menggantungkan perbanyakan tanaman secara generatif. Kendala yang biasa terjadi karena adanya keterbatasan-keterbatasan, antara lain musim berbuah yang

waktunya terbatas, sifat-sifat keturunan yang variatif, membutuhkan tempat yang luas dan keterbatasan jumlah benih yang dihasilkan. Alternatif perbanyakan tanaman diperlukan sehingga kebutuhan bibit dapat terpenuhi (Nursyamsi, 2010).

Salah satu teknik perbanyakan tanaman yaitu dengan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali (Gunawan, 1995 dalam Nursyamsi, 2010). Keberhasilan metode kultur jaringan terutama disebabkan oleh pengetahuan tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan. Media kultur jaringan menyediakan kebutuhan hara sel dan jaringan tersebut. Komposisi media kultur yang tepat akan menghasilkan bibit dengan pertumbuhan yang optimum (Gamborg, 1991 dalam Raynalta, 2013). Menurut Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) dengan menggunakan kromatografi gas, minyak yang disuling dari daun tanaman Zodia mengandung linalool (46 %) dan *a-pinene* (13,26 %). Daun Zodia mampu menghalau nyamuk selama 6 jam dengan daya proteksi sebesar lebih dari 70%. Pembuktian dilakukan dengan cara menggosokkan daun Zodia ke lengan, lalu lengannya dimasukkan kotak yang berisi nyamuk *Aedes aegypti* dan dibandingkan dengan lengan yang tanpa digosok dengan daun Zodia (Kardinan, 2004).

Penelitian Wiryosoedjoyo dan Supriyadi, 2014 menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus terbaik yaitu pada medium Murashige Skoog (MS) setengah kuat dan kadar Benzilaminopurin (BAP) tidak berpengaruh pada tingginya kadar *linalool* dan *a-pinene* dalam kalus. Penelitian ini dilakukan pada tanaman Zodia dengan mengambil bagian daun sebagai eksplannya. Penanaman eksplan adalah menanam potongan kecil untuk ditanam pada media kultur jaringan.

Penelitian ini dilanjutkan dengan menggunakan eksplan dan medium tanam kultur jaringan yang sama yaitu daun Zodia dan medium MS setengah kuat. Penambahan zat pengatur tumbuh dilakukan pada medium yaitu Benzilaminopurin (BAP) dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Penelitian Rahayu *et al*, 2003 menyatakan bahwa penambahan 2,4-D dalam media akan

merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Kalus yang tumbuh dapat diperoleh dalam jumlah besar. Kalus yang diperoleh diekstraksi dan dilakukan analisis senyawa linalool dan α -pinene pada daun Zodia. Hal ini mendorong perlunya dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) BAP dan 2,4-D terhadap pembentukan kalus serta identifikasi senyawa Linalool dan α -pinene pada kalus zodia.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, apakah penambahan ZPT BAP dan 2,4-D pada media MS setengah kuat memberikan pengaruh terhadap pembentukan kalus zodia?

Kedua, berapa konsentrasi penambahan ZPT BAP dan 2,4-D yang terbaik dan tercepat menghasilkan kalus zodia?

Ketiga, apakah kalus zodia mengandung senyawa linalool dan α -pinene?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, untuk mengetahui pengaruh penambahan ZPT BAP dan 2,4-D pada media MS setengah kuat terhadap pembentukan kalus zodia.

Kedua, untuk mengetahui konsentrasi penambahan ZPT BAP dan 2,4-D yang terbaik dan tercepat menghasilkan kalus daun zodia.

Ketiga, untuk mengetahui kandungan senyawa linalool dan α -pinene dalam kalus zodia.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah penggunaan daun zodia sebagai obat pengusir nyamuk (*repellant*) dan menambah informasi tentang sumber obat alami dari tumbuhan yang terdapat di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Zodia

1. Sistematika tanaman

Berdasarkan Depkes RI (2003), klasifikasi ilmiah dari tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) adalah sebagai berikut :

- Kerajaan : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Divisi : Magnoliophyta (Menghasilkan biji)
- Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
- Subkelas : Rosidae
- Ordo : Sapindales
- Famili : Rutaceae
- Genus : *Evodia*
- Spesies : *Evodia suaveolens* Scheff



Gambar 1. Tanaman *Evodia suaveolens* Scheff

2. Morfologi tanaman

Merupakan tanaman perdu dari suku jeruk-jerukan (Rutaceae) yang mempunyai tinggi berkisar antara 0,5–2 meter dengan rata-rata tinggi berkisar antara 75 cm. Daun pohon Zodia berbentuk pipih memanjang agak lentur dengan warna kuning kehijau-hijauan, panjang daunnya berkisar antara 20–30 cm. Tanaman Zodia dapat tumbuh mencapai 2 meter bila tumbuh di daerah bebas.

Bentuknya cukup menarik, sehingga digunakan sebagai tanaman hias (Kardinan, 2004).

3. Daerah penyebaran dan penanaman

Tanaman Zodia banyak tersebar dan mampu hidup pada ketinggian antara 400-2000 meter dpl sebagaimana halnya di pedalaman Memberamo, Papua; tempat pertama tanaman ditemukan. Tanaman Zodia kini mulai dibudidayakan di berbagai tempat termasuk di Jawa. Tanaman ini ditanam didalam pot, diletakkan di dalam ruangan dan dapat juga ditanam di luar ruangan seperti di halaman rumah. Tanaman Zodia mudah diperbanyak melalui biji dan stek ranting. Tanaman yang sudah berbunga akan menghasilkan biji dan biji yang jatuh ditanah akan tumbuh menjadi tanaman baru (Kardinan, 2004).

4. Kegunaan

Secara tradisional, tanaman Zodia mampu mengusir nyamuk dan serangga yang terdapat di sekitar tanaman. Daun Zodia memiliki rasa pahit. Rebusan kulit batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria. Setelah dilakukan analisa, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) membenarkan pendapat tersebut, yaitu tanaman ini mampu sebagai pengusir nyamuk (*repellant*). Daun Zodia mampu menghalau nyamuk selama 6 jam dengan daya proteksi lebih dari 70%. Pembuktian dilakukan dengan cara menggosokkan daun Zodia ke lengan, lalu lengannya dimasukkan kotak yang berisi nyamuk *Aedes aegypti* dan dibandingkan dengan lengan yang tanpa digosok dengan daun Zodia (Kardinan, 2004).

5. Kandungan kimia

Masyarakat Papua menggunakan tanaman Zodia sebagai penghalau serangga, khususnya nyamuk. Tanaman Zodia menghasilkan aroma cukup tajam yang disebabkan karena adanya kandungan *evodiamine* dan *rutaecarpine*, sehingga tidak disukai serangga. Daun Zodia dapat disuling untuk menghasilkan minyak atsiri yang mengandung bahan aktif (komponen utama) *evodiamine* dan *rutaecarpine*. Kedua bahan aktif inilah yang membuat nyamuk tidak menyukai tanaman ini (Kardinan, 2004).

Hasil analisa yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) menggunakan kromatografi gas, minyak yang disuling dari daun tanaman ini mengandung *linalool* (46%) dan *a-pinene* (13,26%). *Linalool* dikenal sebagai pengusir nyamuk (*repellant*) (Kardinan, 2004).

B. Kultur Jaringan Tumbuhan (*Plant Tissue Culture*)

Kultur jaringan adalah metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman, seperti sel, sekelompok sel, jaringan dan organ serta menumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap. Metode ini merupakan prosedur pemeliharaan dan pertumbuhan jaringan tanaman (sel, kalus, protoplas) serta organ (akar, batang, embrio) pada kultur aseptis (*in vitro*). Metode kultur jaringan diantaranya digunakan untuk perbanyak tanaman, modifikasi genotip (*plant breeding*), produksi metabolit sekunder, pemeliharaan plasma nuftah, penyelamatan embrio (*embryo rescue*) (Henuhili, 2013).

Kelebihan metode kultur jaringan dibandingkan metode yang lainnya yaitu metode memperbanyak lebih cepat dibandingkan metode yang lain, metode ini digunakan untuk perbanyak tanaman yang sulit diperbanyak dengan metode konvensional, tanaman hasil kultur jaringan mempunyai jaringan yang lebih kuat dibandingkan metode yang lain dan digunakan untuk memperoleh tanaman yang bebas penyakit dan tidak terbatas oleh musim dalam pelaksanaannya (Henuhili, 2013).

Perbanyak tanaman dalam kultur jaringan dapat ditempuh melalui dua jalur, yaitu organogenesis dan embriogenesis somatik. Jalur embriogenesis somatik di masa mendatang lebih mendapatkan perhatian karena bibit dapat berasal dari satu sel somatik sehingga bibit yang dihasilkan dapat lebih banyak dibandingkan dengan jalur organogenesis. Di samping itu, sifat perakarannya sama dengan bibit asal biji (Lestari, 2011).

C. Media Tumbuh

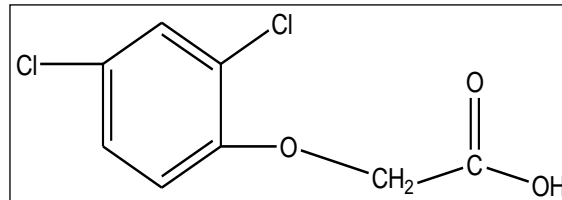
Pertumbuhan tanaman berbeda disebabkan oleh pertumbuhan gizi yang berbeda pula, sehingga pertumbuhan optimal dan morfogenesis dari jaringan dapat bervariasi. Selain pertumbuhan gizi, jaringan dari bagian tanaman lain juga memiliki kebutuhan medium yang berbeda juga, untuk didapat pertumbuhan yang memuaskan (Saad, 2012). Penggunaan media dasar merupakan salah satu faktor yang penting untuk mendapatkan hasil kultur yang optimum. Media tumbuh tersebut diantaranya Murashige Skoog. Komposisi media kultur jaringan tumbuhan umumnya harus mengandung komponen: makronutrien, mikronutrien, vitamin, asam amino atau suplemen nitrogen, sumber karbon, suplemen organik dan zat pengatur tumbuh (Lestari, 2011).

D. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman (Davies, 1995; Gaba, 2005 dalam Lestari 2011). Zat pengatur tumbuh ini berperan mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004 dalam Lestari, 2011). Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksin. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi dan akar yaitu memacu pemanjangan dan pembelahan sel dalam jaringan kambium (Pierik, 1987 dalam Lestari, 2011). Penggunaan auksin yang tinggi akan diperoleh peran yang maksimal. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan kembang tumbuhan (Lestari 2011).

Tanaman Zodia dibuat dengan mengkombinasi antara sitokinin (Benzilaminopurin) dan auksin (2,4-D) untuk memacu morfogenesis dalam

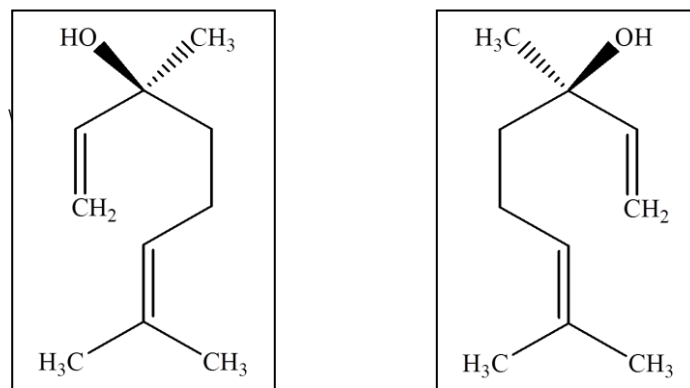
pembentukan tunas kalus. Fungsi 2,4-D adalah membantu auksin endogen untuk menstimulasi atau merangsang pembelahan sel, terutama area luka serta mampu mendukung pembentukan kalus (Ulfa, 2011 dalam Ariati *et al.*, 2012).



Gambar 2. Struktur molekul 2,4-D.

E. Linalool dan α -pinene

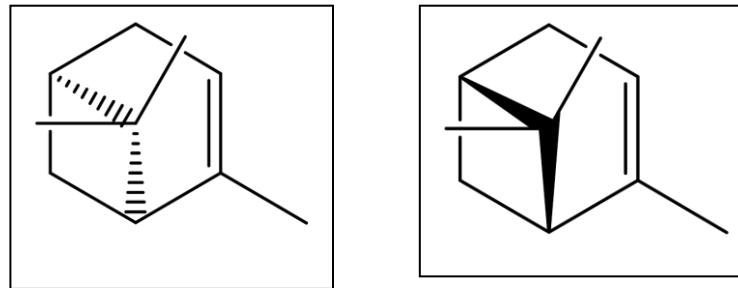
Linalool merupakan senyawa yang berfungsi sebagai *repellant* karena aroma yang khas. Linalool memiliki nama kimia 3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol dengan rumus kimia $C_{10}H_{18}O$ dan berat molekul 154,25 g/mol. Linalool merupakan senyawa terpen alkohol yang dapat ditemukan di banyak bunga dan rempah-rempah tanaman. Nama lain Linalool yaitu β -linalool, linalyl alkohol, linaloyl oksida, p-linalool dan allo-ocimenol. Linalool banyak ditemukan dalam tanaman dari keluarga *Lamiaceae*, *Lauraceae* dan *Rutaceae*. Linalool memiliki dua stereoisomer yaitu (*R*) – (-) - linalool atau licareol dan (*S*) – (+) – linalool atau coriandrol. Stereoisomer memiliki kemampuan terhadap respon saraf yang berbeda-beda.



Gambar 3. Struktur molekul (*S*) – (+) – linalool (kiri) dan (*R*) – (-) – linalool (kanan)

α -pinene merupakan senyawa organik yang memiliki nama kimia (1*S*, 5*S*) -2,6,6-trimethylbicyclo [3.1.1] hept-2-ene ((-) - α -pinene). α -pinene

memiliki rumus kimia $C_{10}H_{16}$ dan berat molekul 136,24 g/mol. Kelarutan dalam air sangat rendah dan α -pinene larut dalam asetat, etanol dan aseton. α -pinene memiliki dua enantiomer yaitu (1 S, 5 S) - atau (-) - α -pinene dan (1 R, 5 R) - atau (+) - α -pinene.



Gambar 4. Struktur molekul (1 S, 5 S) - atau (-) - α -pinene (kiri) dan (1 R, 5 R) - atau (+) - α -pinene (kanan)

F. Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikrobiologi ialah suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Sterilisasi memiliki tiga cara utama yang umum dipakai dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, penggunaan bahan kimia dan penyaringan (filtrasi). Penggunaan panas digunakan bersama-sama dengan uap air maka disebut sterilisasi panas lembab atau sterilisasi basah, bila tanpa kelembaban disebut sterilisasi panas kering atau sterilisasi kering. Sterilisasi kimiawi dapat dilakukan dengan menggunakan gas atau radiasi. Pemilihan metode didasarkan pada sifat bahan yang disterilkan (Hadioetomo, 1985).

Sterilisasi basah dilakukan di dalam autoklaf atau sterilisator uap yang mudah diangkat dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit. Naiknya titik didih air menjadi $121^{\circ}C$ disebabkan oleh tekanan 1 atmosfer (atm) pada ketinggian permukaan laut, maka seringkali dinyatakan sebagai 1 atm dengan waktu selama lebih kurang 15 menit. Panas lembab sangat efektif meskipun pada suhu tidak begitu tinggi, karena uap air berkondensasi pada bahan-bahan yang disterilkan, dilepaskan panas sebanyak 686 kalori per gram uap air pada suhu $121^{\circ}C$. Maka sterilisasi basah dapat digunakan untuk mensterilkan bahan apa saja yang dapat ditembus uap air dan tidak rusak bila dipanaskan

dengan suhu yang berkisar antara 110°C dan 121°C. Bahan-bahan yang biasa disterilkan dengan cara ini antara lain media biakan yang umum, aquadest, peralatan laboratorium, biakan yang akan dibuang, media tercemar dan bahan-bahan dari karet (Hadioetomo, 1985).

Sterilisasi udara panas atau panas kering dianjurkan apabila penggunaan uap bertekanan tidak dikehendaki atau bila tidak dapat terjadi kontak antara uap bertekanan dengan benda yang akan disterilkan. Hal ini berlaku bagi perabotan laboratorium seperti cawan petri, pipet, minyak dan beberapa peralatan. Benda-benda ini disterilkan di dalam oven listrik atau gas. Untuk mensterilkannya, dibutuhkan suhu 160°C selama 2 jam (Pelczar, 1988).

Bahan yang menjadi rusak bila disterilkan pada suhu tinggi (misalnya bahan-bahan dari plastik) dapat disterilkan secara kimiawi dengan menggunakan gas atau radiasi. Beberapa bahan kimia yang dapat digunakan antara lain etilen oksida, asam perasetat, formaldehide dan glutaraldehyde alkalin. Cara ini diterapkan pada suhu kamar selama 2 sampai 18 jam, tergantung bahan kimianya (Hadioetomo, 1985).

Proses sterilisasi lain yang dilakukan pada suhu kamar ialah penyaringan dengan membebaskan larutan atau suspensi dari semua organisme hidup. Cara melakukannya lewat saringan dengan ukuran pori sedemikian kecilnya sehingga bakteri dan sel-sel yang lebih besar tertahan di atasnya, sedangkan filtrat ditampung di dalam wadah steril (Hadioetomo, 1985).

