



**PENGARUH KONSENTRASI BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) TERHADAP
MULTIPLIKASI TUNAS TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :
Hiqma Widya Isnandza D.
NIM 110210103025

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH KONSENTRASI BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) TERHADAP
MULTIPLIKASI TUNAS TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh :
Hiqma Widya Isnandza D.
NIM 110210103025

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Sujud syukur kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala kemudahan dan limpahan rahmat yang telah diberikan kepada saya, sehingga saya mampu menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Saya persembahkan skripsi ini dengan segala cinta dan kasih kepada :

1. Ibunda Wiwik Widayati dan Ayahanda Iskak Asfani tercinta sebagai tanda bhakti, hormat, dan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya atas do'a, kasih sayang, dan segala dukungan yang tidak bisa kubalas hanya dengan selembarnya kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan;
2. Bapak Ibu Guru tercinta dari sejak TK, SD, SMP, SMA sampai Perguruan Tinggi, terima kasih telah memberikan ilmu, pendidikan, dan pengalaman yang sangat berarti bagi saya;
3. Sahabat-sahabatku yang selalu hadir baik disaat aku bahagia maupun berduka. Terima kasih sudah menemani, memberi motivasi, semangat, do'a serta pelajaran hidup selama ini, kalian benar-benar *amazing*;
4. Almamater Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember yang akan selalu menjadi kebanggaanku.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.
(terjemahan surat *Al-Mujadalah* ayat 11) ^{*)}

Maksimalkan hidup untuk melihat banyak hal, karena dengan melihat kebelakang kita akan menjadi lebih dewasa, dengan melihat kedepan kita akan menjadi hebat, dengan melihat kebawah kita jadi lebih bijak, dan dengan melihat keatas kita akan menjadi kuat. ^{**)}

My life my adventure. ^{***)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

^{**)} Hiqma Widya Isnandza D.

^{***)} Slogan Rokok

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Hiqma Widya Isnandza D.

NIM : 110210103025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *in Vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 28 Mei 2015

Yang menyatakan,

Hiqma Widya Isnandza D.

NIM 110210103025

SKRIPSI

**PENGARUH KONSENTRASI BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) TERHADAP
MULTIPLIKASI TUNAS TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

Oleh

Hiqma Widya Isnandza D.

NIM 110210103025

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Iis Nur Asyiah S.P., M.P.

PERSETUJUAN

**PENGARUH KONSENTRASI BAP (6-BENZYL AMINO PURIN) TERHADAP
MULTIPLIKASI TUNAS TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
MELALUI TEKNIK *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh

Nama Mahasiswa : Hiqma Widya Isnandza D.
NIM : 110210103025
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2011
Daerah Asal : Jember
Tempat, Tanggal Lahir : Jember, 18 Oktober 1993

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

NIP. 19650426 1994031 1 001

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.

NIP. 19730614 200801 2 008

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *in Vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

hari : Kamis

tanggal : 28 Mei 2015

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.

NIP. 19650426 1994031 1 001

NIP. 19730614 200801 2 008

Anggota I,

Anggota II,

Dra. Pujiastuti, M.Si.

Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.

NIP. 19610222 198702 2 001

NIP. 19880120 201212 1 001

Mengesahkan :

Dekan FKIP Universitas Jember,

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.

NIP. 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Pengaruh Konsentrasi BAP (6-benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotana tabacum L.*) melalui Teknik *in Vitro*; Hiqma Widya Isnandza D.; 110210103025; 67 halaman; 2015; Progam Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Tembakau merupakan bahan baku utama dalam pembuatan cerutu. Di Indonesia, produksi tembakau cerutu banyak dikembangkan di daerah Deli (Sumatera Utara), Klaten (Jawa Tengah), dan Eks Karesiden Besuki (Jawa Timur). Pembuatan cerutu memerlukan tiga jenis tembakau yang disesuaikan dengan fungsinya. Ketiga jenis tembakau tersebut menuntut daun yang seragam baik dari segi aroma, ukuran, maupun warna daunnya. Oleh sebab itu, perlu adanya pembudidayaan yang tepat agar memperoleh daun tembakau yang seragam dan berkualitas. Selama ini, pembudidayaan tanaman tembakau masih menggunakan metode konvensional yakni pembibitan tembakau melalui biji. Pembibitan melalui biji menghasilkan sifat-sifat genetik individu anakan masih heterogen dan tidak sama persis dengan induknya. Salah satu upaya budidaya tanaman tembakau yang dapat menghasilkan sifat-sifat genetik individu anakan sama persis dengan induknya (homogen), menghasilkan bibit dalam jumlah banyak pada waktu yang relatif singkat dan tidak tergantung dengan musim adalah menggunakan kultur jaringan (*in vitro*).

Keberhasilan kultur jaringan tergantung dari beberapa faktor salah satunya adalah penambahan ZPT dalam media tanam yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan. ZPT yang sering digunakan pada kultur jaringan tembakau adalah jenis auksin dan sitokinin yang dapat memicu terjadinya organogenesis baik secara langsung (*direct organogenesis*) maupun secara tidak langsung (*indirect organogenesis*). Beberapa penelitian lebih menekankan organogenesis secara tidak langsung dari pada organogenesis secara langsung. Oleh sebab itu, perlu adanya pengkajian terhadap komposisi ZPT yang dapat menghasilkan organogenesis secara langsung. ZPT BAP merupakan salah satu ZPT yang dapat menginduksi tunas secara

langsung. Namun pengkajian tentang variasi konsentrasi BAP untuk mengoptimalkan organogenesis secara langsung tersebut masih sangat kurang khususnya untuk tanaman tembakau.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT BAP terhadap multiplikasi tunas dan mengetahui konsentrasi optimal ZPT BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Maret 2015. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap, yaitu multiplikasi tunas, induksi akar, dan aklimatisasi. Tahap pertama yakni tahap multiplikasi tunas dengan satu faktor tunggal yaitu variasi konsentrasi BAP dalam media MS yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi, yaitu: 0 ppm; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 1,5 ppm; 2,0 ppm dan masing-masing taraf konsentrasi terdiri dari 5 kali ulangan. Penelitian kemudian dilanjutkan pada tahap induksi akar yang terbagi menjadi satu perlakuan dan satu kontrol. Perlakuan berupa pemberian 1 ppm IBA yang terdiri dari 4 kali ulangan, dan perlakuan kontrol berupa media MS (MS₀) tanpa pemberian ZPT dengan 1 kali ulangan. Tahap terakhir adalah aklimatisasi, planlet ditanam dalam media kompos dan ada 3 kali ulangan.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan data dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ZPT BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.), sedangkan konsentrasi optimal ZPT BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.) adalah pada konsentrasi 1 ppm yaitu sebesar 27-28 tunas. Pada tahap induksi akar, perlakuan 1 ppm IBA memberikan pertumbuhan akar lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada masing-masing parameter pengamatan dan pada tahap aklimatisasi, seluruh planlet memiliki presentase daya hidup planlet sebesar 100 %.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *in Vitro*”. Skripsi ini disusun guna untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan FKIP Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes., selaku Ketua Jurusan MIPA FKIP Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
4. Dr. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama masa perkuliahan;
5. Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
6. Dra. Pujiastuti, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama dan Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan arahan dan masukan dalam penulisan skripsi ini;
7. Seluruh Dosen Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, atas semua ilmu yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Ibunda Wiwik Widayati, Ayahanda Iskak Asfani, Teguh Firmansyah, Mbah Suparti, Mak Sidam, dan seluruh anggota keluargaku yang sangat kusayangi dan kucintai, terima kasih atas semua do'a dan dukungan yang telah diberikan;

9. Teman-teman Bionic angkatan 2011 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember yang telah memberikan motivasi dan kenangan terindah selama masa perkuliahan;
10. Keluarga besarku di KSR PMI Unit Universitas Jember (Dita, Iis, Ovi, Maya, Mbak Tyas, Nihik, Andika, Rizal, dan seluruh anggota keluarga KSR PMI Unit Universitas Jember yang tidak dapat disebutkan satu per satu), terima kasih telah mengajarkan arti kedewasaan dan kekeluargaan. Totalitas tanpa batas untuk kemanusiaan, hari ini kita benar-benar *amazing* ☺ ;
11. Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember atas dana penelitian yang telah diberikan;
12. Budi Kriswanto, S.P., selaku teknisi Laboratorium Kultur Jaringan dan rekan-rekan laboratorium kultur jaringan, terima kasih atas bantuan dan dukungannya selama penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan;
13. Sahabatku tersayang Deni, Nurul, Rina, Winda, Arin, Febry, Anita dan sahabat-sahabat yang tidak dapat disebut satu per satu, terima kasih karena tak pernah lelah menyemangatiku dan selalu mendukungku, kalian adalah anugerah terindah yang pernah ku miliki.;
14. Anak kost As Sa'adah Kalimantan 18 (Ludira, Mbak Wafiq dan Mbak Amel), terima kasih banyak atas semua dukungan dan motivasi selama penulisan skripsi ini;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, hanya Allah SWT yang bisa membalas setiap kebaikan yang telah kalian curahkan.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PERSETUJUAN	vii
HALAMAN PENGESAHAN	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Penelitian	4
1.4 Tujuan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Botani tanaman tembakau	7
2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Tembakau	9
2.3 Karakteristik Tembakau Varietas TS3	10
2.4 Teknik <i>in vitro</i> (Kultur Jaringan)	11

2.5	Zat Pengatur Tumbuh untuk Tanaman Tembakau	13
2.6	Hipotesis	17
BAB 3. METODE PENELITIAN		18
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2	Variabel Penelitian	18
3.2.1	Variabel Bebas	18
3.2.2	Variabel Terikat	18
3.2.3	Variabel Kontrol	18
3.3	Definisi Operasional	18
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	20
3.4.1	Alat Penelitian	20
3.4.2	Bahan Penelitian	20
3.5	Rancangan Penelitian	20
3.6	Pelaksanaan Penelitian	21
3.6.1	Sterilisasi Alat	21
3.6.2	Pembuatan Media dan Sterilisasi Media	21
3.6.3	Sterilisasi Eksplan dan Penanaman Eksplan pada Media	23
3.6.4	Pemeliharaan	23
3.6.5	Aklimatisasi	24
3.7	Parameter Pengamatan	24
3.8	Skema Alur Penelitian	27
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		28
4.1	Hasil	28
4.1.1	Multiplikasi Tunas	28
4.1.2	Induksi Akar	34
4.1.3	Aklimatisasi	41
4.2	Pembahasan	43
4.2.1	Multiplikasi Tunas	43
4.2.2	Induksi Akar	52

4.2.3 Aklimatisasi	58
BAB 5. PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN-LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai F-hitung parameter pengamatan tahap multiplikasi tunas	29
4.2 Rata-rata kedinian tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah daun dan berat basah (gr)	29
4.3 Rata-rata persentase eksplan bertunas umur 3 MST dan 7 MST	33
4.4 Nilai F-hitung parameter pengamatan tahap induksi akar	34
4.5 Rata-rata kedinian akar (HST) pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol	36
4.6 Rata-rata jumlah akar pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol	37
4.7 Rata-rata panjang akar (cm) pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol ...	39
4.8 Rata-rata presentase eksplan berakar (%) 2 MST dan 4 MST pada perlakuan 1 ppm IBA dan Kontrol	40
4.9 Rata-rata presentase eksplan bekalus (%) 2 MST dan 4 MST pada perlakuan 1 ppm IBA dan Kontrol	41
4.10 Rata-rata presentase daya hidup (%) planlet tahap aklimatisasi	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur morfologi tembakau	8
2.2 Tembakau Varietas TS3	10
2.3 Struktur kimia BAP	14
2.4 Struktur kimia IBA	17
3.1 Skema alur penelitian	27
4.1 Kedinian tunas 28 HST pada perlakuan 0,5 ppm BAP	30
4.2 Pembentukan tunas umur 7 MST pada perlakuan: a) eksplan pada konsentrasi 0 ppm BAP; b) eksplan pada konsentrasi 0,5 ppm BAP; c) eksplan pada konsentrasi 1 ppm BAP; d) eksplan pada konsentrasi 1,5 ppm BAP; dan e) eksplan pada konsentrasi 2 ppm BAP	31
4.3 Kedinian akar 17 HST pada eksplan 2 ppm BAP	35
4.4 Pembentukan akar umur 4 MST pada perlakuan: a) eksplan konsentrasi 0 ppm BAP+1 ppm IBA; b) eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP+1 ppm IBA; c) eksplan konsentrasi 1 ppm BAP+1 ppm IBA; d) eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP+1 ppm IBA; e) eksplan konsentrasi 2 ppm BAP+1 ppm IBA; f) eksplan konsentrasi 0 ppm BAP+MS 0; g) eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP+MS 0; h) eksplan konsentrasi 1 ppm BAP+MS 0; i) eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP+MS 0; dan j) eksplan konsentrasi 2 ppm BAP+MS 0	38
4.5 Pembentukan kalus pada eksplan perlakuan 0,5 ppm BAP dalam media yang mengandung 1 ppm IBA umur 4 MST: a) tampak samping; dan b) tampak bawah	41
4.6 Aklimatisasi pada planlet umur 7 HSA dari eksplan: a) perlakuan	

0,5 ppm BAP; b) perlakuan 1 ppm BAP; c) perlakuan 1,5 ppm BAP; dan d) perlakuan 2 ppm BAP	42
4.7 Pengaruh pemberian BAP terhadap parameter pengamatan multiplikasi tunas	51

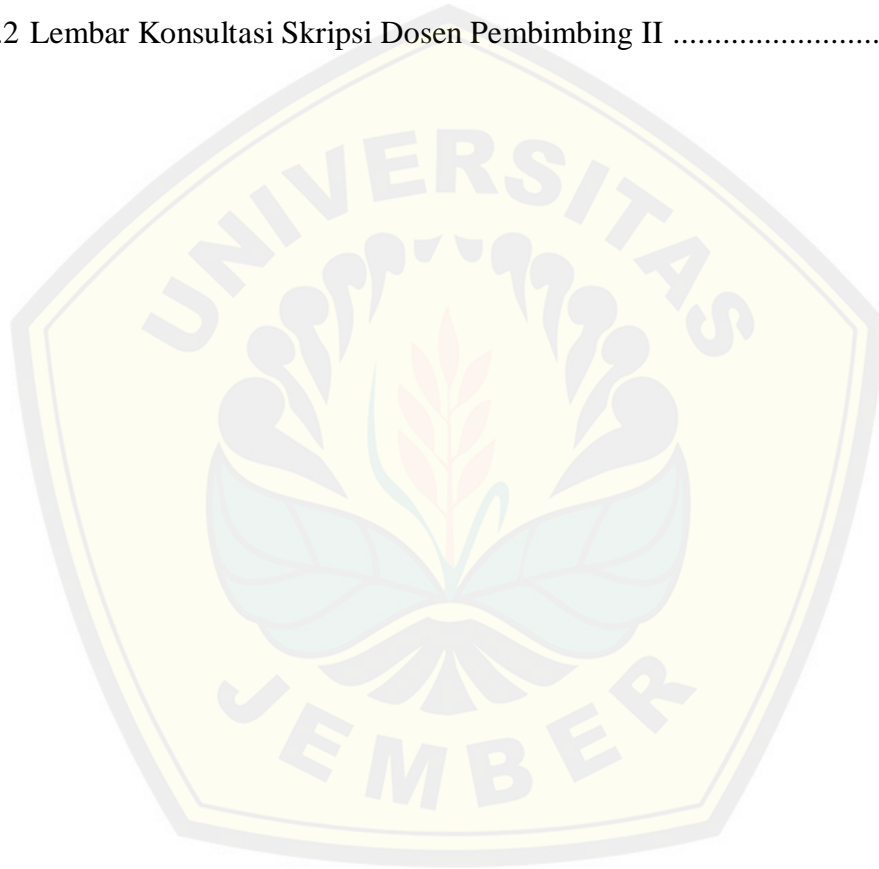


DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian	68
B. Komposisi Media MS	69
C. Kedinian Tunas	70
C.1 Data Pengamatan Kedinian Tunas	70
C.2 Sidik Ragam Kedinian Tunas	70
C.3 Uji Beda Duncan Kedinian Tunas	71
D. Jumlah Tunas	72
D.1 Data Pengamatan Jumlah Tunas Minggu ke-7	72
D.2 Sidik Ragam Jumlah Tunas Minggu ke-7	72
D.3 Uji Beda Duncan Jumlah Tunas Minggu ke-7	73
E. Tinggi Tunas	74
E.1 Data Pengamatan Tinggi Tunas Minggu ke-7	74
E.2 Sidik Ragam Tinggi Tunas Minggu ke-7	74
E.3 Uji Beda Duncan Tinggi Tunas Minggu ke-7	75
F. Jumlah Daun	76
F.1 Data Pengamatan Jumlah Daun Minggu ke-7	76
F.2 Sidik Ragam Jumlah Daun Minggu ke-7	76
F.3 Uji Beda Duncan Jumlah Daun Minggu ke-7	77
G. Berat Basah	78
G.1 Data Pengamatan Berat Basah	78
G.2 Sidik Ragam Jumlah Berat Basah	78
G.3 Uji Beda Duncan Berat Basah	79
H. Presentase Eksplan Bertunas	80
H.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Bertunas 3 MST	80
H.2 Data Pengamatan Presentase Eksplan Bertunas 7 MST	80

I. Kedinian akar	81
I.1 Data Pengamatan Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA	81
I.2 Sidik Ragam Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA	81
I.3 Uji Beda Duncan Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA	82
I.4 Data Pengamatan Kedinian Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)	82
J. Jumlah Akar	83
J.1 Data Pengamatan Jumlah Akar Perlakuan 1 ppm IBA	83
J.2 Sidik Ragam Jumlah Akar Perlakuan 1 ppm IBA	83
J.3 Data Pengamatan Jumlah Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)	84
K. Panjang Akar	85
K.1 Data Pengamatan Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA	85
K.2 Sidik Ragam Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA	85
K.3 Uji Beda Duncan Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA	86
K.4 Data Pengamatan Panjang Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)	86
L. Presentase Eksplan Berakar	87
L.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 2 MST Perlakuan 1 ppm IBA	87
L.2 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 4 MST Perlakuan 1 ppm IBA	87
L.3 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 2 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)	88
L.4 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 4 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)	88
M. Presentase Eksplan Berkalus	89
M.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 2 MST Perlakuan 1 ppm IBA	89
M.2 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 4 MST Perlakuan 1 ppm IBA	89
M.3 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 2 MST Perlakuan	

Kontrol (MS 0)	90
M.4 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 4 MST Perlakuan	
Kontrol (MS 0)	90
N. Surat Permohonan Izin Penelitian	91
O. Lembar Konsultasi Skripsi	92
O.1 Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing I	92
O.2 Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing II	93



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu wilayah yang memiliki keanekaragaman flora cukup sangat beragam. Kondisi iklim di Indonesia sangat mendukung untuk tumbuhnya berbagai jenis tanaman. Oleh sebab itu, banyak masyarakat Indonesia yang mempunyai peluang besar untuk mengembangkan usahanya, salah satunya melalui komoditas perkebunan. Komoditas perkebunan merupakan suatu kegiatan yang bertujuan untuk menghasilkan bahan baku industri, dan hasil dari komoditas perkebunan ini biasanya diekspor ke berbagai industri di negara-negara yang ada di dunia. Oleh sebab itu, komoditas perkebunan tersebut dapat dijadikan sebagai salah satu upaya dalam peningkatan sumber komoditas ekspor untuk meningkatkan pendapatan negara, penyedia lapangan pekerjaan, dan sekaligus penyedia pendapatan masyarakat (Santoso, 1991).

Selain digunakan sebagai sumber komoditas ekspor, bahan baku hasil komoditas perkebunan juga digunakan oleh industri-industri dalam negeri. Salah satunya sebagai bahan baku pembuatan cerutu. Cerutu merupakan hasil industri dalam negeri yang bahan baku utamanya adalah tembakau. Di Indonesia, produksi tembakau cerutu banyak dikembangkan di daerah Deli (Sumatera Utara), Klaten (Jawa Tengah), dan Eks Karesiden Besuki (Jawa Timur). Dalam perkembangan selanjutnya, areal terluas penanaman tembakau cerutu (sekitar 80% dari total areal penanaman) berada di daerah Eks Karesiden Besuki, terutama di Kabupaten Jember (Djajadi, 2008). Tembakau cerutu yang ditanam di Jember disebut dengan tembakau Na Oogst Besuki (NO Bes). Jenis tembakau Na Oogst yang digunakan sebagai cerutu adalah tembakau BesNOTA (Besuki NO Tanam Awal), TBN (Tembakau Bawah Naungan) dan BesNO (biasa juga disebut NO tradisional) (Tim media publikasi TIC, 2012).

Pembuatan cerutu memerlukan tiga jenis tembakau yang disesuaikan dengan fungsinya, antara lain: tembakau isi (Inggris: *filler*, Belanda: *filler*), tembakau pembalut (Inggris: *binder*, Belanda: *omblad*) dan tembakau pembungkus paling luar (Inggris: *wrapper*, Belanda: *dekblad*). Daun tembakau yang berfungsi sebagai tembakau isi, harus memilih daun yang sehat, warna daun merata, daya bakar yang baik, dan aromatis. Daun tembakau yang berfungsi sebagai tembakau pembalut, harus memilih daun yang utuh, lebar, tipis, halus, elastis, dan aromatis. Sedangkan daun tembakau yang berfungsi sebagai tembakau pembungkus paling luar, harus elastis, tipis, lebar, memiliki warna yang seragam, dan aromatis (Tim media publikasi TIC, 2012). Ketiga jenis tembakau tersebut menuntut daun yang seragam baik dari segi aroma, ukuran, maupun warna daunnya. Oleh sebab itu, perlu adanya pembudidayaan yang tepat agar memperoleh daun tembakau yang seragam dan berkualitas.

Selama ini, pembudidayaan tanaman tembakau masih menggunakan metode konvensional yakni pembibitan tembakau melalui biji. Pembibitan melalui biji menghasilkan sifat-sifat genetik individu anakan masih heterogen dan tidak sama persis dengan induknya. Selain itu, tanaman tembakau dapat melakukan penyerbukan secara silang (Desriatin, 2011). Hal tersebut dapat menyebabkan sifat individu anakan semakin heterogen. Berdasarkan fakta tersebut, proses pembibitan tembakau sangat berperan penting dalam budidaya tembakau untuk mempertahankan kualitas tanaman tembakau (Willem, 1994).