G. Kalus

Kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir yang awalnya merupakan jaringan penutup luka, sel-sel yang pada awalnya dorman (quiescent) terdiferensiasi kembali (dediferensiasi). Dediferensiasi terjadi karena sel-sel tumbuhan (jaringan), yang secara alamiah bersifat autotrof dikondisikan menjadi heterotrof dengan cara memberikan nutrisi yang cukup kompleks di dalam medium kultur, sehingga sel-sel membelah secara tak terkendali membentuk massa sel yang tidak terorganisir (kalus) (Rusdianto, 2012).

Sel-sel kalus yang terbentuk sebagian bersifat embrionik, yaitu kalus yang hanya memiliki kemampuan untuk terus membelah (proliferasi) menghasilkan sel-sel kalus yang baru, sebagian lagi bersifat embriogenik yaitu kalus yang dapat berkembang menjadi embrio somatik setelah kalus tersebut ditransfer ke dalam medium yang sesuai dan tidak mengandung auksin atau 2,4-D (Kikuchi *et al.*, 2006 dalam Rusdianto, 2012).

Keberhasilan akan tercapai apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik dengan ciri-ciri sel berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Wiendi *et al.*, 1991 dalam Rusdianto, 2012).

H. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014).

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar (Harborne, 1996). Proses ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah menggunakan pelarut yang dipilih dengan zat yang diinginkan larut (Voight, 1994). Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi padat cair atau leaching adalah transfer difusi komponen terlarut dari padatan inert ke dalam pelarutnya. Ekstraksi dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam solven pengestraksi. Ekstraksi berkelanjutan diperlukan apabila padatan hanya sedikit larut dalam pelarut (Lucas et al, 1949).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi standar baku yang

ditetapkan. Proses ekstraksi bahan atau bahan obat alami dapat dilakukan berdasarkan teori tentang penyarian. Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut (Lucas et al, 1949).

I. Kromatografi Gas

Kromatografi gas merupakan kromatografi pertama yang dikembangkan pada zaman instrumen dan elektronika. Kromatografi gas adalah metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang mana solut-solut yang mudah menguap (stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya (Frayekti, 2013).

Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam-jam untuk campuran yang mengandung 500-1000 komponen. Prinsip utama pemisahan dalam kromatografi gas adalah berdasarkan perbedaan laju migrasi masing-masing komponen dalam melalui kolom. Komponen-komponen yang terelusi dikenali (analisa kualitatif) dari nilai waktu retensinya (tR) (Frayekti, 2013).

Secara sederhana prinsip kerja kromatografi gas adalah udara dilewatkan melalui nyala hydrogen (*hydrogen flame*) selanjutnya uap organik tersebut akan terionisasi dan menginduksi terjadinya aliran listrik pada detektor, kuantitas aliran listrik sebanding dengan ion (Frayekti, 2013).

Komponen utama dari kromatografi gas adalah tabung gas pembawa, pengontrolan aliran dan regulator tekanan, injection port, kolom, detektor, rekorder dan sistem termostat (Frayekti, 2013).

J. Landasan Teori

Tanaman Zodia merupakan tanaman yang biasa dijumpai di daerah Papua. Tanaman Zodia secara tradisional dapat digunakan sebagai pengusir nyamuk dan serangga yang terdapat di sekitar tanaman. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan

Obat (Balittro) membenarkan pendapat bahwa tanaman ini mampu sebagai pengusir nyamuk (*repellant*) (Kardinan, 2004).

Hasil analisa Kardinan (2004) yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) menggunakan kromatografi gas, minyak yang disuling dari daun tanaman ini mengandung *linalool* (46%) dan *a-pinene* (13,26%). *Linalool* dikenal sebagai pengusir nyamuk (*repellant*). Hasil menunjukkan daun Zodia mampu menghalau nyamuk selama 6 jam, dengan daya halau (daya proteksi) sebesar lebih dari 70%. Pembuktian dilakukan dengan cara menggosokkan daun Zodia ke lengan, lalu lengannya dimasukkan kotak yang berisi nyamuk *Aedes aegypti* dan dibandingkan dengan lengan yang tanpa digosok dengan daun Zodia (Kardinan, 2004).

Cara mendapatkan kalus, eksplan daun Zodia ditanam pada media MS setengah kuat. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan yaitu BAP dan 2,4-D. Penanaman ini dilakukan secara *in vitro*. Eksplan tumbuh membentuk tunas atau yang disebut kalus/sel yang memiliki sifat embriogenik dengan ciri-ciri sel berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil dan mengandung butir pati (Wiendi *et al.*, 1991 dalam Rusdianto, 2012).

Kalus yang tumbuh kemudian dipanen dan diekstraksi menggunakan pelarut alkohol 70%, kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan *n*-heksan. Identifikasi senyawa pada tanaman Zodia dilakukan menggunakan kromatografi gas. Untuk mendapatkan senyawa utama yang aktif maka dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal, sehingga ekstrak awal dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Sarker SD, dkk., 2006 dalam Mukhriani, 2014).

K. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama, penambahan ZPT BAP dan 2,4-D pada media MS setengah kuat memiliki pengaruh terhadap pembentukan kalus zodia.

Kedua, konsentrasi penambahan ZPT BAP dan 2,4-D yang terbaik dan tercepat menghasilkan kalus zodia adalah BAP : 2,4-D dengan konsentrasi 1 : 1 *ppm*.

Ketiga, senyawa yang terkandung dalam kalus daun Zodia adalah linalool dan α -pinene.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) yang berasal dari daerah Pakem, Sleman, DIY.

Sampel yang digunakan adalah daun Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) yang diambil dari tanaman sehat, bebas hama dan penyakit. Pengambilan eksplan daun Zodia berasal dari daun pertama dan kedua dari ujung batang.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah kalus yang dihasilkan dari eksplan daun Zodia dengan metode kultur jaringan tanaman dengan penambahan ZPT BAP dan 2,4-D.

Variabel utama kedua adalah kandungan senyawa yang terdapat pada kalus daun Zodia yang dianalisis menggunakan Kromatografi Gas.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah umur tanaman, komposisi pada media tanam, pH media tanam, teknik kultur jaringan dan jenis eksplan yang digunakan.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah waktu induksi kalus daun Zodia dan kandungan senyawa yang terdapat dalam kalus daun Zodia.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) adalah daun dari tanaman Zodia yang diambil daun muda segar, tidak terlalu tua yang diperoleh dari daerah Pakem, Sleman, DIY.

Kedua, kalus daun Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) adalah sekumpulan sel amorphous (tidak berbentuk atau belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* atau di dalam tabung dari daun Zodia.

Ketiga, media tumbuh adalah campuran unsur hara makro, mikro dan vitamin yang umumnya ditambah pematat gel, seperti agar, untuk pertumbuhan tanaman.

Keempat, zat pengatur tumbuh adalah zat yang memiliki peranan sangat penting untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas, akar serta pembentukan kalus.

Kelima, ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

Keenam, kromatografi gas adalah proses memisahkan senyawa-senyawa dari suatu sampel berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1 Bahan sampel

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pertama dan kedua dari ujung batang tanaman Zodia.

1.2 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan HCl 1 N, larutan NaOH 10%, zat pengatur tumbuh BAP, zat pengatur tumbuh 2,4-D,

pelarut *n*-heksan dengan produk khemikalia pro analysis, indikator pH stick, alkohol 70%, larutan NaOCl 5%, aquadest dan tablet formalin.

1.3 Media tumbuh

Media tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah Murashige Skoog (MS) setengah kuat.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, entkas, skalpel steril disposibel, botol-botol medium bertutup karet, pinset steril, erlenmeyer, gunting, kertas alumunium foil, label, cawan petri, rak botol (inkubator), seperangkat alat ekstraksi, seperangkat alat kromatografi gas.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dalam penelitian ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran dari sampel daun Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) yang akan digunakan. Identifikasi ini meliputi kesesuaian dari ciri-ciri morfologi pada daun Zodia terhadap pustaka yang dibuktikan di laboratorium morfologi dan sistematika tumbuhan di Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan bahan atau sampel

Tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) diambil secara keseluruhan di daerah Pakem, Sleman, DIY. Bagian tanaman yang akan digunakan untuk memperoleh kalus adalah daun muda pertama dan kedua dari ujung tanaman, segar dan sehat supaya diperoleh kalus yang baik.

3. Pembuatan media Murashige Skoog (MS)

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat media Murashige Skoog (MS) meliputi makronutrien, mikronutrien, sumber besi, vitamin, glukosa, hormon BAP dari larutan stok. Pembuatan media dilakukan untuk formulasi 1 liter media.

Medium MS yaitu jumlah total campuran unsur hara makro, mikro dan vitamin yang umumnya ditambah agar sebagai pematat. Medium MS setengah

kuat yaitu dengan menggunakan setengah jumlah unsur-unsur makro, mikro dan vitamin serta pematat agar.

3.1 Larutan makronutrien

Bahan dipilih dan ditimbang berdasarkan tabel yang telah disediakan. Semua bahan seperti ditunjukkan pada Tabel 1, dilarutkan dalam 200 ml aquadest pada *beaker glass* kemudian diaduk sampai semua bahan larut. Sebanyak 10 ml larutan stok makronutrien dibutuhkan untuk membuat 1 L larutan dalam media MS setengah kuat.

Tabel 1. Komposisi unsur hara makro medium MS

Unsur hara makro	MS (mg/L)	MS setengah kuat (mg/L)
KNO ₃	1900	950
NH ₄ NO ₃	1650	825
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440	220
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370	185
KH ₂ PO ₄	170	85

Sumber: George & Sherrington (1984)

3.2 Larutan mikronutrien

Bahan dipilih dan ditimbang berdasarkan tabel yang telah disediakan. Semua bahan seperti ditunjukkan pada Tabel 2, dilarutkan dalam 500 ml aquadest pada *beaker glass* kemudian diaduk sampai semua bahan larut. Sebanyak 5 ml larutan stok mikronutrien dibutuhkan untuk membuat 1 L larutan dalam media MS setengah kuat.

Tabel 2. Komposisi unsur hara mikro medium MS

Unsur hara mikro	MS (mg/L)	MS setengah kuat (mg/L)
MnSO ₄ · 4H ₂ O	22,3	11,15
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,6	4,3
H ₃ BO ₃	6,2	3,1
KI	0,83	0,415
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,025	0,0125
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0,25	0,125
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025	0,0125
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27,8	13,9
NaEDTA · 2H ₂ O	37,3	18,65

Sumber: George & Sherrington (1984)

3.3 Vitamin.

Bahan dipilih dan ditimbang berdasarkan tabel yang telah disediakan. Semua bahan seperti ditunjukkan pada Tabel 3, dilarutkan dalam 200 ml aquadest pada beaker glass kemudian diaduk sampai semua bahan terlarut. Sebanyak 4 ml larutan stok dibutuhkan untuk membuat 1 L medium MS.

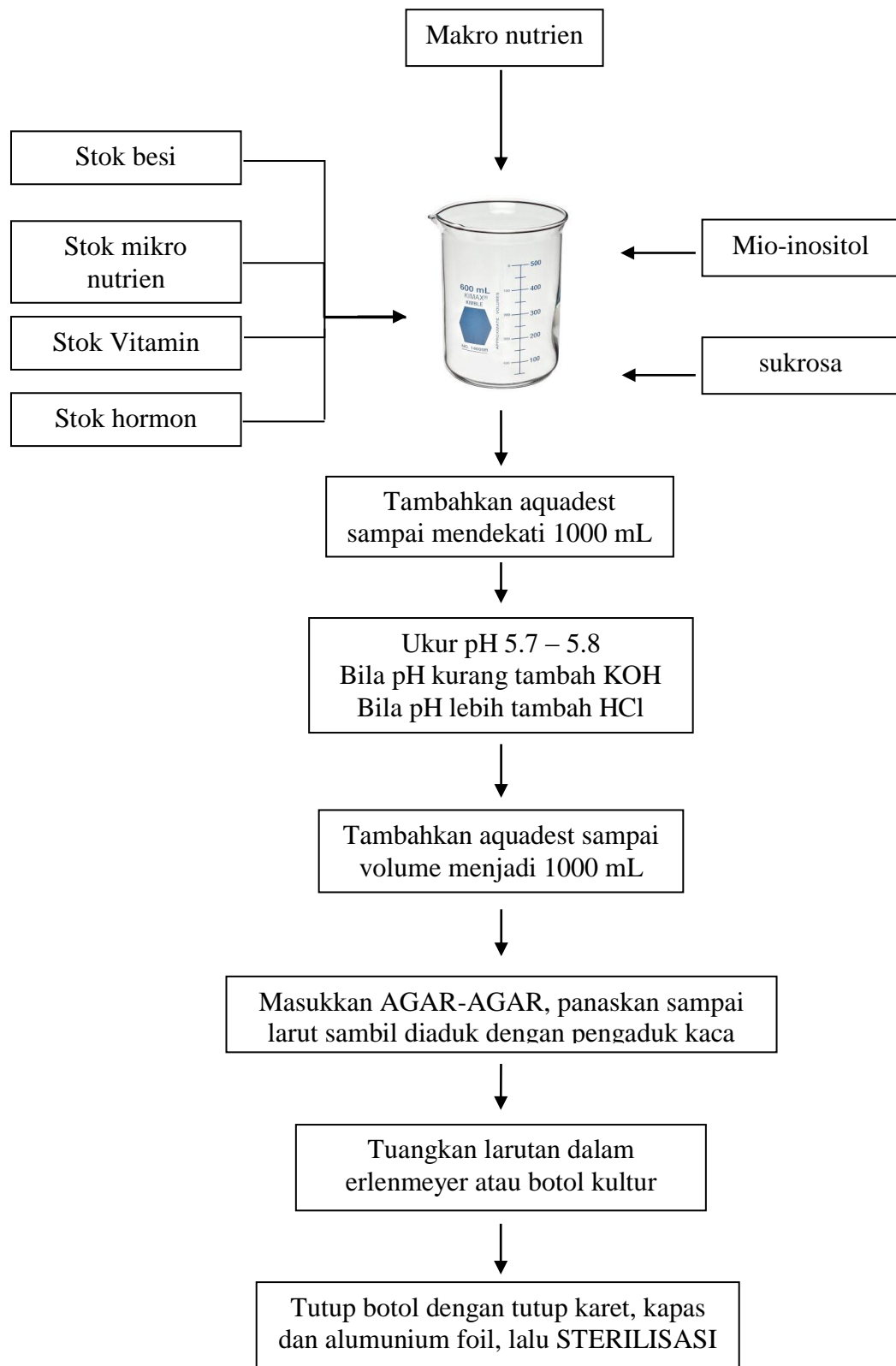
Tabel 3. Komposisi vitamin medium MS

Bahan Kimia	MS (mg/L)	MS setengah kuat (mg/L)
Vitamin		
Myo-inositol	100	50
Thiamin-HCl	0,1	0,05
Nicotinic Acid	0,5	0,25
Piridoksin HCl	0,5	0,25
Glisin	2	1
Sukrosa	30	30
Agar-agar	8.000-10.000	8.000-10.000

Sumber: George & Sherrington, 1984

3.4 Pembuatan media MS dan penambahan ZPT BAP dan 2,4-D

Semua larutan Makro, Mikro, Vitamin dan Glukosa dicampur dan ditambah dengan zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D dengan konsentrasi 0:2 ; 0,5:1,5 ; 1:1 ; 1,5:0,5 ; 2:0 (mg/L). Ditambah aquadest hingga 1 L dan dihomogenkan. pH diukur dengan stick pH dengan rentan 5,6 – 5,8. Jika pH terlalu tinggi maka dapat diturunkan dengan penambahan larutan HCl 1 N dan bila pH terlalu rendah dapat dinaikkan dengan penambahan larutan NaOH 10% dengan cara meneteskannya sedikit demi sedikit sampai didapatkan pH yang sesuai. Penambahan pematik berupa agar-agar (7 g/L) dimaksudkan untuk memperoleh media padat. Larutan dipanaskan hingga mendidih dan homogen. Larutan dituangkan ke dalam botol kultur yang steril. Botol ditutup dengan tutup berbahan karet dan dilapisi dengan aluminium foil, diusahakan botol benar-benar tertutup atau lubang pada tutup karet sebelumnya sudah diberi kapas hingga udara tidak dapat masuk. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media yang telah disterilkan disimpan di dalam ruangan selama 5 hari untuk memastikan keberhasilan sterilisasi. Seperti ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Skema pembuatan medium MS dan MS setengah kuat volume 1 liter.

4. Sterilisasi alat dan entkas

Sterilisasi alat seperti pinset, cawan petri, erlenmeyer dan skalpel menggunakan oven dengan suhu 170° - 180° C selama 1-2 jam. Sterilisasi entkas dengan diberi beberapa formalin dan disemprot menggunakan alkohol 70% kemudian didiamkan selama 24 jam.

5. Sterilisasi sampel/ eksplan

Daun pertama dan kedua dari ujung batang tanaman Zodia dipotong dengan ukuran lebih kurang 5 cm dan dicuci menggunakan sabun cair untuk membersihkan dari hama penyakit. Potongan daun Zodia yang telah dicuci dimasukkan dalam erlenmeyer. Larutan NaOCl 2,5% dimasukkan erlenmeyer steril berisi eksplan sambil digojog perlahan searah jarum jam selama 10-15 menit sambil diperhatikan eksplan. Jika sisi-sisi eksplan mulai berubah menjadi warna coklat maka sterilisasi dengan larutan NaOCl 2,5% dihentikan. Larutan NaOCl yang telah dipakai dituang ke dalam botol kosong yang telah disiapkan. Larutan NaOCl 1,25% dimasukkan erlenmeyer sambil digojog perlahan 10-15 menit. Eksplan dibilas menggunakan aquadest steril. Sterilisasi dilanjutkan dengan memasukkan alkohol 70% sambil digojog perlahan 1-2 menit. Eksplan dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3x dan ditiriskan.