Salah satu upaya budidaya tanaman tembakau yang dapat menghasilkan sifat-sifat genetik individu anakan sama persis dengan induknya (homogen), menghasilkan bibit dalam jumlah banyak pada waktu yang relatif singkat dan tidak tergantung dengan musim adalah menggunakan kultur jaringan (*in vitro*). Menurut Desriatin (2011), kultur jaringan juga merupakan suatu teknik isolasi bagian tanaman, seperti jaringan, organ atau embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Keuntungan dari perbanyakan secara kultur jaringan adalah menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu, kultur jaringan juga

dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit (Rasullah dkk, 2013).

Keberhasilan kultur jaringan tergantung dari beberapa faktor, meliputi faktor lingkungan dan faktor endogen dari eksplan. Faktor lingkungan meliputi kondisi media, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT), suhu, cahaya dan proporsi sukrosa. Faktor endogen meliputi kondisi eksplan seperti umur, keadaan fisiologis dan hormon, jenis organ dan ukuran eksplan (Suyitno, 2011). Namun dari keseluruhan faktor tersebut, media tanam memberikan pengaruh yang besar terhadap keberhasilan kultur jaringan (Desriatin, 2011). Dalam media tanam kultur jaringan terdapat penambahan ZPT yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan, misalnya pertumbuhan akar, tunas, perkecambahan dan sebagainya. Oleh sebab itu, perlu adanya pengkajian terhadap penggunaan konsentrasi ZPT yang paling efektif dalam merangsang pertumbuhan tunas tanaman tembakau.

Pada saat ini, sudah banyak dikembangkan pembudidayaan tanaman tembakau menggunakan metode kultur jaringan dengan berbagai macam variasi pemberian ZPT pada media kultur jaringan. ZPT yang sering digunakan pada kultur jaringan tembakau adalah jenis auksin dan sitokinin. Komposisi ZPT didalam media kultur jaringan memberi peranan penting dalam organogenesis baik secara langsung (*direct organogenesis*) maupun secara tidak langsung (*indirect organogenesis*). Hal ini seperti penelitian yang dilakukan oleh Ali (2007) pada tembakau varietas K-399 dengan kombinasi 1 ppm BAP dan 0,2 ppm NAA telah berhasil menginduksi kalus dan tunas. Sedangkan penelitian lain mengatakan bahwa kombinasi 2-4 ppm BAP dan 0,5 ppm 2,4-D pada tanaman Shorgum berhasil menginduksi kalus, namun apabila 2,4-D diganti dengan NAA akan menghasilkan somatik embriogenesis secara tidak langsung (Girijashankar dkk, 2007).

Organogenesis secara langsung merupakan pembentukan organ tumbuhan yang tidak diawali dengan pembentukan kalus, sedangkan organogenesis secara tidak langsung merupakan pembentukan organ tumbuhan yang diawali dengan pembentukan kalus (Hartanti dkk, 2012). Berdasarkan penelitian yang telah

diuraikan, penggunaan ZPT dalam media kultur jaringan tanaman tembakau lebih menekankan pada organogenesis secara tidak langsung dari pada organogenesis secara langsung. Oleh sebab itu, perlu adanya pengkajian terhadap komposisi ZPT yang dapat menghasilkan organogenesis secara langsung. Menurut Saini (2010), ZPT BAP dalam konsentrasi 1 ppm dapat menginduksi tunas secara langsung pada tanaman Lemon (*Citrus jambhiri* Lush.). Selain itu, Wojciechowicz (2009) juga menyebutkan bahwa BAP dapat menginduksi organogenesis secara langsung pada spesies Sedum. Namun pada saat ini, pengkajian tentang variasi konsentrasi BAP untuk mengoptimalkan organogenesis secara langsung tersebut masih sangat kurang khususnya untuk tanaman tembakau. Oleh sebab itu, peneliti merasa penting untuk melakukan penelitian tentang **“Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *In Vitro*”**.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan diatas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah diantaranya adalah :

- 1.2.1 Apakah konsentrasi ZPT BAP berpengaruh terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.)?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimal ZPT BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.)?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah yang terkandung didalam penelitian ini, maka permasalahan yang dibahas dibatasi dalam :

- 1.3.1 Tembakau yang digunakan dalam penelitian ini adalah tembakau varietas TS3,

- 1.3.2 Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS (*Murashige and Skoog*),
- 1.3.3 Penelitian ini terdiri dari 3 tahap, tahap pertama yakni tahap multiplikasi tunas dengan satu faktor tunggal yaitu variasi konsentrasi BAP dalam media MS yang terdiri dari 5 taraf konsentrasi, yaitu: 0 ppm; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 1,5 ppm; 2,0 ppm. Tahap kedua yaitu tahap induksi akar yang terbagi menjadi satu perlakuan yang berupa pemberian 1 ppm IBA dan satu kontrol berupa media MS tanpa pemberian ZPT. Tahap terakhir yaitu tahap aklimatisasi, planlet ditanam dalam media kompos.
- 1.3.4 Eksplan yang digunakan pada tahap multiplikasi tunas berasal dari daun tembakau hasil *in vitro* dengan ukuran panjang 1 cm dan lebar 0,5 cm,
- 1.3.5 Eksplan yang digunakan pada tahap induksi akar berasal dari tunas seragam yang dihasilkan dari tahap multiplikasi tunas dengan tinggi tunas sebesar 2-3 cm,
- 1.3.6 Planlet yang digunakan pada tahap aklimatisasi berasal dari planlet tahap induksi akar berumur 4 MST dengan ketentuan telah memiliki akar berjumlah 4-6 akar

1.4 Tujuan Penelitian

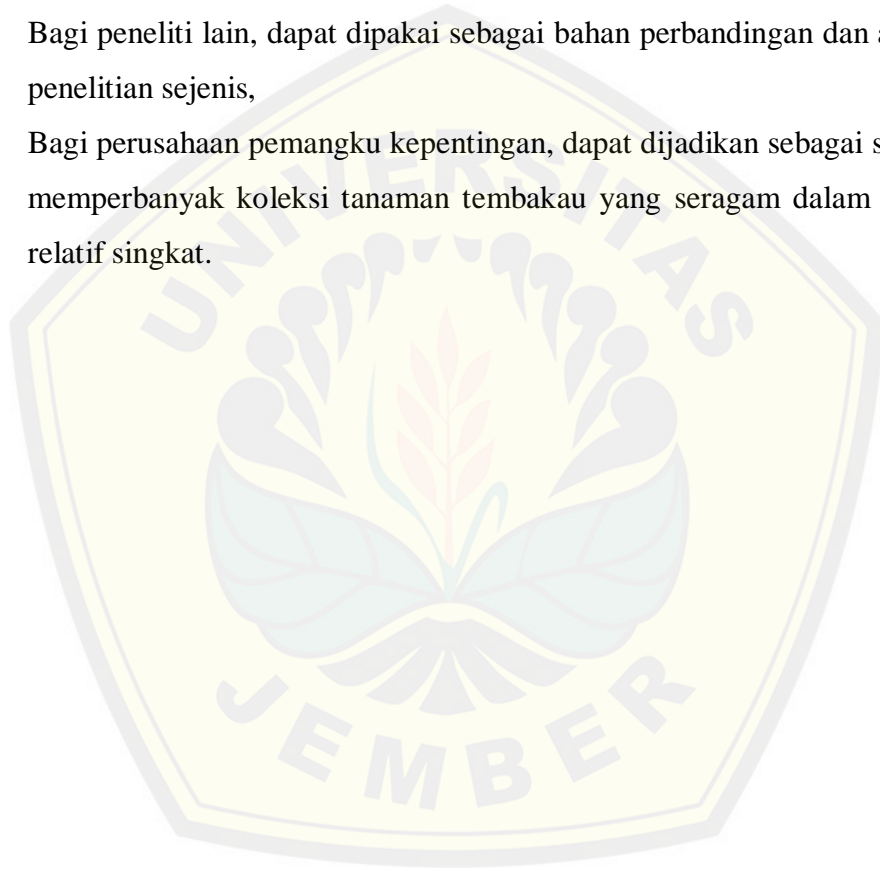
Berdasarkan rumusan masalah yang akan diteliti, tujuan yang ingin dicapai diantaranya adalah :

- 1.4.1 Mengetahui pengaruh konsentrasi ZPT BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum L.*)
- 1.4.2 Mengetahui konsentrasi optimal ZPT BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum L.*)

1.5 Manfaat Penelitian

Setelah dilakukan penelitian ini diharapkan dapat membawa manfaat, diantaranya adalah :

- 1.5.1 Bagi ilmu pengetahuan, dapat menambah wawasan keilmuan dan pengetahuan tentang pengaruh pemberian ZPT BAP terhadap multiplikasi tunas suatu tumbuhan,
- 1.5.2 Bagi peneliti lain, dapat dipakai sebagai bahan perbandingan dan acuan untuk penelitian sejenis,
- 1.5.3 Bagi perusahaan pemangku kepentingan, dapat dijadikan sebagai sarana untuk memperbanyak koleksi tanaman tembakau yang seragam dalam waktu yang relatif singkat.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

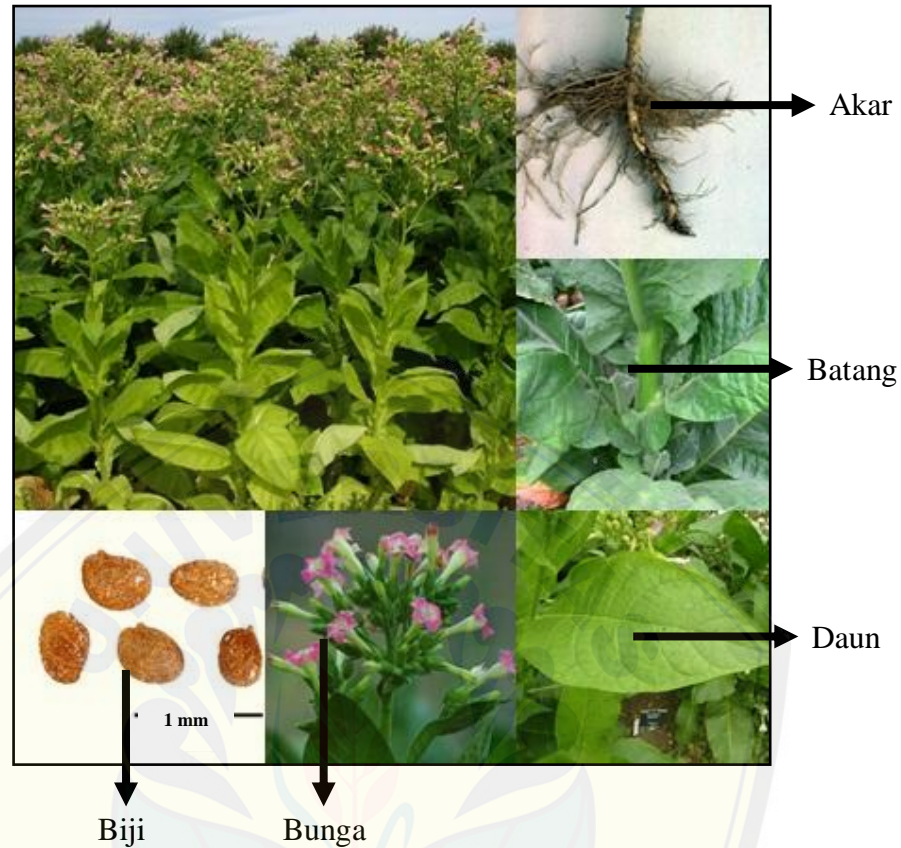
2.1 Botani Tanaman Tembakau

Tanaman tembakau adalah tanaman yang termasuk kedalam famili solanaceae. Di Indonesia tanaman tembakau dikenal dengan sebutan Bakong (Aceh), Bako (Gayo), Timbako (Batak Kara), Timbaho (Batak Toba), Bago (Nias), Tembakau (Melayu), Temakaw (Bengkulu), Tembakau (Minangkabau), Tembaku (Lampung), Bako (Sunda), Bako (Jawa Tengah), Debak (Madura), Tembako (Sasak), Tabako (Timor), Tambako (Makasar), Tabaku (Seram), dan Tabaku (Ternate). Adapun klasifikasi tanaman tembakau adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Solanales
Famili : Solanaceae
Genus : *Nicotiana*
Spesies : *Nicotiana tabacum* L.

(Plantamor, 2012)

Tembakau berasal dari Benua Amerika, khususnya Amerika Utara dan Amerika Selatan. Tembakau pada awalnya ditemukan oleh Christoper Colombus pada tahun 1492. Penyebaran tanaman tembakau di Indonesia diperkirakan dibawa oleh bangsa Portugis pada abad XVI. Namun, tanaman tembakau yang pertama kali ditemukan di Indonesia tumbuh didaerah yang belum dijelajahi oleh bangsa Portugis (Matnawi, 1997). Struktur morfologi tanaman tembakau, dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut ini:



Gambar 2.1 Struktur morfologi tembakau
(Sumber: www.gobotany.newenglandwild.org)

a. Akar

Tanaman tembakau mempunyai akar tunggang. Akar tembakau yang hidup subur dapat mencapai panjang sampai 0,75 m. Selain akar tunggang, tembakau juga mempunyai serabut-serabut akar dan bulu-bulu akar. Bentuk pertumbuhan akar tembakau dapat lurus ataupun berlekuk, baik pada akar tunggang maupun pada serabut akarnya. Banyak sedikitnya akar yang dimiliki tanaman tembakau tergantung dari jenis tanah dan kesuburan tanah (Matnawi, 1997).

b. Batang

Pada pertumbuhan yang normal, batang tembakau dapat tumbuh tegak dengan bantuan anjir (lanjaran). Tinggi tanaman tembakau sangat beragam, mulai dari 1 m

hingga mencapai ketinggian 4 m tergantung dari varietasnya. Batang tanaman tembakau umumnya tidak bercabang, namun ada pula batang tembakau yang bercabang (Matnawi, 1997). Batang memiliki bentuk agak bulat dengan diameter ± 5 cm, bertekstur agak lunak tetapi kuat dan semakin keujung semakin kecil. Pada setiap buku batang, selain ditumbuhi daun, juga ditumbuhi tunas aksilar (Usmadi dan Hartana, 2007).

c. Daun

Daun tembakau sangat bervariasi tergantung dengan varietasnya, bentuk-bentuk tersebut antara lain ovalis, oblongus, orbicularis, ovatus, dan lanset. Daun-daun tersebut mempunyai tangkai yang menempel langsung pada bagian batang (bertangkai pendek) (Matnawi, 1997). Daun tembakau termasuk daun tunggal, pangkal daun menyempit, dan bagian ujungnya runcing (Tjitrosoepomo, 2000). Daun tembakau memiliki filotaksis berselang-seling mengelilingi batang tanaman. Tanaman tembakau memiliki jumlah daun berkisar antara 28 sampai 32 helai dalam satu pohonnya (Abdullah dkk, 1982).

d. Bunga, Buah dan Biji

Bunga tembakau termasuk bunga majemuk yang berbentuk seperti trompet. Bunga tembakau berwarna kemerah-merahan sampai berwarna putih (Matnawi, 1997). Benang sari berjumlah lima batang dengan kepala sari berbentuk lonjong dan memiliki celah yang memanjang. Tembakau melakukan penyerbukan sendiri, namun beberapa tembakau masih dapat melakukan penyerbukan silang (Usmadi dan Hartana, 2007). Proses pemasakan buah memerlukan waktu ± 20 hari. Setelah masak, buah mengandung biji yang berwarna coklat muda kehitaman. Setiap pertumbuhan normal, dalam satu tanaman terdapat ± 300 buah dan setiap buah berisi ± 2.500 biji (Matnawi, 1997).

2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Tembakau

Tembakau di Indonesia merupakan tanaman budidaya yang sudah lazim, tersebar diseluruh nusantara dimulai dari ketinggian 4 – 1500 m dpl, terkadang masih

dijumpai hingga 2100 m dpl. Namun, pertumbuhan optimal tanaman tembakau yakni pada daerah dengan ketinggian tempat berkisar 12-150 m dpl. Tanah yang cocok untuk penanaman tembakau adalah tanah liat ringan yang berhumus tinggi dengan kisaran pH 5,0—6,0. Tanah harus mempunyai drainase bagus, karena tembakau sensitif pada kebanjiran. Suhu optimum pertumbuhan tembakau adalah 18-27°C (Erwin, 2000). Ketersediaan air dan penyinaran cahaya matahari akan mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tanaman tembakau. Kurangnya penyinaran matahari menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan produksi.

2.3 Karakteristik Tembakau Varietas TS3



Gambar 2.2 Tembakau Varietas TS3
(Sumber: Litbang PTPN X, 2003)

Tembakau varietas TS3 (Tipe Sumatera 3) merupakan salah satu jenis tembakau Deli yang ditanam di Jember. Tembakau Deli tersebut diberi nama TS3 oleh PT. Taru Tama Nusantara, sedangkan oleh PT. Perkebunan Nusantara X diberi nama Tembakau FIN yang artinya tembakau keturunan pertama (F1) dari galur N (galur tembakau Deli). Tembakau TS3 berhabitus piramid dengan tinggi batang dapat

mencapai 2,6-4 meter. Batang berbentuk bulat dengan diameter 2-3,5 cm dan ruas sepanjang 7-12 cm. Tembakau TS3 memiliki bentuk daun oval, bagian ujung daun runcing, tepi daun berombak, dan memiliki filotaksis 3/8 kanan. Jumlah daun dalam satu pohon dapat mencapai 30 lembar. Karakteristik perbungaan tembakau TS3 secara umum tidak jauh berbeda dengan tembakau besuki, yakni bunga berbentuk terompet dan berwarna merah muda (Litbang PTPN X, 2003). Gambar tembakau TS3 dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Tembakau TS3 menjadi salah satu primadona tembakau cerutu, kegunaannya lebih diutamakan sebagai tembakau pembungkus cerutu. Hal ini karena tembakau TS3 yang merupakan tembakau Deli ini memiliki keistimewaan yang tidak dapat digantikan oleh tembakau dari daerah lain, yakni memiliki ciri, rasa dan aroma yang khas. Selain itu, keunggulan dari tembakau TS3 adalah lebih cepat dalam proses pengeringannya dibandingkan dengan tembakau varietas yang lain (Erwin, 2000).

2.4 Teknik *In Vitro* (Kultur Jaringan)

Perbanyakan vegetatif yang saat ini banyak dikembangkan khususnya dalam dunia pertanian dan perkebunan, yaitu kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan salah satu teknik *in vitro* dengan cara membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya. Keunggulan metode kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak, sifat seragam dan dalam waktu singkat (Darini, 2012). Menurut Suratman dkk (2013) kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan dan organ serta menumbuhkannya menjadi tanaman utuh dalam kondisi lingkungan yang aseptik (*in vitro*).

Dasar dari pembuatan kultur jaringan adalah teori totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan yang menjelaskan bahwa setiap sel merupakan suatu satuan otonomi dan mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Teknik kultur jaringan merupakan suatu cara mengisolasi bagian-bagian tanaman (sel, protoplasma, tepung sari, ovarium, dan sebagainya), dimana bagian-bagian tersebut

ditumbuhkan dengan cara dipacu dengan menggunakan faktor-faktor pendukung pertumbuhan, akhirnya diregenerasikan kembali menjadi tanaman lengkap dalam suatu lingkungan aseptik dan terkendali (Gunawan, 1998). Kemampuan totipotensi yang dimiliki oleh tumbuhan tersebut, menyebabkan tumbuhan yang digunakan untuk bahan tanam (eksplan) dalam kultur jaringan mampu beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap.

Keberhasilan kultur jaringan tergantung dari beberapa faktor, meliputi faktor lingkungan dan faktor endogen dari eksplan. Faktor lingkungan meliputi kondisi media, zat pengatur tumbuh, suhu, cahaya dan proporsi sukrosa. Faktor endogen meliputi kondisi eksplan seperti umur, keadaan fisiologis dan hormon, jenis organ dan ukuran eksplan (Suyitno, 2011). Namun dari keseluruhan faktor tersebut, media tanam memberikan pengaruh yang besar terhadap keberhasilan kultur jaringan (Desriatin, 2011). Dalam media tanam kultur jaringan terdapat penambahan zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan, misalnya pertumbuhan akar, tunas, perkecambahan dan sebagainya.

Menurut Wetter dan Constabel (1982) Komposisi media hara untuk kultur jaringan tanaman mengandung 5 kelompok senyawa yaitu garam organik, sumber karbon, vitamin, pengatur tumbuh, dan pelengkap organik. Banyak media dasar yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan. Beberapa media dasar tersebut diantaranya adalah media dasar Murashige and Skoog, White, Vacin and Went, WPM, B5, dan Nitsch and Nitsch. Media kultur jaringan yang umum digunakan adalah media MS (*Murashige and Skoog*). Media ini mengandung garam dan nitrat dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan media kultur jaringan yang lain (Yuliarti, 2010). Keistimewaan lain dari media MS yakni cocok digunakan pada mikropropagasi banyak tanaman dikotil dengan hasil yang cukup memuaskan. Pada saat ini, media MS yang digunakan banyak mengalami modifikasi yang disesuaikan dengan kebutuhan tanaman ekplan. Salah satu modifikasi media MS yakni pada kandungan senyawa makronutriennya dilakukan oleh Halperin, hal

tersebut berhasil menginduksi embriogenesis kultur jaringan pada tanaman wortel (Zulkarnain, 2009).

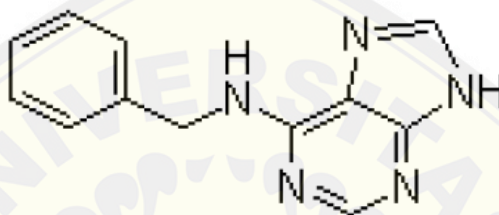
2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) untuk Tanaman Tembakau

Keberhasilan dalam budidaya tumbuhan melalui teknik kultur jaringan salah satunya dengan pemberian ZPT. ZPT adalah senyawa organik kompleks alami yang disintesis oleh tanaman tingkat tinggi, yang berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Nisak dkk, 2012). Menurut Zulkarnain (2009) ZPT termasuk kedalam fitohormon yang merupakan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi secara endogen. Senyawa tersebut berperan dalam merangsang dan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan sel, jaringan, dan organ tanaman menuju arah diferensiasi tertentu. Penggunaan ZPT didalam teknik kultur jaringan ini disesuaikan dengan arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan, karena perbedaan konsentrasi pemberian ZPT menyebabkan pertumbuhan yang berbeda pada tanaman. Salah satu kelompok ZPT yang digunakan dalam kultur jaringan adalah golongan sitokinin dan auksin.

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Peranan sitokinin sangat nyata dalam pengaturan pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel, dan pembentukan organ (Zulkarnain, 2009). Menurut Pierik (1987) sitokinin merupakan salah satu ZPT yang banyak digunakan pada kultur *in vitro* untuk memacu inisiasi dan poliferasi tunas. Aktivitas yang terutama ialah mendorong pembelahan sel, menginduksi tunas adventif dan dalam konsentrasi tinggi menghambat inisiasi akar. Jenis sitokinin yang paling sering dipakai adalah *6-Benzyl Amino Purin* (BAP) karena efektivitasnya cukup tinggi terhadap pertumbuhan suatu tanaman (Yuniastuti, 2010).

BAP memiliki rumus molekul *6-benzyl amino purine* dengan berat molekul 225,26. BAP sangat aktif dalam mendorong pertumbuhan tunas tembakau. Bentuk isomernya *1-benzyl adenine* mempunyai aktivitas kimia yang rendah. Untuk dapat

aktif, 1- benzyl adenine harus diubah menjadi 6-benzyl adenine (BA) (Wattimena, 1988). Menurut Jafari dkk (2011) menyebutkan bahwa BAP merupakan golongan sitokinin yang paling sering digunakan karena murah dan tahan lama penggunaannya. Selain itu, BAP ini paling banyak digunakan untuk memacu peggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang lebih kuat dibanding kinetin sebab BAP mempunyai gugus benzil yang dapat dilihat pada Gambar 2.3 dibawah ini (George dan Sherington, 1984).



Gambar 2.3 Struktur kimia BAP (Sari, 2008)

BAP didalam kultur jaringan akan memicu terjadinya pembelahan dan diferensiasi sel seperti halnya fungsi sitokinin pada umumnya. Mekanisme kerja BAP sama dengan mekanisme kerja sitokinin alami pada tumbuhan, yakni BAP yang terdapat didalam media kultur jaringan akan diserap oleh eksplan dan akan mencari jaringan target dengan bergerak naik dalam getah xilem. BAP akan terus mendorong kebagian ujung dengan menghambat pembentukan akar, kemudian akan menekan terjadinya regenerasi sel-sel baru dibagian ujung dan membentuk struktur pertunasan (Campbell, 2005). Hal tersebut seperti penelitian tentang multiplikasi tunas yang dilakukan oleh Raghu dkk (2011) menunjukkan bahwa media yang baik digunakan adalah media yang mengandung 0,5 ppm BAP dan 0,1 ppm GA₃.

Pemberian BAP dalam media kultur jaringan akan memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan dalam kultur jaringan tanaman. Salah satu interaksi yang ditimbulkan adalah peristiwa pembentukan organ (organogenesis) yang dapat terjadi baik secara langsung (*direct*) maupun tidak langsung (*indirect*). Organogenesis secara langsung merupakan peristiwa pembentukan organ tanpa melalui peristiwa pembentukan kalus, sedangkan organogenesis tidak langsung

adalah pembentukan organ yang didahului dengan pembentukan kalus (Hartanti dkk, 2012). Kalus merupakan sekumpulan sel-sel yang terus membelah secara tidak terkendali dan akan membentuk massa sel yang tidak terdeferensiasi (Yuliarti, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Robbiani (2010) menunjukkan bahwa penggunaan 0,5 ppm NAA dan 1 ppm Kinetin menghasilkan respon organogenesis secara tidak langsung pada tanaman tembakau varietas Prancak 95. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Ali (2007) pada tembakau varietas SPTG-172 berhasil menginduksi terbentuknya kalus dan tunas pada perlakuan 2 ppm BAP dan 0,2 ppm NAA, dan pada tembakau varietas K-399 dengan kombinasi 1 ppm BAP dan 0,2 ppm NAA. Sedangkan penelitian lain mengatakan bahwa kombinasi 2-4 ppm BAP dan 0,5 ppm 2,4-D pada tanaman Shorgum berhasil menginduksi kalus, namun apabila 2,4-D diganti dengan NAA akan menghasilkan somatik embriogenesis secara tidak langsung (Girijashankar dkk, 2007).

Penelitian tentang organogenesis secara langsung dilakukan oleh Saini (2010) yang menyebutkan bahwa BAP dalam konsentrasi 1 ppm dapat menginduksi tunas secara langsung pada tanaman Lemon (*Citrus jambhiri* Lush.). Selain itu, Wojciechowicz (2009) juga menyebutkan bahwa BAP dapat menginduksi organogenesis secara langsung pada spesies Sedum. Lain halnya penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk (2011) yang menyebutkan bahwa pada tanaman *Solanum surattense*, konsentrasi BAP yang dapat menginduksi terbentuknya tunas adventif secara langsung yakni sebesar 0,5 ppm.

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, Menurut Hendaryono (1994) menjelaskan bahwa konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sitokinin menyebabkan terbentuknya akar pada eksplan. Sebaliknya, jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin maka pembentukan tunas akan lebih cepat (atau lebih banyak) dihasilkan oleh eksplan. Pengaruh sitokinin pada sel-sel tumbuhan dalam kultur jaringan memberikan petunjuk tentang bagaimana hormon ini dapat berfungsi dalam tanaman. Ketika sebagian jaringan parenkim dari batang dibiakkan tanpa adanya sitokinin (hanya auksin), sel-sel akan tumbuh sangat besar

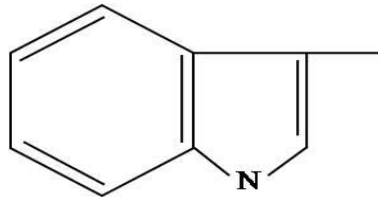
namun tidak akan terspesialisasi. Tetapi jika sitokinin ditambahkan bersama dengan auksin, sel-sel akan membelah dan terspesialisasi (Campbell, 2005).

Auksin merupakan salah satu hormon pertumbuhan yang sangat mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan. Peran auksin pada tumbuhan yakni dapat meningkatkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein dan meningkatkan permeabilitas sel terhadap air (Nisak dkk, 2012). Auksin disintesis didaerah meristem apikal tunas dan daun-daun muda. Meristem apikal akar juga menghasilkan auksin dengan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan auksin yang dihasilkan didaerah meristem apikal. Oleh sebab itu, pertumbuhan dan pemanjangan akar masih bergantung pada auksin yang dihasilkan didaerah meristem apikal. Selain diproduksi didaerah meristem apikal dan akar, auksin juga diproduksi pada bagian biji dan buah yang sedang berkembang. Biji dan buah mengandung auksin dalam kadar tinggi pada saat berkembang (Campbell, 2005).

Auksin sering digunakan dalam berbagai macam metode percobaan, salah satunya dalam pembuatan kultur jaringan. Auksin didalam kultur jaringan berperan dalam mengatur pertumbuhan akar pada eksplan dan kalus yang belum terdiferensiasi, tetapi pada medium yang diberi paparan cahaya, respon eksplan terhadap auksin menjadi berkurang (Fatmawati, 2010). Salah satu jenis auksin yang dipakai dalam kultur jaringan adalah *Indole Butyric Acid* (IBA). Menurut Wulandari dkk (2013) IBA mampu meningkatkan perpanjangan sel akar dan memacu pertumbuhan akar pada suatu tanaman. Selain itu, IBA juga dapat memperbaiki perakaran yang rusak serta memperbaiki bentuk akar yang telah termutasi.

IBA atau *Indole-3-Butyric acid* memiliki rumus molekul $C_{12}H_{13}NO_2$ dengan berat molekul 203,24. Bentuk isomer IBA antara lain 4-(3-*Indolyl*) *butyric acid* dan 4-(3-*Indolyl*) *butanoic acid* (Wattimena, G. A. 1988). IBA terdiri atas 2 ikatan karbon yang lebih panjang dibandingkan dengan jenis auksin yang lainnya, struktur kimia IBA tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.4. Menurut Shofiana dkk (2013) menyebutkan bahwa IBA merupakan golongan auksin yang memiliki sifat kandungan kimia yang lebih stabil dan memiliki daya kerja yang lebih lama dibandingkan

dengan jenis auksin yang lain, sehingga dapat memacu pertumbuhan dan pembentukan akar eksplan.



Gambar 2.4 Struktur kimia IBA (Wilkins, 1992)

IBA sering digunakan pada pembuatan kultur jaringan tumbuhan untuk memicu pertumbuhan akar, seperti penelitian yang dilakukan oleh Gandadikusumah (2002) menunjukkan bahwa pada tanaman *Pelargonium tomentosum* pemberian IBA 0,8-1,0 ppm menghasilkan akar yang pendek, gemuk, serta cenderung membentuk struktur kalus. Penambahan IBA pada konsentrasi lebih rendah dari 0,8 ppm menghasilkan akar yang normal, sedangkan perakaran terbaik didapatkan pada perlakuan IBA 0,5 ppm. Namun pada tunas tanaman Piretrum (*Chrysanthemum cinerariifolium* Trevir.) Klon Prau 6, IBA dapat menginduksi pembentukan akar secara optimal pada konsentrasi 0,2 ppm (Rostiana dan Deliah, 2007). Penelitian lain juga dilakukan oleh Saini (2010) yang menyebutkan bahwa kombinasi NAA 1,0 ppm dan IBA 1,0 ppm dapat menginduksi akar secara optimal pada tanaman Lemon (*Citrus jambhiri* Lush.).

2.6 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah :

- Terdapat pengaruh pemberian BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.);
- Konsentrasi optimal BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.) adalah pada konsentrasi 1 ppm.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai Maret 2015.

3.2 Variabel Penelitian

- 3.2.1 Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi BAP (*6-Benzyl Amino Purin*), yakni dengan taraf konsentrasi 0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm;
- 3.2.2 Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kedinian tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, berat basah, presentase eksplan bertunas, presentase eksplan berakar (apabila berakar), kedinian akar, jumlah akar, panjang akar, presentase eksplan berakar, presentase eksplan berkalus (apabila berkalus), dan daya hidup planlet;
- 3.2.3 Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah ukuran botol kultur, media MS (*Murashige and Skoog*), volume media, pH, suhu, cahaya, dan waktu pengamatan.

3.3 Definisi Operasional

Peneliti memberikan pengertian untuk menjelaskan operasional penelitian agar tidak menimbulkan pengertian ganda, yaitu sebagai berikut:

- a. *6-Benzyl Amino Purine* (BAP) merupakan salah satu jenis Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) golongan sitokinin yang dipakai dalam penelitian ini dan berfungsi untuk memacu pertumbuhan tunas (George dan Sherington, 1984). Variasi konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pada taraf konsentrasi 0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm;

- b. Multiplikasi tunas adalah suatu kegiatan memperbanyak tunas tanaman tembakau dengan menanam eksplan pada media kultur jaringan yang mengandung BAP sesuai dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan (Yuliarti, 2010). Eksplan yang digunakan pada tahap multiplikasi tunas berasal dari daun tembakau hasil *in vitro* dengan ukuran panjang 1 cm dan lebar 0,5 cm. Parameter pengamatan yang diamati pada tahap multiplikasi tunas yaitu, kedinian tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, berat basah, presentase eksplan bertunas, dan presentase eksplan berakar (apabila berakar).
- c. Induksi akar atau pengakaran merupakan tahap lanjutan dari tahap multiplikasi tunas dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar (Yuliarti, 2010). Tahap induksi akar dalam penelitian ini terdiri dari perlakuan yang berupa penambahan 1 ppm IBA (*Indole Butyric Acid*) pada media kultur jaringan dan kontrol yang berupa media MS tanpa penambahan ZPT. Eksplan yang digunakan pada tahap induksi akar berasal dari tunas seragam yang dihasilkan dari tahap multiplikasi tunas dengan tinggi tunas sebesar 2-3 cm. Parameter pengamatan yang diamati pada tahap induksi akar yaitu, kedinian akar, jumlah akar, panjang akar, presentase eksplan berakar dan presentase eksplan berkalus (apabila berkalus)
- d. Aklimatisasi adalah suatu upaya memindahkan planlet tanaman tembakau dari perbanyakannya melalui kultur *in vitro* ke lingkungan *in vivo* yang aseptik (Yusnita, 2003). Planlet yang digunakan pada tahap aklimatisasi berasal dari planlet tahap induksi akar berumur 4 MST dengan ketentuan telah memiliki akar berjumlah 4-6 akar. Media tanam yang digunakan adalah media kompos dan parameter pengamatan yang diamati yaitu presentase daya hidup planlet.
- e. Teknik kultur jaringan (*in vitro*) merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman tembakau yaitu daun tembakau serta menumbuhkannya menjadi tanaman utuh dalam kondisi lingkungan yang aseptik (Suratman dkk, 2013). Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS (komposisi media MS terlampir pada lampiran B).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : timbangan analitik, kompor, pengaduk magnetik, pH meter, mikropipet, gelas ukur, autoklaf, *Laminar Air Flow (LAF)*, gelas beker, cawan petri, rak kultur, botol kultur steril, skalpel, pinset, spatula, gunting eksplan, bunsen, kamera, korek api, penggaris dan alat tulis.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : daun tembakau steril hasil *in vitro*, media MS, BAP, IBA, Kompos, spirtus, HCL, NaOH, akuades, alkohol 70%, *aluminium foil*, *plastic warp*, kertas label, plastik, kertas kayu dan kertas tisu.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga tahap yakni tahap multiplikasi tunas, tahap induksi akar, dan tahap aklimatisasi. Model matematika percobaan RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

i : 1, 2,, t (perlakuan)

j : 1, 2,, r (ulangan)

Y_{ij} : Nilai pengamatan pada perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

μ : Nilai rata-rata umum

α_i : Pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} : Pengaruh acak pada perlakuan ke- i ulangan ke- j

Tahap pertama yakni tahap multiplikasi tunas dengan satu faktor tunggal yaitu variasi konsentrasi BAP dalam media MS. Adapun konsentrasi BAP terdiri dari 5 taraf konsentrasi, yaitu: 0 ppm; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 1,5 ppm dan 2,0 ppm, masing-masing taraf konsentrasi terdiri dari 5 kali pengulangan. Penelitian kemudian dilanjutkan pada tahap induksi akar yang terbagi menjadi satu perlakuan dan satu

kontrol. Perlakuan berupa pemberian IBA dengan taraf konsentrasi 1 ppm pada media MS yang terdiri dari 4 kali pengulangan, sedangkan perlakuan kontrol pada tahap induksi akar berupa media MS tanpa pemberian ZPT dengan 1 kali ulangan.

Data yang diperoleh, dianalisis dengan menggunakan analisis ragam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 5%.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian kali ini yang meliputi gelas ukur, gelas beker, cawan petri, botol kultur, skalpel, pinset, spatula dan gunting eksplan dicuci bersih menggunakan detergen, kemudian dibilas dan dikeringkan. Peralatan yang sudah kering (kecuali botol kultur) dibungkus menggunakan kertas kayu. Semua peralatan tersebut kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi selama 2 jam.

3.6.2 Pembuatan Media dan Sterilisasi Media

a. Pembuatan media dan sterilisasi media tahap multiplikasi tunas

Pada penelitian ini, media dasar yang digunakan adalah media MS. Dalam membuat 625 ml media MS ini, diperlukan 12,5 ml stok A dan B; 6,25 ml larutan stok C dan D; 3,125 ml larutan stok E dan F; 6,25 ml larutan Mio Isotol; vitamin 0,625 ml; sukrosa 18,75 gram. Bahan-bahan tersebut ditambah dengan ZPT BAP dengan variasi konsentrasi 0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm. Menambahkan aquades sampai larutan mencapai volume 625 ml. Larutan diaduk menggunakan pengaduk magnetik hingga menjadi larutan yang homogen. Kemudian pH larutan diukur menggunakan pH meter hingga mencapai nilai 6-6,3 dengan menambah HCL atau NaOH. Larutan tersebut kemudian ditambah dengan 5 gram agar, lalu dimasak diatas kompor listrik hingga larutan mendidih. Larutan

dimasukkan kedalam botol kultur steril sebanyak 25 ml pada masing-masing botol. Botol yang berisi media tersebut di tutup dengan menggunakan *aluminium foil*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 Psi selama 1 jam.

b. Pembuatan media dan sterilisasi media tahap induksi akar

Pada tahap induksi akar, media dasar yang digunakan adalah media MS. dengan dua perlakuan yaitu perlakuan IBA dan kontrol. Perlakuan IBA membutuhkan volume 500 ml media MS, untuk membuatnya diperlukan 10 ml stok A dan B; 5 ml larutan stok C dan D; 2,5 ml larutan stok E dan F; 5 ml larutan Mio Isotol; vitamin 0,5 ml; sukrosa 15 gram. Bahan-bahan tersebut ditambah dengan ZPT IBA dengan konsentrasi 1 ppm. Menambahkan aquades sampai larutan mencapai volume 500 ml. Larutan diaduk menggunakan pengaduk magnetik hingga menjadi larutan yang homogen. Kemudian pH larutan diukur menggunakan pH meter hingga mencapai nilai 6-6,3 dengan menambah HCL atau NaOH. Larutan tersebut kemudian ditambah dengan 4 gram agar, lalu dimasak diatas kompor listrik hingga larutan mendidih. Larutan dimasukkan kedalam botol kultur steril sebanyak 25 ml pada masing-masing botol. Botol yang berisi media tersebut di tutup dengan menggunakan *aluminium foil*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 Psi selama 1 jam.

Perlakuan selanjutnya adalah perlakuan kontrol yang membutuhkan volume 125 ml media MS, untuk membuatnya diperlukan 2,5 ml stok A dan B; 1,25 ml larutan stok C dan D; 0,625 ml larutan stok E dan F; 1,25 ml larutan Mio Isotol; vitamin 0,125 ml; sukrosa 3,75 gram. Menambahkan aquades sampai larutan mencapai volume 125 ml. Larutan diaduk menggunakan pengaduk magnetik hingga menjadi larutan yang homogen. Kemudian pH larutan diukur menggunakan pH meter hingga mencapai nilai 6-6,3 dengan menambah HCL atau NaOH. Larutan tersebut kemudian ditambah dengan 1 gram agar, lalu dimasak diatas kompor listrik hingga larutan mendidih. Larutan dimasukkan kedalam botol kultur steril sebanyak 25 ml pada masing-masing botol. Botol yang berisi media tersebut di tutup dengan

menggunakan *aluminium foil*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 17,5 Psi selama 1 jam.

3.6.3 Sterilisasi Eksplan dan Penanaman Eksplan pada Media

a. Tahap multiplikasi tunas

Pada tahap ini, kegiatan dilakukan didalam LAF dimana semua alat dan bahan yang akan digunakan sudah disiapkan didalam LAF. Kemudian menyiapkan ekplan yang digunakan, yakni daun tembakau steril hasil *in vitro* yang berukuran panjang 1 cm dan lebar 0,5 cm. Selanjutnya daun dipotong menggunakan gunting eksplan, diambil menggunakan pinset, dan kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi media. Botol kultur yang sudah terisi eksplan ditutup dan dibalut menggunakan *plastic wrap* kemudian diletakkan ke ruang penyimpanan dan disusun pada rak kultur.

b. Tahap induksi akar

Pada tahap ini, kegiatan dilakukan didalam LAF dimana semua alat dan bahan yang akan digunakan sudah disiapkan didalam LAF. Kemudian menyiapkan ekplan yang digunakan, yakni tunas tembakau steril hasil tahap multiplikasi tunas dengan ukuran 2-3 cm. Selanjutnya daun dipotong menggunakan gunting eksplan, diambil menggunakan pinset, dan kemudian dimasukkan kedalam botol kultur yang berisi media. Botol kultur yang sudah terisi eksplan ditutup dan dibalut menggunakan *plastic wrap* kemudian diletakkan keruang penyimpanan dan disusun pada rak kultur.

3.6.4 Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi: menjaga kebersihan lingkungan kultur, pemisahan media yang terkontaminasi dari mikroorganisme lain, penyemprotan dengan alkohol 70% pada ruang dan botol kultur setiap hari selama 2-3 bulan sampai ekplan bermultiplikasi menjadi tunas dan penyinaran menggunakan cahaya lampu neon pada tiap-tiap rak kultur.

3.6.5 Aklimatisasi

Pada tahap aklimatisasi, planlet diambil dari dalam botol kultur kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan media yang masih menempel pada akar. Planlet yang sudah bersih, ditanam pada media kompos yang sudah disiapkan dalam gelas plastik. Kemudian planlet ditutup dengan gelas plastik yang dibuka secara periodik setiap harinya sampai planlet mampu beradaptasi dengan lingkungannya.