6. Penanaman eksplan

Eksplan daun yang telah disterilkan dipotong lebih kecil ± 1 cm dan untuk eksplan berwarna coklat atau putih harus dipotong, karena eksplan yang berwarna coklat atau putih merupakan bagian yang mati/rusak. Eksplan daun yang telah dipotong dimasukkan botol yang telah terisi medium dengan konsentrasi berbeda-beda. Botol-botol tersebut diletakkan pada rak-rak botol yang diterangi lampu *day light*, dengan suhu $\pm 20^{\circ}$ C. Pengamatan pertumbuhan eksplan dilakukan setiap 7 hari, proses terbentuknya kalus/ tunas/ akar merupakan tolak ukur pertumbuhan.

7. Subkultur kalus

Subkultur kalus dilakukan untuk mencegah terjadinya kehabisan cadangan makanan pada kalus dan untuk menghasilkan banyak kalus. Dilakukan perbanyakan kalus yang telah tumbuh dengan cara dipotong dan dipindahkan pada medium dengan kadar ZPT yang sama. Proses ini harus dilakukan secara aseptis

dalam ruang entkas dan dilakukan inkubasi kembali hingga diperoleh warna kuning kejinggaan dengan kurun waktu \pm 8 minggu. Perbanyakan dilakukan hingga didapatkan kalus yang cukup banyak untuk diperoleh senyawa linalool dan α -pinene pada kalus Zodia.

8. Pengamatan

Pengamatan pertumbuhan eksplan dilakukan tiap 7 hari dengan tolok ukur pertumbuhan yaitu terbentuknya kalus.

8.1 Pertumbuhan kalus. Pertumbuhan ditandai dengan munculnya jaringan berwarna kehijauan pada permukaan eksplan.

8.2 Bobot segar total. Bobot segar total dinyatakan dalam satuan gram (g). Pengukuran bobot segar total dilakukan pada akhir pengamatan (waktu panen).

8.3 Prosentase keberhasilan. Penentuan prosentase keberhasilan dilakukan dengan menghitung perbandingan jumlah eksplan yang telah berhasil tumbuh membentuk kalus dengan jumlah seluruh eksplan yang ditanam dikalikan 100%.

9. Ekstraksi daun dan kalus daun Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff)

Daun Zodia beserta kalus daun Zodia, masing-masing ditimbang, dihaluskan dan dilarutkan dengan pelarut n-heksan. Penyaringan dilakukan dengan kertas saring. Pembilasan dilakukan hingga didapatkan filtrat sebanyak 50 ml. Hasil filtrat yang didapatkan dilakukan dimasukkan ke dalam botol yang telah diberi label.

10. Analisis kualitatif dan kuantitatif

Analisis kualitatif dan kuantitatif dilakukan dengan menginjeksikan filtrat ekstrak daun Zodia kalus pada kolom kromatografi gas dan mendeteksi senyawa yang terdapat dalam kalus daun Zodia. Komponen yang terpisah menuju detektor dan menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional dengan komponen tersebut. Sinyal tersebut diperkuat oleh amplifier dan oleh pencatat (*recorder*) dituliskan sebagai kromatogram berupa puncak (*peak*). Dari puncak ini bisa diketahui senyawa yang terkandung dalam kalus daun Zodia (Yazid, 2005).

11. Analisis data

Data yang sudah diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA 2 jalan untuk melihat apakah berbeda nyata atau tidak. Kemudian untuk membedakan antara perlakuan digunakan LSD dengan tingkat kepercayaan 95% (Gomez dan Gomez, 1995).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi dan Deskripsi Tanaman

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman *Evodia suaveolens* Scheff dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti demi menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain.

Hasil determinasi berdasarkan : Backer : Flora of Java

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 52b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78b – 103c – 104b – 106b – 107a – 108b – 109b – 134a – 135b – 136b – 137a – 138c – 139b – 140c – 185a. familia 133. Rutaceae. 1b – 2b – 5a – 6a. 2. *Evodia*. 1a – 2a – 3a – 4b – 6a – 7b. *Evodia suaveolens* Scheff.

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun zodia (*Evodia suaveolens* Scheff). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Deskripsi tanaman zodia dan pengambilan bahan tanaman

Zodia memiliki habitus perdu menahun, tumbuh tegak dan tinggi dapat mencapai 2 meter. Batang bulat, berwarna coklat, pada permukaan tampak tonjolan bekas menempelnya daun. Daun tunggal, berhadapan, bentuk memanjang sampai lancet, ujung runcing, pangkal runcing, panjang 11,2 – 23,5 cm, lebar 1,5 – 3,2 cm, tulang daun menyirip, permukaan licin, berwarna hijau muda kekuningan dan bau wangi spesifik. Bunga majemuk malai, muncul di ujung batang dan ketiak daun, sepala 4, petala 4, mula-mula berwarna putih kekuningan, kemudian berubah menjadi warna hijau dan benang sari 4. Buah berbentuk bulat telur, waktu muda hijau, setelah masak berwarna coklat, biji kecil, umumnya tiap buah terdapat 1 biji. Akar tunggang dan berwarna coklat.

B. Kultur Jaringan Tumbuhan

1. Hasil pembuatan media Murashige Skoog (MS)

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Murashige Skoog. Murashige Skoog merupakan media yang sering digunakan dalam kultur jaringan karena memiliki unsur hara makro, mikro dan vitamin yang cukup untuk pertumbuhan tanaman (Marlina, 2004).

Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6-benzyl amino purin (BAP) yang merupakan kelompok sitokinin dan 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) yang merupakan kelompok auksin (Saad, 2012). Zat pengatur tumbuh memiliki peran penting dalam mengatur kecepatan pertumbuhan jaringan guna menghasilkan bentuk tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004 dalam Lestari, 2011). Penggunaan auksin dan sitokinin dalam suatu media tumbuh untuk mempercepat pertumbuhan kalus, mendapatkan jumlah yang lebih banyak dan memacu proliferasi tunas. Auksin digunakan untuk menginduksi dan memacu pembentukan kalus dan akar, seringkali dalam konsentrasi yang relatif tinggi. Sitokinin digunakan untuk memacu multiplikasi tunas dan mampu membentuk tunas adventif menjadi lebih aktif (Pierik, 1987 dalam Lestari, 2011).

Kalus daun zodia berhasil tumbuh dalam media Murashige Skoog dengan pemberian zat pengatur tumbuh 6-benzyl amino purin (BAP) dengan kadar tinggi atau tanpa zat pengatur tumbuh 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D). Hal ini diperkirakan terjadi karena auksin endogen dalam eksplan daun zodia berperan aktif walaupun hanya dengan penambahan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin.

Tabel 4. Hasil pembuatan media Murashige Skoog (MS) setengah kuat dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D

Konsentrasi ZPT BAP : 2,4-D (<i>ppm</i>)	Volume total media MS (mL)	Jumlah botol
0,0 : 2,0	600	36
0,5 : 1,5	600	36
1,0 : 1,0	600	36
1,5 : 0,5	600	36
2,0 : 0,0	600	36

Tabel 4 menunjukkan hasil pembuatan media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D. Volume total media MS pada tiap konsentrasi zat pengatur tumbuh adalah 600 ml. Media dibagi menjadi 36 botol dengan ketinggian sama rata. Cara yang sama dilakukan untuk konsentrasi yang lain.

Keberhasilan pembuatan media yaitu media terbentuk gel atau padat, yang dipengaruhi oleh kestabilan pH. Menurut George (1984), dalam pembuatan media, pH larutan berkisar antara 5,7 - 5,8 karena pH menentukan kelarutan ketersediaan ion-ion, mineral dan kepadatan media. Jika pH terlalu asam ($\text{pH} < 5$) maka media tidak dapat memadat karena agar terhidrolisis. Media yang tidak memadat menyebabkan eksplan tenggelam dan tidak dapat tumbuh. Hal ini mengakibatkan eksplan kekurangan oksigen sehingga pertumbuhan kalus terhambat. Jika pH terlalu basa ($\text{pH} > 6$) maka sebagian garam dalam media akan mengendap dan memadat, sehingga nutrisi dalam eksplan yang dibutuhkan tidak terpenuhi dan pertumbuhan kalus kurang baik.

Media yang memiliki pH sekitar 5,7 - 5,8 dapat memadat dengan baik sehingga menghasilkan eksplan yang tidak tenggelam, kebutuhan oksigen dan nutrisi terpenuhi, garam mampu larut sempurna serta tumbuh baik, sehingga dapat digunakan dalam penelitian ini.

2. Hasil sterilisasi media, alat dan entkas

Sterilisasi merupakan tahap kunci keberhasilan yang harus dipenuhi dalam metode kultur jaringan. Sterilisasi dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Sterilisasi media dilakukan pada botol yang terisi media tumbuh dan ditutup dengan karet, yang bagian tengah karet disumbat kapas kering. Sterilisasi media dan larutan aquadestilata dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Jika waktu sterilisasi media sudah tercapai, tekanan autoklaf tidak boleh diturunkan secara mendadak karena cairan di dalam akan mendidih dan meluap. Media yang telah disterilkan diinkubasi di dalam ruangan selama 5 hari untuk memastikan keberhasilan sterilisasi. Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf karena media merupakan bahan yang dapat ditembus oleh uap air dan tidak rusak bila dipanaskan. Suhu yang digunakan untuk

sterilisasi tidak terlalu tinggi karena uap air mampu berkondensasi pada media yang disterilkan (Hadioetomo, 1985).

Sterilisasi alat menggunakan oven untuk menghilangkan bakteri, kapang dan jamur yang masih bertahan pada suhu 121°C. Sebelum dimasukkan ke dalam oven, dibungkus kertas atau aluminium foil dengan rapi supaya setelah dilakukan sterilisasi tidak terkontaminasi tangan. Sterilisasi erlenmeyer dilakukan dengan menutup mulut erlenmeyer dengan aluminium foil dengan tujuan mencegah bakteri atau mikroorganisme masuk dalam erlenmeyer.

Sterilisasi entkas dengan pemberian tablet formalin dalam cawan terbuka dan penyemprotan dinding dalam entkas dengan alkohol 70% kemudian didiamkan selama 24 jam. Penyemprotan alkohol 70% lebih efektif karena adanya molekul air sehingga alkohol 70% mampu bekerja mengkoagulasi protein daripada alkohol murni. Molekul air juga membantu memperlambat penguapan alkohol 70%. Pemberian tablet formalin dilakukan supaya mikroorganisme di dalam entkas mati. Formalin berfungsi sebagai bakterisida dan fungisida, dimana memiliki kemampuan menghancurkan spora bakteri dan fungi.

3. Sterilisasi eksplan

Eksplan yang berasal dari lingkungan alam memiliki kontaminan yang tinggi. Proses sterilisasi diperlukan untuk mematikan mikroorganisme yang menyebabkan eksplan mengalami kontaminasi.

Tabel 5. Sterilisasi eksplan daun zodia

No.	Larutan Sterilisasi	Konsentrasi (%)	Waktu (menit)
1.	Deterjen anti bakteri	-	± 5
2.	NaOCl	2,5	± 15
3.	NaOCl	1,25	± 15
4.	Alkohol	70	± 2

Tabel 5 menunjukkan bahwa sterilisasi eksplan daun zodia dilakukan dengan sterilisasi bertingkat. Konsentrasi dan waktu pada eksplan perlu diperhatikan agar didapatkan hasil pembentukan kalus yang optimal. Pencucian daun zodia dengan deterjen dan air mengalir bertujuan untuk mengurangi mikroba yang terdapat pada eksplan daun zodia. Selama proses sterilisasi dengan NaOCl, penggojogan ringan

dilakukan agar oksigen udara masuk ke dalam medium dan menghilangkan perbedaan derajat nutrisi dalam medium. Penggojogan kuat dapat menyebabkan kerusakan jaringan eksplan, sehingga eksplan tidak mengalami pertumbuhan. Penggunaan larutan NaOCl adalah sebagai desinfektan. Pemberian larutan NaOCl pada konsentrasi yang terlalu rendah dan waktu perendaman yang singkat menjadi kurang efektif dalam membunuh kontaminan seperti jamur dan bakteri. Seperti yang disampaikan oleh Rismayani dan Hamzah (2010) bahwa konsentrasi bahan sterilisasi yang kecil menyebabkan eksplan rentan terhadap patogen, namun apabila konsentrasi bahan sterilisasi semakin tinggi maka mampu menghambat perkembangan jaringan planlet pada tanaman *Aglaonema* sp. Tahap selanjutnya dengan alkohol, yang berfungsi sebagai antibakteri. Penggunaan NaOCl dan alkohol pada konsentrasi cukup tinggi dapat merusak jaringan eksplan dan menghambat pertumbuhan eksplan menjadi kalus. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Nasution (2013) yang menyatakan bahwa tidak adanya penggunaan bahan sterilisasi mampu mengurangi masalah *browning*, namun dengan konsentrasi yang cukup tinggi dapat menyebabkan *browning* dan menurunkan kemampuan regenerasi eksplan paulownia. Pencucian akhir menggunakan aquadest steril dengan tujuan menghilangkan pengaruh negatif dari desinfektan, sehingga sel pada eksplan dapat mengalami pertumbuhan dan berkembang.

4. Penanaman eksplan

Eksplan steril diletakkan dalam cawan petri steril dengan alas kertas steril yang mampu menyerap sisa cairan yang menempel pada eksplan. Eksplan dipotong simetris dengan ukuran lebih kurang 1 cm. Ukuran potongan eksplan dianggap tidak terlalu besar dan kecil. Jika ukuran potongan eksplan terlalu besar maka eksplan sulit masuk botol dan dapat bersentuhan dengan mulut botol, sehingga kemungkinan besar eksplan mengalami kontaminasi. Jika ukuran potongan eksplan terlalu kecil maka kalus lebih lama terbentuk. Bagian eksplan yang kontak dengan desinfektan dibuang, karena biasanya bagian tersebut merupakan sel yang telah mati yang disebabkan oleh pengaruh desinfektan. Eksplan dipotong dengan skalpel *disposable*.

Botol-botol yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak kultur dan diinkubasi dibawah sinar lampu neon sampai pada hari ketujuh untuk konsentrasi BAP:2,4-D 0:2 ppm; hari keenam untuk konsentrasi 0,5:1,5 ppm ; hari keempat untuk konsentrasi 1:1 ppm; hari keduabelas untuk konsentrasi 1,5:0,5 dan hari keempatbelas untuk konsentrasi 2:0 ppm, seperti ditunjukkan pada Tabel 7. Suhu inkubasi botol kalus adalah $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Eksplan yang tidak terkontaminasi ditandai dengan adanya pertumbuhan kalus pada daerah irisan eksplan. Tanda yang timbul adalah munculnya bintik-bintik putih dan pembengkakan di daerah irisan dan luka eksplan. Eksplan yang terkontaminasi ditandai dengan pertumbuhan jamur.

5. Subkultur kalus

Subkultur kalus dilakukan pada eksplan tumbuh kalus dengan baik. Kalus dipindahkan ke dalam media yang baru supaya tidak terjadi kekurangan nutrisi. Nutrisi dalam media yang lama semakin hari semakin berkurang, sehingga bisa menyebabkan terjadinya pencoklatan (*browning*). Subkultur dilakukan secara aseptis.

C. Hasil Pengamatan

1. Prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus dan kontaminasi kalus

Prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus dihitung perbandingan antara jumlah eksplan yang telah berhasil tumbuh membentuk kalus dengan jumlah seluruh eksplan yang ditanam dikalikan 100%.

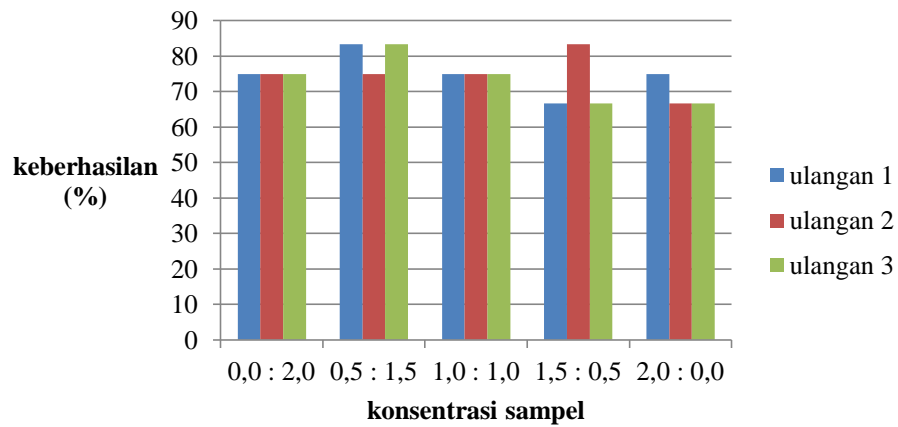
Prosentase kontaminasi kalus dihitung perbandingan antara jumlah eksplan yang terkontaminasi dengan jumlah seluruh eksplan yang ditanam dikalikan 100%.

Tabel 6. Keberhasilan eksplan membentuk kalus dan kontaminasi kalus

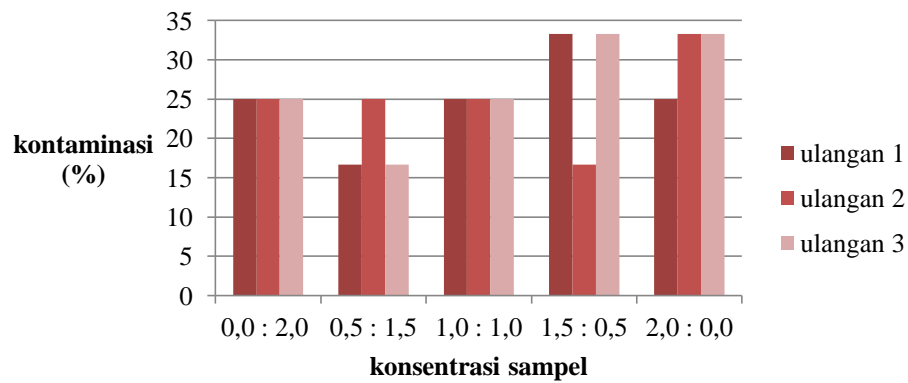
Ulangan	Keterangan	Konsentrasi BAP : 2,4-D (<i>ppm</i>)				
		S1	S2	S3	S4	S5
1	Jumlah eksplan	12	12	12	12	12
	Jumlah kalus tumbuh	9	10	9	8	9
	Jumlah kontaminan	3	2	3	4	3
	Keberhasilan kalus (%)	75,00	83,33	75,00	66,67	75,00
	Kontaminasi (%)	25,00	16,67	25,00	33,33	25,00
2	Jumlah eksplan	12	12	12	12	12
	Jumlah kalus tumbuh	9	9	9	10	8
	Jumlah kontaminan	3	3	3	2	4
	Keberhasilan kalus (%)	75,00	75,00	75,00	83,33	66,67
	Kontaminasi (%)	25,00	25,00	25,00	16,67	33,33
3	Jumlah eksplan	12	12	12	12	12
	Jumlah kalus tumbuh	9	10	9	8	8
	Jumlah kontaminan	3	2	3	4	4
	Keberhasilan kalus (%)	75,00	83,33	75,00	66,67	66,67
	Kontaminasi (%)	25,00	16,67	25,00	33,33	33,33
Keterangan :	S1 = sampel 1 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0:2) S2 = sampel 2 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0,5:1,5) S3 = sampel 3 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1:1) S4 = sampel 4 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1,5:0,5) S5 = sampel 5 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 2:0)					

Tabel 7. Waktu Induksi Kalus

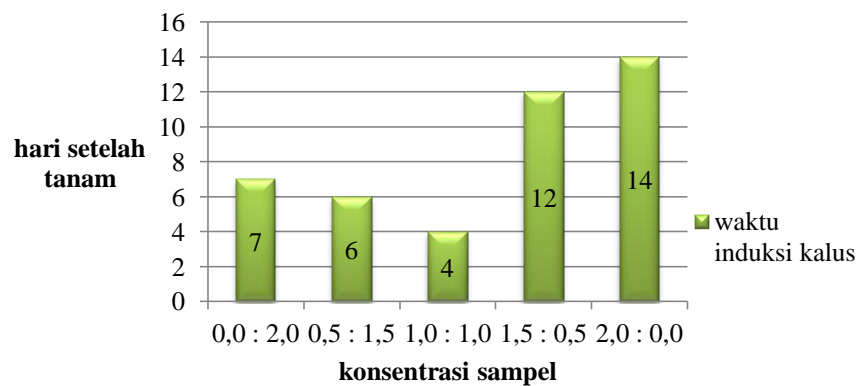
Konsentrasi BAP : 2,4-D (<i>ppm</i>)	Rata-rata waktu muncul kalus (hari setelah tanam)
0 : 2	7
0,5 : 1,5	6
1 : 1	4
1,5 : 0,5	12
2 : 0	14



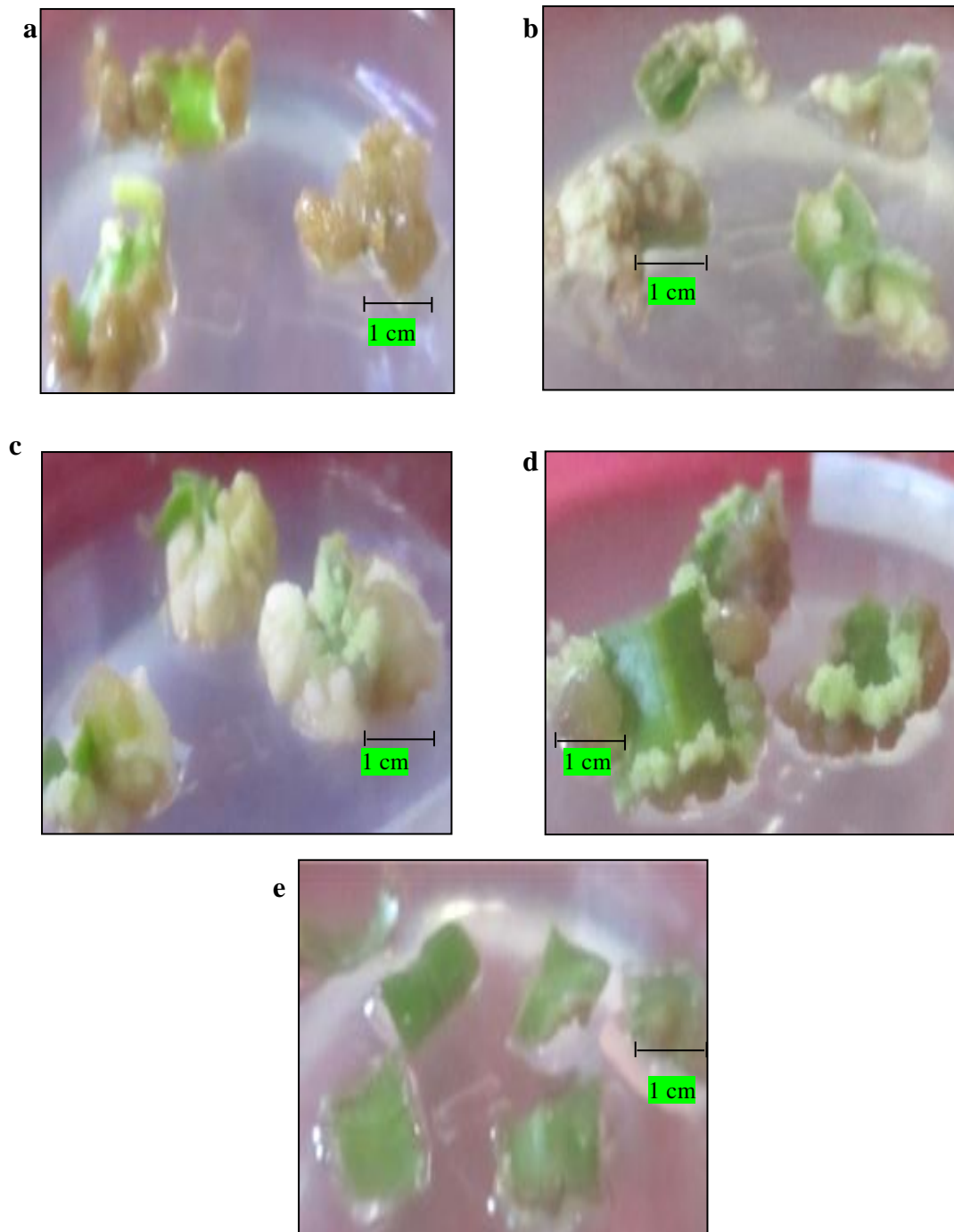
Gambar 6. Keberhasilan eksplan membentuk kalus



Gambar 7. Kontaminasi kalus dalam eksplan

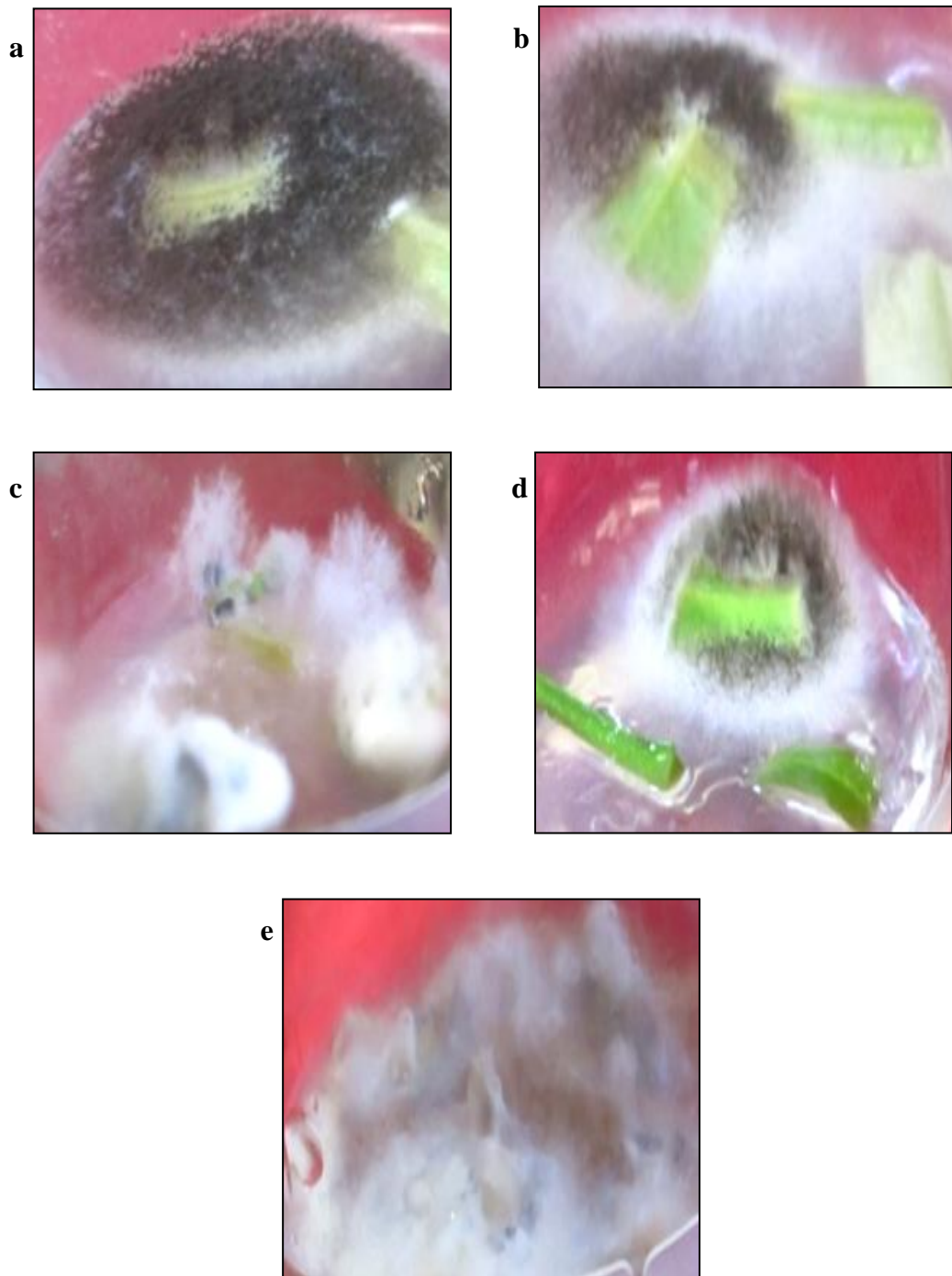


Gambar 8. Waktu induksi kalus setelah penanaman



Gambar 9. Keberhasilan eksplan membentuk kalus setelah inkubasi pada tiap konsentrasi.

- a. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0:2 ;
- b. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ;
- c. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1:1 ;
- d. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1,5:0,5 ;
- e. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 2:0.



Gambar 10. Kontaminasi eksplan pada kalus pada hari ke 7 setelah penanaman.

- a. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0:2 ;
- b. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ;
- c. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1:1 ;
- d. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1,5:0,5 ;
- e. Zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 2:0.

Tabel 6 menunjukkan keberhasilan eksplan membentuk kalus dan kontaminasi yang terjadi pada kalus tiap konsentrasi zat pengatur tumbuh. Hasil penelitian didapatkan bahwa pada keberhasilan kalus, zat pengatur tumbuh 2,4-D dengan konsentrasi tinggi mampu menumbuhkan eksplan menjadi kalus. 2,4-D memiliki peran dalam menginduksi pembentukan kalus. Pertumbuhan kalus ini sesuai dengan penelitian Lestari, 2011 yang menyatakan bahwa untuk memacu pembentukan kalus maka diperlukan auksin dalam konsentrasi yang relatif tinggi. Selain penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D, pertumbuhan kalus disebabkan karena zat pengatur tumbuh endogen tercukupi, sehingga memacu pertumbuhan dan pemanjangan kalus. Hal ini sesuai dengan penelitian Winata, 1987 dalam Lestari, 2011 yang menyatakan bahwa dalam pembentukan organ terdapat interaksi zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi jaringan tanaman dengan zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan dalam media.

Hasil zat pengatur tumbuh BAP dengan konsentrasi tinggi berbanding terbalik terhadap hasil zat pengatur tumbuh 2,4-D konsentrasi tinggi. BAP konsentrasi tinggi tidak mampu menumbuhkan kalus, namun hasil menunjukkan adanya pertumbuhan kalus. Hal ini diduga karena adanya zat pengatur tumbuh endogen dalam eksplan daun zodia.

Hasil antara zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D yang seimbang mampu menghasilkan pertumbuhan kalus dan pemanjangan kalus. Hal ini sesuai dengan penelitian Lestari, 2011 yang menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh BAP mampu memacu multiplikasi tunas dan 2,4-D mampu memacu pembentukan akar. Hal yang sama ditunjukkan dalam penelitian George dan Sherington (1984) yang menyatakan bahwa penambahan jumlah auksin dan sitokinin yang seimbang akan meningkatkan pertumbuhan kalus.

Daun pertama dan kedua dari ujung batang tanaman zodia lebih banyak memiliki jaringan meristem dibandingkan daun ketiga dan seterusnya, sehingga lebih mudah membentuk kalus. Kalus tumbuh karena adanya pelukaan yang diberikan pada eksplan. Pemotongan dan pelukaan eksplan juga dapat mengakibatkan munculnya kalus lebih banyak. Seperti pendapat Hendaryono dan Wijayani, 1994 yang mengemukakan bahwa semakin luas permukaan irisan eksplan maka

semakin banyak dan cepat kalus yang terbentuk. Setiap konsentrasi, kalus memiliki ukuran panjang yang berbeda-beda (Gambar 9).

Proses sterilisasi dapat mempengaruhi munculnya pembentukan kalus. Proses sterilisasi yang kurang tepat dapat menyebabkan kontaminasi eksplan (Gambar 10). Prosentase keberhasilan eksplan dalam membentuk kalus berbanding terbalik dengan prosentase kontaminasi pada kalus, seperti ditunjukkan pada gambar 6 dan 7. Kontaminasi disebabkan oleh sumber kontaminan yang berasal dari kontaminan eksternal (jamur atau bakteri) ataupun internal (bakteri yang sudah tumbuh di dalam jaringan). Seperti pendapat Zulkarnain (2009) yang menyatakan bahwa pada sistem kultur jaringan ada beberapa sumber kontaminasi mikroorganisme diantaranya sterilisasi medium tidak sempurna, prosedur sterilisasi kurang sempurna, lingkungan kerja dan proses penanaman kurang hati-hati dan teliti, kontaminan terbawa dalam jaringan (internal), kontaminan ada di permukaan eksplan (eksternal) dan serangga atau hewan kecil yang berhasil masuk dalam botol kultur setelah diletakkan dalam inkubasi.

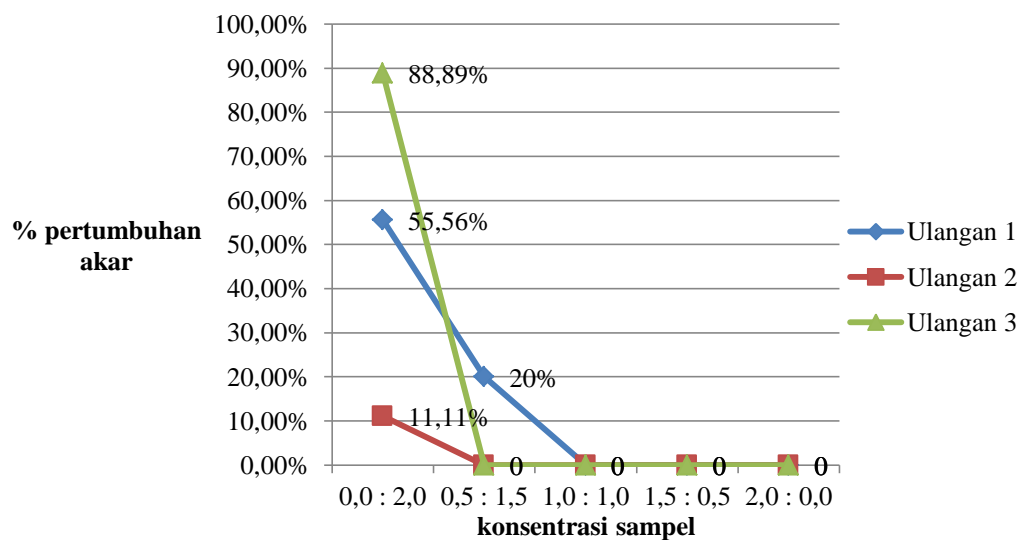
2. Prosentase pertumbuhan akar

Prosentase pertumbuhan akar dihitung perbandingan antara jumlah kalus tumbuh akar dengan jumlah eksplan berhasil membentuk kalus dikalikan 100%.