3.7 Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan menjadi tiga tahap, yaitu tahap multiplikasi tunas, tahap induksi akar dan tahap aklimatisasi. Berikut adalah parameter pengamatan yang diamati pada penelitian ini, antara lain :

3.7.1 Multiplikasi tunas

- a. Kedinian tunas, dihitung dari hari pertama setelah tanam pada saat munculnya tunas pertama dengan kriteria panjang tunas minimal 0,5 cm yang tumbuh dari ekplan. Perhitungan kedinian tunas dinyatakan dalam satuan hari setelah tanam (HST);
- b. Jumlah tunas, dihitung jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan, tunas yang dihitung adalah tunas dengan panjang minimal 0,5 cm. Pengamatan ini dilakukan pada akhir pengamatan atau 7 minggu setelah tanam (7 MST);
- c. Tinggi tunas, dihitung pada akhir pengamatan atau 7 MST dengan mengukur tunas dari pangkal tunas hingga ujung tunas atau titik tumbuh tertinggi pada batang. Tinggi tunas diukur dengan menggunakan penggaris dan dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm);
- d. Jumlah daun, dihitung jumlah daun yang tumbuh pada eksplan dan telah membuka sempurna pada akhir pengamatan atau 7 MST;
- e. Berat basah, dihitung pada akhir pengamatan atau 7 MST dengan menimbang botol kultur yang berisi ekplan menggunakan timbangan analitik. Kemudian melakukan sub kultur dan menimbang berat botol hasil sub kultur. Hasil

perhitungan berat basah adalah selisih antara botol kultur awal dengan botol kultur akhir (setelah perlakuan sub kultur) dan perhitungan dinyatakan dalam satuan gram (g);

- f. Presentase eksplan bertunas, eksplan bertunas yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan tunas dengan panjang tunas minimal 0,5 cm. Perhitungan dilakukan pada 3 MST dan 7 MST, presentase eksplan bertunas dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$(\%) \text{ Bertunas} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang bertunas}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100 \%$$

- g. Presentase eksplan berakar (apabila berakar), eksplan berakar yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan akar primer dengan panjang akar minimal 0,5 cm. Perhitungan dilakukan pada 3 MST dan 7 MST, presentase eksplan berakar dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$(\%) \text{ Berakar} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berakar}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100 \%$$

3.7.2 Induksi akar

- a. Kedirian akar, dihitung dari hari pertama setelah tanam pada saat munculnya akar primer pertama dengan kriteria panjang akar minimal 0,5 cm yang tumbuh dari eksplan. Perhitungan kedirian akar dinyatakan dalam satuan hari setelah tanam (HST);
- b. Jumlah akar, dihitung jumlah akar primer yang terbentuk pada eksplan, akar yang dihitung adalah akar dengan panjang minimal 0,5 cm. Pengamatan ini dilakukan pada akhir pengamatan atau 4 minggu setelah tanam (4 MST);
- c. Panjang akar, dihitung pada akhir pengamatan atau 4 MST dengan mengukur akar dari pangkal akar hingga ujung akar. Panjang akar diukur dengan menggunakan penggaris dan dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm);
- d. Presentase eksplan berakar, eksplan berakar yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan akar dengan panjang akar minimal 0,5 cm. Perhitungan

dilakukan diakhir pengamatan dilakukan pada 2 MST dan 4 MST, presentase eksplan berakar dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$(\%) \text{ Berakar} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berakar}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100 \%$$

- e. Presentase eksplan berkalus (apabila berkalus), perhitungan dilakukan pada 2 MST dan 4 MST, presentase eksplan berkalus dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dengan menggunakan rumus :

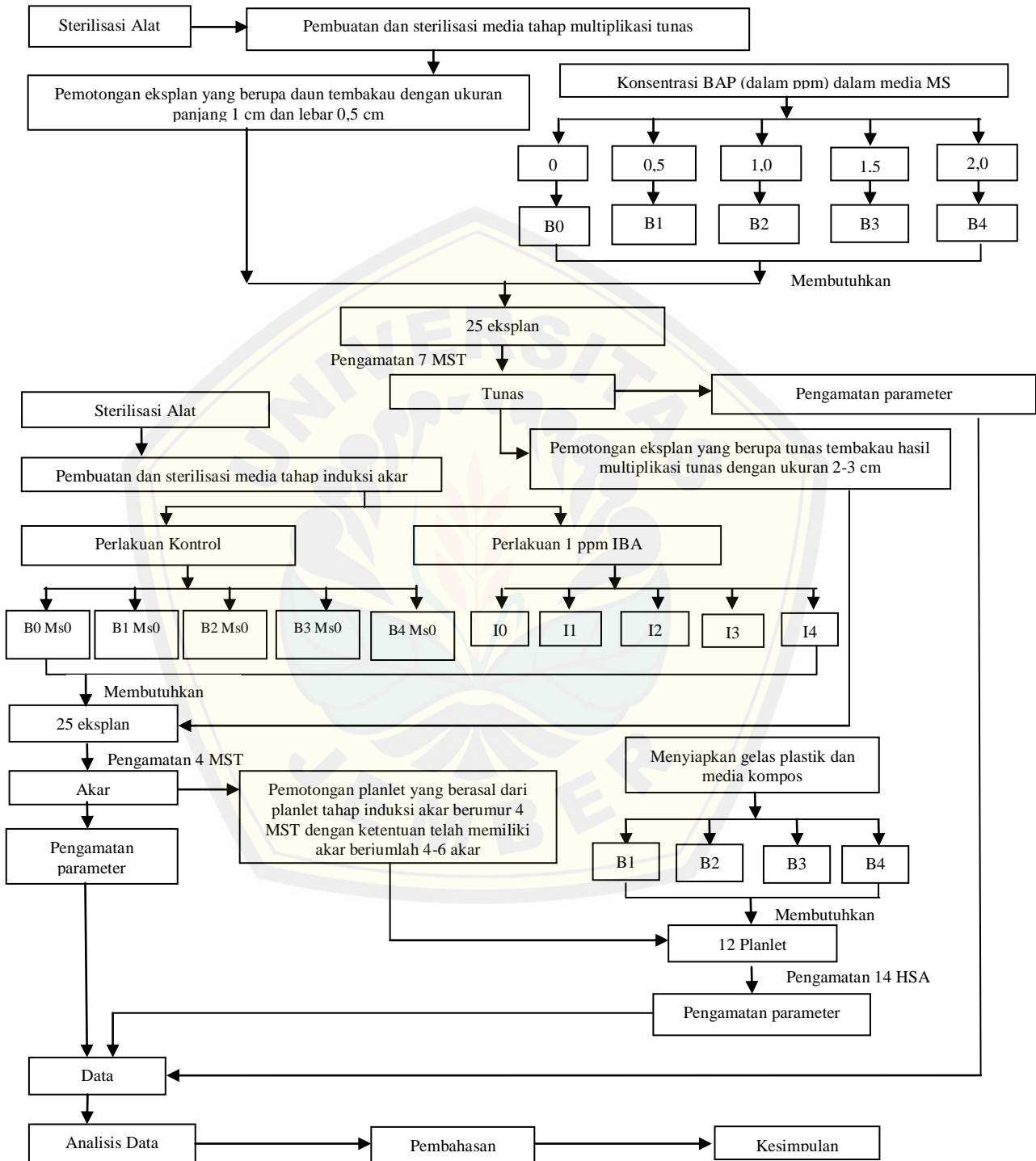
$$(\%) \text{ Berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berkalus}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100 \%$$

3.7.3 Aklimatisasi

Presentase daya hidup planlet, perhitungan dilakukan diakhir pengamatan atau 14 hari setelah tanam (HSA). Planlet diambil dari tahap induksi akar yang berumur 4 MST dengan ketentuan telah memiliki akar berjumlah 4-6 akar. Presentase planlet hidup dinyatakan dalam satuan persen (%) yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$(\%) \text{ Daya hidup planlet} = \frac{\text{Jumlah planlet yang hidup}}{\text{Jumlah planlet yang ditanam}} \times 100 \%$$

3.8 Skema Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Penelitian tentang penggunaan variasi konsentrasi BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) telah dilakukan pada Bulan Desember 2014 sampai Maret 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian terdiri dari 3 tahap, yaitu tahap multiplikasi tunas, tahap induksi akar, dan tahap aklimatisasi. Parameter pengamatan yang diamati pada tahap multiplikasi tunas yaitu, kedinian tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, berat basah, presentase eksplan bertunas, dan presentase eksplan berakar (apabila berakar). Parameter pengamatan yang diamati pada tahap induksi akar yaitu, kedinian akar, jumlah akar, panjang akar, presentase eksplan berakar dan presentase eksplan berkalus (apabila berkalus), sedangkan parameter pengamatan yang diamati pada tahap aklimatisasi yaitu presentase daya hidup planlet. Hasil penelitian pada masing-masing tahap diuraikan sebagai berikut.

4.1.1 Multiplikasi Tunas

Tahap multiplikasi tunas atau sering disebut dengan tahap penggandaan pucuk merupakan kegiatan memperbanyak tunas tanaman dengan menanam eksplan pada media kultur jaringan (Yuliarti, 2010). Keberhasilan dalam tahap multiplikasi tunas dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya yaitu penggunaan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang ditambahkan dalam media kultur jaringan. Penelitian ini menggunakan BAP yang termasuk dalam golongan hormon sitokinin. Pemberian BAP dalam media kultur jaringan sangat mempengaruhi respon yang dihasilkan oleh eksplan. Penelitian tentang penggunaan variasi konsentrasi BAP pada tanaman tembakau (*N. tabaccum L.*) Varietas TS3 telah dilakukan. Data yang diperoleh dari penelitian tersebut kemudian dianalisis menggunakan analisis sidik ragam.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, nilai F-hitung pada masing-masing parameter pengamatan tahap multiplikasi tunas disajikan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Nilai F-hitung parameter pengamatan tahap multiplikasi tunas

Parameter	F-Hitung ^{*)}
Kedinian tunas (HST)	53,52 **
Jumlah tunas	41,08 **
Tinggi tunas (cm)	19,13 **
Jumlah daun	40,76 **
Berat basah (g)	8,58 **

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

Tabel 4.2 Rata-rata kedinian tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah daun dan berat basah (gr).

Konsentrasi BAP (ppm)	Rata-rata ^{*)}									
	Kedinian tunas (HST)		Jumlah tunas		Tinggi tunas (cm)		Jumlah daun		Berat basah (gr)	
0	0,00	c	0,00	b	0,00	d	0,40	c	0,30	b
0,5	30,6	b	24,8	a	3,90	c	94,0	a	8,53	a
1	30,0	b	27,6	a	3,50	c	78,0	b	12,8	a
1,5	33,2	a	24,4	a	5,30	b	69,8	b	10,8	a
2	26,2	b	24,2	a	5,90	a	61,6	b	10,2	a

^{*)} Keterangan : Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%

Berdasarkan Tabel 4.1, nilai F-hitung seluruh parameter pengamatan menunjukkan bahwa variasi konsentrasi BAP memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.) Varietas TS3. Oleh karena itu, analisis perlu dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui besar pengaruh masing-masing konsentrasi BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.) Varietas TS3. Hasil analisis tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 berisi tentang perbandingan nilai rata-rata pada setiap variasi konsentrasi BAP pada setiap parameter pengamatan tahap multiplikasi tunas. Hasil tersebut akan diuraikan sebagai berikut.

a. Kedinian tunas

Kedinian tunas atau waktu munculnya tunas dalam penelitian ini dihitung dari hari pertama setelah tanam pada saat munculnya tunas pertama dengan kriteria panjang tunas minimal 0,5 cm. Perhitungan dinyatakan dalam satuan hari setelah tanam (HST). Contoh eksplan yang berhasil menumbuhkan tunas dapat dilihat pada Gambar 4.1.

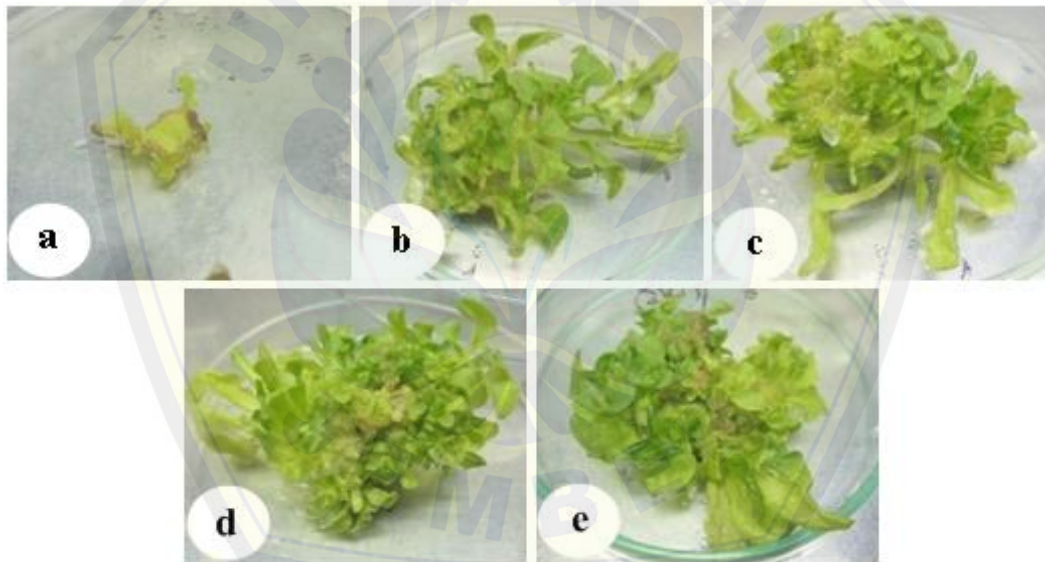


Gambar 4.1 Kedinian tunas 28 HST pada perlakuan 0,5 ppm BAP

Berdasarkan Tabel 4.2, eksplan yang memberikan respon kedinian tunas paling baik ditunjukkan pada perlakuan 2 ppm BAP yaitu pada hari ke 26-27 setelah tanam, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 ppm dan 1 ppm BAP yang memunculkan tunas pada hari ke 30-31 setelah tanam. Kedinian tunas yang paling lama adalah pada pemberian BAP dengan konsentrasi 1,5 ppm yaitu sekitar 33-34 HST, sedangkan pada perlakuan 0 ppm BAP, tunas tidak tumbuh sampai pada akhir pengamatan (7 MST).

b. Jumlah tunas

Jumlah tunas yang dihitung dalam penelitian adalah jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan dengan panjang minimal 0,5 cm. Pengamatan dilakukan pada akhir pengamatan (7 MST). Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah tunas paling besar adalah pada konsentrasi 1 ppm BAP yaitu sebesar 27-28 tunas, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm BAP yang memiliki jumlah tunas sebanyak 24-25 tunas, sedangkan pada perlakuan 0 ppm BAP atau perlakuan media MS tanpa pemberian hormon, tunas tidak tumbuh sampai pada akhir pengamatan (7 MST). Perbedaan respon eksplan pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Pembentukan tunas umur 7 MST pada perlakuan: a) eksplan pada konsentrasi 0 ppm BAP; b) eksplan pada konsentrasi 0,5 ppm BAP; c) eksplan pada konsentrasi 1 ppm BAP; d) eksplan pada konsentrasi 1,5 ppm BAP; dan e) eksplan pada konsentrasi 2 ppm BAP.

c. Tinggi tunas

Tinggi tunas dalam penelitian ini dihitung pada akhir pengamatan atau 7 MST dengan mengukur tunas dari pangkal tunas hingga ujung tunas atau titik tumbuh tertinggi pada batang. Tinggi tunas diukur dengan menggunakan penggaris dan

dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm). Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata tinggi tunas paling besar yaitu pada konsentrasi 2 ppm BAP sebesar 5,9 cm. Rata-rata tinggi tunas terbesar kedua yaitu sebesar 5,3 cm pada konsentrasi 1,5 ppm BAP, kemudian diikuti 0,5 ppm sebesar 3,9 cm yang memiliki interaksi pengaruh tidak nyata dengan 1 ppm sebesar 3,5 cm, sedangkan pada perlakuan 0 ppm BAP, tidak ditemukan kemunculan tunas.

d. Jumlah daun

Jumlah daun yang dihitung dalam penelitian ini adalah daun yang tumbuh pada eksplan dan telah membuka sempurna pada akhir pengamatan atau 7 MST. Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah daun paling besar yaitu pada konsentrasi 0,5 ppm BAP yang berkisar antara 80-100 helai daun, sedangkan perhitungan jumlah daun pada konsentrasi 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm BAP dengan rata-rata 60-80 helai daun menghasilkan perhitungan yang tidak berbeda nyata. Pada perlakuan 0 ppm BAP atau perlakuan media MS tanpa pemberian hormon, daun yang muncul hanya sekitar 3-5 helai saja.

e. Berat basah

Berat basah dalam penelitian ini dihitung pada akhir pengamatan atau 7 MST dengan menimbang botol kultur yang berisi eksplan menggunakan timbangan analitik. Kemudian melakukan sub kultur dan menimbang berat botol hasil sub kultur. Hasil perhitungan berat basah adalah selisih antara botol kultur awal dengan botol kultur akhir (setelah perlakuan sub kultur) dan perhitungan dinyatakan dalam satuan gram (g). Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata berat basah eksplan paling besar adalah pada konsentrasi 1 ppm BAP yaitu sebesar 12,75 gram, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm BAP yang memiliki berat basah eksplan sebesar 8-11 gram, sedangkan berat eksplan pada konsentrasi 0 ppm BAP hanya sekitar 0,3 gram.

f. Presentase eksplan bertunas

Presentase eksplan bertunas merupakan hasil perbandingan dari jumlah eksplan yang berhasil tumbuh menjadi tunas dengan jumlah eksplan yang ditanam pada media kultur jaringan. Eksplan bertunas yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan tunas dengan panjang tunas minimal 0,5 cm. Perhitungan dilakukan pada 3 MST dan 7 MST, presentase eksplan bertunas dinyatakan dalam satuan persen (%). Presentase eksplan bertunas disajikan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata-rata persentase eksplan bertunas (%) umur 3 MST dan 7 MST

Konsentrasi BAP (ppm)	Rata-rata presentase bertunas (%) ^{*)}	
	3 MST	7 MST
0	0	0
0,5	20	100
1	20	100
1,5	40	100
2	60	100

Pengamatan yang dilakukan pada 3 MST menunjukkan perbedaan pertumbuhan pada konsentrasi 0,5 ppm-2 ppm BAP. Presentase tunas yang dihasilkan sebesar 20% pada 0,5 ppm dan 1 ppm, 40 % pada 1,5 ppm, dan 60 % pada 2 ppm, sedangkan pada pengamatan 7 MST, presentase tunas yang dihasilkan sebesar 100% pada konsentrasi 0,5 ppm-2 ppm BAP. Namun pada perlakuan 0 ppm BAP, pengamatan 3 MST sampai 7 MST tidak menunjukkan perumbuhan tunas dan presentase pertumbuhan eksplan sebesar 0 %.

g. Presentase eksplan berakar

Presentase eksplan berakar merupakan hasil perbandingan dari jumlah eksplan yang berhasil berakar dengan jumlah eksplan yang ditanam pada media kultur jaringan. Eksplan berakar yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan akar dengan panjang akar minimal 0,5 cm. Perhitungan dilakukan diakhir pengamatan (7 MST) dan presentase eksplan berakar dinyatakan dalam satuan persen

(%). Berdasarkan pengamatan 7 MST, eksplan tidak menunjukkan respon pembentukan akar atau presentase eksplan berakar sebesar 0%.

4.1.2 Induksi Akar

Tahap induksi akar yaitu tahap menumbuhkan akar dari eksplan yang ditanam pada media kultur jaringan. Induksi akar ini merupakan tahapan paling penting dalam perbanyak tanaman secara *in vitro*, sebab akar merupakan organ tumbuhan yang berfungsi untuk menyerap air dan mineral dalam media tanam (Campbell, 2005). Penelitian ini menggunakan IBA yang tergolong dalam hormon auksin untuk menginduksi perakaran pada eksplan. Menurut Wulandari dkk (2013) IBA mampu meningkatkan perpanjangan sel akar dan memacu pertumbuhan akar pada suatu tanaman. Tahap induksi akar dalam penelitian ini terbagi menjadi satu perlakuan berupa pemberian 1 ppm IBA dan satu kontrol berupa media MS tanpa pemberian ZPT. Penelitian tentang induksi akar pada tanaman tembakau (*N. tabaccum L.*) Varietas TS3 telah dilakukan. Data yang diperoleh dari penelitian tersebut kemudian dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, nilai F-hitung pada masing-masing parameter tahap induksi akar dapat dilihat dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai F-hitung parameter pengamatan tahap induksi akar

Parameter	F-Hitung ^{*)}
Kedinian akar (HST)	18,64 **
Jumlah akar	2,40 tn
Panjang akar (cm)	5,29 *

^{*)} Keterangan :

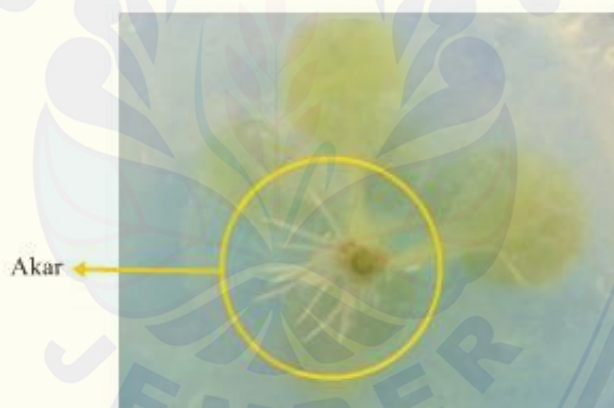
- tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)
- * = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)
- ** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

Berdasarkan Tabel 4.4, nilai F-hitung pada sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian 1 ppm IBA memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter kedinian

akar, pengaruh tidak nyata pada parameter jumlah akar, dan pengaruh nyata pada parameter panjang akar. Hasil yang menunjukkan pengaruh sangat nyata dan pengaruh nyata akan dilanjutkan menggunakan uji Duncan. Selanjutnya hasil tersebut dibandingkan dengan data yang diperoleh dari perlakuan kontrol (MS 0), berikut penjelasan dari masing-masing parameter pengamatan.

a. Kedinian akar

Kedinian akar dalam penelitian ini dihitung dari hari pertama setelah tanam pada saat munculnya akar pertama dengan kriteria panjang akar minimal 0,5 cm yang tumbuh dari eksplan. Perhitungan kedinian akar dinyatakan dalam satuan hari setelah tanam (HST). Contoh eksplan yang berhasil menumbuhkan akar dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kedinian akar 17 HST pada eksplan 2 ppm BAP

Kedinian akar pada tunas muncul sekitar 2 MST dalam media perakaran. Pada pengamatan parameter kedinian akar, eksplan berasal dari tunas pada masing-masing konsentrasi BAP pada tahap multiplikasi tunas. Masing-masing eksplan tersebut menunjukkan respon berbeda pada perlakuan 1 ppm IBA. Rata-rata pada parameter kedinian akar dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Rata-rata kedinian akar (HST) pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Kedinian akar (HST)	
	1 ppm IBA	Kontrol
0	0,00 c	0
0,5	13,8 b	25
1	26,0 b	23
1,5	23,8 b	26
2	31,5 a	26

Keterangan :

- Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada perlakuan 1 ppm IBA menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%

Berdasarkan Tabel 4.5, rata-rata kedinian akar paling cepat terjadi pada eksplan 0,5 ppm BAP yakni berkisar 13-14 HST, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan eksplan 1 ppm dan 1,5 ppm. Pada eksplan 2 ppm BAP, menunjukkan rata-rata waktu terbentuknya akar paling lama yakni sekitar 31-32 HST, sedangkan pada eksplan 0 ppm BAP, tidak ditemukan adanya pertumbuhan akar sampai akhir 4 MST. Perbedaan kedinian akar juga terjadi pada perlakuan kontrol atau tanpa pemberian hormon pada media kultur jaringan (MS 0). Berdasarkan Tabel 4.5, kedinian akar pada perlakuan kontrol sebesar 23 HST pada eksplan 1 ppm BAP, 25 HST pada eksplan 0,5 ppm BAP, dan 26 HST pada eksplan 1,5 dan 2 ppm BAP, sedangkan pada eksplan 0 ppm BAP, tidak ditemukan adanya pertumbuhan akar sampai akhir penelitian atau 4 MST.

b. Jumlah akar

Jumlah akar yang dihitung dalam penelitian ini adalah jumlah akar yang terbentuk pada eksplan, akar yang dihitung adalah akar dengan panjang minimal 0,5 cm. Pengamatan ini dilakukan pada 4 MST. Berdasarkan Tabel 4.4, nilai F-hitung pada jumlah akar menunjukkan bahwa perlakuan 1 ppm IBA dan eksplan asal memberikan interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar yang terbentuk. Meskipun demikian, rata-rata jumlah akar pada perlakuan 1 ppm BAP dan kontrol

menunjukkan respon yang berbeda. Perbedaan rata-rata jumlah akar tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.6.