Tabel 8. Pertumbuhan akar pada berbagai konsentrasi

Ulangan	Keterangan	Konsentrasi BAP : 2,4-D (<i>ppm</i>)				
		S1	S2	S3	S4	S5
1	Jumlah kalus tumbuh	9	10	9	8	9
	Jumlah kalus tumbuh akar	5	2	0	0	0
	Pertumbuhan akar (%)	55,56	20,00	0,00	0,00	0,00
2	Jumlah kalus tumbuh	9	9	9	10	8
	Jumlah kalus tumbuh akar	1	0	0	0	0
	Pertumbuhan akar (%)	11,11	0,00	0,00	0,00	0,00
3	Jumlah kalus tumbuh	9	10	9	8	8
	Jumlah kalus tumbuh akar	8	0	0	0	0
	Pertumbuhan akar (%)	88,89	0,00	0,00	0,00	0,00

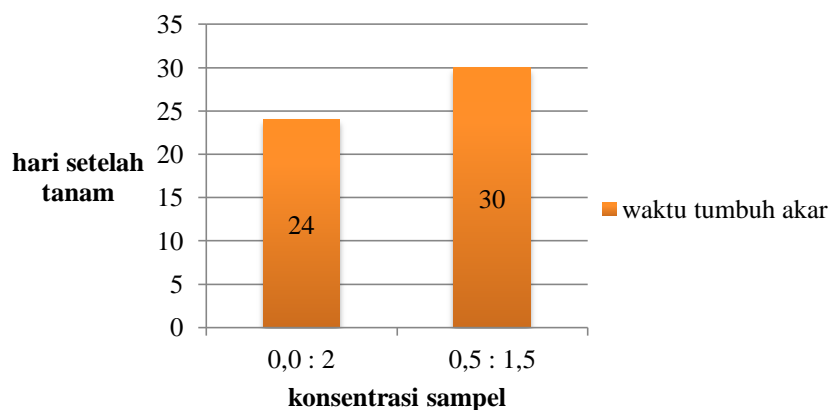
Keterangan :
 S1 = sampel 1 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0:2)
 S2 = sampel 2 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 0,5:1,5)
 S3 = sampel 3 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1:1)
 S4 = sampel 4 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1,5:0,5)
 S5 = sampel 5 (zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 2:0)



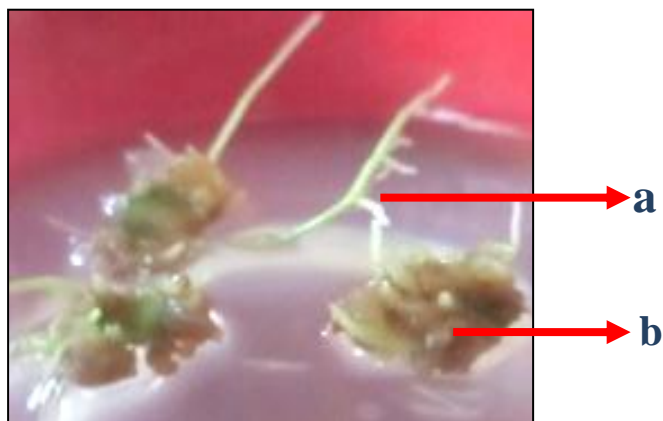
Gambar 11. Pertumbuhan akar pada berbagai konsentrasi

Tabel 9. Rata-rata Waktu Pertumbuhan Akar

Konsentrasi BAP : 2,4-D (ppm)	Rata-rata waktu tumbuh akar (hari setelah tanam)
0 : 2	24
0,5 : 1,5	30



Gambar 12. Waktu tumbuh akar setelah penanaman



Gambar 13. Pertumbuhan akar pada kalus

- a. Akar
- b. Kalus yang tumbuh

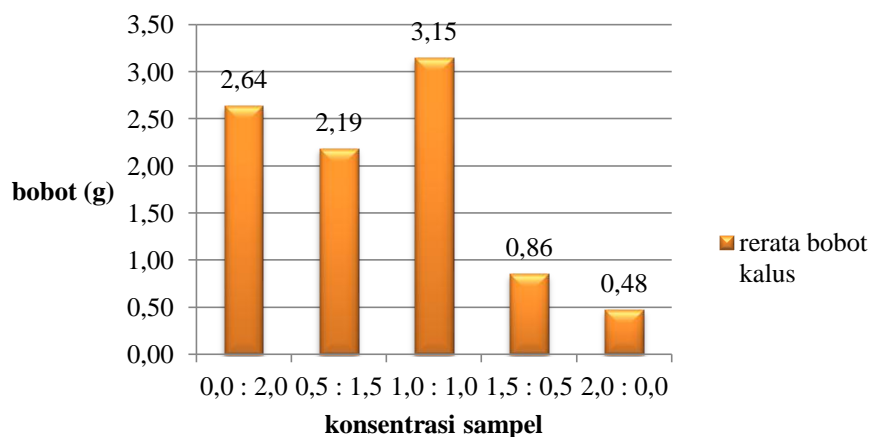
Pertumbuhan akar dimulai dengan terbentuknya tonjolan sel-sel berwarna putih pada permukaan kalus dan kemudian membentuk organ, seperti ditunjukkan pada gambar 13. Tabel 8 menunjukkan pertumbuhan akar pada berbagai konsentrasi dengan 3 kali pengulangan. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka kalus cenderung membentuk akar dan semakin rendah konsentrasi 2,4-D maka akar tidak terbentuk, seperti ditunjukkan gambar 11. Hal ini sesuai dengan pendapat George dan Sherrington, 1984 dalam Fitrianti, 2006 bahwa auksin dan sitokinin memiliki pengaruh besar terhadap pertumbuhan kalus, semakin tinggi penambahan auksin maka akan memicu pertumbuhan akar. Pertumbuhan akar diimbangi dengan pengurangan konsentrasi sitokinin. Penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D mampu mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar (Santoso dan Nursandi, 2003). Tabel 9 menunjukkan waktu yang dibutuhkan kalus dalam membentuk akar. Akar mampu tumbuh pada kalus dengan penambahan sedikit atau tanpa zat pengatur tumbuh sitokinin.

3. Bobot segar kalus daun zodia

Bobot segar kalus dilakukan dengan menghitung jumlah total kalus yang didapatkan pada tiap konsentrasi dibagi pengulangan.

Tabel 10. Rerata bobot segar kalus

Konsentrasi BAP : 2,4-D (ppm)				
0 : 2	0,5 : 1,5	1 : 1	1,5 : 0,5	2 : 0
2,64 ± 1,91	2,19 ± 1,04	3,15 ± 1,29	0,86 ± 0,76	0,48 ± 0,52

**Gambar 14. Rerata bobot segar kalus**

Tabel 10 menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki rerata bobot segar kalus berdasarkan standar deviasi yang berbeda. Sampel ketiga memiliki bobot kalus yang paling besar dengan pemberian zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D yang seimbang yaitu 1:1 ppm, seperti yang ditunjukkan gambar 14. Hal ini diduga karena keseimbangan antara zat pengatur tumbuh BAP dan 2,4-D, sehingga mampu mendorong pembentukan kalus secara optimal. Selain itu beratnya kalus disebabkan oleh adanya kandungan air dalam kalus.

4. Warna dan tekstur kalus pada tiap konsentrasi

Kalus memiliki tekstur dan warna yang berbeda. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi kalus remah, kompak dan basah. Perbedaan tekstur ini berdasarkan susunan sel pada kalus. Perbedaan warna dapat disebabkan oleh beberapa hal antara lain senyawa fenol yang terkandung dan perlakuan subkultur.

Tabel 11. Warna dan tekstur kalus tiap konsentrasi

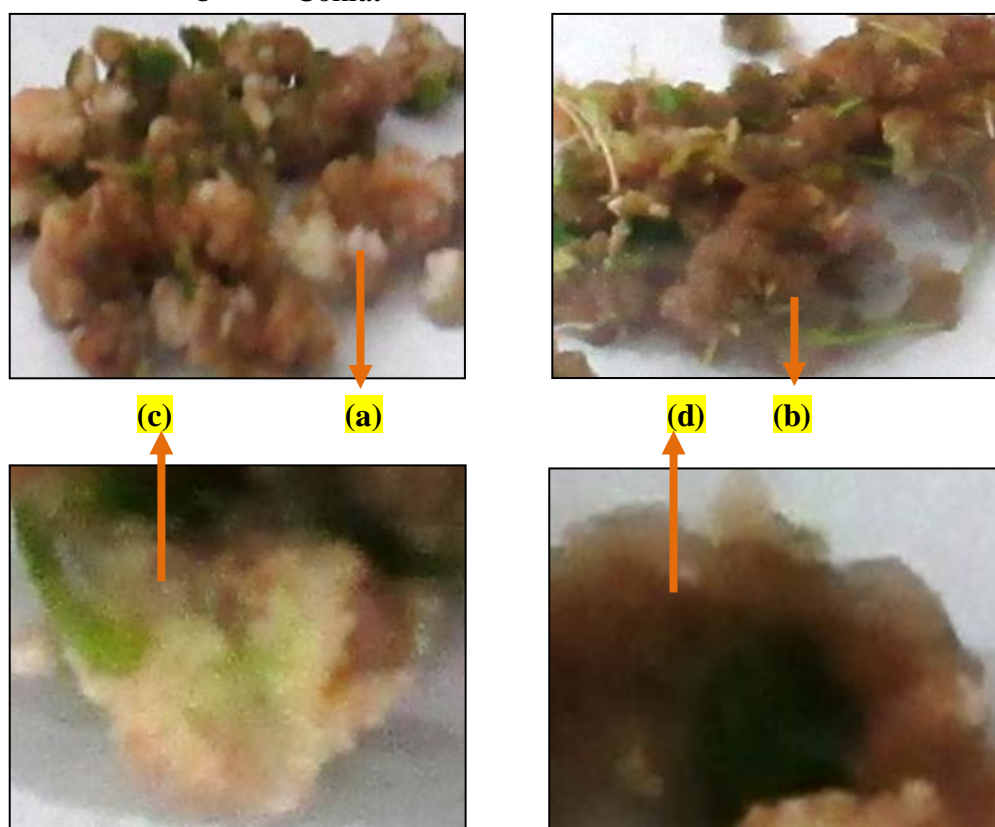
Konsentrasi BAP : 2,4-D (ppm)	Tekstur			Warna		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3
S1	remah	remah	remah	PH	C	C
S2	remah	remah	remah	PK	KJ, C	PK, KJ
S3	remah	remah	remah	PK	PK, KJ	KJ, C
S4	remah	remah	remah	PK	PK	PH
S5	remah	remah	remah	PK	PH	PH

Keterangan: PH = Putih Kehijauan

PK = Putih Kecoklatan

KJ = Kuning Kejinggaan

C = Coklat



Gambar 15. Perbedaan warna kalus setelah perlakuan subkultur

- a. Putih kehijauan
- b. Putih kecoklatan
- c. Kuning kejinggaan
- d. Coklat



Gambar 16. Tekstur remah yang dimiliki kalus

Tabel 11 menunjukkan hasil warna dan tekstur kalus tiap konsentrasi setelah perlakuan subkultur kemudian dipanen. Subkultur dilakukan pada minggu keempat dan pemanenan pada minggu kedelapan. Tekstur yang dihasilkan tiap sampel adalah kalus remah, tekstur yang dimiliki lunak dan terdapat ruang antar sel yang banyak, seperti yang ditunjukkan gambar 16.

Kalus menghasilkan warna putih kehijauan. Warna putih pada kalus yang masih muda berubah menjadi kehijauan, seperti ditunjukkan gambar 15. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahayu, 2003 yang menyatakan warna hijau pada kalus karena adanya perubahan pigmentasi. Hal ini terjadi karena tingginya konsentrasi 2,4-D dapat menyebabkan terjadinya pembelahan sel.

Kalus yang menghasilkan warna kuning kejinggaan karena adanya penuaan sel. Kalus yang menghasilkan warna coklat dan putih kecoklatan dapat disebabkan karena kalus tidak dilakukan subkultur sehingga nutrisi yang diserap oleh eksplan menurun kemudian kalus mengalami pencoklatan (*browning*). Pencoklatan bisa terjadi karena senyawa fenol yang terkandung mengalami oksidasi. Jika hal ini berlanjut maka akan terjadi akumulasi senyawa toksik dan eksplan mengalami kematian (Aziz, 2014).

D. Hasil Analisis Kandungan Senyawa

Analisis dilakukan dengan mengambil cuplikan tiap sampel sebanyak 2 μ l untuk diinjeksikan ke dalam kolom kromatografi gas dan dianalisis kandungan

senyawanya. Kromatografi gas merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit dan senyawa yang mudah menguap. Fase gerak yang digunakan berupa gas yaitu nitrogen. Nitrogen lebih banyak digunakan karena harganya murah, inert, aman dan mudah didapat. Prinsip utama dalam pemisahan kromatografi gas adalah perbedaan laju migrasi masing-masing komponen dalam melalui kolom (waktu retensi / tR).

Tabel 10 menunjukkan hasil waktu retensi standar α -pinene, linalool dan sampel kalus setelah dilakukan analisis dengan kromatografi gas. α -pinene dan linalool merupakan minyak atsiri golongan terpenoid yang biasanya terdapat dalam tanaman, bunga dan rempah-rempah, salah satunya adalah daun zodia. Bau yang dimiliki daun zodia menguap dan khas menyengat sehingga mampu menghalau nyamuk dan serangga (*repellant*) dengan daya proteksi lebih dari 70%.

Tabel 12. Waktu retensi standar dan sampel

No.	Nama standar/ sampel	Waktu retensi (tR)
1.	standar α -pinene	3,614
2.	standar linalool	16,768
3.	A	1. 2,920 2. 3,156 3. 3,308
4.	B	1. 2,922 2. 3,156 3. 3,306
5.	C	1. 3,163 2. 3,312

Keterangan :

A = sampel daun muda

B = sampel daun tua

C = sampel kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D 1: 1
ppm

Standar α -pinene menghasilkan waktu retensi 3,614 dan standar linalool menghasilkan waktu retensi 16,768. Sampel A merupakan daun muda, menghasilkan 3 puncak dengan waktu retensi berbeda-beda. Waktu retensi pertama yaitu 2,920, waktu retensi kedua yaitu 3,156 dan waktu retensi ketiga yaitu 3,308. Ketiga waktu retensi ini, hanya waktu retensi ketiga yang diperkirakan mengandung α -pinene. Hal ini diduga karena waktu retensi ketiga

memiliki nilai yang hampir mendekati standar α -pinene dan tidak mengandung linalool. Hal ini karena daun zodia muda masih aktif tumbuh dan membutuhkan metabolit primer sehingga senyawa metabolit sekunder belum terbentuk. Senyawa metabolit primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel tersebut.

Sampel B merupakan daun zodia tua, menghasilkan 3 puncak dengan waktu retensi yang berbeda pula. Waktu retensi yang dihasilkan memiliki nilai yang hampir sama dengan daun muda. Waktu retensi pertama yaitu 2,922, waktu retensi kedua yaitu 3,156 dan waktu retensi ketiga yaitu 3,306. Nilai waktu retensi ketiga mendekati nilai waktu retensi standar α -pinene, sehingga diperkirakan mengandung α -pinene dan tidak mengandung linalool. Hal ini diduga terjadi karena pembentukan metabolit primer pada daun zodia tua belum optimal, sehingga metabolit sekunder belum terbentuk.

Sampel C merupakan kalus yang dibuat dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP : 2,4-D dengan perbandingan 1 : 1 ppm menghasilkan 2 puncak dengan waktu retensi yang berbeda. Puncak tertinggi memiliki waktu retensi 3,312. Nilai waktu retensi ini mendekati nilai waktu retensi sampel α -pinene. Hal ini diperkirakan sampel C mengandung α -pinene dan tidak mengandung linalool. Hal ini diduga karena kalus daun zodia yang tumbuh masih aktif dalam pembentukan metabolit primer sehingga belum terbentuk metabolit sekunder.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, penambahan ZPT BAP dan 2,4-D pada media MS setengah kuat mempercepat pertumbuhan dan pembentukan kalus.

Kedua, konsentrasi zpt BAP : 2,4-D dengan perbandingan 1 : 1 *ppm* menunjukkan konsentrasi terbaik dan tercepat menghasilkan kalus daun zodia.