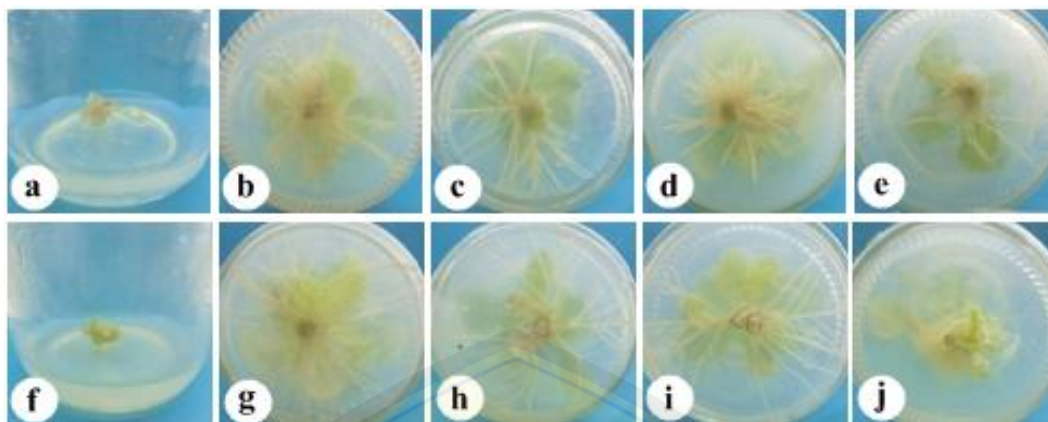
Tabel 4.6 Rata-rata jumlah akar pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Jumlah akar	
	1 ppm IBA	Kontrol
0	0 a	0
0,5	9 a	8
1	8 a	4
1,5	10 a	5
2	4 a	0

Keterangan :

- Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada perlakuan 1 ppm IBA menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%

Berdasarkan Tabel 4.6 menunjukkan bahwa rata-rata panjang akar terbanyak pada perlakuan 1 ppm IBA sebesar 10 akar pada eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP, nilai rata-rata terbanyak kedua yaitu 9 akar pada eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP, 8 akar pada eksplan konsentrasi 1 ppm BAP, dan 4 akar pada eksplan konsentrasi 2 ppm BAP, sedangkan pada eksplan konsentrasi 0 ppm BAP tidak ditemukan adanya pertumbuhan akar. Pada perlakuan kontrol (MS 0) menunjukkan rata-rata jumlah akar yang terbanyak yakni sebesar 8 akar pada eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP, terbanyak kedua yaitu 5 akar pada eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP, dan 4 akar pada eksplan konsentrasi 1 ppm BAP, sedangkan pada eksplan konsentrasi 2 ppm BAP dan 0 ppm BAP akar tidak tumbuh. Perbedaan pertumbuhan akar pada masing-masing eksplan dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Pembentukan akar umur 4 MST pada perlakuan: a) eksplan konsentrasi 0 ppm BAP+1 ppm IBA; b) eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP+1 ppm IBA; c) eksplan konsentrasi 1 ppm BAP+1 ppm IBA; d) eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP+1 ppm IBA; e) eksplan konsentrasi 2 ppm BAP+1 ppm IBA; f) eksplan konsentrasi 0 ppm BAP+MS 0; g) eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP+MS 0; h) eksplan konsentrasi 1 ppm BAP+MS 0; i) eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP+MS 0; dan j) eksplan konsentrasi 2 ppm BAP+MS 0.

c. Panjang akar

Panjang akar dalam penelitian ini dihitung pada 4 MST dengan mengukur akar dari pangkal akar hingga ujung akar. Panjang akar diukur dengan menggunakan penggaris dan dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm). Masing-masing eksplan menunjukkan respon berbeda pada perlakuan 1 ppm IBA. Rata-rata pada parameter panjang akar dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Berdasarkan Tabel 4.7, rata-rata panjang akar paling besar adalah pada eksplan 1 ppm BAP yakni 5,7 cm, namun hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan eksplan 1,5 ppm dan 2 ppm BAP yang memiliki panjang akar sebesar 3,8 cm dan 4,7 cm. Pada eksplan 0,5 ppm BAP, menunjukkan rata-rata panjang akar paling kecil yaitu sebesar 2,9 cm, sedangkan pada eksplan 0 ppm BAP, tidak ditemukan adanya pertumbuhan akar sampai akhir penelitian atau 4 MST. Perbedaan panjang akar juga terjadi pada perlakuan kontrol atau tanpa pemberian hormon pada media kultur jaringan (MS 0). Pada perlakuan kontrol (MS 0) menunjukkan rata-rata panjang akar yang terbesar yakni sebesar 5,3 cm pada eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP, terbesar

kedua yaitu 4,8 cm pada eksplan konsentrasi 0,5 ppm BAP, dan 3,8 cm pada eksplan konsentrasi 1 ppm BAP. Pada eksplan konsentrasi 2 dan 0 ppm BAP akar tidak tumbuh.

Tabel 4.7 Rata-rata panjang akar (cm) pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Panjang akar (cm)	
	1 ppm IBA	Kontrol
0	0,0 c	0,0
0,5	2,9 b	4,8
1	5,7 a	3,8
1,5	3,8 a	5,3
2	4,7 a	0,0

Keterangan :

- Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama pada perlakuan 1 ppm IBA menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%

d. Presentase eksplan berakar

Presentase eksplan berakar merupakan hasil perbandingan dari jumlah eksplan yang berhasil menumbuhkan akar dengan jumlah eksplan yang ditanam pada media perakaran kultur jaringan. Eksplan berakar yang dihitung adalah eksplan yang berhasil menumbuhkan akar dengan panjang akar minimal 0,5 cm. Perhitungan dilakukan pada 2 MST dan 4 MST, presentase eksplan berakar dinyatakan dalam satuan persen (%). Presentase pertumbuhan akar pada eksplan disajikan dalam Tabel 4.8.

Berdasarkan Tabel 4.8, presentase eksplan berakar 2 MST pada perlakuan 1 ppm IBA sebesar 0% pada eksplan konsentrasi 0 ppm BAP, 50% pada perlakuan 0,5 ppm IBA, 25% pada eksplan 1 ppm dan 1,5 ppm BAP, dan 0% pada eksplan 2 ppm BAP, sedangkan presentase eksplan berakar 4 MST sebesar 100% pada eksplan 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm BAP, pada eksplan 0,5 ppm BAP hanya tumbuh akar sebesar 75%, dan pada eksplan 0 ppm BAP tidak tumbuh akar, sedangkan pada perlakuan kontrol, secara umum pada pengamatan 2 MST dan 4 MST presentase

eksplan berakar sebesar 100%, kecuali pada eksplan 2 ppm dan 0 ppm BAP tidak menunjukkan pertumbuhan akar dan presentase pertumbuhannya sebesar 0%.

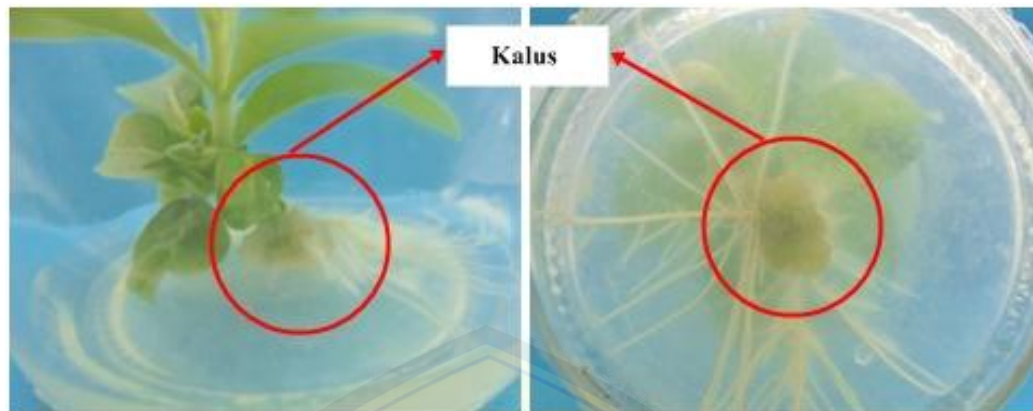
Tabel 4.8 Rata-rata presentase eksplan berakar (%) 2 MST dan 4 MST pada perlakuan 1 ppm IBA dan Kontrol

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase eksplan berakar (%)			
	1 ppm IBA		Kontrol	
	2 MST	4 MST	2 MST	4 MST
0	0	0	0	0
0,5	50	75	100	100
1	25	100	0	100
1,5	25	100	100	100
2	0	100	0	0

e. Presentase eksplan berkalus

Presentase eksplan berkalus merupakan hasil perbandingan dari jumlah eksplan yang berhasil menumbuhkan kalus dengan jumlah eksplan yang ditanam pada media perakaran kultur jaringan. Eksplan yang berkalus dapat dilihat pada Gambar 4.5. Presentase eksplan berkalus pada penelitian ini dilihat pada 2 MST dan 4 MST, presentase eksplan berkalus dinyatakan dalam satuan persen (%). Presentase pertumbuhan kalus pada eksplan disajikan dalam Tabel 4.9.

Berdasarkan Tabel 4.9, presentase eksplan berkalus 2 MST pada perlakuan 1 ppm IBA sebesar 25 % pada eksplan konsentrasi 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm dan 2 ppm BAP, sedangkan presentase eksplan berkalus 4 MST sebesar 100% pada eksplan 0 BAP, 50% pada eksplan 0,5 dan 1 ppm BAP, 25% pada eksplan 1,5 ppm BAP, dan sebesar 75% pada eksplan 2 ppm BAP, sedangkan pada perlakuan kontrol (media MS 0) menunjukkan tidak ada pembentukan kalus pada eksplan asal kecuali pada eksplan perlakuan 1 ppm BAP yang memunculkan kalus sebesar 100 % pada 2 MS dan 4 MST.



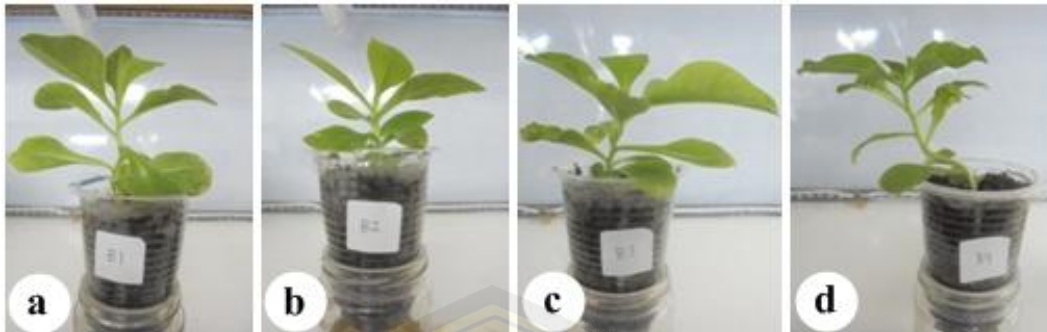
Gambar 4.5 Pembentukan kalus pada eksplan perlakuan 0,5 ppm BAP dalam media yang mengandung 1 ppm IBA umur 4 MST: a) tampak samping; dan b) tampak bawah.

Tabel 4.9 Rata-rata presentase eksplan bekalus (%) 2 MST dan 4 MST pada perlakuan 1 ppm IBA dan Kontrol

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase eksplan berkalus (%)			
	1 ppm IBA		Kontrol	
	2 MST	4 MST	2 MST	4 MST
0	25	100	0	0
0,5	25	50	0	0
1	25	50	100	100
1,5	25	25	0	0
2	50	75	0	0

4.1.3 Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah masa adaptasi tanaman hasil kultur jaringan dari kondisi lingkungan terkendali (*in vitro*) menjadi lingkungan yang tidak terkendali (*in vivo*). Hasil aklimatisasi pada 7 HSA (hari setelah aklimatisasi) dapat dilihat pada Gambar 4.6. Berdasarkan gambar 4.6, planlet yang digunakan hanya dari eksplan 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm BAP. Pada eksplan 0 ppm BAP, eksplan masih berbentuk kalus, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan aklimatisasi. Pada tahap aklimatisasi, perlu menghitung presentase daya hidup planlet. Presentase daya hidup planlet dapat dilihat pada Tabel 4.10.



Gambar 4.6 Aklimatisasi pada planlet umur 7 HSA dari eksplan: a) perlakuan 0,5 ppm BAP; b) perlakuan 1 ppm BAP; c) perlakuan 1,5 ppm BAP; dan d) perlakuan 2 ppm BAP.

Tabel 4.10 Rata-rata presentase daya hidup (%) planlet tahap aklimatisasi

Planlet dari eksplan asal pada perlakuan BAP (ppm)	Presentase daya hidup (%)
0,5	100
1	100
1,5	100
2	100

Presentase daya hidup dihitung pada akhir pengamatan (14 HSA) dengan cara membandingkan jumlah planlet yang berhasil hidup dengan jumlah planlet yang ditanam. Berdasarkan Tabel 4.10, secara umum presentase daya hidup planlet pada masing-masing eksplan asal yaitu sebesar 100%.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Multiplikasi Tunas

Tahap multiplikasi tunas atau sering disebut dengan tahap penggandaan pucuk merupakan kegiatan memperbanyak tunas tanaman dengan menanam eksplan pada media kultur jaringan (Yuliarti, 2010). Multiplikasi tunas dapat diperoleh melalui beberapa cara, yaitu melalui ujung tunas yang telah ada, tunas-tunas lateral, tunas-tunas adventif, dan embriogenesis somatik (Zulkarnain, 2009). Pembentukan multiplikasi tunas dalam kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh keadaan eksplan dan pemberian ZPT pada media kultur jaringan. ZPT yang sering digunakan dalam multiplikasi tunas adalah golongan sitokinin. Sitokinin dalam tumbuhan, banyak disintesis di daerah akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xilem untuk merangsang tumbuhnya tunas pada eksplan (Endang dkk, 2010).

Sitokinin merupakan komponen penting dalam mengontrol perkembangan tunas. Pada level sel, sitokinin berperan sebagai pengontrol banyak ekspresi gen, perkembangan kloroplas, dan sintesa metabolit sekunder. Dalam perkembangan seluler, sitokinin berperan dalam meningkatkan aktivitas pembelahan sel. Menurut D'Agostino (1999) dalam Fatmawati (2010) menyatakan bahwa dalam pembelahan sel, sitokinin berperan dalam transisi fase $G1 \rightarrow S$ dan fase $G2 \rightarrow M$ dengan meningkatkan aktivitas fosforilasi sel. Fase $G1$ (Gap 1) merupakan fase dimana pertumbuhan terjadi pada meningkatnya kuantitas organela dan meningkatnya volume sitoplasma. Setelah fase $G1$ siap, maka sel akan segera memasuki fase S . Fase S adalah saat terjadinya sintesa DNA yang menghasilkan replikasi DNA yang identik dengan DNA induk. Fase S diikuti fase $G2$ dimana sel mempersiapkan diri untuk melakukan mitosis. Sedangkan fase M adalah fase mitosis dimana tersaji pembelahan sel (pemisahan kromosom) dan pemisahan sitoplasma.

Jenis sitokinin yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAP. BAP merupakan senyawa sitokinin sintetik yang sengaja dibuat oleh manusia. Menurut Fatmawati dkk (2010), BAP sangat efektif untuk menginduksi tunas tanaman tembakau varietas Prancak 95. Selain itu, BAP merupakan senyawa sitokinin yang

mempunyai aktivitas yang lebih kuat dibandingkan dengan jenis sitokinin yang lainnya. Hal tersebut karena BAP mempunyai gugus benzil yang menyebabkan kondisi BAP cukup stabil apabila digunakan dalam media kultur jaringan (George dan Sherington, 1984).

Pemberian BAP dalam media kultur jaringan sangat mempengaruhi respon yang dihasilkan oleh tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.) pada setiap parameter pengamatan yang diamati. Parameter pengamatan tersebut antara lain parameter kedinian tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah daun, dan berat basah (g). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.1 yang menunjukkan bahwa nilai F-hitung pada seluruh parameter pengamatan menunjukkan variasi konsentrasi BAP memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.) Varietas TS3. Selain itu, variasi konsentrasi BAP juga dapat memberikan respon yang berbeda pada parameter pengamatan yang berbeda.

Variasi konsentrasi BAP memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap parameter kedinian tunas (saat muncul tunas). Kedinian tunas merupakan salah satu faktor penting di dalam perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan. Semakin cepat muncul tunas maka semakin cepat dihasilkan bahan untuk perbanyakan tanaman (Nursetiadi, 2008). Tunas yang terbentuk merupakan hasil diferensiasi dari eksplan. Berdasarkan Tabel 4.2, eksplan yang memberikan respon kedinian tunas paling baik ditunjukkan pada perlakuan 2 ppm BAP, namun hasil tersebut tidak berbeda dengan perlakuan 0,5 ppm dan 1 ppm BAP. Hal ini karena BAP dapat meningkatkan kandungan hormon sitokinin endogen pada eksplan. Hormon sitokinin tersebut akan ditranslokasi melalui pembuluh xilem dan akan merangsang tumbuhnya tunas pada eksplan, sedangkan pada perlakuan 0 ppm BAP, tunas tidak tumbuh sampai pada akhir pengamatan (7 MST). Hal tersebut diduga karena eksplan tidak menerima asupan hormon dari media kultur jaringan, sedangkan hormon endogen dalam eksplan belum mampu menginduksi munculnya tunas pada eksplan. Dalam penelitian ini, konsentrasi 2 ppm BAP memberikan respon kedinian tunas paling baik dibandingkan dengan konsentrasi BAP yang lainnya.

Perbedaan kedinian tunas pada masing-masing eksplan, selain dipengaruhi oleh hormon dan nutrisi dalam media kultur jaringan, perbedaan tersebut juga dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. Penelitian ini menggunakan eksplan daun. Menurut Tjitrosoepomo (2007) daun merupakan salah satu organ tumbuhan yang memiliki pertumbuhan terbatas, sehingga hormon pertumbuhan dalam daun juga terbatas. Hal tersebut dapat mempengaruhi pembentukan tunas pada eksplan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) menunjukkan adanya perbedaan kedinian tunas pada tanaman tembakau dengan menggunakan eksplan daun dan eksplan batang. Pada penelitian tersebut, rata-rata kedinian tunas muncul 20-25 HST pada eksplan daun, sedangkan 5-10 HST pada eksplan batang.

Variasi konsentrasi BAP juga memberikan pengaruh terhadap parameter jumlah tunas. Parameter jumlah tunas dalam kultur jaringan dapat diindikasikan sebagai keberhasilan dalam multiplikasi tunas. Semakin banyak tunas yang terbentuk maka semakin tinggi tingkat multiplikasinya (Nursetiadi, 2008). Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah tunas paling besar yaitu pada konsentrasi 1 ppm BAP, namun hasil tersebut tidak berbeda dengan perlakuan 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm BAP. Hasil penelitian ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) yang menyatakan bahwa pada konsentrasi 1 ppm BAP menunjukkan respon yang paling baik pada eksplan daun tembakau varietas TS3. Hal ini diduga karena konsentrasi 1 ppm BAP selain dapat meningkatkan konsentrasi hormon sitokinin endogen, penambahan konsentrasi tersebut juga dapat membuat konsentrasi sitokinin menjadi optimal dalam menumbuhkan tunas, sedangkan pada perlakuan 0 ppm BAP atau perlakuan media MS tanpa pemberian hormon, tunas tidak tumbuh sampai pada akhir pengamatan (7 MST). Hasil tersebut sama seperti tembakau dari varietas india yaitu tembakau Swarna, Bhavna, Kanchan, Mc Nair, dan 16/103 menunjukkan tidak adanya pertumbuhan dalam media MS tanpa adanya penambahan hormon (Sarala, 2013).

Berdasarkan Gambar 4.4 eksplan menunjukkan respon yang berbeda terhadap pemberian konsentrasi BAP yang berbeda. Eksplan yang bertunas, mengalami respon

penurunan jumlah tunas pada konsentrasi 2 ppm, walaupun jumlah tunas ini tidak berbeda dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm BAP. Hal ini diduga karena pemberian konsentrasi 2 ppm BAP dalam media kultur jaringan terlalu tinggi terhadap eksplan tanaman tembakau, sehingga pertumbuhan tunas pada eksplan cenderung terhambat. Pernyataan tersebut didukung oleh Nisak dkk (2012) menyatakan bahwa ZPT yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, apabila dalam konsentrasi rendah akan merangsang dan mempercepat pertumbuhan tanaman, dan sebaliknya apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi akan menghambat pertumbuhan tanaman.

Hasil penelitian ini sangat berbeda jauh dari penelitian yang menggunakan dua faktor perlakuan, yaitu pemberian ZPT jenis auksin dan sitokinin pada media kultur jaringan. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati dkk (2010) yang menunjukkan kombinasi BAP 2 ppm dan IAA 0,5 ppm memberikan pengaruh terbaik pada multiplikasi tunas tanaman tembakau varietas Prancak 95. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Ali (2007) pada tembakau varietas SPTG-172 berhasil menginduksi terbentuknya kalus dan tunas pada perlakuan 2 ppm BAP dan 0,2 ppm NAA dan kombinasi 1 ppm BAP dan 0,2 ppm NAA pada tembakau varietas K-399.

Selain kedinian tunas dan jumlah tunas, variasi konsentrasi BAP juga berpengaruh terhadap tinggi tunas. Berdasarkan Tabel 4.2, rata-rata tinggi tunas pada konsentrasi dari 0,5 ppm sampai 2 ppm cenderung mengalami peningkatan, hal ini diduga pada konsentrasi tersebut belum menunjukkan pemberian konsentrasi BAP yang optimal terhadap pertumbuhan tinggi tunas. Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014), menunjukkan bahwa terjadi penurunan tinggi tunas pada pemberian konsentrasi 3 ppm dan 4 ppm BAP pada tembakau varietas TS3. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pemberian konsentrasi 2 ppm BAP adalah pemberian konsentrasi BAP yang optimal terhadap tinggi tunas eksplan tembakau. Pemberian konsentrasi 3 ppm dan 4 ppm BAP diduga terlalu tinggi untuk tanaman tembakau, sehingga menghambat pertumbuhan yang terjadi pada eksplan (Nursetiadi, 2008). Hal ini karena didalam media kultur jaringan tidak mengandung hormon, dan

diduga hormon endogen dalam eksplan belum mampu menumbuhkan tunas pada eksplan.