Ketiga, kalus daun zodia tidak mengandung senyawa α -pinene dan linalool.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap waktu pertumbuhan kalus daun zodia sehingga didapatkan metabolit sekunder.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan eksplan yang sama dengan metode kultur jaringan yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariati SN, Waeniati, Muslimin, Suwastika IN. 2012. Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa. *Jurnal Natural Science* Vol 1 (1) : 74-84.
- Aziz MM, Ratnasari E, Rahayu YS. 2014. Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP secara *in vitro*. *Jurnal LenteraBio* Vol. 3 No. 2 : 109-114.
- Dahniar AR. 2011. Pengaruh Asap Obat Nyamuk terhadap Kesehatan dan Struktur Histologi Sistem Pernafasan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* Volume 11 No. 1.
- [Depkes RI]. 2003. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid VI. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fitrianti A. 2006. Efektifitas Asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun [Skripsi]. Semarang. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Semarang.
- Frayekti MC. 2013. *Makalah Kromatografi Gas*. LNG Academy. Badak NGL, PT.
- Gamborg OL. 1991. Kalus dan kultur sel, hal. 1-13. *Dalam* L.R. Wetter, F. Constabel (Eds.). *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Penerbit ITB. Bandung.
- George EF dan Sherrington PD. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*, Exegetics Ltd, England. Pp. 3, 17, 228,119.
- Gomez KA dan Gomez AA. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. (Terjemahan). E. Syamsudin dan J. S. Baharsjah. UI Press. Jakarta. 698 hal.
- Gunawan LW. 1995. *Teknik Kultur in vitro dalam Hortikultural*. Jakarta. Penebar Swadaya, PT.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi II, Hal 4-7 : 69-76. ITB. Bandung

- Hendaryono SDP dan Wijayani A. 1994. *Teknik kultur jaringan: pengenalan dan petunjuk perbanyakan tanaman secara vegetatif-modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Henuhili V. 2013. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jardik Biologi. UNY.
- Kardinan A. 2004. *Zodia (Evodia suaveolens) Tanaman Pengusir Nyamuk*. Balitro : Tabloid Sinar Tani.
- Lestari EG. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen* 7 (1) : 63-68.
- Lucas, Howard J, David Pressman. 1949. *Principles and Practice In Organic Chemistry*. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Marlina N. 2004. Teknik Modifikasi Media Murashige dan Skoog (MS) untuk Konservasi *in vitro* Mawar (*Rossa* spp.). *Buletin Teknik Pertanian Vol. 9, Nomor 1*.
- Marwati S. 2011. Pengenalan dan Pelatihan Budidaya Tumbuhan Anti Nyamuk di Kelompok PKK Kricak Kidul Tegalrejo Yogyakarta. Yogyakarta. Kelompok PKK.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* Vol. VII No. 2.
- Nasution SS. 2013. Pengaruh Teknik Sterilisasi terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan *Paulownia (Paulownia elongata* SY. Hu) secara *in vitro* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Nursyamsi. 2010. *Teknik Kultur Jaringan sebagai Alternatif Perbanyakan Tanaman untuk Mendukung Rehabilitasi Lahan*. Makasar. Balai Penelitian Kehutanan.
- Pelczar MJ dan Chan ECS. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press.
- Rahayu B, Solichatun, Anggarwulan E. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi* 1 (1) : 1-6.
- Raynalta E dan Sukma D. 2013. Pengaruh Komposisi Media dalam Perbanyakan *Protocorm Like Bodies*, Pertumbuhan Plantlet dan Aklimatisasi *Phalaenopsis amabilis*. *Jurnal Hort Indonesia* 4(3):131-139.

- Rismayani dan Hamzah F. 2010. Pengaruh pemberian clorox (NaOCl) pada sterilisasi permukaan untuk perkembangan bibit *Aglaonema (Donna carmen)* secara *in vitro*. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEJ dan PFJ XX Komisariat Daerah Sulawesi Selatan, 27 Mei 2010.
- Rusdianto dan Indrianto A. 2012. Induksi Kalus Embriogenik pada Wortel (*Daucus carota* L.) menggunakan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Jurnal Bionature* Vol. 13 No. 2 : 136-140.
- Saad AIM dan Elshahed AM. 2012. *Plant Tissue Culture Media*. Croatia. InTech.
- Santoso U dan Nursandi F. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM PRESS.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendari Noerong. Edisi V, 564-573. Yogyakarta. UGM Press.
- Wiryoedjoyo K. dan Supriyadi. 2014. Induksi Kalus Daun Zodia pada Beberapa Media Tumbuh untuk Produksi Senyawa Anti-Nyamuk. Usulan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Yazid E. 2005. *Kimia Fisika untuk Paramedis*. Yogyakarta : Andi.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman. Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta. Bumi Aksara.

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman zodia



No : 169/DET/UPT-LAB/23/III/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Maria Kusumawati
NIM : 19133890 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.)**

Determinasi berdasarkan **Backer : Flora of Java.**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b –
26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b
– 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b –
76a – 77a – 78b – 103c – 104b – 106b – 107a – 108b – 109b – 134a – 135b – 136b – 137a –
138c – 139b – 140c – 185a. familia 133. Rutaceae. 1b – 2b – 5a – 6a. 2. *Evodia*. 1a – 2a – 3a –
4b – 6a – 7b. *Evodia suaveolens* Scheff.

Deskripsi :

- Habitus : Perdu menahun, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 2 meter.
- Batang : Bulat, berwarna coklat, pada permukaan tampak tonjolan bekas menempelnya daun.
- Daun : Tunggal, berhadapan, bentuk memanjang sampai lanset, ujung runcing, pangkal runcing, panjang 11,2 – 23,5 cm, lebar 1,5 – 3,2 cm, tulang daun menyirip, permukaan licin, berwarna hijau muda kekuningan, bau “wangi” spesifik.
- Bunga : Majemuk malai, muncul di ujung batang dan ketiak daun, sepala 4, petala 4, mula-mula berwarna putih kekuningan, kemudian berubah menjadi berwarna hijau, benangsari 4.
- Buah : Bentuk bulat telur, waktu muda hijau, setelah masak berwarna coklat, biji kecil, umumnya tiap buah terdapat 1 biji.
- Akar : Tunggang, berwarna coklat.
- Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands

Surakarta, 23 Maret 2017
Ttn determinasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Pembuatan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh dan Larutan Sterilisasi

1. Pembuatan Larutan Stok 6-Benzylaminopurin (BAP)

BAP ditimbang 5 mg, dilarutkan dengan KOH 10% hingga tepat larut dan dimasukkan labu takar 50 ml dan ditambah aquadestilata sampai tanda batas. Larutan stok dibuat seri konsentrasi 0,5; 1; 1,5 dan 2 ppm sebanyak 600 ml dengan perhitungan sebagai berikut:

Konsentrasi 0,5 ppm

$$V1 \text{ (mL)} \times C1(\text{ppm}) = V2 \text{ (mL)} \times C2 \text{ (ppm)}$$

$$V1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 0,5 \text{ ppm}$$

$$V1 = 3 \text{ mL}$$

Konsentrasi 1 ppm

$$V1 \text{ (mL)} \times C1 \text{ (ppm)} = V2 \text{ (mL)} \times C2 \text{ (ppm)}$$

$$V1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}$$

$$V1 = 6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 1,5 ppm

$$V1 \text{ (mL)} \times C1 \text{ (ppm)} = V2 \text{ (mL)} \times C2 \text{ (ppm)}$$

$$V1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 1,5 \text{ ppm}$$

$$V1 = 9 \text{ mL}$$

Konsentrasi 2 ppm

$$V1 \text{ (mL)} \times C1 \text{ (ppm)} = V2 \text{ (mL)} \times C2 \text{ (ppm)}$$

$$V1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V1 = 12 \text{ mL}$$

2. Pembuatan Larutan Stok 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

2,4-D ditimbang 5 mg, dilarutkan dengan KOH 10% hingga tepat larut dan dimasukkan labu takar 50 ml dan ditambah aquadestilata sampai tanda batas. Larutan stok dibuat seri konsentrasi 0,5; 1; 1,5 dan 2 ppm sebanyak 600 ml dengan perhitungan sebagai berikut:

Konsentrasi 0,5 ppm

$$V1 \text{ (mL)} \times C1(\text{ppm}) = V2 \text{ (mL)} \times C2 \text{ (ppm)}$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 0,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \text{ (mL)} \times C_1 \text{ (ppm)} = V_2 \text{ (mL)} \times C_2 \text{ (ppm)}$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 1,5 ppm

$$V_1 \text{ (mL)} \times C_1 \text{ (ppm)} = V_2 \text{ (mL)} \times C_2 \text{ (ppm)}$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 1,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 9 \text{ mL}$$

Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 \text{ (mL)} \times C_1 \text{ (ppm)} = V_2 \text{ (mL)} \times C_2 \text{ (ppm)}$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 600 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 12 \text{ mL}$$

3. Pembuatan Larutan NaOCl 2,5%

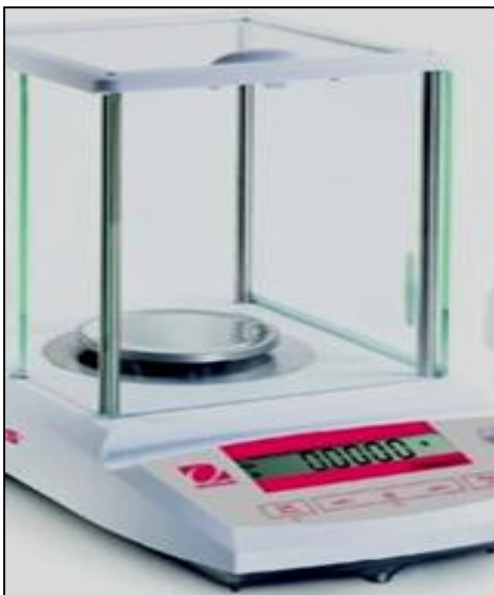
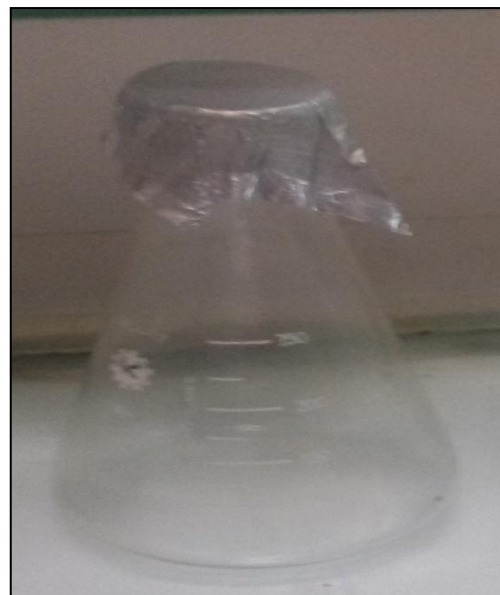
NaOCl diukur 50 mL dan ditambah aquadestilata sampai 100 mL.

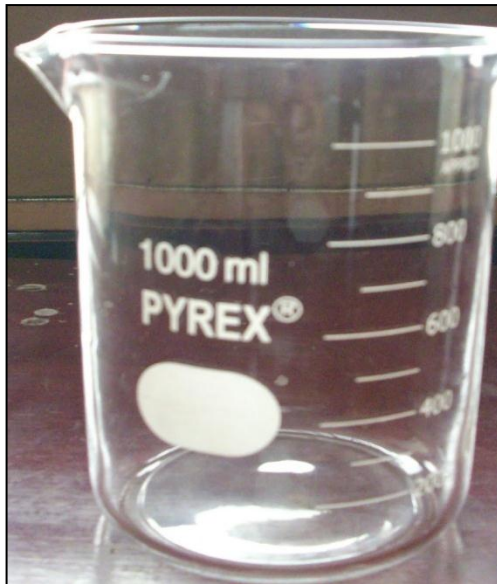
4. Pembuatan Larutan NaOCl 1,25%

NaOCl diukur 25 mL dan ditambah aquadestilata sampai 100 mL.

5. Pembuatan Larutan Alkohol 70%

Alkohol diukur 70 mL dan ditambah aquadestilata sampai 100 mL.

Lampiran 3. Gambar Alat-alat yang Digunakan**Gambar 1. Botol Kultur****Gambar 2. Autoklaf untuk sterilisasi****Gambar 3. Timbangan analitik****Gambar 4. Erlenmeyer**



Gambar 5. Beker glass



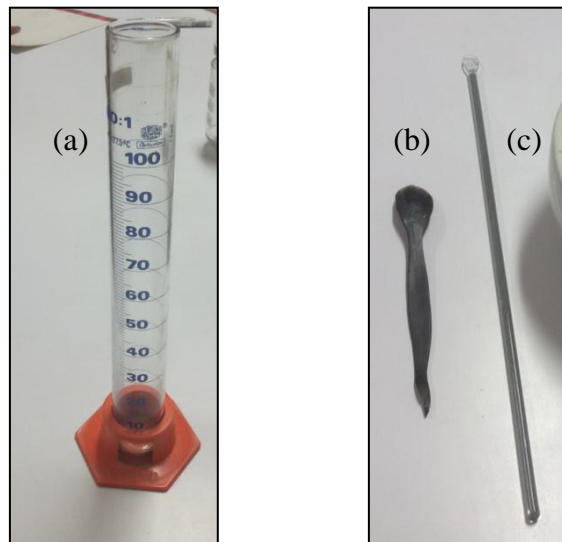
Gambar 6. Pipet volume 2 mL



Gambar 7. Labu Takar 50 mL



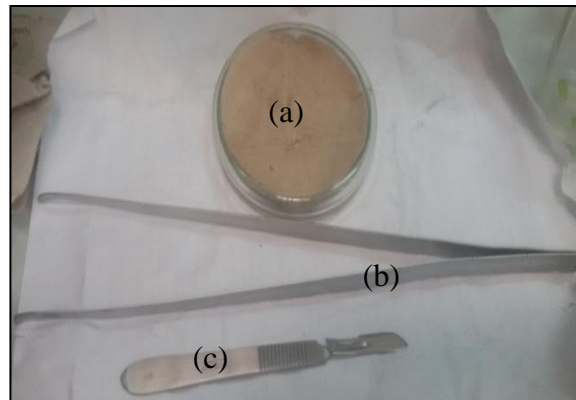
Gambar 8. Corong kaca



Gambar 9. (a) Gelas ukur 100 mL, (b) sendok tanduk dan (c) batang pengaduk



Gambar 10. Mortir dan stamper



Gambar 11. (a) Cawan Petri, (b) Pinset dan (c) Skalpel



Gambar 12. Botol aquadestilata steril



Gambar 13. Entkas

Lampiran 4. Gambar Penanaman Eksplan, Inkubasi Eksplan dan Pertumbuhan Kalus

1. Gambar Penanaman Eksplan



Gambar 14. (a) Ditutup dengan tutup karet dan alumunium foil
(b) Pelabelan
(c) Eksplan yang ditanam

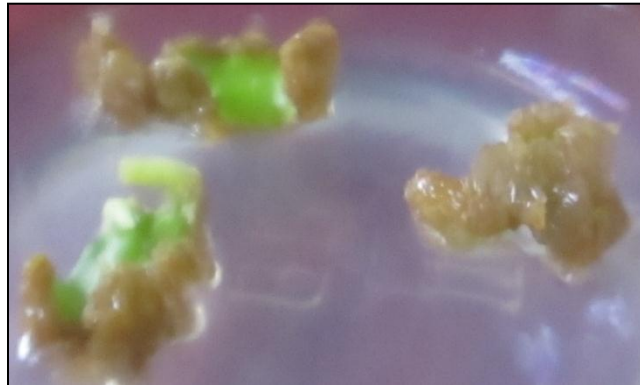
2. Gambar Eksplan Diinkubasi



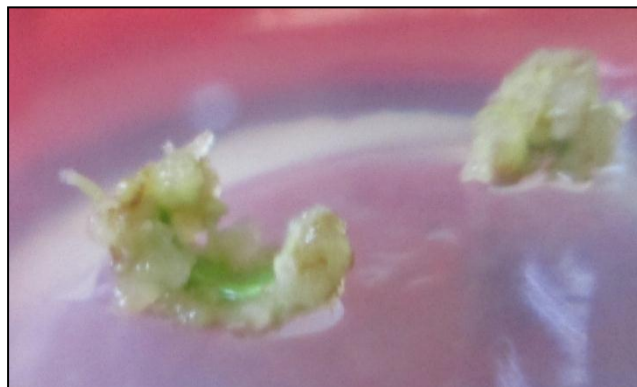
Gambar 15. Eksplan diinkubasi dibawah sinar lampu neon

3. Gambar Pertumbuhan Kalus Tiap Konsentrasi

- Konsentrasi BAP : 2,4-D 0 : 2 ppm



Gambar 16. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0:2 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 1



Gambar 17. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0:2 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 2

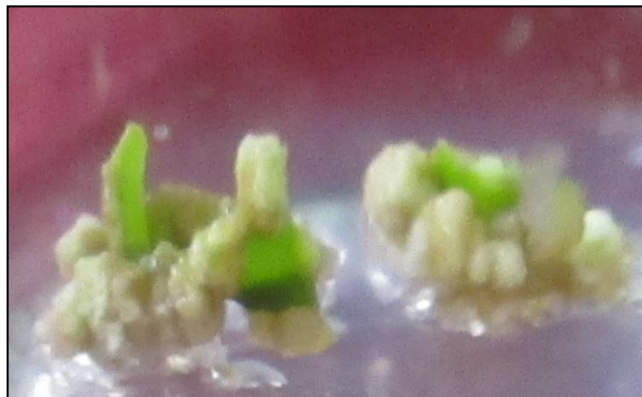


Gambar 18. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0:2 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 3

- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 0,5 : 1,5 ppm**



Gambar 19. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 1



Gambar 20. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 2



Gambar 21. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 0,5:1,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 3

- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm**



Gambar 22. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 1

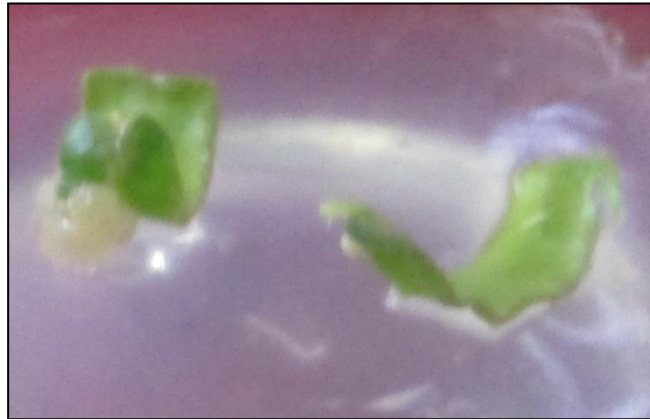


Gambar 23. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 2

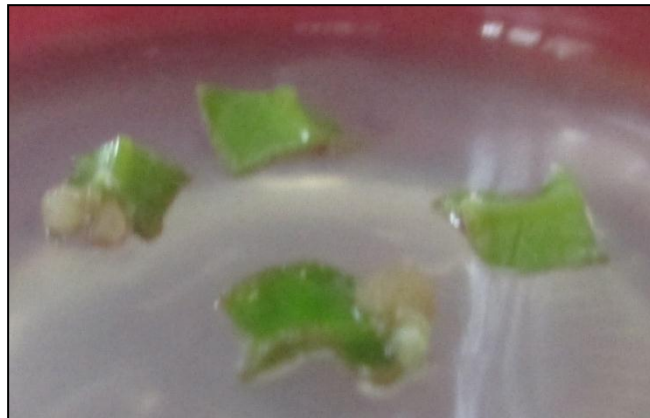


Gambar 24. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 3

- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 1,5 : 0,5 ppm**



Gambar 25. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 1



Gambar 26. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 2

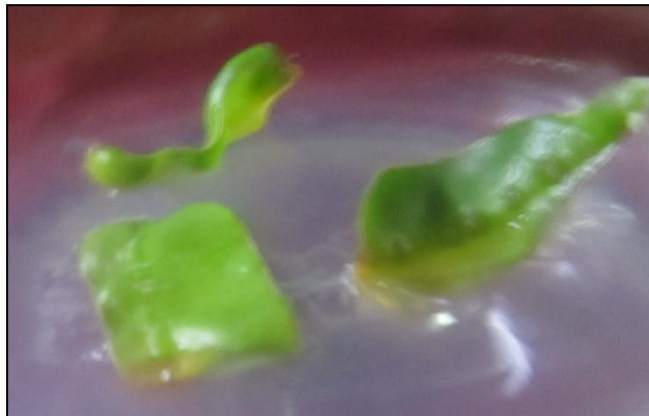


Gambar 27. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 3

- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm**



Gambar 28. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 1



Gambar 29. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 2



Gambar 30. Kalus dengan zpt BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat Ulangan 3

Lampiran 5. Gambar eksplan yang terkontaminasi



Gambar 31. Eksplan terkontaminasi secara internal

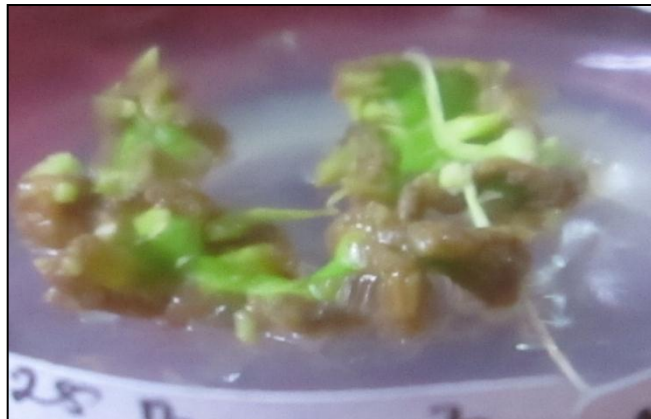


Gambar 32. Eksplan terkontaminasi karena pencoklatan

Lampiran 6. Gambar Pertumbuhan Akar pada Eksplan



Gambar 33. Pertumbuhan akar pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm dalam media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 34. Pertumbuhan akar pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm dalam media MS setengah kuat ulangan 2

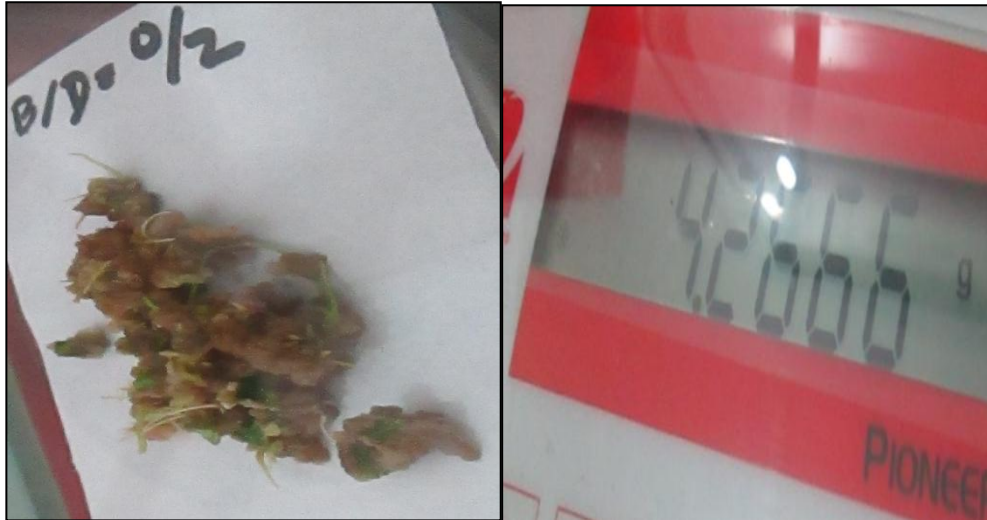


Gambar 35. Pertumbuhan akar pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm dalam media MS setengah kuat ulangan 3



Gambar 36. Pertumbuhan akar pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0,5 : 1,5 ppm dalam media MS setengah kuat ulangan 1

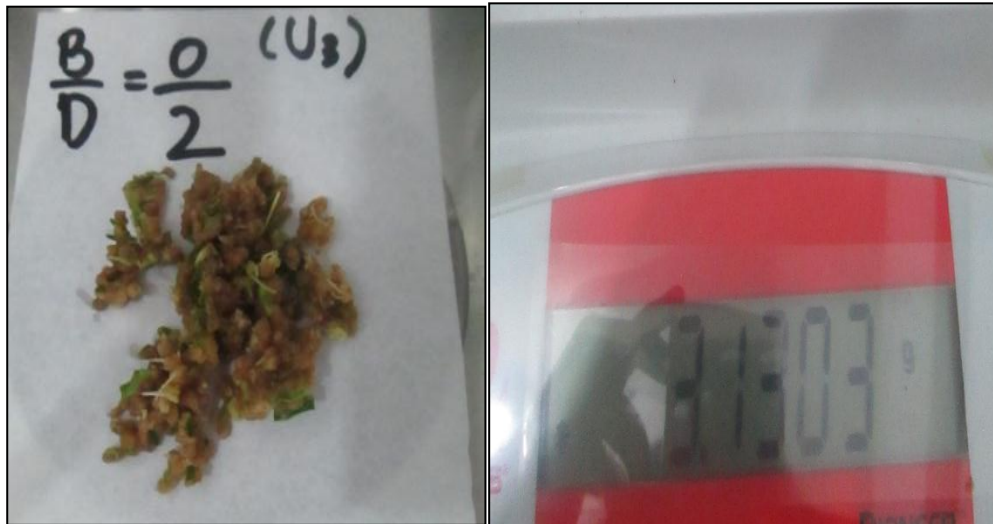
Lampiran 7. Gambar Penimbangan Kalus
- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm**



Gambar 37. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 38. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 2

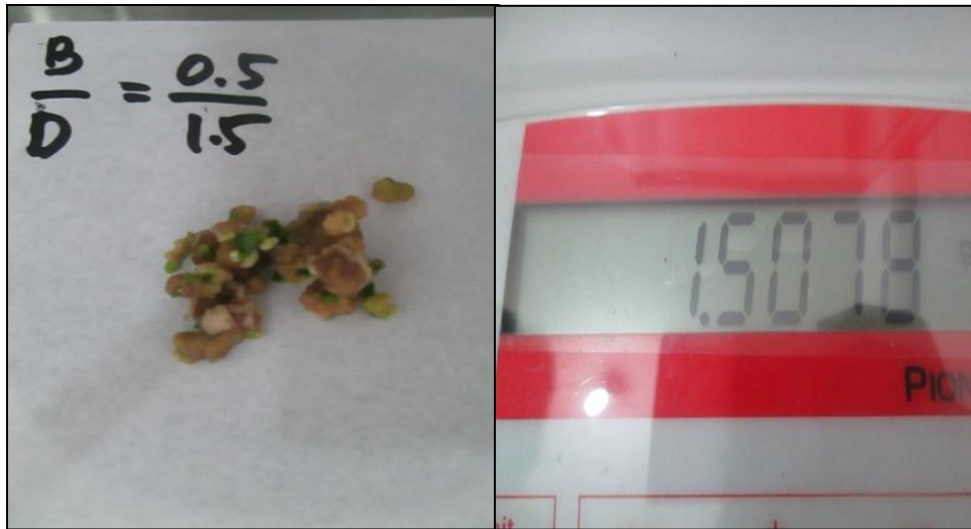


Gambar 39. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0 : 2 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 3

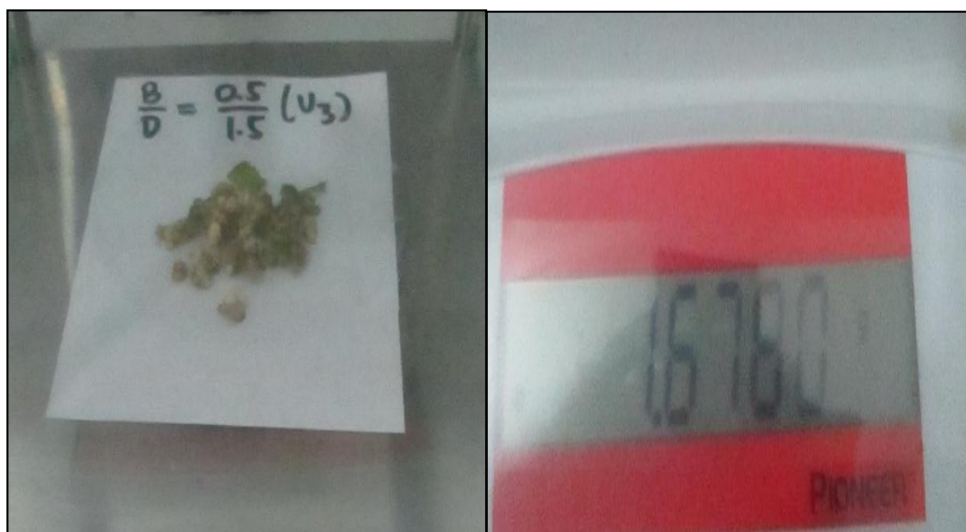
- Konsentrasi BAP : 2,4-D 0,5 : 1,5 ppm



Gambar 40. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0,5 : 1,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 41. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0,5 : 1,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 2

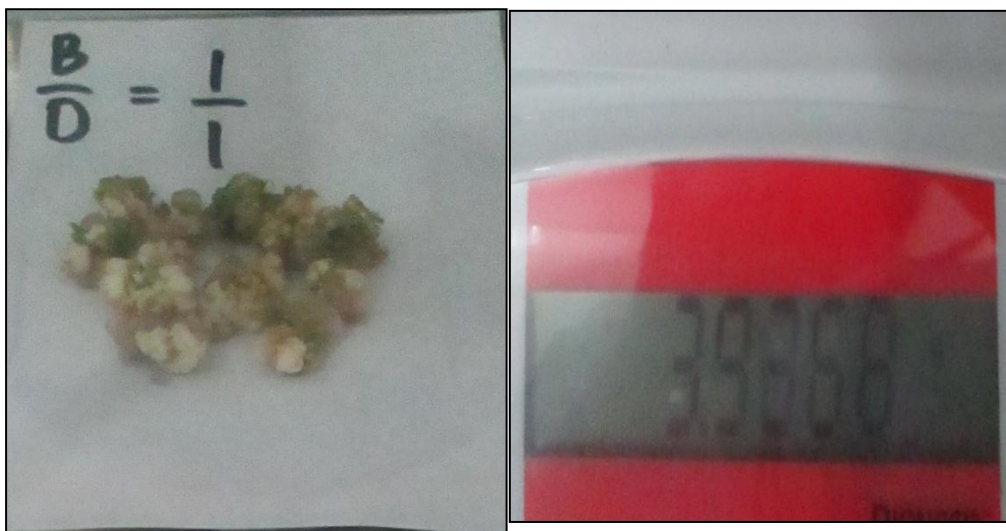


Gambar 42. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 0,5 : 1,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 3

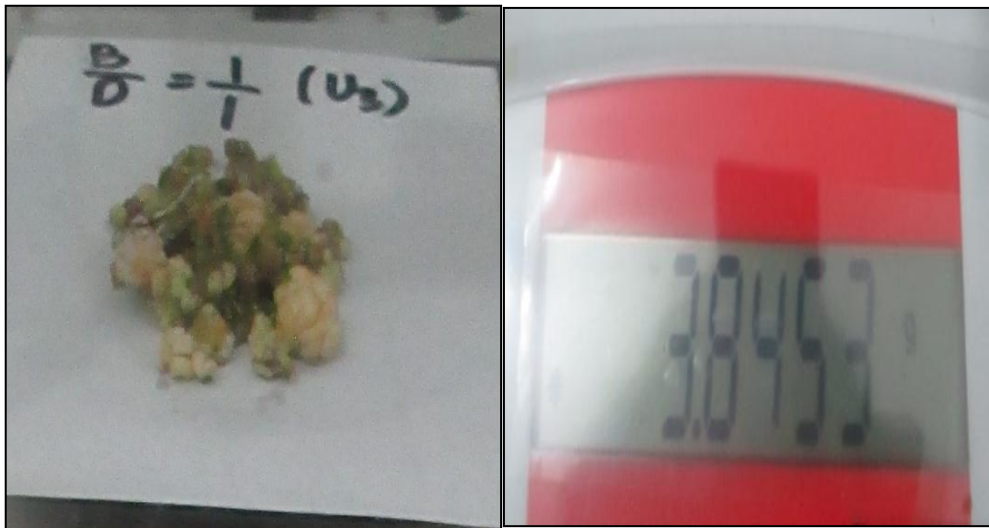
- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm**



Gambar 43. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 44. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 2

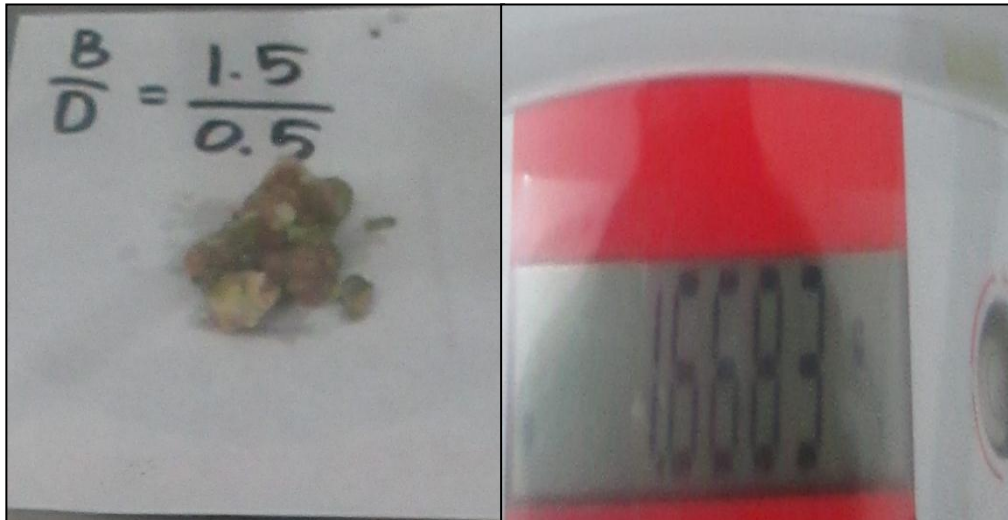


Gambar 45. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1 : 1 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 3

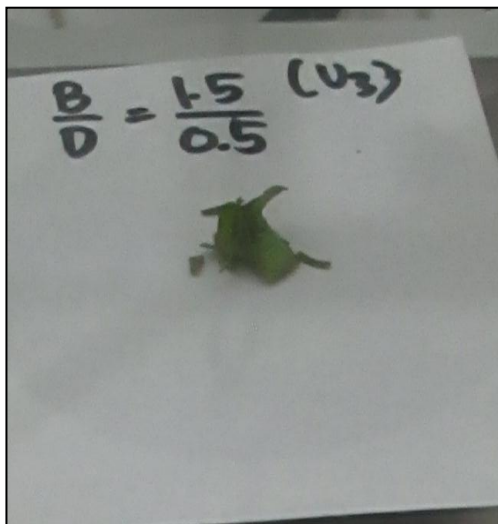
- Konsentrasi BAP : 2,4-D 1,5 : 0,5 ppm



Gambar 46. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 47. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 2

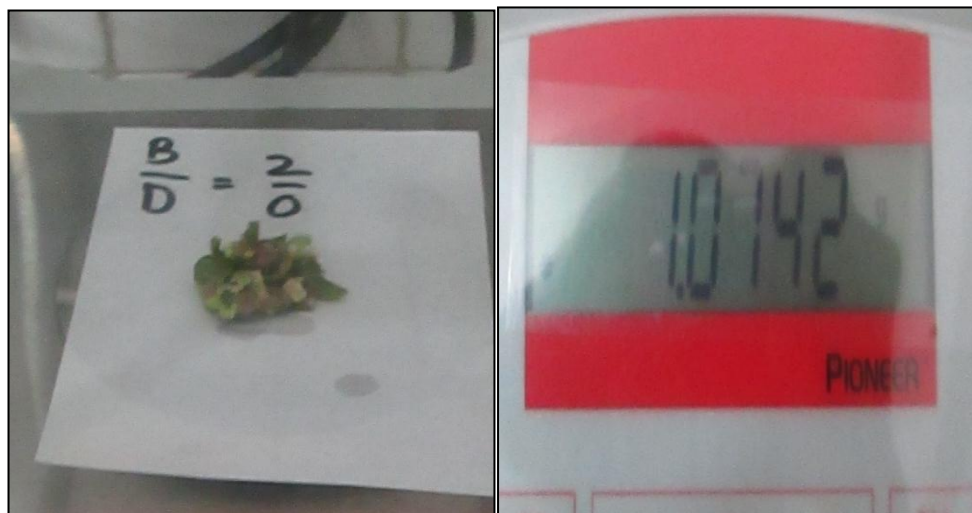


Gambar 48. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 1,5 : 0,5 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 3

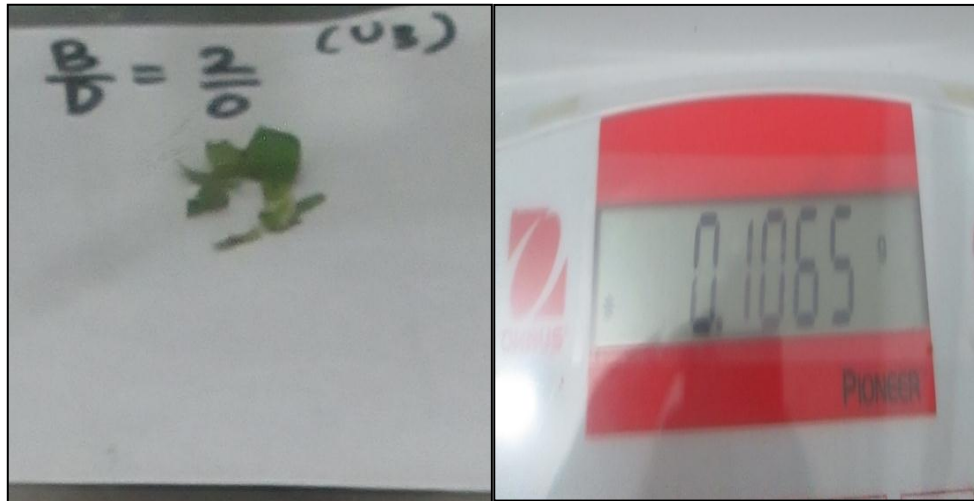
- **Konsentrasi BAP : 2,4-D 2 : 0 ppm**



Gambar 49. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 1



Gambar 50. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 2



Gambar 51. Penimbangan kalus pada zpt BAP : 2,4-D konsentrasi 2 : 0 ppm pada media MS setengah kuat ulangan 3

Lampiran 8. Gambar penimbangan daun muda dan daun tua



Gambar 52. Penimbangan daun muda



Gambar 53. Penimbangan daun tua

Lampiran 9. Data Perhitungan Rata-rata Kalus dan Standard Deviasi

Konsentrasi BAP : 2,4-D (ppm)	Ulangan			\bar{x}	Standart Deviasi (SD)	Rata-rata bobot segar kalus zodia
	1 (g)	2 (g)	3 (g)			
0 : 2	4,27	0,53	3,85	3,70	1,91	3,70 ± 1,91
0,5 : 1,5	3,40	1,51	1,68	1,60	1,04	1,60 ± 1,04
1 : 1	1,66	3,94	3,13	3,89	1,29	3,89 ± 1,29
1,5 : 0,5	0,77	1,67	0,15	1,67	0,76	1,67 ± 0,76
2 : 0	0,26	1,07	0,11	1,07	0,52	1,07 ± 0,52

Lampiran 10. Gambar Hasil Kromatogram Standar α -pinene

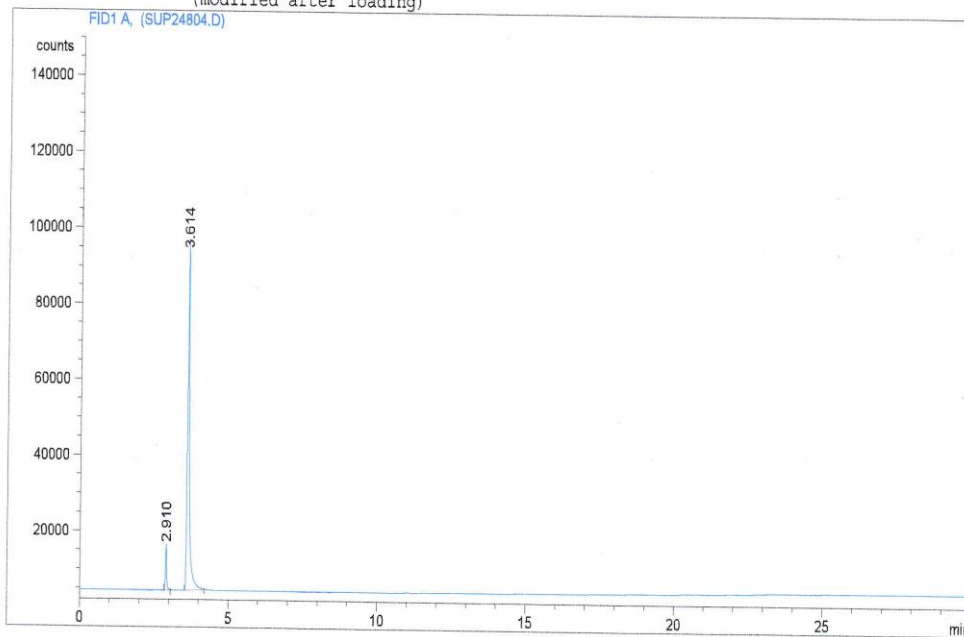
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SUP24804.D

Sample Name: std PINENE

SAMPEL STD ALPHA PINENE
 INJEKTOR : t240 5 uL
 KOLOM : CARBOWAX OVEN=t 60
 DETEKTOR : FID t250

```

=====
Injection Date : 8/25/15 10:00:35 AM
Sample Name    : std PINENE                Location : -
Acq. Operator  : mnt
Inj Volume     : Manually
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed   : 8/25/15 10:18:03 AM by mnt
                (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed   : 8/25/15 10:43:40 AM by mnt
                (modified after loading)
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [counts*s]	Height [counts]	Area %
1	2.910	PB	0.0446	3.19648e4	1.14226e4	6.95892
2	3.614	PB	0.0721	4.27371e5	8.89091e4	93.04108

Totals : 4.59335e5 1.00332e5

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***
  
```

Lampiran 11. Gambar Hasil Kromatogram Standar Linalool

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SUP24803.D

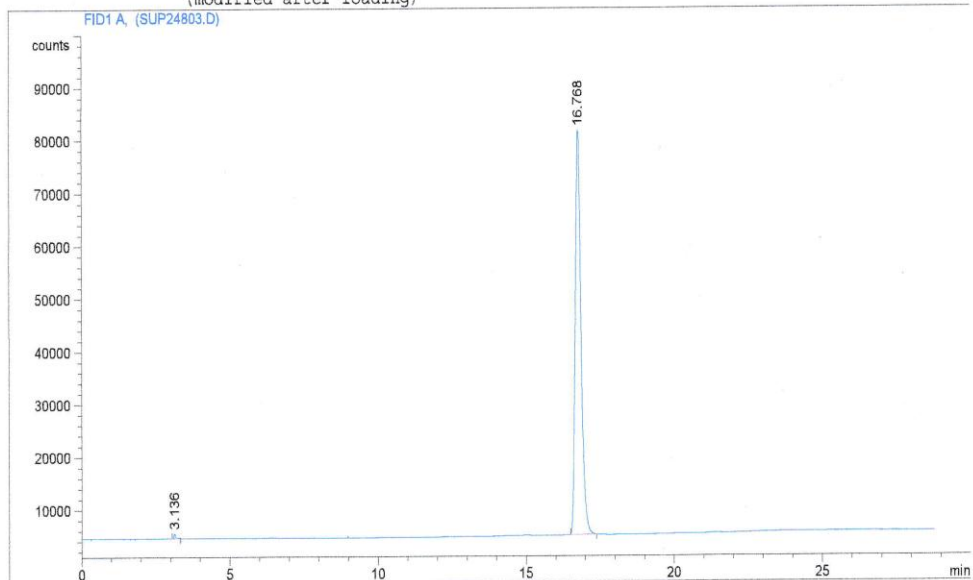
Sample Name: std LINALOOL

SAMPEL STD LINALOOL
 INJEKTOR : t240 5 uL
 KOLOM : CARBOWAX OVEN=t 60
 DETEKTOR : FID t250

```

=====
Injection Date : 8/25/15 9:26:55 AM
Sample Name : std LINALOOL
Acq. Operator : mnt
Location : -
Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed : 8/25/15 9:54:14 AM by mnt
              (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed : 8/25/15 9:56:54 AM by mnt
              (modified after loading)
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area %
1	3.136	BB	0.0688	4067.99243	899.33624	0.38814
2	16.768	BB	0.2072	1.04401e6	7.65274e4	99.61186

Totals : 1.04808e6 7.74267e4

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Lampiran 12. Gambar Hasil Kromatogram Daun Muda

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SUP24805.D

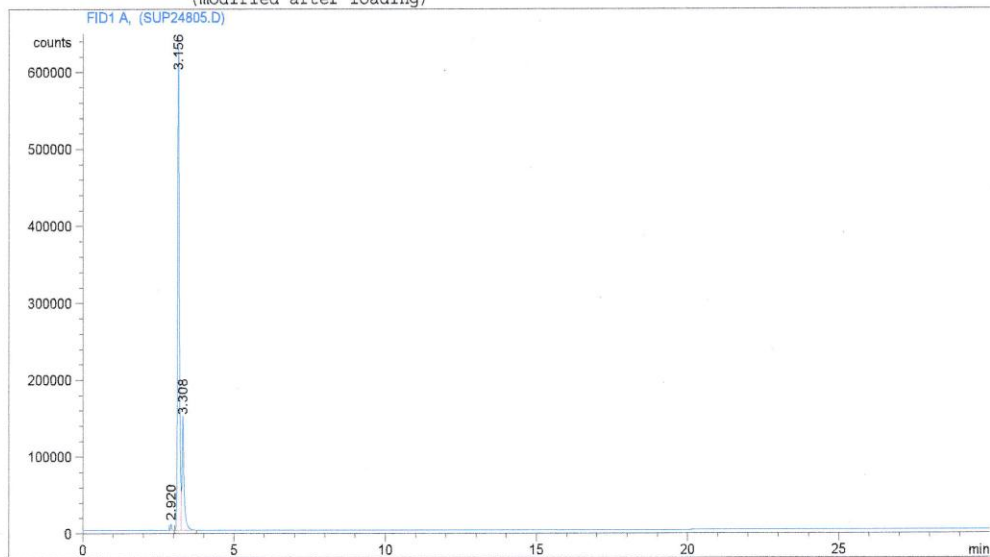
Sample Name: D-MUDA

SAMPEL D MUDA
 INJEKTOR : t240 5 uL
 KOLOM : CARBOWAX OVEN=t 60
 DETEKTOR : FID t250

```

=====
Injection Date : 8/25/15 10:46:50 AM
Sample Name : D-MUDA
Acq. Operator : mnt
Location : -
Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed : 8/25/15 10:43:40 AM by mnt
              (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed : 8/25/15 11:20:41 AM by mnt
              (modified after loading)
  
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area %
1	2.920	PV	0.0390	1.99646e4	7510.38037	0.60027
2	3.156	VV	0.0637	2.58303e6	6.31424e5	77.66378
3	3.308	VB	0.0702	7.22918e5	1.44796e5	21.73595

Totals : 3.32591e6 7.83730e5

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Lampiran 13. Gambar Hasil Kromatogram Daun Tua

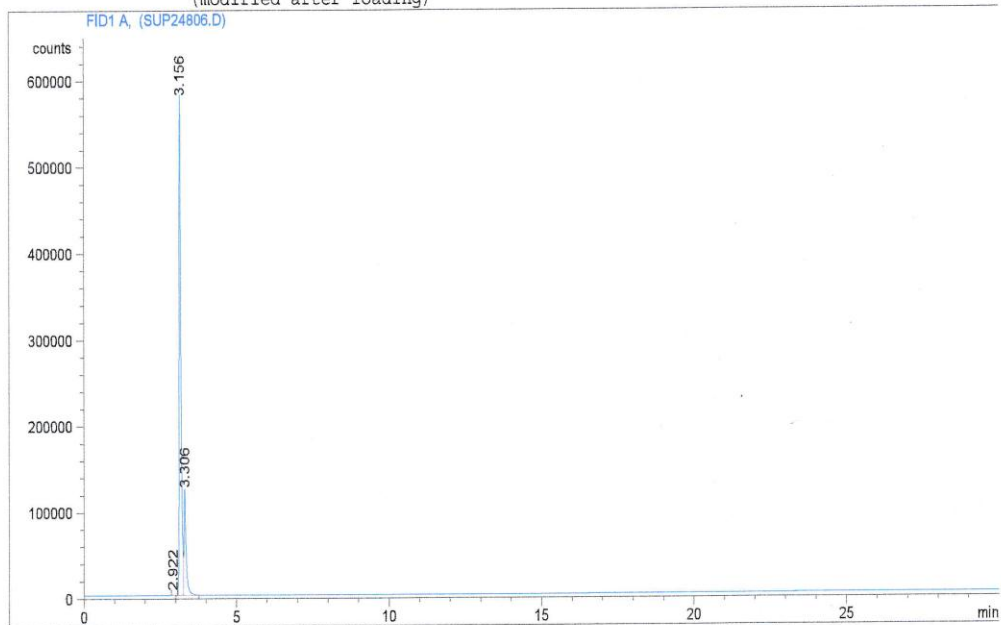
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SUP24806.D

Sample Name: LIN-PIN-7-345

SAMPEL LINALOOL PINENE 7-345
 INJEKTOR : t240 2 uL
 KOLOM : CARBOWAX OVEN=t 60
 DETEKTOR : FID t250

```

=====
Injection Date : 8/25/15 11:26:06 AM
Sample Name    : LIN-PIN-7-345           Location : -
Acq. Operator  : mnt                    Inj Volume : Manually
Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
Last changed   : 8/25/15 11:20:41 AM by mnt
                (modified after loading)
  
```



```

=====
                          Area Percent Report
=====
  
```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
  
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area %
1	2.922	PB	0.0443	1158.18774	418.03729	0.03964
2	3.156	BV	0.0632	2.31834e6	5.73020e5	79.35351
3	3.306	VB	0.0751	6.02037e5	1.18917e5	20.60685

```
Totals :                2.92154e6  6.92355e5
```

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***
  
```

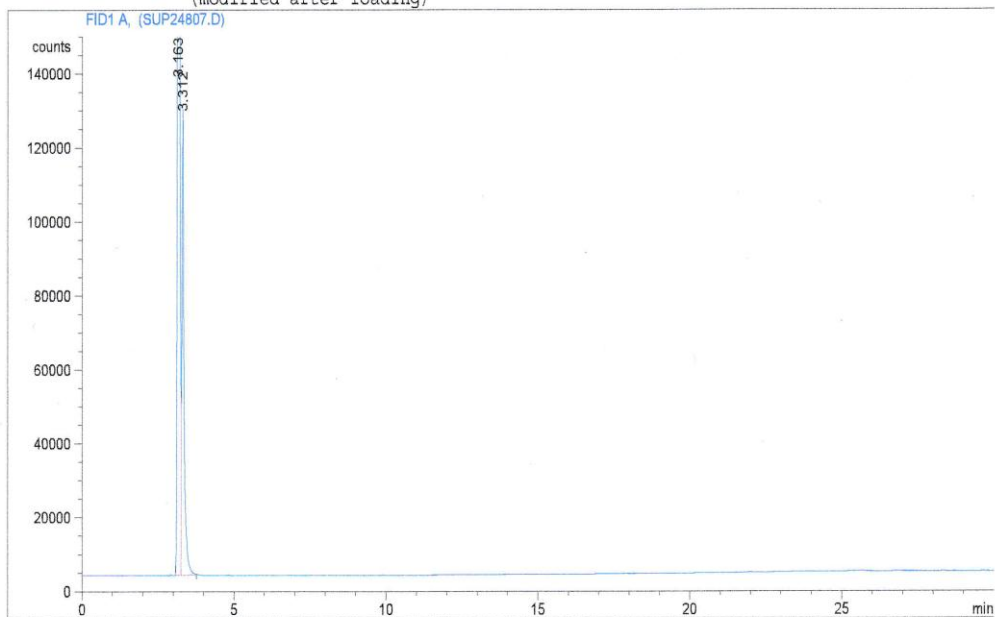
Lampiran 14. Gambar Hasil Kromatogram Kalus dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh BAP : 2,4-D 1 : 1 ppm pada media MS Setengah Kuat

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\SUP24807.D

Sample Name: LIN-PIN-7-349

SAMPEL LINALOOL PINENE 7-349
 INJEKTOR : t240 2 uL
 KOLOM : CARBOWAX OVEN=t 60
 DETEKTOR : FID t250

=====
 Injection Date : 8/25/15 12:35:54 PM
 Sample Name : LIN-PIN-7-349 Location : -
 Acq. Operator : mnt Inj Volume : Manually
 Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\POLARM-1\KAYUPUT1.M
 Last changed : 8/25/15 12:39:01 PM by mnt
 (modified after loading)



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area %
1	3.163	BV	0.0636	2.33661e6	5.72317e5	79.08517
2	3.312	VB	0.0700	6.17938e5	1.24223e5	20.91483

Totals : 2.95455e6 6.96540e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***