Berdasarkan Tabel 4.1, pemberian konsentrasi BAP pada media kultur jaringan memberikan pengaruh yang nyata terhadap tinggi tunas. Menurut Fatmawati dkk (2010), BAP yang juga termasuk golongan sitokinin telah memberikan peranan penting dalam hampir semua aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman termasuk dalam pembelahan sel, inisiasi dan pertumbuhan tunas. Selain dipengaruhi oleh faktor ZPT, jenis eksplan yang digunakan juga sangat mempengaruhi pertambahan tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) menunjukkan bahwa eksplan batang menunjukkan rata-rata tinggi tunas paling besar yakni sebesar 4,54 cm, dibandingkan dengan eksplan daun dan akar pada tanaman tembakau varietas TS3.

Variasi konsentrasi BAP juga memberikan pengaruh terhadap parameter jumlah daun. Daun merupakan organ vegetatif yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media. Sumber nitrogen dalam media kultur jaringan dapat berupa NH_4^+ dan NO_3^- . Daun memiliki peranan penting dalam metabolisme tanaman, karena salah satu fungsi daun pada tanaman yaitu sebagai tempat terjadinya fotosintesis atau proses pembentukan karbohidrat dari CO_2 dan H_2O dengan bantuan sinar matahari (Acima, 2006).

Berdasarkan Tabel 4.2, rata-rata jumlah daun paling besar yaitu pada konsentrasi 0,5 ppm BAP dan rata-rata jumlah daun dari konsentrasi 0,5 ppm sampai 2 ppm cenderung mengalami penurunan. Penambahan sitokinin (BAP) dalam media kultur jaringan dapat mendorong sel-sel meristem pada eksplan untuk membelah dan berkembang membentuk tunas maupun daun (Nursetiadi, 2008). Menurut Harminingsih (2007), semakin tinggi konsentrasi BAP, maka jumlah daun yang terbentuk pada eksplan juga semakin menurun. Hal tersebut karena perlakuan pemberian BAP pada media kultur jaringan, menyebabkan eksplan tidak dapat memunculkan akar, sehingga tidak terjadi sintesis sitokinin diujung akar dan tidak terjadi pengangkutan nutrisi melalui xylem keseluruhan bagian tanaman. Menurut

Yelnititis dkk (1999) penambahan sitokinin dapat mendorong meningkatnya jumlah dan ukuran daun. Namun, penyerapan sitokinin dari media dipengaruhi oleh keberadaan akar. Tanpa akar, penyerapan sitokinin dari media dan pengangkutan ke bagian tanaman menjadi terhambat. Hal ini akan mengakibatkan jumlah daun menurun dan ukuran daun mengecil (Waloyaningsih, 2004).

Variasi konsentrasi BAP juga dapat mempengaruhi berat basah eksplan. Berdasarkan Tabel 4.2, berat basah eksplan paling kecil yaitu pada konsentrasi 0 ppm BAP hanya sekitar 0,3 gram. Hal ini diduga karena pada konsentrasi 0 ppm BAP, media tidak mengandung hormon, sehingga pertumbuhan eksplan hanya dipengaruhi oleh hormon endogen dari eksplan saja. Pertumbuhan eksplan yang terhambat ini menyebabkan berat basah eksplan bernilai kecil, sebab morfogenesis tidak terjadi pada eksplan yang berarti tidak ada pula penambahan jumlah sel pada eksplan. Berdasarkan Tabel 4.2, eksplan mengalami respon penurunan berat basah pada konsentrasi 2 ppm. Hal ini diduga karena pemberian konsentrasi 2 ppm BAP dalam media kultur jaringan terlalu tinggi terhadap eksplan tanaman tembakau, sehingga berat eksplan juga semakin kecil. Pernyataan tersebut didukung oleh Sari (2014) yang menyatakan bahwa peningkatan BAP dapat menghambat berat basah eksplan, hal tersebut karena BAP dalam konsentrasi yang tinggi dapat menghambat pembentukan awal tunas.

Secara umum, respon organogenesis yang ditunjukkan eksplan pada tahap multiplikasi tunas ini terjadi secara langsung, artinya pembentukan organ tanpa melalui pembentukan kalus terlebih dahulu (Hartanti dkk, 2012). Oleh sebab itu, dalam penelitian ini juga perlu menghitung presentase eksplan yang berhasil menumbuhkan organ, salah satunya adalah menghitung presentase eksplan bertunas. Berdasarkan perhitungan presentase eksplan bertunas, ditemukan adanya perbedaan presentase. Hal ini diduga disebabkan oleh pemberian variasi konsentrasi BAP dan keadaan endogen pada masing-masing eksplan. Menurut Nisak dkk (2012) kondisi tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan eksplan dikendalikan dari keseimbangan

dan interaksi dari ZPT yang ada didalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media.

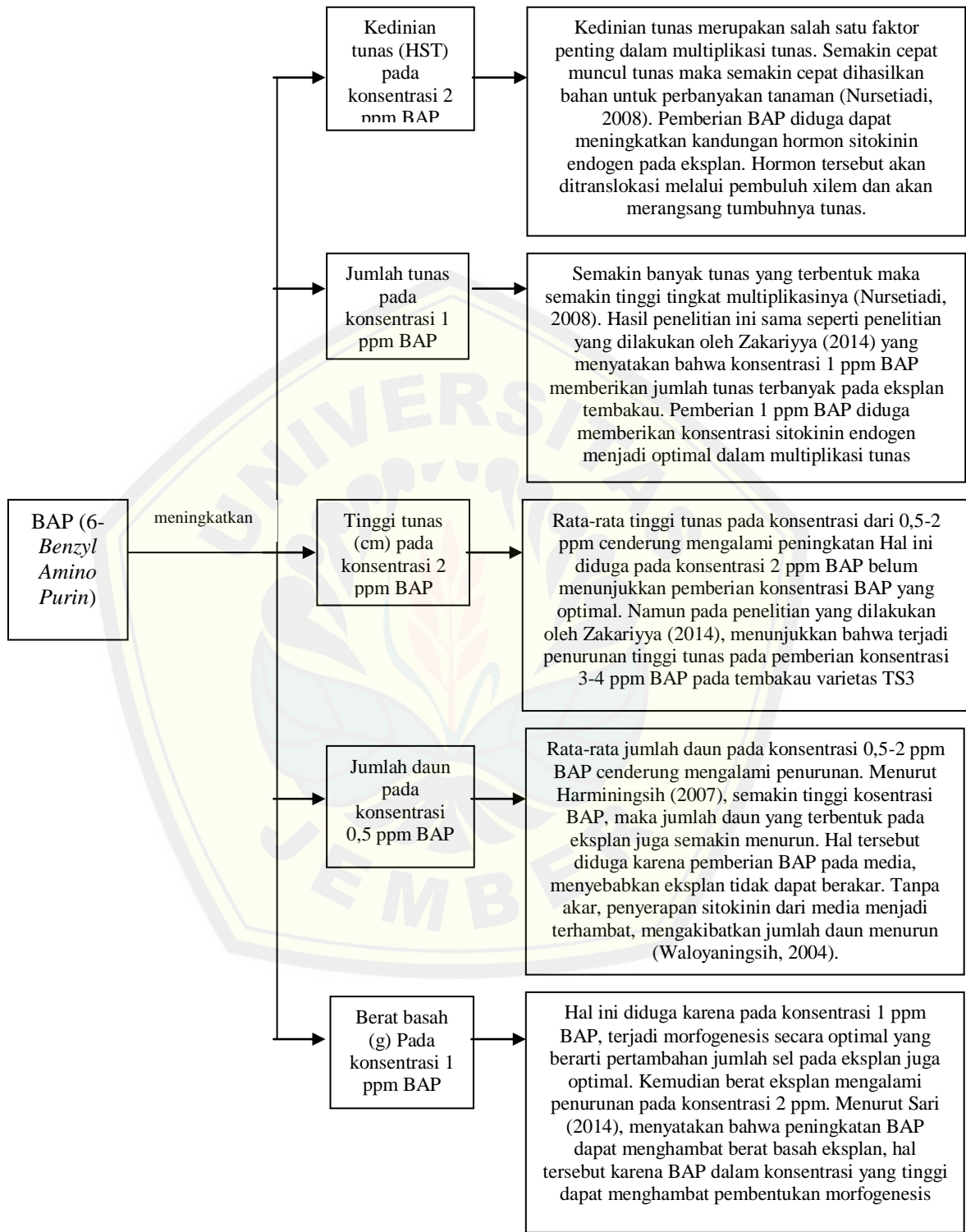
Berdasarkan Tabel 4.3, terjadi perbedaan presentase eksplan bertunas pada pengamatan 3 MST dan 7 MST. Perbedaan tersebut diduga karena adanya pertumbuhan dan respon yang ditunjukkan eksplan terhadap kandungan nutrisi dan ZPT pada media kultur jaringan. Secara umum, presentase eksplan bertunas pada pengamatan 7 MST lebih tinggi dibandingkan pengamatan 3 MST kecuali pada konsentrasi 0 ppm BAP yang tidak menunjukkan pertumbuhan tunas dan presentase pertumbuhan eksplan sebesar 0 %. Hal tersebut diduga disebabkan karena media tidak mengandung BAP. Seperti yang dijelaskan sebelumnya bahwa pertumbuhan eksplan dikendalikan dari keseimbangan dan interaksi dari ZPT yang ada didalam eksplan baik endogen maupun eksogen yang diserap dari media. Eksplan didalam media 0 ppm BAP hanya memanfaatkan hormon endogen yang terdapat didalamnya. Konsentrasi hormon endogen dalam eksplan belum mampu menginduksi pertumbuhan tunas pada eksplan. Hal tersebut karena menurut Gaba (2005), bagian tanaman yang aktif memproduksi ZPT endogen adalah meristem batang, sedangkan eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun.

Respon organogenesis secara hormonal dapat terjadi dengan pemenuhan 3 syarat. Syarat pertama yaitu terdapat sel-sel eksplan yang mampu merespon sinyal hormonal baik sinyal hormon endogen maupun hormon eksogen (hormon dalam media). Respon yang dihasilkan adalah perkembangan sel. Syarat kedua adalah sel-sel tersebut dapat menginduksi pembentukan organ (primordial organ) tertentu sesuai dengan keseimbangan hormon baik hormon endogen maupun hormon eksogen. Syarat ketiga adalah primordial organ tersebut dapat bermultiplikasi dan berkembang menjadi organ (Tyburski dan Tretyn, 2008). Arah pembentukan organ dari primordial organ sangat dipengaruhi oleh rangsangan hormon eksogen dari media kultur jaringan (Sugiyama, 1999).

Selain presentase eksplan bertunas, pada tahap multiplikasi tunas juga perlu dilihat presentase eksplan berakar. Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh eksplan

tidak menunjukkan pertumbuhan akar atau presentase eksplan berakar sebesar 0%. Hal tersebut diduga karena BAP mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu penggandaan tunas, karena BAP mengandung gugus benzil dalam struktur kimianya (George dan Sherington, 1984). Pemberian BAP didalam media kultur jaringan berfungsi untuk meningkatkan perkembangan dan pertumbuhan eksplan. BAP juga dapat meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk, dan morfogenesis pucuk (Zulkarnain, 2009).

Penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) pada 4 MST yang menggunakan eksplan berbagai jenis organ pada tanaman tembakau (*N. tabacum* L.) menyatakan bahwa presentase eksplan berakar sebesar 100% pada 0 ppm BAP dan 40% pada 1 ppm BAP yang menggunakan jenis eksplan batang. Pada jenis eksplan akar, presentase eksplan berakar sebesar 20% pada 1 ppm BAP dan 10% ppm BAP pada 2 ppm dan 3 ppm BAP, sedangkan pada jenis eksplan daun, eksplan tidak menunjukkan respon pembentukan akar atau presentase eksplan berakar sebesar 0%. Menurut Basri dan Muslimin (2001), ZPT yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, sebagian akan masuk ke dalam sel tanaman baik secara difusi maupun penyerapan aktif. Masuknya ZPT tersebut akan mengubah keseimbangan hormon dalam tanaman. Oleh sebab itu, respon yang dihasilkan juga berbeda pada setiap eksplan. Pengaruh pemberian konsentrasi BAP terhadap masing-masing parameter pengamatan, dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Pengaruh pemberian BAP terhadap parameter pengamatan multiplikasi tunas

4.2.2 Induksi Akar

Tahap induksi akar yaitu tahap menumbuhkan akar dari eksplan yang ditanam pada media kultur jaringan. Induksi akar merupakan tahapan penting dalam perbanyak tanaman secara *in vitro*, sebab akar merupakan organ tumbuhan yang berfungsi untuk menyerap air dan mineral dalam media tanam (Campbell, 2005). Pembentukan akar dalam kultur jaringan, sangat dipengaruhi oleh pemberian ZPT dalam media. ZPT yang digunakan untuk pendorong perakaran yaitu golongan auksin, yaitu Indole-3-Acetic Acid (IAA), Naphtalene Acetic Acid (NAA), dan Indole-3-Butyric Acid (IBA). Pemilihan jenis auksin untuk memacu pertumbuhan akar didasarkan pada sifat translokasi, persistensi (tidak mudah terurai), dan laju aktivitas (Arliantin dkk, 2013). Pada perkembangan seluler, auksin berperan dalam pembesaran sel melalui hipotesa pertumbuhan asam. Auksin dapat memicu pompa proton untuk meningkatkan jumlah H^+ ke dalam sel, sehingga sitoplasma sel menjadi lebih asam kemudian menyebabkan melonggarnya polisakarida pada dinding sel. Dengan demikian air dengan mudah berosmosis ke dalam sel dan menyebabkan sel mengalami pembesaran (Fatmawati, 2010).

Penelitian ini menggunakan IBA untuk menginduksi perakaran pada eksplan. Menurut Wulandari dkk (2013) IBA mampu meningkatkan perpanjangan sel akar dan memacu pertumbuhan akar pada suatu tanaman. Selain itu, IBA juga dapat memperbaiki perakaran yang rusak serta memperbaiki bentuk akar yang telah termutasi. IBA memiliki sifat kandungan kimia yang lebih stabil dan memiliki daya kerja yang lebih lama dibandingkan dengan jenis auksin yang lain, sehingga dapat memacu pertumbuhan dan pembentukan akar eksplan (Shofiana dkk, 2013).

Tahap induksi akar dalam penelitian ini terbagi menjadi satu perlakuan dan satu kontrol. Perlakuan berupa pemberian 1 ppm IBA pada media MS dan kontrol berupa media MS tanpa pemberian ZPT. Baik perlakuan maupun kontrol, keduanya sangat mempengaruhi respon yang dihasilkan oleh eksplan. Berdasarkan Tabel 4.4, nilai F-hitung pada masing-masing parameter pengamatan menunjukkan bahwa

pemberian 1 ppm IBA memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter kedinian akar, pengaruh tidak nyata pada parameter jumlah akar, dan pengaruh nyata pada parameter panjang akar. Hasil tersebut selanjutnya dibandingkan dengan data yang diperoleh dari perlakuan kontrol (MS 0). Baik perlakuan 1 ppm IBA dan perlakuan kontrol, keduanya dapat memberikan respon yang berbeda pada parameter pengamatan yang berbeda.

Parameter pengamatan tahap induksi akar yang pertama adalah parameter kedinian akar. Kedinian akar atau saat munculnya akar merupakan salah satu faktor penting di dalam perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan. Adanya perbedaan waktu pertumbuhan akar tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi eksplan, karena menurut Basri dan Muslimin (2001) menyatakan bahwa ZPT yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, sebagian akan masuk kedalam sel tanaman baik secara difusi maupun secara penyerapan aktif. Masuknya ZPT tersebut akan mengubah keseimbangan hormon dalam tanaman. Berdasarkan pernyataan tersebut, diduga adanya perbedaan pemberian konsentrasi BAP pada eksplan asal, menyebabkan perubahan hormonal pada eksplan. Perubahan ini menyebabkan respon eksplan yang ditunjukkan pada perlakuan 1 ppm IBA juga berbeda-beda.

Berdasarkan Tabel 4.5, secara umum kedinian akar pada perlakuan kontrol lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan IBA 1 ppm. Hal ini diduga karena dalam perlakuan 1 ppm IBA, menyebabkan perubahan keseimbangan hormon endogen pada eksplan, sehingga eksplan memerlukan waktu lagi untuk beradaptasi dengan perlakuan tersebut. Sesuai dengan pernyataan Basri dan Muslimin (2001) menyatakan bahwa ZPT yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, sebagian akan masuk kedalam sel tanaman baik secara difusi maupun secara penyerapan aktif. Masuknya ZPT tersebut akan mengubah keseimbangan hormon dalam tanaman, sedangkan pada perlakuan kontrol, hormon endogen dalam eksplan sudah mampu menginduksi pembentukan akar, sehingga eksplan yang ditanam dalam media tanpa pemberian ZPT tambahan, akar dapat terbentuk. Kondisi kedinian akar yang lebih cepat pada perlakuan kontrol, diduga karena dalam media MS yang tidak mengandung hormon

tersebut tidak mempengaruhi keseimbangan hormon dalam tubuh eksplan, sehingga hormon endogen dalam eksplan langsung dapat melanjutkan pertumbuhannya yakni berupa pembentukan akar.

Parameter selanjutnya yang diamati pada tahap induksi akar adalah parameter jumlah akar. Berdasarkan Tabel 4.4, nilai F-hitung yang dihasilkan dari analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan 1 ppm IBA dan eksplan asal memberikan interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar yang terbentuk. Hal ini diduga karena konsentrasi IBA yang digunakan untuk media perakaran hanya satu taraf konsentrasi saja, sedangkan semua eksplan pada masing-masing perlakuan awal memberikan respon yang hampir sama terhadap perlakuan 1 ppm IBA. Hasil penelitian ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) pada tanaman tembakau varietas TS3 yang menunjukkan bahwa interaksi NAA dan tunas asal organogenesis tidak berpengaruh secara nyata terhadap jumlah akar yang terbentuk. Tunas asal organogenesis secara tunggal juga tidak mempengaruhi jumlah akar yang terbentuk pada eksplan.

Berdasarkan Tabel 4.6, nampak adanya perbedaan jumlah akar pada perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol memberikan perbedaan nilai terhadap jumlah akar. Jumlah akar pada perlakuan IBA lebih banyak dibandingkan dengan jumlah akar pada perlakuan kontrol. Menurut Artanti (2007) menyatakan bahwa IBA mampu meningkatkan perpanjangan sel akar dan memacu pertumbuhan akar. Media yang mengandung IBA akan menambah kadar auksin dalam eksplan. Hal tersebut diduga menjadi penyebab pertumbuhan akar pada perlakuan 1 ppm IBA lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan kontrol, sedangkan pada perlakuan kontrol, eksplan hanya memanfaatkan hormon auksin endogen untuk pertumbuhan akar. Dalam tahap induksi akar ini, eksplan yang digunakan adalah tunas yang berasal dari tahap multiplikasi tunas. Menurut Fatmawati dkk (2010) menyatakan bahwa auksin pada tunas diproduksi dibagian koleoptil dan akan ditransportasikan kebagian akar. Hal ini diduga menjadi penyebab munculnya akar pada perlakuan MS 0.

Parameter pengamatan yang ketiga adalah parameter panjang akar. Berdasarkan Tabel 4.7, rata-rata panjang akar paling besar adalah pada eksplan 1 ppm BAP, sedangkan pada eksplan 0 ppm BAP, tidak ditemukan adanya pertumbuhan akar sampai akhir penelitian atau 4 MST. Hal ini diduga karena hormon endogen dalam eksplan belum mampu menumbuhkan akar. Adanya perbedaan waktu pertumbuhan akar tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi eksplan, karena menurut Basri dan Muslimin (2001) menyatakan bahwa ZPT yang ditambahkan dalam media kultur jaringan, sebagian akan masuk ke dalam sel tanaman dan akan mengubah keseimbangan hormon dalam tanaman. Berdasarkan pernyataan tersebut, diduga adanya perbedaan pemberian konsentrasi BAP pada eksplan asal, menyebabkan perubahan hormonal pada eksplan. Perubahan ini menyebabkan respon eksplan yang ditunjukkan pada perlakuan 1 ppm IBA juga berbeda-beda. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Zakariyya (2014) pada tembakau varietas TS3, menyatakan bahwa tunas asal organogenesis tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar, namun variasi konsentrasi NAA menghasilkan panjang akar yang berbeda-beda pada masing-masing eksplan. Pengaruh konsentrasi 0,25 ppm NAA memberikan respon terbaik terhadap panjang akar dengan rata-rata panjang akar sebesar 0,32 cm, sedangkan konsentrasi 0,75 ppm NAA memberikan nilai panjang akar terpendek yaitu 0,09 cm. Hal tersebut diduga penambahan 0,75 ppm NAA terlalu tinggi untuk tanaman tembakau TS3, sehingga dapat menghambat pertumbuhan.

Perlakuan 1 ppm IBA dan kontrol memberikan pengaruh yang berbeda pada panjang akar. Secara umum, panjang akar perlakuan 1 ppm IBA lebih besar dibandingkan dengan panjang akar perlakuan kontrol pada eksplan konsentrasi 0,5 ppm dan 1 ppm BAP. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zulkarnain (2009) yang menyatakan bahwa IBA sangat efektif untuk menginduksi perakaran dibandingkan dengan jenis auksin yang lainnya, sedangkan eksplan konsentrasi 1,5 ppm BAP memberikan nilai panjang akar pada perlakuan 1 ppm IBA lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini karena pemberian konsentrasi 1,5 ppm BAP pada tahap multiplikasi tunas, diduga memberikan pengaruh yang lebih tinggi

dibandingkan dengan perlakuan 1 ppm IBA pada tahap induksi akar. Konsentrasi 1,5 ppm BAP menyebabkan peningkatan yang lebih besar terhadap konsentrasi sitokinin dalam eksplan, sedangkan konsentrasi 1 ppm IBA juga mampu meningkatkan konsentrasi auksin dalam eksplan, namun tidak sebesar peningkatan konsentrasi sitokinin pada eksplan. Menurut Zulkarnain (2009) yang menyatakan bahwa ZPT jenis sitokinin dapat menghambat pembentukan akar, menghalangi pertumbuhan akar, dan menghambat pengaruh auksin terhadap inisiasi akar. Sesuai dengan pernyataan tersebut, pada penelitian ini BAP pada dalam eksplan menghambat pengaruh IBA.

Sama halnya dengan tahap multiplikasi tunas, dalam penelitian ini juga perlu menghitung presentase eksplan yang berhasil menumbuhkan organ, salah satunya adalah menghitung presentase eksplan berakar. Berdasarkan perhitungan presentase eksplan berakar, ditemukan adanya perbedaan presentase pada 2 MST dan 4 MST baik pada perlakuan 1 ppm IBA maupun kontrol. Berdasarkan Tabel 4.8, Seluruh eksplan memunculkan struktur akar, kecuali pada eksplan 0 ppm BAP. Hal ini diduga karena pemberian ZPT awal pada eksplan yaitu 0 ppm BAP pada tahap multiplikasi tunas belum mampu merangsang pertumbuhan pada eksplan, sedangkan pada tahap induksi akar, pemberian 1 ppm IBA dapat memicu pertumbuhan pada eksplan salah satunya yaitu munculnya kalus. Menurut Zulkarnain (2009) menyebutkan bahwa pemberian auksin dalam media kultur jaringan dapat menginduksi pembentukan kalus pada eksplan.

Pada perlakuan kontrol, secara umum pada pengamatan 2 MST dan 4 MST presentase eksplan berakar sebesar 100%, kecuali pada eksplan 2 ppm dan 0 ppm BAP tidak menunjukkan pertumbuhan akar dan presentase pertumbuhannya sebesar 0%. Pada eksplan konsentrasi 2 ppm BAP akar tidak tumbuh, hal ini diduga karena terdapat kesalahan posisi dalam penanaman tunas pada media perakaran. Selain itu, diduga pemberian 2 ppm BAP pada tahap multiplikasi tunas lebih mendominasi dalam merangsang pertumbuhan pada eksplan dibandingkan dengan hormon auksin endogen dalam eksplan. Menurut Fatmawati (2010) menyatakan bahwa rasio

sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan auksin akan memicu pembentukan tunas dan cenderung menghambat pertumbuhan akar, sedangkan pada eksplan 0 ppm BAP akar juga tidak tumbuh, hal ini diduga karena hormon endogen eksplan belum mampu menginduksi pembentukan akar.

Selain presentase eksplan berakar, pada tahap induksi akar juga perlu dilihat presentase eksplan berkalus, hal ini karena penambahan auksin dalam media kultur jaringan selain dapat menginduksi pertumbuhan akar, auksin ini juga dapat menginduksi pembentukan kalus. Kalus merupakan poliferasi massa sel yang belum terdiferensiasi, yang diperoleh dari teknik kultur jaringan dengan tambahan nutrisi, dan hormon tertentu yang dapat menunjang pertumbuhan yang ditambahkan ke dalam media kultur (Malik, 2004).

Berdasarkan Tabel 4.9, menunjukkan bahwa hampir semua eksplan pada perlakuan 1 ppm IBA membentuk kalus, meskipun diperlukan waktu yang berbeda-beda dalam menginduksi kalus. Pernyataan tersebut dapat dilihat dari Tabel 4.9 yang menunjukkan nilai berbeda pada 2 MST dan 4 MST. Hal ini mengindikasikan bahwa adanya IBA mempengaruhi pembentukan kalus. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nisak dkk (2012) menunjukkan bahwa adanya NAA juga dapat menginduksi pembentukan kalus pada tembakau var. Prancak 95 meskipun NAA tersebut dikombinasikan dengan BAP. Hal ini diduga karena hormon auksin endogen dalam eksplan mampu membentuk struktur kalus pada eksplan.

Perbedaan pertumbuhan kalus pada masing-masing eksplan selain dipengaruhi oleh ZPT, perbedaan pertumbuhan kalus juga sangat dipengaruhi oleh hormon endogen. Pembelahan sel yang mengarah pada terbentuknya kalus terjadi karena adanya respon terhadap luka dan suplai hormon baik hormon endogen maupun eksogen (George dan Sherington, 1993). Hormon endogen yang berperan dalam pembentukan kalus adalah auksin. Penambahan 1 ppm IBA dalam media dapat meningkatkan konsentrasi auksin endogen dalam eksplan. Pada awal respon pertumbuhan, auksin akan memicu perpanjangan sel melalui pelonggaran selulosa dinding sel (Nisak dkk, 2012). Dinding sel akan mengalami pembentangan dan terjadi

penyerapan air, sehingga sel akan membengkak dan memicu sel tersebut untuk membelah dan membentuk kalus (Sitorus, 2011). Kalus yang terbentuk akan terus berkembang sampai menutupi seluruh permukaan eksplan.

4.2.3 Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah masa adaptasi tanaman hasil kultur jaringan dari kondisi lingkungan terkendali (*in vitro*) menjadi lingkungan yang tidak terkendali (*in vivo*). Tahap aklimatisasi merupakan tahap paling kritis dalam siklus kultur jaringan, karena dapat terjadi tingkat kematian yang tinggi akibat dari proses adaptasi tanaman pada kondisi heterotrof menjadi autotrof (Zulkarnain, 2011). Aklimatisasi pada penelitian ini bertujuan untuk melihat presentase daya hidup planlet pada lingkungan *in vivo* (lingkungan tidak terkendali). Planlet merupakan eksplan yang siap diaklimatisasi dan dalam penelitian ini diambil dari tahap induksi akar yang berumur 4 MST dengan ketentuan telah memiliki akar berjumlah 4-6 akar. Planlet tersebut kemudian ditanam dalam media kompos yang mengandung unsur arang sekam, unsur hara makro dan unsur hara mikro. Arang sekam yang terkandung dalam media dapat meningkatkan kemampuan planlet memproduksi akar dan meningkatkan fotosintesis planlet (Fauzi, 2010), sedangkan unsur hara dalam media berfungsi memberikan nutrisi yang dibutuhkan tanaman untuk tumbuh dan berkembang (Lakitan, 2012).

Berdasarkan gambar 4.6, planlet yang digunakan hanya dari eksplan 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm BAP. Pada eksplan 0 ppm BAP, eksplan masih berbentuk kalus, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan aklimatisasi. Menurut Yulianti (2010) menyatakan bahwa kriteria planlet yang siap untuk diaklimatisasi yaitu memiliki organ planlet lengkap (akar, batang, dan daun), planlet berwarna hijau segar, pertumbuhan planlet cukup baik, dan tinggi planlet minimal 3-4 cm dengan umur 4 bulan (tergantung jenis tanaman).

Berdasarkan Tabel 4.10, seluruh presentase daya hidup planlet pada masing-masing eksplan asal yaitu sebesar 100%. Keadaan ini diduga media yang digunakan sangat cocok untuk aklimatisasi tanaman tembakau. Kandungan nutrisi dalam media

sangat membantu kelangsungan hidup tanaman tembakau. Arang sekam dalam media juga berperan penting dalam keberhasilan tahap aklimatisasi, selain dapat meningkatkan pertumbuhan akar dan fotosintesis, arang sekam juga dapat membuat drainase dalam media tanam menjadi baik. Selain media tanam, faktor lingkungan juga sangat berperan penting dalam keberhasilan aklimatisasi. Menurut Zulkarnain (2011) faktor-faktor tersebut antara lain:

a. Suhu udara

Selama dalam lingkungan *in vitro*, planlet mendapatkan suhu yang relatif rendah yaitu $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Saat dipindahkan dalam lingkungan *in vivo*, maka suhu udara akan mengalami variasi sebesar 18°C - 32°C . Oleh karena itu, suhu diareal aklimatisasi harus diatur agar mendekati suhu lingkungan *in vitro* dan secara bertahap suhu dinaikkan sampai mendekati lingkungan *in vivo*.

b. Kelembaban udara

Planlet terbiasa hidup dilingkungan dengan kelembaban tinggi, berkisar 90-100%. Kondisi tersebut menyebabkan planlet tidak tahan terhadap cekaman kekeringan. Oleh karena itu aklimatisasi hendaknya dilakukan dengan menurunkan kelembaban secara bertahap.

c. Intensitas cahaya

Intensitas cahaya sangat mempengaruhi suhu dan kelembaban, oleh sebab itu intensitas cahaya harus diperhatikan agar suhu dan kelembaban dapat dipertahankan dengan baik. Pemberian naungan merupakan cara yang baik untuk menurunkan intensitas cahaya.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Terdapat pengaruh pemberian BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.);
- b. Konsentrasi optimal BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (*N. tabacum* L.) adalah pada konsentrasi 1 ppm BAP yaitu sebesar 27-28 tunas;
- c. Perlakuan 1 ppm IBA memberikan pertumbuhan akar lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada masing-masing parameter pengamatan tahap induksi akar;
- d. Pada tahap aklimatisasi, seluruh planlet memiliki presentase daya hidup planlet sebesar 100 %.

5.2 Saran

- a. Dalam mengetahui pengaruh pemberian BAP terhadap tanaman tembakau sebaiknya menggunakan variasi konsentrasi yang lebih tinggi, agar mengetahui batas optimal BAP dalam menginduksi tunas.
- b. Pada tahap induksi akar, sebaiknya menggunakan variasi konsentrasi IBA yang ditambahkan, agar dapat mengetahui konsentrasi IBA yang optimal dalam menginduksi akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Achmad dan Soedarmanto. 1982. *Budidaya Tembakau*. Jakarta: CV Yasaguna.
- Acima. 2006. *Pengaruh jenis media dan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi adenium (Adenium obesum) secara in vitro*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian UNS.
- Ali, G., F. Hadi, Z. Ali, M. Tariq, dan M. A. Khan. 2007. *Callus Induction and in Vitro Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (Nicotiana tabacum L.) on Media of Different Hormonal Concentration*. Biotechnology. Vol 6(4): 561-566.
- Arlianti, T., S. F. Syahid, NN Kristina, dan O. Rostiana. 2013. *Pengaruh Auksin IAA, IBA, dan NAA terhadap Induksi Perakaran Tanaman Stevia (Stevia rebaudiana) Secara in Vitro*. Jurnal dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor.
- Artanti, F.Y. , 2007, *Pengaruh Macam Pupuk Organik Cair dan Konsentrasi IAA terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni M.)*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Negeri Surakarta.
- Basri, Z dan Muslimin. 2001. *Pengaruh Sitokinin terhadap Organogenesis Krisan secara in vitro*. Jurnal Agroland 164-170.
- Campbell. 2005. *Biologi Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Darini, Maria Theresia. 2012. *Efektivitas Sterilisasi dan Efisiensi Media Morashige Skoog Terhadap Pertumbuhan Eksplan Lidah Buaya*. Jurnal dari issn: 0854-2813 agrineca, vol. 12 no. 2 september 2012.
- Desriatin, Noer Laily. 2011. *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan Kinetin terhadap Morfogenesis pada Kultur In Vitro Tanaman Tembakau (Nicotiana tabacum L. Var. Prancak-95)*. Jurnal dari Program Studi Biologi Fakultas MIPA ITS Surabaya.

- Djajadi. 2008. *Tembakau Cerutu Besuki-No: Pengembangan Areal dan Permasalahannya di Jember Selatan*. Jurnal ISSN: 1412-8004 Volume 7 Nomor 1, Juni 2008 : 12 – 19.
- Endang Y, Praswanto, dan I. Harminingsih. 2010. *Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (Anthurium andraeanum Liden) pada Beberapa Media Dasar secara in Vitro*. Caraka Tani. XXV (1).
- Erwin. 2000. *Hama dan Penyakit Tembakau Deli*. Medan: Balai Penelitian Tembakau Deli PTPN II (Persero), Tanjung Morawa.
- Fatmawati, T. Aisyah, T. Nurhidayati dan N. Jadid. 2010. *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana tabacum L. Var. Prancak 95*. Jurnal dari Program Studi Biologi Fakultas MIPA ITS Surabaya.
- Fauzi, Ahmad Rifqi. 2010. *Induksi Multiplikasi Tunas Ubi Kayu (Mannihot Esculenta Crantz.) Var. Adira 2 Secara in Vitro*. Skripsi. Bogor: Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Gaba, V. 2005. *Plant Growth regulator in plant tissue culture and development. Plant Development and Biotechnology*. CRC Press.
- Gandadikusumah, V.G. (2002). *Induksi Perakaran Tanaman Pepaya (Carica papaya L.) Hasil Persilangan Pepaya Bangkok dengan Pepaya Hawaii Secara in vitro dengan Media Perlakuan MS dan IBA*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. 58.
- George, E.F. dan P.H. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England: Eastern Press.
- Girijashankar, V., KK. Sharma, P. Balakrishna dan N. Seetharama. 2007. *Direct Somatic Embryogenesis and Organogenesis Pathway of Plant Regeneration can Seldom Occur Simultaneously within the Same Explant of Sorghum*. Journal.icrisat.org December 2007 Volume 3 Issue.
- Gobotany. 2014. <https://gobotany.newenglandwild.org/species/nicotiana/tabacum/> [diakses pada tanggal 15 Desember 2014].

- Gunawan, L. W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Harminingsih, I. 2007. *Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (Anthurium andraeanum Linden) Pada Beberapa Media Dasar Secara In Vitro*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS.
- Hartanti M. F., T. Nurhidayati, M. Muryono. 2012. *Budidaya Tanaman Tembakau (Nicotiana Tabacum. L. Var. Prancak 95) pada Cekaman Kekeringan Polyethylene Glycol (PEG) secara in Vitro*. Jurnal dari Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS Surabaya.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakkan Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Jafari, N., R. Y. Othman, dan N. Khalid. 2011. *Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of Musa acuminata (banana) cv. Berangan*. *African Journal of Biotechnology* 10 (13): 2446-2450.
- Lakitan, Benyamin. 2012. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Litbang PTPN X. 2003. *Laporan Penelitian dan Pengembangan Tembakau Besuki Tahun 2002*. Jember: PT. Perkebunan Nusantara X.
- Malik, S. I., H. Rashid., T. Yasmin., dan N. M. Minhas. 2004. *Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on Callus Induction from Mature Wheat (Triticum aestivum L.) Seeds*. *Int. J. Agri. Biol.* 6 (1).
- Matnawi, Hudi. 1997. *Budidaya Tembakau Bawah Naungan*. Yogyakarta: Kaninus.
- Munir, Badrul. 2013. *Budidaya Pembibitan Tembakau di Wilayah Jawa Tengah*. Surabaya: Bbptp Surabaya.

- Nisak K, T. Nurhidayati, dan K. I. Purwani. 2012. *Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana tabacum var. Prancak 95*. Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol.1, No.1, 1-6.
- Nursetiadi, Eka. 2008. *Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (Garcinia Mangostana L.) secara in Vitro*. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Pierik, R. M. L. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Marthinus Mijhoff Pub. Nederland. 344p.
- Plantamor. 2012. *Klasifikasi Tembakau (Nicotiana tabacum L.)*. <http://www.plantamor.com>.
- Raghu, D., Senthil, N., Raveendran, M., Karthikayan, dkk. 2011. *Eradication of cassava mosaic disease from high yielding indian cassava clone through apical meristem tip-culture of small farmers*. Journal of experimental botany. 70 (1): 67-74.
- Rahman, M., M. N. Amin, Z. Islam, R. S. Sultana. 2011. *Mass Propagation of Solanum Surattense Bum. Using Direct Adventitious Shoot Organogenesis from Internode*. Journal of Acta Agriculturae Slovenica, 97 - 1, Marec 2011.
- Rasullah, F. F. F., T. Nurhidayati, dan Nurmalasari. 2013. *Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (Saccharum officinarum) Varietas NXI 1-3 secara In Viro pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin*. Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2, No.2, (2013) 2337-3520.
- Robbiani, Daniar. 2010. *Pengaruh Kombinasi Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan Kinetin pada Kultur in Vitro Eksplan Daun Tembakau (Nicotiana Tabacum L. Var. Prancak 95)*. Tugas Akhir. Jurusan Biologi Fmipa ITS: Surabaya.
- Rostiana, Oti dan D. Seswita. 2007. *Pengaruh Indole Butyric Acid dan Naphtaleine Acetic Acid terhadap Induksi Perakaran Tunas Piretrum [Chrysanthemum Cinerariifolium (Trevir.)Vis.] Klon Prau 6 Secara In Vitro*. Jurnal Dari Bul. Littro. Vol. XVIII No. 1, 2007, 39 – 48.

- Saini, H.K., M. S. Gill and M. I. S. Gill. 2010. *Direct Shoot Organogenesis and Plant Regeneration in Rough Lemon (Citrus jambhiri Lush.)*. Indian Journal of Biotechnology Vol 9, October 2010, pp 419-423.
- Santoso, Kabul. 1991. *Tembakau dalam Analisis Ekonomi*. Jember: Universitas Jember.
- Sarala, K dan H. Ravisankar. 2013. *Explant Autonomy in Indian Tobacco Cultivars Under in Vitro*. International J., 1(3): 30-36.
- Setyawati, Morisco, dan T. A. Prayitno. 2009. *Pengaruh Ekstrak Tembakau terhadap Sifat dan Perilaku Mekanik Laminasi Bambu Petung*. Jurnal dari Forum Teknik Sipil No. Xix/1-Januari 2009.
- Shofiana, A., Y. S. Rahayu, dan L. S. Budipramana. 2013. *Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Hormon IBA (Indole Butyric Acid) terhadap Pertumbuhan Akar pada Stek Batang Tanaman Buah Naga (Hylocereus undatus)*. Jurnal Lentera Bio. Vol. 2(1): 103.
- Sitorus, E. N., E. D. Hastuti., dan N. Setiari. 2011. *Induksi Kalus Binahong (Basella rubra L.) Secara In Vitro Pada Media Murashige & Skoog Dengan Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda*. Bioma. 13 (1) : 1410-8801.
- Sugiyama M. 1999. *Organogenesis in Vitro*. Journal of Cuur Opin Plant Biol 2: 61-64.
- Suratman, A. Pitoyo dan S. Mulyani. 2013. *Keefektifan Penggunaan Bahan Sterilisasi dalam Pengendalian Kontaminasi Eksplan pada Perbanyakan Tanaman Sirsak (Annona Muricata L.) Secara in Vitro*. Jurnal dari Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.
- Suyitno Al dan V. Henuhili. 2011. *Induksi Kalus dan Organogenesis Tanaman Ngukilo (Gynura procumbens (Lour.) Merr.) dengan 2,4 D dan Kombinasi NAA - Air Kelapa Secara In Vitro*. Jurnal dari Jurdik Biologi, MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 2 Juli 2011.
- Tim media publikasi TIC. 2012. *Tobacco Information Center*. Edisi 2012.

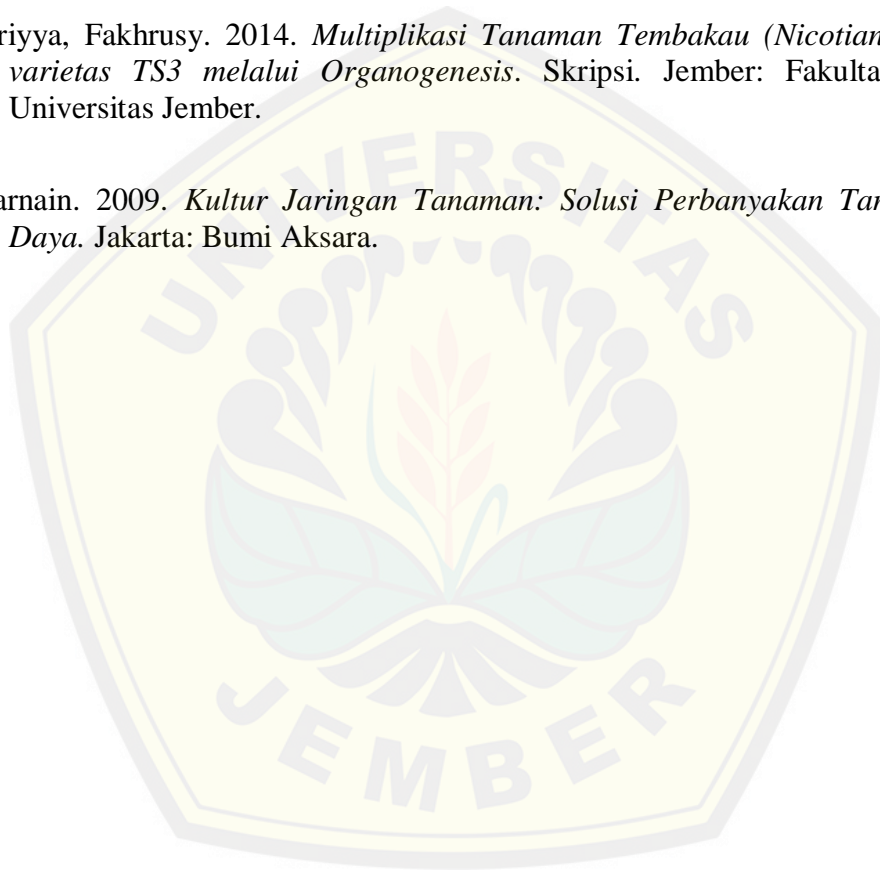
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2000. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University press.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University press.
- Tyburski, J., L. Krzeminski, A. Tretyn. 2008. *Exogenous auxin affect ascorbate metabolism in roots of tomato seedling*. *Plant Growth Regul.* 54:203-215.
- Usmadi dan Hartana. 2007. *Budidaya Tanaman Tembakau*. Jember: Universitas Jember.
- Waloyaningsih, D. 2004. *Pengaruh konsentrasi IAA dan BAP pada medium MS terhadap tingkat multiplikasi tunas Bawang Putih (Allium sativum L) secara in vitro*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: IPB Press.
- Wetter, L. R. and F. Constabel. 1982. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Bandung: ITB.
- Wilkins, Malcolm B. 1992. *Fisiologi Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Willem, D., Murdiyoso dan M. Sholeh. 1994. *Analisis Peluang Curah Hujan Rantai Markov untuk Penetapan Waktu Tanam Tembakau Virginia di Daerah Bojonegoro, Jawa Timur*. *Buletin Agrometeorologi*. 1 (2) : 100 – 108.
- Wojciechowicz, M. K. 2009. *Organogenesis and Somatic Embryogenesis Induced in Petal Cultures of Sedum Species*. *Journal of Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 51/1: 83–90, 2009.
- Yelnititis, N., Bermawie, dan Syafaruddin, 1999. *Perbanyakan klon Lada Varietas Panniyur secara In Vitro*. *Jurnal penelitian Tanaman Industri*. 5 (3) : 109-114.
- Yuliarti, Nurheti. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Andi.

Yuniastuti, Endang, Praswanto, dan I. Harminingsih. 2010. *Pengaruh Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (anthurium andraeanum Linden) pada Beberapa Media Dasar Secara In Vitro*. Jurnal dari Fakultas Pertanian UNS Jurusan Agroteknologi.

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Zakariyya, Fakhrusy. 2014. *Multiplikasi Tanaman Tembakau (Nicotiana tabacum) varietas TS3 melalui Organogenesis*. Skripsi. Jember: Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: Bumi Aksara.



Lampiran A. Matriks Penelitian

Judul	Rumusan Masalah	Jenis Data	Variabel	Parameter	Analisis Data	Hipotesis
Pengaruh Konsentrasi BAP (<i>6-Benzyl Amino Purin</i>) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) melalui Teknik <i>In Vitro</i>	<ol style="list-style-type: none"> Apakah konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP berpengaruh terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)? Berapakah konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh BAP yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)? 	<ol style="list-style-type: none"> Data primer dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yang dilakukan terhadap pengaruh hormon BAP terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari internet, jurnal, berbagai buku yang mendukung lengkapnya informasi yang dibutuhkan. 	<ol style="list-style-type: none"> Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi BAP, yakni dengan taraf konsentrasi 0 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm; Variabel terikat dalam penelitian ini adalah multiplikasi tunas dan induksi akar; Variabel Kontrol dalam penelitian ini adalah ukuran botol kultur, media MS (<i>Murashige and Skoog</i>), volume media, pH, suhu, cahaya, dan waktu pengamatan. 	<ol style="list-style-type: none"> Multiplikasi tunas <ol style="list-style-type: none"> Kedinian tunas Jumlah tunas Tinggi tunas Jumlah daun Berat basah Presentase eksplan bertunas Presentase eksplan berakar (apabila berakar) Induksi akar <ol style="list-style-type: none"> Kedinian akar Jumlah akar Panjang akar Presentase eksplan berakar Presentase eksplan berkalus (apabila berkalus) Aklimatisasi (presentase daya hidup) 	<p>Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor tunggal. Data yang diperoleh, dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (<i>ANOVA</i>). Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan-perlakuan tersebut, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT) pada taraf 5%.</p>	<ol style="list-style-type: none"> Terdapat pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh BAP (<i>6-Benzyl Amino Purin</i>) terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.). Konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh BAP (<i>6-Benzyl Amino Purin</i>) yang memberikan pertumbuhan terbaik terhadap multiplikasi tunas tanaman tembakau (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) adalah pada konsentrasi 1 ppm.

Lampiran B. Komposisi Media MS

Stok	Bahan Kimia	Stok dalam 1 L (mg/L)	Pengambilan untuk media 1 L (mg/L)	Penimbangan (g/L) untuk pembuatan stok 1 L
A	NH ₄ NO ₃	1650	20	82,5
B	KNO ₃	1900	20	95
C	CaCl ₂ .2H ₂ O	440	10	44
D	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	10	37
	KH ₂ PO ₄	170		17
E	FeSO ₄ .4H ₂ O	27850 µg/L	5	5,57
	Na ₂ EDTA	37250 µg/L		7,45
F	MnSO ₄ .4H ₂ O	22300 µg/L	5	4,46
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8600 µg/L		1,72
	H ₃ BO ₃	6200 µg/L		1,24
	KI	830 µg/L		0,166
	NaMoO ₄ .2H ₂ O	250 µg/L		0,05
	CoCl ₂ .6H ₂ O	25 µg/L		0,005
	CuSO ₄ .5H ₂ O	25 µg/L		0,005
Vitamin	Thiamine HCl	100 µg/L	1	0,1
	Nicotinic acid	500 µg/L		0,5
	Pyridoxine HCl	500 µg/L		0,5
	Mio inositol	100	10	10
Sukrosa	-	-	30000	
Agar	-	-	8000	-

Lampiran C. Kedinian Tunas

C.1 Data Pengamatan Kedinian Tunas

Perlakuan (ppm)	Ulangan (HST)					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
0	0	0	0	0	0	0	0,0
0,5	31	29	29	30	34	153	30,6
1	33	18	32	33	34	150	30,0
1,5	32	24	32	38	40	166	33,2
2	29	30	23	25	24	131	26,2
Total	125	101	116	126	132	600	
Rata-Rata	25	20,2	23,2	25,2	26,4		

C.2 Sidik Ragam Kedinian Tunas

FK = 14400

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	3725,20	931,30	53,52	**	3,01	4,77
Ulangan	4	116,40	29,10	1,67	tn	3,01	4,77
Galat	16	278,40	17,40				
Total	24	4120,00					

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

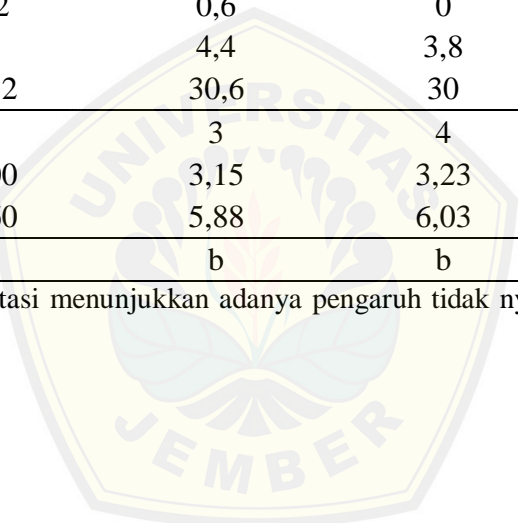
* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

C.3 Uji Beda Duncan Kedinian Tunas

		B3	B1	B2	B4	B0
		33,2	30,6	30	26,2	0
B3	33,2	0				
B1	30,6	2,6	0			
B2	30	3,2	0,6	0		
B4	26,2	7	4,4	3,8	0	
B0	0	33,2	30,6	30	26,2	0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,00	3,15	3,23	3,30	
DMRT 5%		5,60	5,88	6,03	6,16	
Notasi ^{*)}		a	b	b	b	c

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada pada taraf kepercayaan 5%.



Lampiran D. Jumlah Tunas

D.1 Data Pengamatan Jumlah Tunas Minggu ke-7

Perlakuan (ppm)	Pengulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
0	0	0	0	0	0	0	0,0
0,5	26	19	22	26	31	124	24,8
1	31	30	30	23	24	138	27,6
1,5	35	22	22	25	18	122	24,4
2	25	23	22	24	27	121	24,2
Total	117	94	96	98	100	505	
Rata-Rata	23,4	18,8	19,2	19,6	20	101	

D.2 Sidik Ragam Jumlah Tunas Minggu ke-7

FK = 10201

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	2588	647	41,08	**	3,01	4,77
Ulangan	4	68	17	1,08	tn	3,01	4,77
Galat	16	252	15,75				
Total	24	2908					

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

D.3 Uji Beda Duncan Jumlah Tunas Minggu ke-7

		B2	B1	B3	B4	B0
		27,60	24,80	24,40	24,20	0,00
B2	27,60	0,0				
B1	24,80	2,8	0,0			
B3	24,40	3,2	0,4	0,0		
B4	24,20	3,4	0,6	0,2	0,0	
B0	0,00	27,6	24,80	24,40	24,20	0,0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,00	3,15	3,23	3,30	
DMRT 5%		5,32	5,59	5,73	5,86	
Notasi ^{*)}		a	a	a	a	b

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%

Lampiran E. Tinggi Tunas

E.1 Data Pengamatan Tinggi Tunas Minggu ke-7

Perlakuan (ppm)	Ulangan (cm)					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
0	0	0	0	0	0	0	0,0
0,5	2,3	5	4,2	3,7	4,3	19,5	3,9
1	2	3,6	3,3	4,3	4,5	17,7	3,5
1,5	5,5	3,8	4,7	7,3	5,3	26,6	5,3
2	2,3	7,5	7,6	6,3	5,7	29,4	5,9
Total	12,1	19,9	19,8	21,6	19,8	93,2	
Rata-Rata	2,42	3,98	3,96	4,32	3,96		

E.2 Sidik Ragam Tinggi Tunas Minggu ke-7

FK = 347,4496

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	105,64	26,41	19,13	**	6,39	4,77
Ulangan	4	11,16	2,79	2,02	tn	3,01	4,77
Galat	16	22,09	1,38				
Total	24	138,89					

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

E.3 Uji Beda Duncan Tinggi Tunas Minggu ke-7

		B4	B3	B1	B2	B0
		5,9	5,3	3,9	3,5	0
B4	5,9	0,0				
B3	5,3	0,6	0,0			
B1	3,9	2,0	1,4	0,0		
B2	3,5	2,4	1,8	0,4	0,0	
B0	0	5,9	5,3	3,9	3,5	0,0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,00	3,15	3,23	3,30	
DMRT 5%		1,58	1,66	1,70	1,73	
Notasi ^{*)}		a	b	c	c	d

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

Lampiran F. Jumlah Daun

F.1 Data Pengamatan Jumlah Daun Minggu ke-7

Perlakuan (ppm)	Ulangan					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
0	0	0	2	0	0	2	0,4
0,5	122	99	91	74	84	470	94,0
1	84	62	83	77	84	390	78,0
1,5	83	77	43	88	58	349	69,8
2	64	64	63	54	63	308	61,6
Total	353	302	282	293	289	1519	
Rata-Rata	70,6	60,4	56,4	58,6	57,8		

F.2 Sidik Ragam Jumlah Daun Minggu ke-7

FK = 92294,44

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	25639,36	6409,84	40,76	**	3,01	4,77
Ulangan	4	646,96	161,74	1,03	tn	3,01	4,77
Galat	16	2516,2	157,265				
Total	24	28802,56					

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

F.3 Uji Beda Duncan Jumlah Daun Minggu ke-7

		B1	B2	B3	B4	B0
		94	78	69,8	61,6	0,4
B1	94	0,0				
B2	78	16	0,0			
B3	69,8	24,2	8,2	0,0		
B4	61,6	32,4	16,4	8,2	0,0	
B0	0,4	93,6	77,6	69,4	61,2	0,0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,00	3,15	3,23	3,30	
DMRT 5%		16,82	17,67	18,11	18,51	
Notasi ^{*)}		a	b	b	b	c

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

Lampiran G. Berat Basah

G.1 Data Pengamatan Berat Basah

Perlakuan (ppm)	Pengulangan (g)					Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
0	0,40	0,14	0,17	0,60	0,18	1,49	0,30
0,5	7,83	8,67	10,47	8,77	6,93	42,67	8,53
1	9,56	7,17	28,42	8,28	10,32	63,75	12,75
1,5	9,83	10,27	12,88	9,85	11,01	53,84	10,77
2	9,32	9,67	11,73	10,46	10,28	51,46	10,29
Total	36,94	35,92	63,67	37,96	38,72	213,21	
Rata-Rata	7,39	7,18	12,73	7,59	7,74	42,64	

G.2 Sidik Ragam Jumlah Berat Basah

FK = 1818,34

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	468,44	117,11	8,58	**	3,01	4,77
Ulangan	4	111,44	27,86	2,04	tn	3,01	4,77
Galat	16	218,28	13,64				
Total	24	798,15					

^{*)} Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

G.3 Uji Beda Duncan Berat Basah

		B2	B3	B4	B1	B0
		12,75	10,768	10,292	8,534	0,298
B2	12,75	0,0				
B3	10,768	1,98	0,0			
B4	10,292	2,46	0,48	0,0		
B1	8,534	4,22	2,23	1,76	0,0	
B0	0,298	12,45	10,47	9,99	8,24	0,0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,00	3,15	3,23	3,30	
DMRT 5%		4,96	5,20	5,34	5,45	
Notasi ^{*)}		a	a	a	a	b

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

Lampiran H. Presentase Eksplan Bertunas**H.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Bertunas 3 MST**

Perlakuan (ppm)	Ulangan					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
0	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0,5	0%	0%	0%	0%	100%	20%
1	0%	0%	0%	0%	100%	20%
1,5	0%	100%	0%	0%	100%	40%
2	0%	0%	100%	100%	100%	60%

H.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Bertunas 7 MST

Perlakuan (ppm)	Ulangan					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
0	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0,5	100%	100%	100%	100%	100%	100%
1	100%	100%	100%	100%	100%	100%
1,5	100%	100%	100%	100%	100%	100%
2	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Lampiran I. Kedinian Akar**I.1 Data Pengamatan Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA**

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan (HST)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0	0	0	0	0	0	0,00
0,5	25	16	0	14	55	13,75
1	23	30	22	29	104	26,00
1,5	26	18	24	27	95	23,75
2	26	33	34	33	126	31,50
Total	100	97	80	103	380	
Rata-Rata	20,00	19,40	16,00	20,60		

I.2 Sidik Ragam Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA

FK = 7220

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	2465,50	616,38	18,64	**	3,26	5,41
Ulangan	3	63,60	21,20	0,64	tn	3,49	5,95
Galat	12	396,90	33,08				
Total	19	2926,00					

*) Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

I.3 Uji Beda Duncan Kedinian Akar Perlakuan 1 ppm IBA

	I4	I2	I3	I1	I0
	31,5	26	23,75	13,75	0
I4	31,5	0,0			
I2	26	5,50	0,0		
I3	23,75	7,75	2,25	0,0	
I1	13,75	17,75	12,25	10	0,0
I0	0	31,50	26	23,75	13,75
					0,0
P	2	3	4	5	
SSR 5%	3,08	3,23	3,33	3,36	
DMRT 5%	30,68	32,17	33,17	33,47	
Notasi ^{*)}	a	b	b	b	c

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada pada taraf kepercayaan 5%.

I.4 Data Pengamatan Kedinian Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Kedinian Akar (HST)
0	0
0,5	25
1	23
1,5	26
2	26

Lampiran J. Jumlah Akar**J.1 Data Pengamatan Jumlah Akar Perlakuan 1 ppm IBA**

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0	0	0	0	0	0	0
0,5	4	14	0	17	35	9
1	6	4	8	13	31	8
1,5	7	3	6	23	39	10
2	3	3	7	2	15	4
Total	20	24	21	55	120	
Rata-Rata	4	5	4	11		

J.2 Sidik Ragam Jumlah Akar Perlakuan 1 ppm IBA

FK = 720

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	263,00	65,75	2,40	tn	3,26	5,41
Ulangan	3	168,40	56,13	2,05	tn	3,49	5,95
Galat	12	328,60	27,38				
Total	19	760,00					

*) Keterangan :

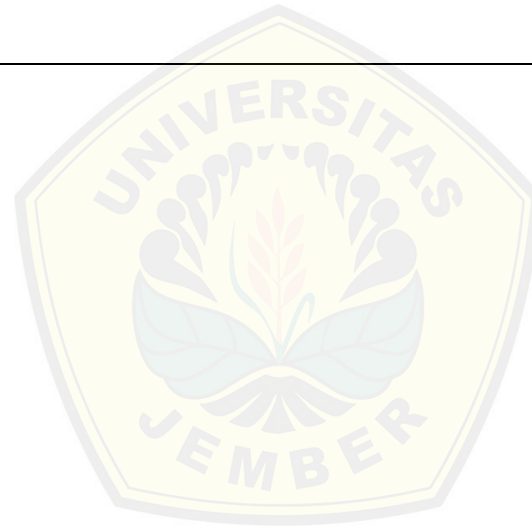
tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

J.3 Data Pengamatan Jumlah Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Jumlah akar
0	0
0,5	8
1	4
1,5	5
2	0



Lampiran K. Panjang Akar**K.1 Data Pengamatan Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA**

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan (cm)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0	0	0	0	0	0,0	0,0
0,5	3,1	5,5	1,7	1,3	11,6	2,9
1	1,5	8,5	7,5	5,3	22,8	5,7
1,5	2,9	4,3	6,5	1,6	15,3	3,8
2	2,2	3,8	8,1	4,7	18,8	4,7
Total	10	22	24	13	69	
Rata-Rata	1,94	4,42	4,76	2,58		

K.2 Sidik Ragam Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA

FK = 234,6125

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F-Hitung ^{*)}	F-Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	4	75,87	18,97	5,29	*	3,26	5,41
Ulangan	3	28,46	9,49	2,65	tn	3,49	5,95
Galat	12	43,03	3,59				
Total	19	147,36					

*) Keterangan :

tn = Tidak berpengaruh nyata (nilai F-Hitung \leq nilai F-Tabel pada taraf 5%)

* = Berpengaruh nyata (nilai F-Hitung < nilai F-Tabel pada taraf 1% dan nilai F-Hitung > F-Tabel pada taraf 5%)

** = Berpengaruh sangat nyata (nilai F-Hitung > nilai F-Tabel pada taraf 1%)

K.3 Uji Beda Duncan Panjang Akar Perlakuan 1 ppm IBA

		I2	I4	I3	I1	I0
		5,7	4,7	3,8	2,9	0
I2	5,7	0,0				
I4	4,7	1,0	0,0			
I3	3,8	1,9	0,9	0,0		
I1	2,9	2,8	1,8	0,9	0,0	
I0	0	5,7	4,7	3,8	2,9	0
P		2	3	4	5	
SSR 5%		3,08	3,23	3,33	3,36	
DMRT 5%		2,92	3,06	3,15	3,18	
Notasi ^{*)}		a	a	a	b	c

^{*)} Keterangan : Huruf yang sama pada baris notasi menunjukkan adanya pengaruh tidak nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

K.4 Data Pengamatan Panjang Akar Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Panjang Akar (cm)
0	0,0
0,5	4,8
1	3,8
1,5	5,3
2	0,0

Lampiran L. Presentase Eksplan Berakar

L.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 2 MST Perlakuan 1 ppm IBA

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
0	0%	0%	0%	0%	0%
0,5	0%	100%	0%	100%	50%
1	0%	0%	100%	0%	25%
1,5	0%	100%	0%	0%	25%
2	0%	0%	0%	0%	0%

L.2 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 4 MST Perlakuan 1 ppm IBA

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
0	0%	0%	0%	0%	0%
0,5	100%	100%	0%	100%	75%
1	100%	100%	100%	100%	100%
1,5	100%	100%	100%	100%	100%
2	100%	100%	100%	100%	100%

L.3 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 2 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase Eksplan Berakar
0	0%
0,5	100%
1	0%
1,5	100%
2	0%

L.4 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berakar 4 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase Eksplan Berakar
0	0%
0,5	100%
1	100%
1,5	100%
2	0%

Lampiran M. Presentase Eksplan Berkalus

M.1 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 2 MST Perlakuan 1 ppm IBA

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
0	100%	0%	0%	0%	25%
0,5	0%	0%	100%	0%	25%
1	0%	0%	100%	0%	25%
1,5	0%	0%	0%	100%	25%
2	0%	100%	0%	100%	50%

M.2 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 4 MST Perlakuan 1 ppm IBA

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
0	100%	100%	100%	100%	100%
0,5	100%	0%	100%	0%	50%
1	0%	100%	0%	100%	50%
1,5	0%	0%	100%	0%	25%
2	100%	100%	0%	100%	75%


M.3 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 2 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase Eksplan Berkalus
0	0%
0,5	0%
1	100%
1,5	0%
2	0%

M.4 Data Pengamatan Presentase Eksplan Berkalus 4 MST Perlakuan Kontrol (MS 0)

Eksplan pada Perlakuan BAP (ppm)	Presentase Eksplan Berkalus
0	0%
0,5	0%
1	100%
1,5	0%
2	0%

Lampiran N. Surat Permohonan Izin Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475
Laman: www.fkip.unej.ac.id

Nomor **7004** /UN25.1.5/LT/2014 7 OCT 2014
Lampiran : -
Perihal : Permohonan Izin Penelitian

Yth. Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Jember
Jember

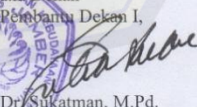
Diberitahukan dengan hormat, bahwa mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember di bawah ini:

No	NIM	Nama
1	110210103025	Hiqma Widya Isnandza D.
2	110210103033	Deni Parmana

Berkenaan dengan penyelesaian studinya, mahasiswa tersebut bermaksud mengadakan Penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian yang Saudara pimpin dengan judul "Pengaruh BAP (*6-Benzyl Amino Purin*) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana Tabaccum L.*) melalui Teknik *In Vitro*" dan "Pengaruh Hormon 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid*) terhadap Induksi Kalus Daun Tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*) melalui Kultur *In Vitro*".

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon Saudara berkenan memberikan izin dan sekaligus memberikan bantuan informasi yang diperlukan.

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik kami sampaikan terima kasih.


 Dr. Sukatman, M.Pd.
 NIP. 19640123 199512 1 001

Lampiran O. Lembar Konsultasi Skripsi

O.1 Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing I



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jalan Kalimantan III/3 Kampus Bumi Tegal Boto Telp./Fax. 0331-334988 Jember 68121

**LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
 (Dosen Pembimbing I)**

Nama : Hiqma Widya Isnandza D.
 NIM/Angkatan : 110210103025/2011
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *in Vitro*
 Dosen Pembimbing I : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.
 Kegiatan Konsultasi :

No.	Hari/Tanggal	Kegiatan	Tanda Tangan Pembimbing
1	20 Oktober 2014	Pengajuan Judul	
2	24 Oktober 2014	Konsultasi Matriks Penelitian	
3	3 November 2014	Konsultasi BAB 1, 2, dan 3	
4	17 November 2014	Revisi BAB 1, 2, dan 3	
5	1 Desember 2014	Revisi BAB 1, 2, dan 3	
7	27 Desember 2014	ACC Seminar Proposal	
8	9 Januari 2015	Seminar Proposal	
9	20 Maret 2015	Konsultasi BAB 4 dan 5	
10	27 Maret 2015	Revisi BAB 4 dan 5	
11	10 April 2015	Revisi BAB 4 dan 5	
12	17 April 2015	Konsultasi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
13	24 April 2015	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
14	9 Mei 2015	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
15	18 Mei 2015	ACC Ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi

O.2 Lembar Konsultasi Skripsi Dosen Pembimbing II



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jalan Kalimantan III/3 Kampus Bumi Tegal Boto Telp./Fax. 0331-334988 Jember 68121

**LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
 (Dosen Pembimbing II)**

Nama : Hiqma Widya Isnandza D.
 NIM/Angkatan : 110210103025/2011
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi BAP (6-Benzyl Amino Purin)
 terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tembakau
 (*Nicotiana tabacum* L.) melalui Teknik *in Vitro*
 Dosen Pembimbing II : Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.
 Kegiatan Konsultasi :

No.	Hari/Tanggal	Kegiatan	Tanda Tangan Pembimbing
1	24 Oktober 2014	Pengajuan Judul	
2	25 Oktober 2014	Konsultasi Matriks Penelitian	
3	15 November 2014	Konsultasi BAB 1, 2, dan 3	
4	22 November 2014	Revisi BAB 1, 2, dan 3	
5	6 Desember 2014	Revisi BAB 1, 2, dan 3	
6	13 Desember 2014	ACC Seminar Proposal	
7	9 Januari 2015	Seminar Proposal	
8	30 Maret 2015	Konsultasi BAB 4 dan 5	
9	6 April 2015	Revisi BAB 4 dan 5	
10	13 April 2015	Revisi BAB 4 dan 5	
12	27 April 2015	Konsultasi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
13	4 April 2015	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
14	11 Mei 2015	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, dan 5	
15	18 Mei 2015	ACC Ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi