



**INDUKSI *SOMATIC EMBRYOGENESIS* SECARA LANGSUNG  
DENGAN MODIFIKASI BAP DAN IAA PADA TANAMAN  
TEMPAKAU (*Nicotiana tabaccum L*) VARIETAS H-382**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**PUTRI SEPTINANA HARGIA NINGSIH  
111510501016**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**INDUKSI *SOMATIC EMBRYOGENESIS* SECARA LANGSUNG  
DENGAN MODIFIKASI BAP DAN IAA PADA TANAMAN  
TEMBAKAU (*Nicotiana tabaccum* L) VARIETAS H-382**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**Putri Septinana Hargia Ningsih  
111510501016**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**INDUKSI *SOMATIC EMBRIOGENESIS* SECARA LANGSUNG  
DENGAN MODIFIKASI BAP DAN IAA PADA TANAMAN  
TEMBAKAU (*Nicotiana tabaccum L*) VARIETAS H-382**

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**Putri Septinana Hargia Ningsih**

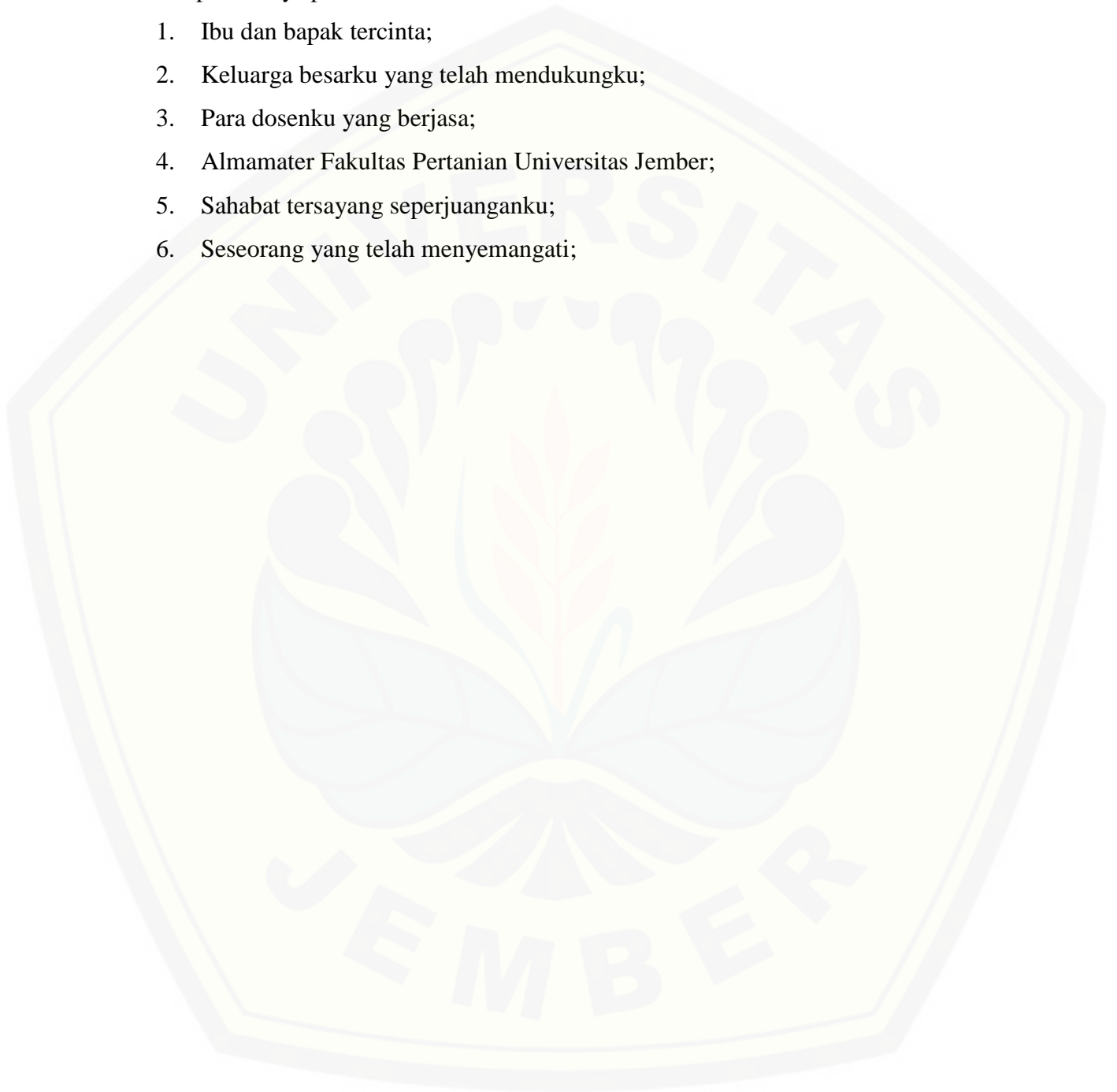
**111510501016**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

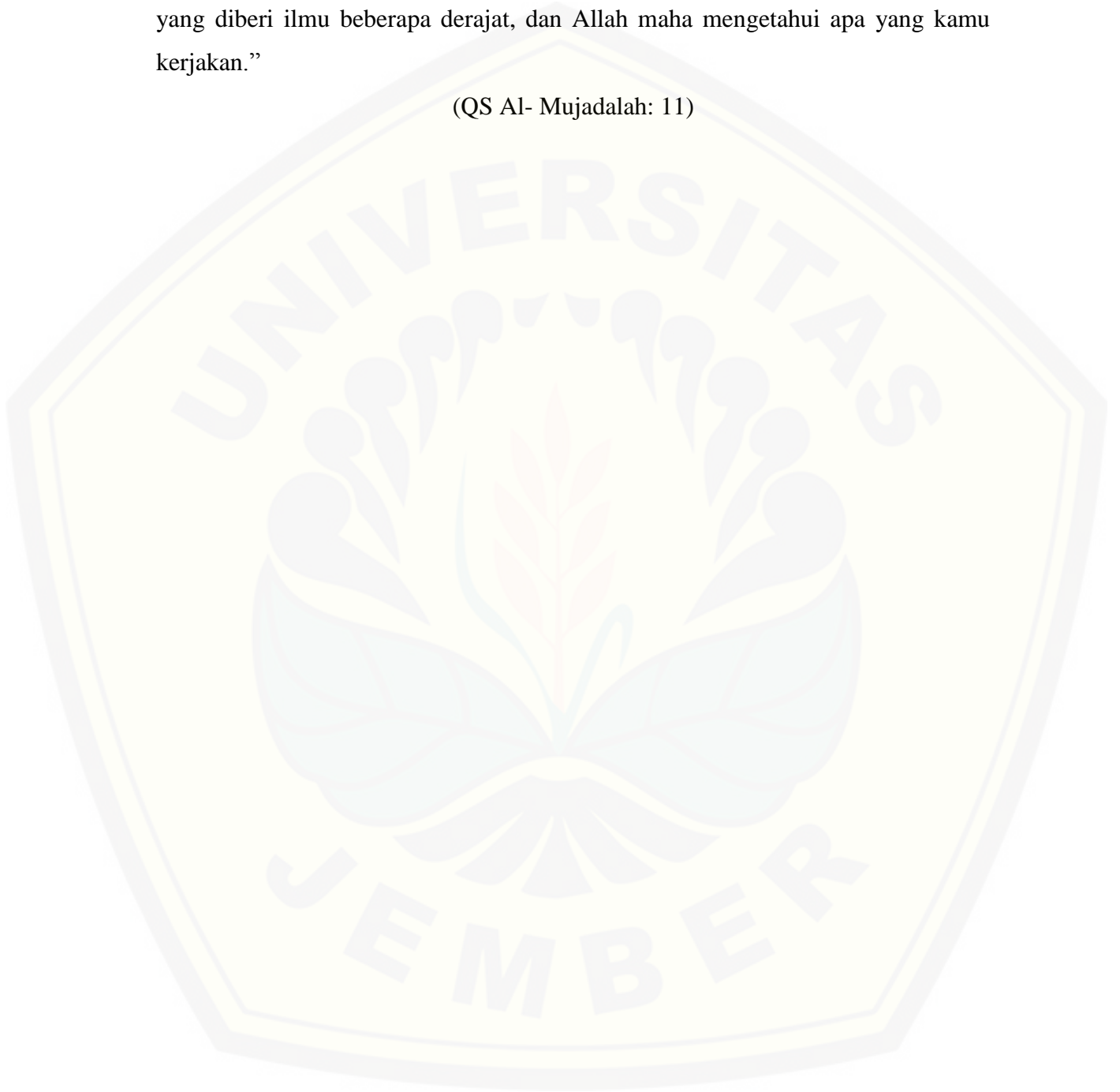
1. Ibu dan bapak tercinta;
2. Keluarga besarku yang telah mendukungku;
3. Para dosenku yang berjasa;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember;
5. Sahabat tersayang seperjuanganku;
6. Seseorang yang telah menyemangati;



**MOTTO**

“Allah akan mengangkat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat, dan Allah maha mengetahui apa yang kamu kerjakan.”

(QS Al- Mujadalah: 11)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Septiana Hargia Ningsih

NIM : 111510501016

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “*Induksi Somatic Embriogenesis secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA Pada Tanaman Tembakau (Nicotiana tabaccum L) Varietas H-382*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

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

Jember, 10 September 2015  
Yang menyatakan,

Putri Septiana Hargia Ningsih  
NIM. 111510501016

**SKRIPSI**

**INDUKSI *SOMATIC EMBRYOGENESIS* SECARA LANGSUNG  
DENGAN MODIFIKASI BAP DAN IAA PADA TANAMAN  
TEBKAU (*Nicotiana tabacum* L) VARIETAS H-382**

Oleh :

**Putri Septiana Hargia Ningsih  
111510501016**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D  
NIP : 196504261994031001

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Slameto, M.P.  
NIP : 196002231987021001



**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “**Induksi Somatik Embriogenesis secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA Pada Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum L*) Varietas H-382**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Kamis, 10 September 2015

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Utama,**

**Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D**  
**NIP. 196504261994031001**

**Dosen Pembimbing Anggota,**

**Dr. Ir. Slameto, MP,**  
**NIP. 196002231987021001**

**Dosen Penguji,**

**Ir. Kacung Hariyono, M.Si., Ph.D.**  
**NIP. 196408141995121001**

**Mengesahkan  
Dekan,**

**Dr. Ir. Jani Januar, M.T.**  
**NIP. 195901021988031002**



## RINGKASAN

**Induksi Somatik Embriogenesis secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA Pada Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum L*) Varietas H-382;** Putri Septiana Hargia Ningsih, 111510501016; 2015: 54 Halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Tembakau merupakan tanaman musiman yang tergolong sebagai tanaman perkebunan. Tembakau yang dikenal sebagai bahan baku pembuatan rokok memiliki kegunaan yang sangat banyak. Selain digunakan sebagai bahan baku rokok, tembakau juga digunakan sebagai susur dalam bahasa Jawa atau dikunyah oleh ibu-ibu dipedesaan. Manfaat tembakau diantaranya sebagai antioksidan karena mengandung polifenol, yaitu chlorogenik yang dapat menangkal radikal bebas.

Tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP, IAA dan kombinasinya yang optimal untuk perbanyak tembakau varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis secara langsung dan menghasilkan planlet tembakau varietas H382 yang seragam. Untuk mencapai tujuan tersebut maka dari itu dilaksanakan penelitian ini di laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, mulai tanggal 01 Januari sampai dengan 30 juni 2015.

Penelitian ini menggunakan tembakau varietas H382 dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 (dua) faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi BAP (B) terdiri dari 4 (empat) level, yaitu B<sub>0</sub> (tanpa pemberian BAP/ kontrol 0 ppm), B<sub>1</sub> ( konsentrasi BAP 2,0 ppm), B<sub>2</sub> (konsentrasi BAP 2,5 ppm), dan B<sub>3</sub> (konsentrasi BAP 3 ppm). Faktor kedua yaitu konsentrasi IAA (I) terdiri dari 4 (empat) level yaitu I<sub>0</sub> (tanpa konsentrasi IAA/ kontrol 0 ppm), I<sub>1</sub> (konsentrasi IAA 0,1 ppm), I<sub>2</sub> (konsentrasi IAA 0,2 ppm), dan I<sub>3</sub> (konsentrasi IAA 0,3 ppm). Percobaan ini disusun secara faktorial yang diulang sebanyak 4 (empat) kali. Data dianalisis dengan Anova apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara

perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji jarak berganda Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa: perlakuan kombinasi antara konsentrasi BAP 3,0 ppm dan konsentrasi IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ) dapat memicu pertumbuhan eksplan daun tembakau ditunjukkan dengan parameter jumlah tunas tertinggi dengan rerata 5,5; tinggi tunas tertinggi dengan rerata 5,00; jumlah daun tertinggi dengan rerata 22,50; dan panjang akar tertinggi dengan rerata 9,01 dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Kata Kunci : *Kultur Jaringan, Somatik Embriogenesis, Tembakau*

## SUMMARY

**Direct Somatic Embryogenesis Induction through BAP and IAA Modification on Tobacco (*Nicotiana tabacum* L) Variety H-382;** Putri Septiana Hargia Ningsih, 111510501016; 2015: 54 pp; Study Program of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember.

Tobacco is an annual plant which classified as estate plant. Tobacco is known as cigar main composer has various utility. Beside as cigar main composer, tobacco is also used as Susur in Javanese or chewed by rural woman. The benefit of tobacco is as antioxidant with chlorogenic (polyphenol) which play role as free radical deflector.

The objective of this research was to determine the concentration of BAP, IAA, and the optimum combination of both for multiplication of tobacco variety H-382 and produced uniform tobacco variety H-382 planlets. To gain that objective, the research was conducted in Tissue Culture Laboratory, Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Jember, started on January 1<sup>th</sup> until June 30<sup>th</sup> 2015.

This research was using Complete Randomized Factorial Design with 2 factors. First factor was BAP concentration (B) consist of 4 levels, B<sub>0</sub> (Without BAP addition/control 0 ppm), B<sub>1</sub> (BAP concentration 2.0 ppm), B<sub>2</sub> (BAP concentration 2.5 ppm), B<sub>3</sub> (BAP concentration 3.0 ppm). Second factor was IAA (I) which consist of 4 levels, I<sub>0</sub> (Without IAA addition/control 0 ppm), I<sub>1</sub> (IAA concentration 0.1 ppm), B<sub>2</sub> (IAA concentration 0.2 ppm), B<sub>3</sub> (IAA concentration 0.3 ppm). This research was composed as factorial and replicated 4 times. Data then analyzed with ANOVA and the significant result would be tested by Duncan Multiple Range Test with 95% confidence level.

The result shown that: the combination treatment between BAP 3.0 ppm and IAA 0.2 ppm (B<sub>3</sub>I<sub>2</sub>) was able to induced tobacco leaves explant growth according to the finest number of shoot with 5.5 average; the finest shoot height with 5.00

average; the finest number of leaves with 22.5 average; and the finest root height with 9.01 average compared with other treatments.

Keywords : *Tissue Culture, Somatic Embryogenesis, Tobacco*



## PRAKATA

Segala puji bagi Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala petunjuk, karunia dan jalan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ***“Induksi Somatic Embriogenesis secara Langsung dengan Modifikasi BAP dan IAA Pada Tanaman Tembakau (Nicotiana tabaccum L) Varietas H-382”***. Penyusunan karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) pada Pogram Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Ir. Jani Januar selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak mendidik saya, dan telah mengajarkan segala hal baik berupa bimbingan dan nasehat sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Dr. Ir Slameto, M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.
4. Ir. Kacung Haryono
5. Dr. Ir. I. Hartana. Selaku Dosen Penguji, terima kasih atas koreksi, bimbingan, nasehat dan motivasi yang diberikan.
6. Ir. Gatot Subroto M.P. selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih atas bimbingan, nasehat, serta motivasi yang diberikan hingga akhir semester.
7. Orang tuaku tercinta, Sukarsih dan Sugiono atas doa yang tiada pernah henti, dukungan semangat, nasehat, kasih sayang, dan dukungan material serta moril yang telah diberikan sehingga terselesaikannya skripsi ini. Tiada kata yang bisa mengungkapkan rasa terima kasihku atas apa yang telah kalian berikan.



8. Keluarga besar tersayang, Bani, Sukarno, Tatik Suci Rahayu, Dedi Rahmad Hariadi, Nanik, Ari Winarno, Tawi, Sasi Rahayu, Moch Tri yanuar, dan lainnya yang tidak dapat kusebutkan, terimakasih atas dukungan, semangat, bantuan moril yang telah kaian berikan selama perjuanganku menggapai pendidikan tinggi.
9. Terimakasih kepadamu Ahmad Zulkifli yang tak jenuh memberikan semangat bagiku.
10. Sahabatku tercinta Rif'atul Awwaliyah, Derry Marhaendar Mayang, dan Lutfi Handayani terimakasih atas segala yang telah kalian berikan, semangat, kenangan, dan kasih sayang kalian yang takkan terlupakan.
11. Teman-teman Agroteknologi 2011, terima kasih semua kenangan kita akan tetap terlukis dihati ini, semoga kita semua tetap diberikan waktu untuk bertemu kembali, kelak dengan keadaan yang lebih sukses.
12. Saudara-saudaraku keluarga besar MAPENSA (Mahasiswa Pencinta Alam Semesta) yang berkesan, saat pikiran ini mulai jenuh mereka hadir untuk berbagi tawa dan pengalaman berharga saat berpetualang serta memberikan pengalaman hidup dan didikan yang luar biasa.
13. Teman-teman Laboratorium Kultur Jaringan Zayyan Lutfhyah, Vidda Ryend, Pretty Ayuning, Ayu Vitrian, Hikma, Deni, Devina, Azalia, Mbak Fitri, Mbak Neli, Yufika Margareta, Rani, Rahma, Ulya, terimakasih atas bantuan dari kalian yang mungkin tak pernah kulupakan dan terimakasih juga kepada Pak Budi (teknisi Lab) yang telah ikut serta membimbing dalam penelitianku.

Penulis juga menyampaikan bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis harapkan demi sempurnanya tulisan ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua.

Jember, 10 September 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN SAMPUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
HALAMAN PEMBIMBING .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN .....	vii
RINGKASAN .....	viii
SUMMARY .....	x
PRAKATA .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Botani Tanaman Tembakau .....	4
2.2 Perbanyak tanaman Secara <i>In Vitro</i> .....	6
2.3 Somatik Embriogenesis .....	8
2.4 Media <i>Murashige and Skoog</i> .....	11
2.5 Zat Pengatur Tumbuh .....	11
2.6 Hipotesis .....	13
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>



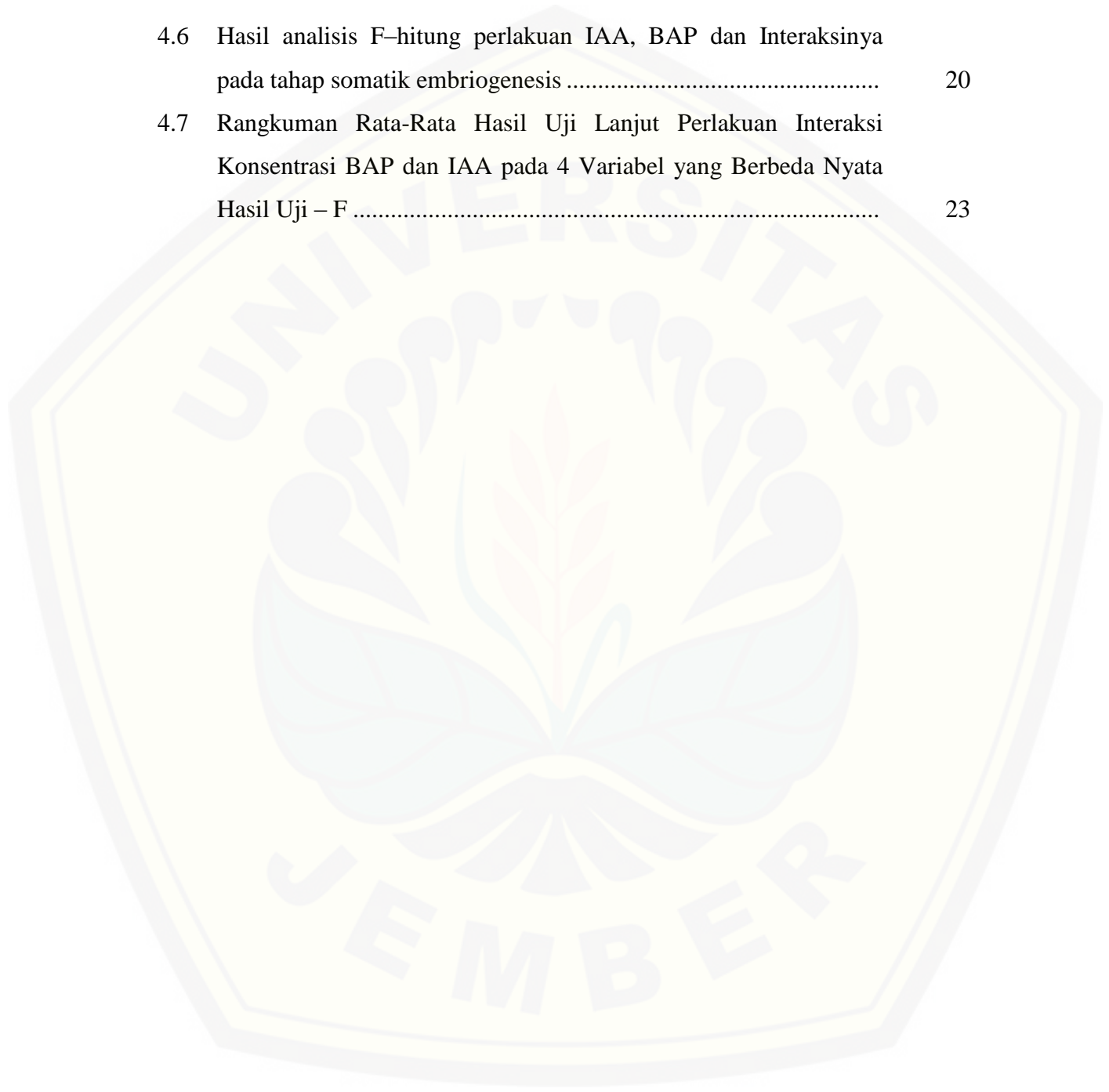
<b>3.1 Waktu dan Tempat.....</b>	14
<b>3.2 Alat dan Bahan .....</b>	14
<b>3.3 Rancangan Penelitian.....</b>	14
3.3.1 Tahapan Embrigenesis Langsung.....	15
<b>3.4 Pelaksanaan Penelitian.....</b>	16
3.4.1 Persiapan Alat .....	16
3.4.2 Persiapan Media .....	16
3.4.3 Pengulturan Pada Media Tanam .....	16
3.4.4 Pemeliharaan Tanaman .....	17
<b>3.5 Variabel Pengamatan .....</b>	17
<b>3.6 Komposisi Media MS .....</b>	18
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	19
<b>4.1 Percobaan Pendahuluan .....</b>	19
<b>4.2 Hasil Penelitian .....</b>	20
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	24
4.3.1 Tahapan Somatik Embriogenesis .....	24
4.3.2 Jumlah Tunas.....	25
4.3.3 Tinggi Tunas.....	29
4.3.4 Jumlah Daun.....	30
4.3.5 Panjang Akar .....	33
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	36
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	36
<b>5.2 Saran .....</b>	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	37
<b>LAMPIRAN.....</b>	42

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Bakal Buah Tembakau.....	4
2.2 Buah dan Biji Tembakau .....	5
4.1 Pengkecambahan Biji Tanaman Tembakau .....	19
4.2 Potongan Daun Tembakau Sebagai Eksplan pada Perlakuan .....	20
4.3 Pertumbuhan Kalus pada Perlakuan (a) BAP 0 ppm + IAA 0,1ppm; (b) BAP 0 ppm + IAA 0,2 ppm; dan (c) BAP 0 ppm + IAA 0,1 ppm.....	21
4.4 Morfologi Somatik Embriogenesis pada Tembakau H382. (a) Tahap Grobuler; (b) Hati; (c) Torpedo; dan (d) Planlet .....	20
4.5 Pengaruh Interaksi Konsetrasi BAP dan IAA Terhadap Jumlah Tunas .....	26
4.6 Kondisi Ekplan yang tidak Menumbuhkan Tunas pada Perlakuan; (a) Tanpa BAP dan Tanpa IAA; (b) IAA 0.1 ppm Tanpa BAP; (c) IAA 0.2 ppm Tanpa BAP (d) IAA 0.3 pmm Tanpa BAP .....	27
4.7 Pengaruh Interaksi Konsetrasi BAP dan IAA Terhadap Tinggi Tunas .....	29
4.8 Pengaruh Interaksi Konsetrasi BAP dan IAA Terhadap Jumlah Daun.....	30
4.9 Pengaruh Interaksi Konsetrasi BAP dan IAA Terhadap Panjang Akar .....	33
4.10 Panjang Akar (a) MS + BAP 3,0 ppm + IAA 0,2 ppm; (b) MS+BAP 2,5 ppm+IAA 0,2 ppm.....	34

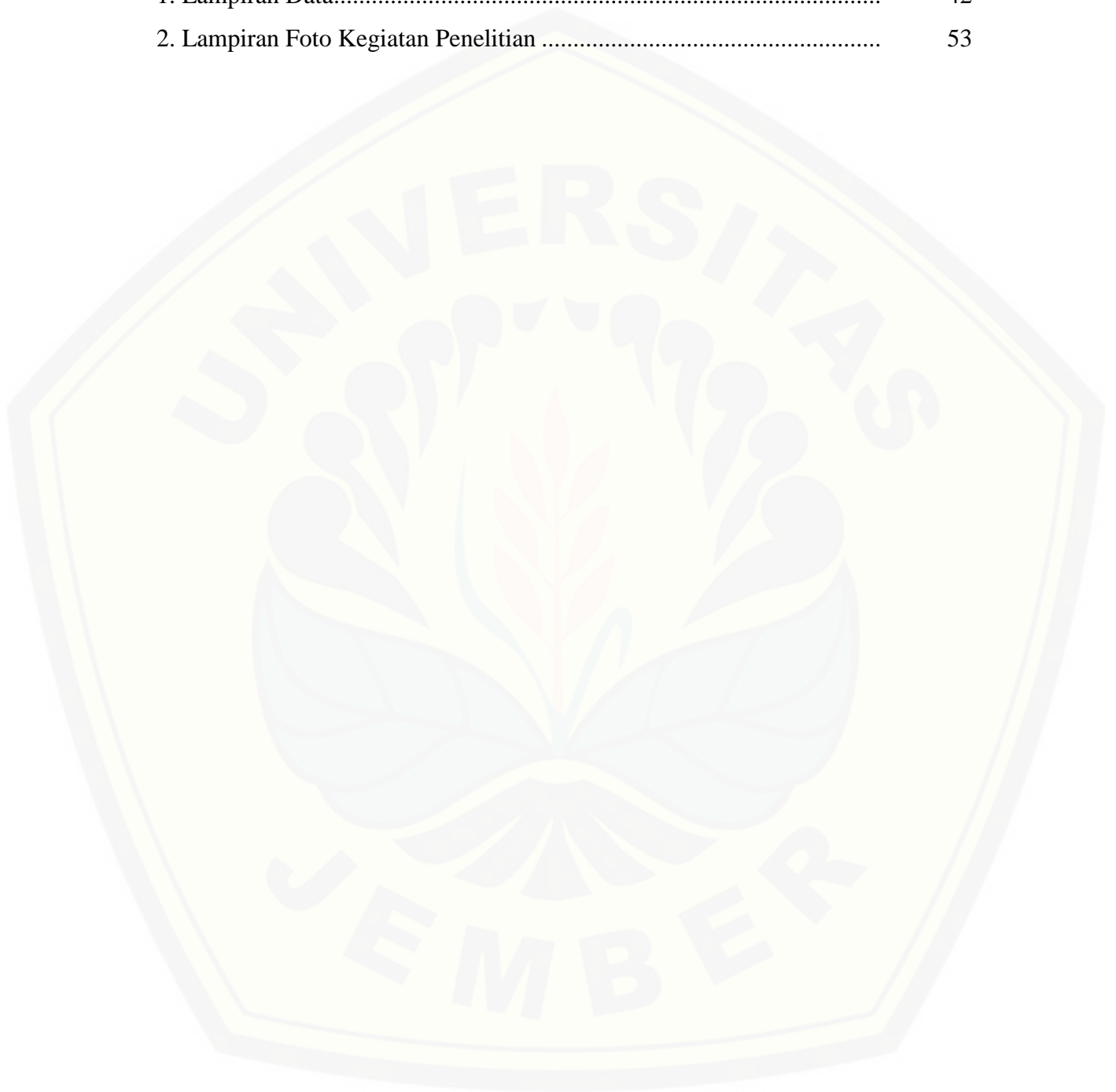
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.6 Hasil analisis F–hitung perlakuan IAA, BAP dan Interaksinya pada tahap somatik embriogenesis .....	20
4.7 Rangkuman Rata-Rata Hasil Uji Lanjut Perlakuan Interaksi Konsentrasi BAP dan IAA pada 4 Variabel yang Berbeda Nyata Hasil Uji – F .....	23



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
1. Lampiran Data.....	42
2. Lampiran Foto Kegiatan Penelitian .....	53



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman tembakau merupakan salah satu tanaman tropis asli Amerika. Tanaman ini dulunya digunakan untuk beberapa keperluan misalnya menghilangkan rasa lapar, mengurangi rasa kantuk, dan mengobati berbagai macam penyakit. Tanaman tembakau masuk di Indonesia diperkirakan dibawa oleh bangsa portugis pada abad XVI. Tembakau yang dikenal sebagai bahan baku pembuatan rokok memiliki kegunaan yang sangat banyak. Selain digunakan sebagai bahan baku rokok, tembakau juga digunakan sebagai susur dalam bahasa Jawa atau dikunyah oleh ibu-ibu dipedesaan. Manfaat tembakau diantaranya sebagai antioksidan karena mengandung polifenol, yaitu chlorogenic yang dapat menangkal radikal bebas.

Budidaya tembakau berkualitas sangat dibutuhkan untuk perkembangan eksport tembakau. Kebutuhan tembakau tiap tahun semakin meningkat seiring perkembangan jaman dan perkembangan penduduk. Kebutuhan akan daun tembakau yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan rokok kian lama makin meninggi. Sehingga kebutuhan akan produksi juga akan meningkat. Meningkatnya jumlah produksi akan berkaitan juga dengan kebutuhan bibit tembakau.

Tembakau ini digunakan sebagai pembungkus dan pengisi cerutu yang terkenal didunia. Tembakau tradisional H382 telah dieksport ke sebagian besar wilayah Eropa karena kualitasnya. Oleh karena itu, produksi tembakau varietas H382 semakin meningkat seiring dengan permintaan eksport. Untuk menghasilkan daun tembakau yang dapat memenuhi produksi maka perlu dilakukan perbanyakan tanaman secara cepat dan berkualitas.

Tanaman pasti memiliki segregasi atau hasil berbeda dari induknya, segregasi dapat menjadikan tanaman tersebut lebih baik atau sebaliknya. Segregasi terjadi karena setiap tanaman memiliki dua faktor keturunan untuk masing-masing sifat. Ada dua kemungkinan untuk setiap faktor, salah satu faktor

dominan terhadap yang lain, sifat lain yang ditutupi disebut resesif. Fenomena ini dapat diamati pada persilangan monohybrid, yaitu persilangan satu karakter dengan dua sifat yang berbeda. Salah satu hasil segregasi yang terjadi pada tanaman tembakau varietas H 382 adalah menghasilkan tanaman berdaun banyak. Karena hasil segregasi tersebut menjadikan tanaman yang lebih baik dari tanaman induknya, maka hasil segregasi tanaman tersebut dapat dikembangkan untuk mendapatkan hasil yang maksimal.

Perbanyakan tembakau secara konvensional dengan cara menyemai benih akan memakan waktu yang lama, hasil yang diperoleh terbatas, kemungkinan benih yang tumbuh tidak seragam, dan hasilnya pun kemungkinan tidak sama dengan induknya. Benih yang diambil dari tanaman belum tentu sama dengan induknya karena terdapat faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Faktor lingkungan yakni diperoleh dari benih yang belum tentu hasil dari tanaman itu sendiri dikarenakan pada saat pembungaan kemungkinan bunga diserbuki dengan serbuk sari bunga tanaman lain melalui angin dan serangga. Perbanyakan tembakau bisa dilakukan melalui teknik kultur jaringan.

Kultur jaringan didukung oleh konsep totipotensi sel yang berarti kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang pada media dan lingkungan yang sesuai (Winata, 1987). Perbanyakan tembakau melalui kultur *in vitro* adalah perbanyakan tanaman yang memiliki prospek lebih baik dari pada perbanyakan tanaman secara konvensional (Zulkarnain, 2011). Kultur jaringan tembakau sejak lama telah dikembangkan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kishor dan Mehta (1983) IAA (auksin) pada konsentrasi yang rendah (0,175- 0,3 mg/L) dapat menginduksi tunas sedangkan IAA pada konsentrasi tinggi (0,5-2 mg/L) dapat memacu diferensiasi akar.

Perbanyakan tanaman melalui kultur *in vitro* dapat menghasilkan jutaan klon dengan cepat hanya dengan menggunakan organ kecil tanaman. Teknik perbanyakan dengan kultur jaringan tidak tergantung pada musim, karena teknik dilakukan di dalam laboratorium. Dalam teknik kultur jaringan terdapat beberapa cara perbanyakan salah satunya adalah somatik embriogenesis.



Somatik embriogenesis adalah menumbuhkan embrio atau calon tanaman dari sel tanpa dibuahi. Dapat juga didefinisikan sebagai proses regenerasi eksplan melalui pembentukan struktur menyerupai embrio dari sel somatik yang telah memiliki calon akar dan tunas. Somatik embriogenesis dapat dicirikan dari strukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas. Dengan memiliki struktur tersebut maka perbanyakan melalui embriosomatik lebih menguntungkan daripada pembentukan tunas adventif yang unipolar.

## **1.2 Rumusan masalah**

Adapun rumusan masalah berdasarkan uraian diatas yaitu penyediaan bibit yang seragam dengan cara konvensional dalam waktu yang singkat dan jumlah yang banyak masih terdapat kendala yaitu: memakan waktu yang lama, hasil yang diperoleh terbatas, kemungkinan benih yang tumbuh tidak seragam, dan hasilnya pun kemungkinan tidak sama dengan induknya terutama pada varietas H382. Penelitian ini berusaha mencari perbanyakan tembakau varietas H382 yang diperbanyak melalui klonal somatik embriogenesis secara langsung

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP, IAA dan kombinasinya yang optimal untuk perbanyakan tembakau varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis secara langsung dan menghasilkan planlet tembakau varietas H382 yang seragam

## **1.4 Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi BAP dan IAA yang optimal untuk pertumbuhan somatik embriogenesis dan untuk perbanyakan koleksi tanaman tembakau varietas H382 yang seragam dalam waktu yang singkat.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L)

Tembakau berasal dari Benua Amerika, khususnya Amerika Utara dan Amerika Selatan. Tembakau pada awalnya ditemukan oleh Christoporos Colombus pada tahun 1492. Tembakau termasuk golongan tanaman semusim, dalam dunia pertanian tergolong dalam tanaman perkebunan. Tembakau diklasifikasikan sebagai famili *Solanaceae* dan spesies *Nicotiana tabaccum*. L.(Matnawi, 1997). Tembakau varietas H382 merupakan salah satu tembakau yang dikembangkan saat ini. Tembakau varietas H382 merupakan tembakau jenis NO (Na-oogst) cerutu besuki yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi (Dalmadiyo, 2001).

Tanaman tembakau memiliki akar tunggang, jika tanaman tumbuh bebas pada tanah yang subur terkadang dapat tumbuh sepanjang 7,5 cm. Selain akar tunggang terdapat bulu-bulu akar dan akar serabut. Akar tanaman tembakau kurang tahan terhadap air yang berlebihan karena dapat mengganggu pertumbuhan akar bahkan tanaman dapat mati (Matnawi, 1997).

Batang tanaman tembakau berbentuk agak bulat, batangnya agak lunak tetapi kuat, makin ke ujung semakin kecil. Ruas-ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun, batang tanaman tidak bercabang atau sedikit bercabang. Pada setiap ruas batang selain ditumbuhi daun juga ditumbuhi tunas yang disebut tunas ketiak daun. Diameter batang sekitar 5 cm (Cahyono, 1998).

Daun tembakau berbentuk lonjong atau bulat, tergantung pada varietasnya. Daun memiliki tulang-tulang menyirip, bagian tepi daun agak bergelombang dan licin. Ketebalan daun yang berbeda-beda, tergantung varietas budidaya. Daun tumbuh berselang-seling mengelilingi batang tanaman. Daun memiliki mulut daun yang terletak merata. Jumlah daun dalam satu tanaman 28-32 helai (Cahyono, 1998).

Bunga tanaman tembakau merupakan bunga majemuk yang tersusun dalam beberapa tandan dan masing-masing tandan berisi sampai 15 bunga. Warna

bunga merah jambu sampai merah tua pada bagian atasnya sedangkan yang lain berwarna putih. Tanaman tembakau dapat mengadakan penyerbukan sendiri walaupun tidak menutup kemungkinan terjadi penyerbukan silang. Bunga ini berfungsi sebagai alat penyerbukan sehingga dapat dihasilkan biji-biji untuk perkembangbiakan (Cahyono, 1998).

Bakal buah terletak di atas dasar bunga dan mempunyai 2 ruang yang membesar. Setiap ruang mengandung bakal biji anatrop yang banyak sekali. Bakal buah ini dihubungkan oleh sebatang tangkai putik dengan sebuah kepala putik di atasnya (Cahyono, 1998).



Gambar 2.1 Bakal buah tembakau (Sumber: Anonim, 2008 )

Buah tembakau berbentuk bulat lonjong dan berukuran yang kecil, didalamnya banyak berisi biji yang bobotnya sangat ringan. Dalam setiap gram biji berisi 12000 butir biji. Tiap-tiap batang tembakau dapat menghasilkan rata-rata 25 gram biji. Kira-kira 3 minggu sesudah pembuahan, buah tembakau telah jadi masak, biji dari buah tembakau yang baru dipungut. Untuk dapat memperoleh kecambah yang baik sekitar 95% biji yang dipetik harus sudah masak dan telah disimpan dengan baik dengan suhu yang kering (Abdullah dan Soedarmanto, 1998).



Gambar 2.2 Buah dan biji tembakau (Sumber: Anonim, 2008)

## 2.2. Perbanyak Tanaman Secara *In vitro* atau Kultur Jaringan

Kultur jaringan bila diartikan ke dalam bahasa Jerman disebut *Gewebe kultur* atau *tissue culture* (Inggris) atau *weefsel kweek* atau *weefsel cultuur* (Belanda). Kultur jaringan adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk membuat bagian tanaman (akar, tunas, jaringan tumbuh tanaman) tumbuh menjadi tanaman utuh (sempurna) pada kondisi *in vitro* (di dalam gelas) (Marlina N, 2004). Kultur jaringan didasari oleh teori sel yang dikemukakan dua ahli biologi dari Jerman, MJ. Schleiden dan Schwann. Secara tidak langsung teori tersebut menyatakan bahwa sel tumbuhan bersifat otonom dan mempunyai totipotensi. Sel bersifat otonom berarti dapat mengatur rumah tangganya sendiri, di sini yang dimaksud adalah bahwa sel dapat bermetabolisme, tumbuh, dan berkembang secara independen jika dipisahkan dari jaringan induknya. (Gunawan, 2007).

Dalam kultur jaringan dikenal adanya beberapa istilah, seperti eksplan, primordial, dan maristematis. Eksplan yang digunakan di dalam kultur jaringan haruslah yang masih muda (primordia), sel-selnya masih bersifat maristematis, dan sudah mengalami proses diferensiasi (Yuliarti, 2010). Menurut Hendaryono (1994), dengan mengisolasi dari tanaman induknya dan kemudian menumbuhkannya di dalam atau di atas media, sel-sel eksplan yang tadinya dorman dihadapkan pada kondisi stress sehingga metabolisemenya berubah. Respon yang terlihat pertama kali adalah terbentuknya jaringan penutup luka. Sel-

sel itu akan terus membelah, yang mana jika pembelahannya tidak terkendali maka akan membentuk massa sel yang tidak terorganisasi, yang disebut kalus.

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh (1) bentuk regenerasi dalam kultur, (2) eksplan adalah bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk memperbanyak tanaman. Faktor eksplan yang penting adalah genotip/varietas, umur eksplan, letak pada cabang, dan seks (jantan/betina), (3) media tumbuh, yang mana di dalam media tumbuh itu terkandung komposisi garam an-organik dan zat pengatur tumbuh, (4) zat pengatur tumbuh tanaman, yang mana faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan ZPT adalah konsentrasi, urutan penggunaan, dan periode masa induksi dalam kultur tertentu, dan (5) lingkungan tumbuh yang mempengaruhi regenerasi tanaman (Yuliarti,2010). Menurut Biondi dan Thorpe (1981) prinsip dasar dari teknik kultur jaringan adalah : (1) mengisolasi bagian tanaman yang dikulturkan, (2) mengkulturkan bagian tanaman tersebut pada media yang cocok serta kondisi lingkungan optimum, dan (3) menjaga kedua tahap tersebut dalam kondisi aseptik. Teknik kultur jaringan tanaman dapat digunakan sebagai salah satu untuk mendapatkan planlet dan bibit kentang yang bebas virus, teknik memperbanyak cepat, penyimpanan plasma nuftah dan pertukaran plasma nuftah secara internasional (Ammirato, 1984).

Kultur jaringan sebagai suatu teknik memperbanyak tanaman memiliki keunggulan tertentu dibandingkan memperbanyak tanaman dengan cara lainnya. Menurut Wattimena (1992), keuntungan memperbanyak tanaman secara kultur jaringan adalah (1) menghasilkan propagula (bibit) dalam jumlah banyak dalam waktu singkat, (2) menghasilkan bibit bebas penyakit, (3) tidak tergantung pada musim dan tidak merusak pohon induk, (4) tidak tergantung pada pohon induk jika sudah mempunyai sumber eksplan in vitro, (5) tanaman yang tidak dapat diperbanyak dengan cara konvensional dapat diperbanyak dengan metode memperbanyak mikro, (6) tidak ada istilah tanaman langka. Sekali teknik pembiakan mikro telah dikuasai untuk tanaman langka tertentu, maka selanjutnya tanaman tersebut dapat diproduksi dalam jumlah puluhan ribu, dan (7) mempermudah proses tukar menukar bahan tanaman.



Penggunaan teknik *in vitro* untuk tujuan perbanyak vegetatif merupakan areal/bidang yang paling maju dalam teknik kultur jaringan. Perbedaan perbanyak vegetatif secara *in vitro* dengan metode konvensional yang lain adalah: (1) dalam teknik *in vitro*, bahan tanaman yang dipergunakan lebih kecil, (2) lingkungan tumbuh kultur *in vitro* harus aseptik dan terkendali, (3) kecepatan perbanyak tinggi, (4) dapat menghasilkan benih bebas penyakit dari induk yang telah terinfeksi patogen internal, dan (5) membutuhkan tempat yang relatif kecil untuk menghasilkan jumlah benih yang banyak (Tohir, 1983).

### 2.3 Somatik Embriogenesis

Konsep embriogenesis somatik merupakan contoh terbaik dari konsep totipotensi sel, pertama kali diusulkan oleh Haberlandt (1902), yang menyatakan bahwa semua sel yang hidup normal memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi organisme utuh. Penemuan pertama embriogenesis somatik padatanaman muncul dari penelitian tentang wortel, Levine (1947) melaporkan regenerasi bibit wortel dari jaringan yang diperlakukan pada NAA tingkat rendah. Namun laporan dari Stewart et al (1958) dan Reinert (1959) pada sel suspensi wortel. Stewart et al. melaporkan keberhasilannya menghasilkan tanaman wortel dari sel suspensi langsung tanpa pengaruh zat pengatur tumbuh (Taryono, 2012).

Embriogenesis somatik atau embriogenesis aseksual adalah proses ketika sel-sel soma berkembang menjadi embrio melalui tahap-tahap morfologi yang khas tanpa melalui fusi gamet (Toonen dan de Vries, 1996). Embriogenesis somatik adalah proses suatu embrio tanaman terbentuk dan berkembang dari sel somatik. Sel somatik adalah sel tanaman yang dalam keadaan normal tidak terlibat dalam perkembangan embrio, contohnya jaringan daun tanaman. Embrio somatik dapat berasal dari satu sel tunggal maupun sekelompok sel kompeten. Jika eksplan yang digunakan adalah embrio zigotik yang sudah memiliki kemampuan embriogenik. Sementara eksplan tanaman yang tidak embriogenik harus didorong untuk menjadi embriogenik, disebut *Induced Embryogenically Determined Cells* atau IEDCs. Somatik embriogenesis secara langsung karena selnya sudah bersifat

embrionik. Sel ini hanya memerlukan kondisi kultur yang menguntungkan untuk inisiasi ekspresi embriogenesis. Somatik embriogenesis memerlukan determinasi dari sel somatik menjadi kalus, proliferasi kalus dan perkembangan embrionik (Bhojwani and Soh, 2001).

Somatik embriogenesis pada tanaman kehutanan mempunyai beberapa tahapan perkembangan yang spesifik, seperti induksi kalus embriogenik atau embrio somatik (pembentukan secara langsung), pemeliharaan, pendewasaan, perkecambahan, dan aklimatisasi (Lelu *et al.* 1993). Pembentukan embrio somatik secara langsung lebih disukai karena dapat menekan masalah sulitnya pembentukan benih somatik pada tahap perkecambahan (Rai dan McComb 2002).

Keberhasilan embriogenesis somatik terjadi apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil, dan mengandung butir pati (Pangesti dkk., 2011). Menurut Gaj (2001), embrio somatik dapat dicirikan daristrukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas. Dengan memiliki struktur tersebut maka perbanyakkan melalui embrio somatik lebih menguntungkan daripada pembentukan tunas adventif yang unipolar.

Tahap-tahap embriogenesis somatik menurut Bhojwani dan Razdan (1989) yaitu: Tahap Perkembangan (Development Phase), embrio somatik berkembang dari kumpulan sel meristematis menjadi bentuk globular, bentuk hati, bentuk torpedo, dan kotiledon; Tahap Konversi (Conversion Phase), setelah mencapai bentuk kotiledon, embrio somatik berkecambah, ini yang disebut tahap konversi; Tahap Pematangan (Maturation Phase), kemudian embrio somatik mengalami perubahan biokimia dan menjadi keras. Pada tahap perkembangan, terdapat perbedaan antara tanaman dikotil dan monokotil. Pada tanaman dikotil, tahapan yang dapat teramati yaitu globular, jantung, hati, torpedo dan planlet. Sedangkan tanaman monokotil tahapan yang dapat teramati adalah globular, coleoptillar, dan scutellar.

Keberhasilan regenerasi melalui somatik embriogenesis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain formulasi media, formulasi zat pengatur tumbuh serta jenis eksplan yang digunakan (Sukmadjaja, 2005). Keuntungan somatik embriogenesis yaitu sel yang dihasilkan adalah sel tunggal sehingga efektif untuk digunakan sebagai modifikasi genetik seperti transfer gen dan fusi protoplas. Jumlah tanaman yang diperoleh dari hasil somatik embriogenesis lebih banyak dan lebih kuat karena terdapat tunas dan akar. Somatik embriogenesis tidak memerlukan tahapan induksi akar sehingga bibit akan terbentuk utuh dan lengkap. Embrio somatik dapat digunakan sebagai biji buatan dengan cara pengkapsulan (Toruan dan Sumaryono, 1994).

Embriogenesis somatik pada tembakau pertama kali dilaporkan oleh Stolarz (1991) dan kemudian diteliti oleh Gill dan Saxena (1993), dimana embriogenesis somatik diinduksi dengan menggunakan zat pengatur tumbuh TDZ (thidiazuron) untuk mendapatkan embriogenesis langsung dari kultur daun. Akan tetapi, terdapat permasalahan dengan TDZ yakni akan menyebabkan lamanya elongasi pada tunas dan menghambat perakaran sehingga sulit terbentuk planlet. Penggunaan TDZ ini akan mengurangi tunas adventif untuk berkembang pada tanaman berkayu sehingga nantinya diduga akan menyebabkan kekerdilan pada internode.

Pengaruh BAP dengan kombinasi IAA menyebabkan terjadinya embriogenesis somatik langsung pada tanaman tembakau genotipe *Nicotiana tabaccum* dengan media padat MS (Pathi *et al.*, 2013). Penelitian Pathi *et al.* (2013) melaporkan bahwa pengaruh 2,5 ppm BAP dengan kombinasi 0,2 ppm IAA menyebabkan terjadinya embriogenesis somatik langsung pada tanaman tembakau genotipe *Nicotiana tabaccum*. Kombinasi ini menyebabkan embriogenesis yang terjadi dalam satu eksplan dapat dibuat jumlah sekitar 65-80 somatik embriogenesis yang terbentuk. Penelitian tentang somatik embriogenesis langsung pada tanaman cendana telah dilaporkan Sukmadjadja (2005), dimana induksi embriogenesis somatik terbanyak dapat diinduksi dengan menggunakan ZPT BAP pada media MS dengan konsentrasi 1 ppm. Menurut hasil penelitian



Sukmadjaja (2005), SE pada cendana didapatkan persentase pembentukan embrio somatik dari eksplan embrio zigotik muda pada media MS + BAP 2 mg/l menunjukkan nilai tertinggi (71,4%), sedangkan untuk eksplan embrio zigotik dewasa, nilai tertinggi (63,6%) diperoleh pada media MS + BAP1 mg/l

#### **2.4 Media Merashige and Skoog**

Media untuk kultur jaringan dapat dibuat dalam bentuk cairan maupun padat. Media padat adalah media yang mengandung semua komponen kimia yang dibutuhkan oleh tanaman dan dipadatkan dengan menambahkan zat pematat berupa agar-agar batangan, agar-agar bubuk (yang biasanya digunakan sebagai bahan makanan), atau agar-agar dalam kemasan yang memang khusus digunakan untuk keperluan laboratorium (Mulyadi, 2007).

Media MS (Murashige dan Skoog, 1962) merupakan media yang banyak mengandung garam mineral dalam konsentrasi tinggi, juga mengandung unsur N yang tinggi dalam bentuk NO<sub>3</sub> dan NH<sub>4</sub> yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan embrionik. Pertumbuhan eksplan dipengaruhi oleh unsur hara dan zat pengatur tumbuh yang terdapat pada media tanam. Salah satu unsur hara yang paling penting adalah N yang banyak terdapat di dalam media MS (Peirik, 1987).

#### **2.5 Zat Pengatur Tumbuh**

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang dapat menghambat ataupun merubah fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh terdiri dari auksin, sitokinin, giberelin, etilen dan inhibitor dengan ciri pengaruh yang berlainan bagi proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh memiliki peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur untuk merangsang peningkatan pertumbuhan dan perkembangan organ tanaman menuju arah diferensiasi. Tanpa zat pengatur tumbuh kemungkinan tanaman atau eksplan dalam kultur jaringan tumbuh sangatlah sedikit (Peirik, 1971). Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh berperan dalam mengontrol morfogenesis dan pertumbuhan eksplan. Zat pengatur tumbuh dalam kultur in vitro dapat

menyebabkan terjadinya pembelahan sel sehingga menghasilkan kalus atau dapat menghasilkan somatik embriogenesis akibat terjadinya modifikasi gen (Murni, 2010).

Auksin adalah sekelompok senyawa yang fungsinya merangsang pemanjangan sel-sel pucuk. Pierik (1971) menyatakan bahwa pada umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif. Konsentrasi auksin sangat diperlukan untuk meningkatkan somatik embriogenesis. Konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar tetapi konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan pertumbuhan kalus (Smith, 1992). Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi kalus, kultur suspensi, pemanjangan akar dan pembelahan sel. Dalam pembentukan kalus embrionik dan struktur embrio diperlukan konsentrasi auksin yang tinggi (Lestari, 2011).

Auksin yang banyak digunakan dalam kultur in vitro adalah indol asam asetat (IAA), dikloro fenoksiasetat (2,4-D), naftalen asam asetat (NAA), dan Indol Butirik asetat (BAP). IAA merupakan auksin yang disintesis secara alamiah di tubuh tanaman, namun senyawa ini mudah terdegradasi akibat pengaruh cahaya dan oksidasi enzimatis. Oleh karena itu, IAA biasanya diberikan dengan konsentrasi yang relatif tinggi (1-30 mg/l). IAA memiliki sifat kimia lebih stabil dan mobilitas dalam tanaman rendah (Pierik, 1971).

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta pengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemberian sitokinin dalam medium kultur jaringan penting dalam perkembangan eksplan. Sitokinin berperan dalam meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk, dan morfogenesis pucuk (Smith, 1992).

Menurut George dan Sherrington (1984), sitokinin tidak digunakan dalam inisiasi akar, karena akan menghambat pertumbuhan akar dan menghambat pengaruh auksin terhadap inisiasi akar pada kultur jaringan (George dan Sherrington, 1984). Sitokinin yang paling banyak digunakan adalah kinetin, dan Benzilaminopurin (BAP). BAP digunakan untuk pembentukan tunas pada

perbanyak pisang (Jafari et al, 2011). Sitokinin seperti benzylaminopurine (BAP) dan kinetin umumnya dikenal untuk mengurangi dominansi meristem apikal dan menginduksi pembentukan tunas aksiler baik dan adventif dari eksplan meristematis dalam pisang (Madhulatha *et al.*, 2004). Konsentrasi BAP yang rendah dapat menghasilkan kalus pada organ kultur jaringan. Hasil penelitian Karsinah, dkk (1995). Menunjukkan pemberian BAP 1,0-2,0 mg/l menghasilkan kalus dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 4,0-8,0 mg/l BAP. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media kultur jaringan (Pierik, 1987). Keseimbangan antara auksin dan sitokinin mampu mengontrol pembentukan tunas akar dan kalus secara *in vitro* (Ali *et al.*, 2007)

### **Hipotesis**

Terdapat konsentrasi BAP, IAA dan kombinasinya yang optimal untuk perbanyak tembakau varietas H382 melalui jalur somatik embriogenesis secara langsung.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilakukan mulai bulan November 2014 – Juni 2015.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah daun muda dari kecambah biji tembakau H382 hasil *in vitro*, larutan stok MS, zat pengatur tumbuh IAA, dan BAP, alkohol 96%, sukrosa, agar, NaOH, HCL, *tissue*, plastik *poliethylen* dan aquadest.

Alat yang digunakan adalah LAF (*Laminar Air Flow*), *autoclaf*, oven, pH meter, neraca analitik, botol kultur, pipet, gelas piala, gelas ukur, cawan petri, scalpel, pinset, lampu spirtus, penggaris.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan satu tahap yaitu tahap embriogenesis secara langsung. Metode matematika pada percobaan ini sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \alpha_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan dari kelompok ulangan ke-k yang mendapat taraf ke-i dari faktor I dan taraf ke-j dari faktor B

M = Nilai tengah umum

$\alpha_i$  = Pengaruh aditif dari faktor I taraf ke-i

$\alpha_j$  = Pengaruh aditif dari faktor B taraf ke-j

$\alpha_i \beta_j$  = Pengaruh interaksi antara  $\alpha$  dan  $\beta$  yang memperoleh perlakuan ke-i dan ke-j.

$\varepsilon_{ijk}$  = Pengaruh galat percobaan ke-k yang memperoleh taraf perlakuan ke-i faktor  $\alpha$  dan taraf ke-j yang memperoleh faktor  $\beta$

### 3.3.1 Tahapan embriogenesis langsung

Percobaan penelitian dilakukan dengan menggunakan RAL factorial (Rancangan Acak Lengkap) yang terdiri dari 2 faktor konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA diulang sebanyak 4 kali.

1. Faktor 1 adalah aplikasi konsentrasi zat pengatur tumbuh BAP dengan 4 taraf, yaitu:

B <sub>0</sub> (kontrol)	= 0	ppm
B <sub>1</sub>	= 2,0	ppm
B <sub>2</sub>	= 2,5	ppm
B <sub>3</sub>	= 3,0	ppm

2. Faktor 2 adalah aplikasi konsentrasi zat pengatur tumbuh IAA dengan 5 taraf, yaitu:

I <sub>0</sub> (kontrol)	= 0	ppm
I <sub>1</sub>	= 0,1	ppm
I <sub>2</sub>	= 0,2	ppm
I <sub>3</sub>	= 0,3	ppm

#### Kombinasi perlakuan

B <sub>0</sub> I <sub>0</sub>	B <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	B <sub>0</sub> I <sub>2</sub>	B <sub>0</sub> I <sub>3</sub>
B <sub>1</sub> I <sub>0</sub>	B <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> I <sub>2</sub>	B <sub>1</sub> I <sub>3</sub>
B <sub>2</sub> I <sub>0</sub>	B <sub>2</sub> I <sub>1</sub>	B <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	B <sub>2</sub> I <sub>3</sub>
B <sub>3</sub> I <sub>0</sub>	B <sub>3</sub> I <sub>1</sub>	B <sub>3</sub> I <sub>2</sub>	B <sub>3</sub> I <sub>3</sub>

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (*ANOVA*), apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range* (DMRT) dengan taraf 5%.



### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Persiapan Alat**

Alat yang digunakan harus dalam keadaan steril. Sterilisasi alat dilakukan dengan membungkus alat dengan plastik *poliethylen* dan disterilisasi dengan menggunakan *autoclaf* pada tekanan 17,5 atm selama 3 jam pada suhu 121° C. Selanjutnya alat yang disterilisasi, dikeringkan didalam oven pada suhu 121° C, dan alat siap digunakan. Sebelum menggunakan LAF (*Laminar Air Flow*), LAF dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70 % (sudah diencerkan) dan menggunakan *tissue* steril, setelah dibersihkan selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan menyalakan lampu UV selama 30 menit.

#### **3.4.2 Persiapan Media**

Media yang digunakan dalam kultur jaringan ini yaitu media MS (*Murashige and Skoog*) ditambah dengan sukrosa 30g/l dan 8 g/l. Penambahan hormon pada media disesuaikan dengan kebutuhan perlakuan. Sebelum media di autoklaf, pH media diatur antara 6,5 – 6,8 dengan menambah NaOH atau HCl. Selanjutnya di autoklaf selama kurang lebih 150 menit pada suhu 121°C tekanan 17,5 Psi.

#### **3.4.3 Pengkulturan pada Media Tanam**

##### **a. Tahapan Penanaman Benih**

Benih dari lapang disterilisasi menggunakan klorok 20% (*coercial bleach*) selama 20 menit sebanyak 5 kali lalu ditanam pada media MS 0, setelah tumbuh planlet tanaman yang sudah berumur sembilan minggu diambil daunnya sebagai eksplan.

##### **b. Tahapan Sterilisasi Eksplan**

Eksplan dari daun tembakau yang diambil dari penanaman benih varietas H 382 disterilisasi dengan menggunakan klorok 20 % (*coercial bleach*) selama

20 menit sebanyak 3 kali setiap selesai pencucian klorok dibilas dengan air steril. Kegiatan sterilisasi dilakukan dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

### **c. Penanaman Eksplan**

Penanaman eksplan daun tembakau dilakukan di dalam laminar air flow cabinet. Botol berisi media yang sudah disterilkan dibuka tutupnya. Proses ini dilakukan dengan menggunakan lampu bunsen sambil memutar mulut botol dengan titik tengah poros. Kemudian eksplan daun diambil dari botol kultur dipotong dengan ukuran 2 x 2 cm dalam cawan petri. Eksplan daun yang telah dipotong diambil dari cawan petri steril dan diletakkan pada media yang disiapkan sesuai perlakuan dengan menggunakan pinset, satu botol berisi 3 eksplan. Tutup botol dengan *aluminium foil*.

### **3.4.4 Pemeliharaan Tanaman**

Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan menjaga kondisi ruang inkubasi pada suhu 25-27° C. Penyemprotan alkohol 70% dan formalin 4% dilakukan hampir setiap hari dengan tujuan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi.

### **3.5 Parameter Pengamatan**

Parameter pengamatan meliputi :

1. Jumlah tunas dihitung secara manual berdasarkan jumlah tunas yang mulai tumbuh dari eksplan yang ditanam, tunas dihitug apabila sudah terbentuk minimal 2 daun dan diamati setiap satu minggu sekali.
2. Tinggi tunas diukur secara manual menggunakan kertas milimeterscrub, tunas terbentuk jika sudah muncul minimal dua daun dan diamati setiap dua minggu sekali
3. Jumlah daun dihitung secara manual berdasarkan daun yang terbentuk dari eksplan diamati setiap satu minggu sekali
4. Panjang akar dihitung menggunakan kertas millimeterscrub setelah planlet sudah siap disubkulturkan

5. Presentase terbentuknya kalus dihitung sejak munculnya kalus  
Diperoleh dengan menghitung jumlah eksplan yang ditanam lalu dibagi jumlah seluruh eksplan dan dikali 100 %.
6. Pertambahan bobot eksplan(g/2minggu)  
Diamati dengan cara menimbang bobt kultur awal (bobot botol + eksplan dikurangi bobot botol tanpa eksplan) penimbangan bobot kalus dihitung berkala 2 minggu sekali.
- Bobot = ( T<sub>1</sub> - T<sub>0</sub> )

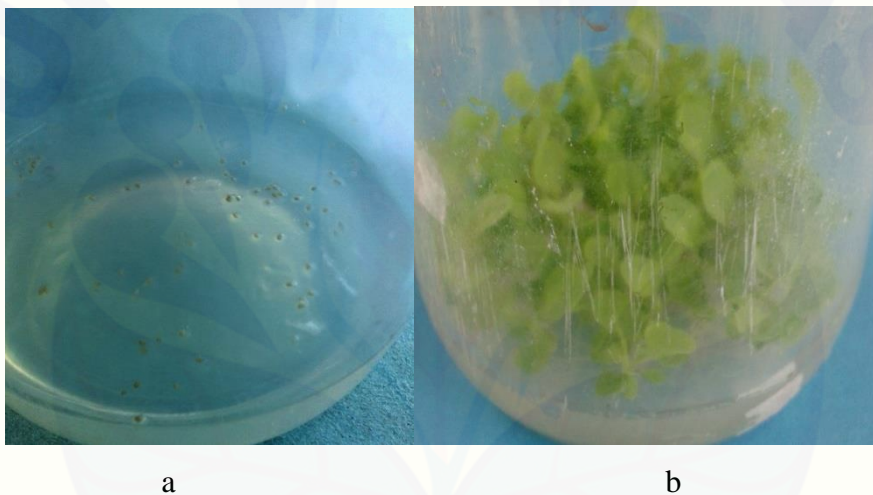
### 3.6 Komposisi Media MS

Jenis Stok	Jenis Bahan Kimia	MS (mg/l)	Volume Pemakaian
			MS I (mg/l)
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	20
B	KNO <sub>3</sub>	1900	20
C	CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	440	10
D	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	10
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	
E	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	5
	NaEDTA	37,3	
F	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3	5
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	
	KI	0,83	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,25	
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	
	Mio-inositol	100	
Vitamin	Niacin	0,5	1
	Pyridoksin HCl	0,5	
	Thiamine HCl	0,1	
	Glycine	2,0	
	Sukrosa	30000	

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

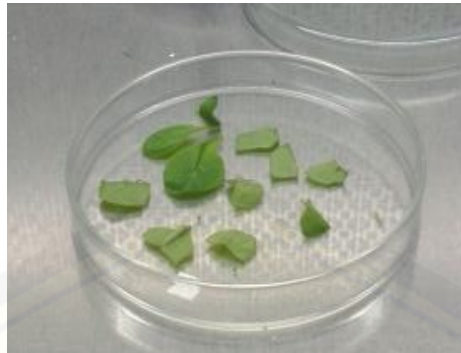
### 4.1 Percobaan Pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan metode yang sesuai untuk perbanyakan tanaman tembakau varietas H382. Perbanyakan invitro pada tembakau menggunakan system somatic embryogenesis ini dimulai dari perbanyakan biji. Perbanyakan biji dilakukan karena pada biji tembakau tidak terserang virus, sehingga tanaman yang akan dikembangkan tidak terserang penyakit. Perbanyakan biji dilakukan pada media MS tanpa zat pengatur tumbuh. Proses perkecambahannya dilakukan selama 4 minggu seperti Gambar 4.1b atau daun telah terlihat lebar.



(a) biji yang baru ditanam; dan (b) kecambah tembakau  
Gambar 4.1 Pengkecambahan biji tanaman tembakau

Eksplan yang digunakan berasal dari daun kecambah biji tembakau berukuran setinggi  $\pm 4$  cm. Pemilihan eksplan ini didasarkan pada jaringan yang masih muda. Semua bagian tanaman yang masih muda keadaan sel-selnya masih aktif membelah, merupakan bagian tanaman yang paling baik untuk sumber eksplan ( Dewi dkk., 1998).



Gambar 4.2 Pemotongan daun tembakau sebagai eksplan pada perlakuan

#### 4.2 Hasil Penelitian

Pengaruh perlakuan IAA, BAP, dan kombinasinya dirangkum dalam tabel analisis ragam yang disajikan dari semua parameter pengamatan yaitu jumlah tunas, tinggi eksplan, jumlah daun, panjang akar, berat eksplan, dan presentasi terbentuknya kalus disajikan dalam tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil analisis F–hitung perlakuan IAA, BAP dan Interaksinya pada tahap somatik embriogenesis

No.	parameter	Nilai F-Hitung		
		IAA	BAP	Interaksi
1.	Jumlah tunas	2.43 ns	47.94 **	5.94 **
2.	Tinggi tunas	1.15 ns	133.26 **	7.69 **
3.	Jumlah daun	1.04 ns	33.63 **	4.56 **
4.	Panjang akar	7.36 **	95.44 **	9.75 **
5.	Berat eksplan	0.55 ns	0.98 ns	1.00 ns
6.	Persentasi terbentuknya kalus	0.68 ns	2.21 ns	0.68 ns

Keterangan: \*\* berbeda sangat nyata; ns tidak berbeda nyata

Berdasarkan data F-hitung Tabel 4.1 menunjukkan pengaruh dari setiap perlakuan yakni Konentras IAA, konsentrasi BAP dan interaksi keduanya. Nilai F-hitung dengan uji duncan 5% pada parameter pengamatan jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun menunjukkan berbeda sangat nyata pada interaksi BAP



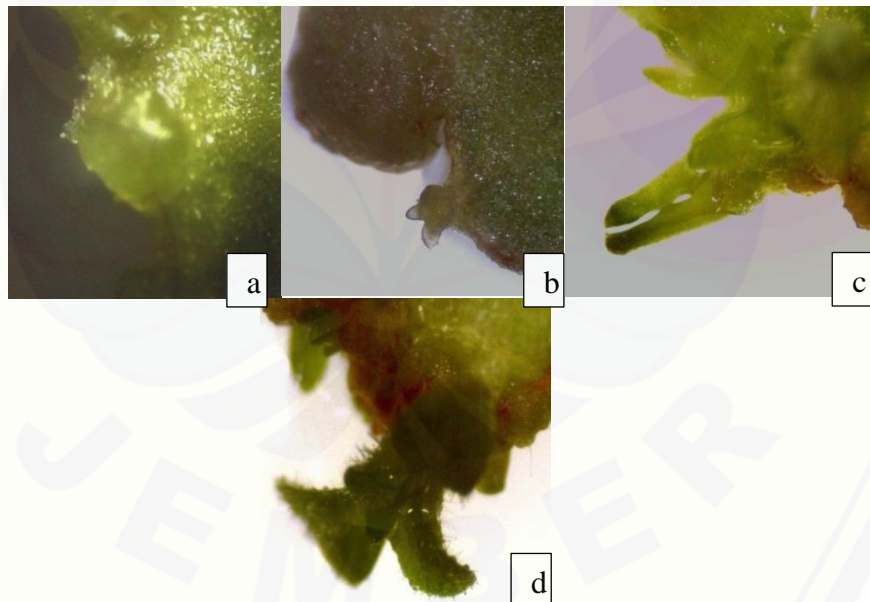
dan IAA dan pada faktor tunggal BAP saja. Pengamatan panjang akar menunjukkan hasil berbeda sangat nyata pada semua perlakuan baik faktor tunggal IAA, BAP maupun interaksinya. Sedangkan pada parameter persentase terbentuknya kalus dan berat eksplan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada semua faktor baik faktor tunggal konsentrasi IAA, konsentrasi BAP, dan interaksinya.

Hasil dari perlakuan interaksi ZPT BAP dan IAA ternyata tidak hanya menumbuhkan eksplan secara somatik embriogenesis tetapi eksplan dapat tumbuh menjadi kalus dan tumbuh secara organogenesis. Kalus muncul pada perlakuan ZPT IAA tanpa BAP, Somatik embrio terdapat pada perlakuan BAP 2,5 ppm ditambah IAA 0,2 ppm ( $B_2I_2$ ) dan BAP 3,0 ppm ditambah IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ). Pada (Gambar 4.4) adalah hasil dari tahap somatic embryogenesis yang terdiri dari tahap globular, hati, torpedo dan kotiledon. Selain itu semua perlakuan kecuali  $B_0I_0$ ,  $B_0I_1$ ,  $B_0I_2$ ,  $B_0I_3$ ,  $B_2I_2$ ,  $B_2I_3$  menunjukkan sifat organogenesis, pada perlakuan  $B_2I_2$  dan  $B_2I_3$  seperti yang sudah dijelaskan, perlakuan tersebut menunjukkan hasil somatic embriogenesis. Sedangkan perlakuan dengan IAA tanpa BAP yakni pada perlakuan BAP 0 ppm dengan IAA 0,1 ppm ( $B_0I_1$ ), BAP 0 ppm dengan IAA 0,2 ppm ( $B_0I_2$ ), dan BAP 0 ppm dengan IAA 0,3 ppm ( $B_0I_3$ ), menunjukkan adanya pertumbuhan eksplan menjadi kalus dapat dilihat pada (Gambar 4.3). Menurut Smith (1992) hal ini disebabkan bahwa konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar tetapi konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan pertumbuhan kalus.



Gambar 4.3 Pertumbuhan kalus pada perlakuan (a) BAP 0 ppm + IAA 0,1 ppm; (b) BAP 0 ppm + IAA 0,2 ppm; dan (c) BAP 0 ppm + IAA 0,1 ppm

Pada perlakuan tanpa konsentrasi BAP dan tanpa konsentrasi IAA ( $B_0I_0$ ) eksplan tidak dapat berkembang ke arah kalus, tunas maupun somatik embrio, hal ini kemungkinan dikarenakan tidak adanya hormone eksogen dan endogen yang diberikan untuk memacu pertumbuhan eksplan. Menurut Suyadi (2003) apabila kondisi auksin dan sitokinin endogen berada pada kondisi sub optimal, maka diperlukan penambahan auksin dan sitokinin secara eksogen, sehingga diperoleh perimbangan auksin dan sitokinin optimal. Perlakuan kombinasi lainnya yang tidak tumbuh kalus dan somatic embrio, pertumbuhannya mengarah ke organogenesis. Munculnya organogenesis langsung pada pertumbuhan tunas, disebabkan konsentrasi sitokinin BAP yang terlalu tinggi dibandingkan konsentrasi auksin IAA. BAP digunakan untuk pembentukan tunas pada perbanyakan pisang (Jafari *et al.*, 2011). Sitokinin seperti benzylaminopurine (BAP) dan kinetin umumnya dikenal untuk mengurangi dominansi meristem apikal dan menginduksi pembentukan tunas aksiler baik dan adventif dari eksplan meristematik dalam pisang (Madhulatha *et al.*, 2004).



Gambar 4.4 Morfologi somatik embriogenesis pada tembakau H382. (a) tahap globuler; (b) hati; (c) torpedo; dan (d) planlet

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) pada parameter jumlah tunas, tinggi eksplan, jumlah daun dan panjang akar menunjukkan hasil berbeda sangat nyata pada interaksi konsentrasi BAP dengan IAA, hasil berbeda nyata tersebut kemudian harus diuji lanjut menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT) dengan taraf 5%. Rata-rata jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan panjang akar pada kombinasi IAA dan BAP dapat dilihat pada table 4.2.

Table 4.2 Rata-rata jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan panjang akar

Perlakuan	Jumlah tunas	Tinggi tunas	Jumlah daun	Panjang akar
B <sub>0</sub> I <sub>0</sub>	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.00 e
B <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.00 e
B <sub>0</sub> I <sub>2</sub>	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.00 e
B <sub>0</sub> I <sub>3</sub>	0.00 c	0.00 f	0.00 c	0.00 e
B <sub>1</sub> I <sub>0</sub>	4.25 ab	4.83 ab	21.25 ab	7.31 abcd
B <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	4.00 ab	4.18 abc	15.50 ab	5.84 cd
B <sub>1</sub> I <sub>2</sub>	3.25 b	4.25 abc	16.00 ab	5.93 cd
B <sub>1</sub> I <sub>3</sub>	3.75 b	4.93 a	17.25 ab	7.56 abcd
B <sub>2</sub> I <sub>0</sub>	4.25 ab	4.70 ab	17.75 ab	8.14 abc
B <sub>2</sub> I <sub>1</sub>	3.25 b	3.80 bc	14.75 ab	5.61 d
B <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	3.75 b	3.73 bc	14.00 ab	8.76 ab
B <sub>2</sub> I <sub>3</sub>	3.25 b	3.10 c	12.50 b	7.53 abcd
B <sub>3</sub> I <sub>0</sub>	0.25 c	1.53 d	0.25 c	0.00 e
B <sub>3</sub> I <sub>1</sub>	4.50 ab	4.58 b	17.75 ab	6.27 cd
B <sub>3</sub> I <sub>2</sub>	5.50 a	5.00 a	22.50 a	9.01 a
B <sub>3</sub> I <sub>3</sub>	3.50 b	4.73 ab	19.00 ab	6.69 bcd

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada masing-masing kolom menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%

Konsetrasi zat pengatur tumbuh sitokinin BAP dengan konsetrasi 3 ppm dan IAA 0.2 ppm (B<sub>3</sub>I<sub>2</sub>) menghasilkan nilai pengamatan tertinggi pada minggu ke-

8 pada semua parameter yakni jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan panjang akar. Pada konsentrasi IAA tanpa BAP selalu menghasilkan jumlah yang terendah pada semua parameter. Dikarenakan konsentrasi IAA tanpa BAP tidak menumbuhkan tunas sama sekali, sehingga tidak dapat diukur. Pada konsentrasi IAA tanpa BAP eksplan yang ditanam dapat menjadi kalus atau bahkan ada yang tidak tumbuh atau mati.

### 4.3 Pembahasan

#### 4.3.1 Tahapan Somatik Embriogenesis

Berdasarkan hasil analisis tahapan morfologi somatik embriogenesis diatas Gambar 4.4 diperoleh dua perlakuan interaksi antara ZPT BAP dan IAA yang baik untuk pertumbuhan kearah somatik embriogenesis yakni perlakuan BAP 2,5 ppm ditambah IAA 0,2 ppm (B<sub>2</sub>I<sub>2</sub>) dan perlakuan BAP 3,0 ppm ditambah IAA 0,2 ppm (B<sub>3</sub>I<sub>2</sub>). Zat pengatur tumbuh BAP dan IAA adalah kombinasi ZPT yang baik untuk pertumbuhan somatik embriogenesis. Penelitian tentang somatik embriogenesis langsung pada tanaman cendana dilaporkan dalam Sukmadjaja (2005), dimana keberhasilan regenerasi melalui somatik embriogenesis terbanyak dipengaruhi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA. Hal ini didukung dengan Lestari (2011) yang menyatakan dalam pembentukan kalus embrionik dan struktur embrio diperlukan konsentrasi auksin yang tinggi dengan tambahan sitokinin. Menurut George & Sherrington (1989) 6-Benzilaminopurine (BAP) merupakan salah satu sitokinin sintetik yang aktif dan daya merangsangnya lebih lama karena tidak mudah dirombak oleh enzim dalam tanaman. Media MS juga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan somatik embriogenesis karena media MS merupakan media yang banyak mengandung garam mineral dalam konsentrasi tinggi, juga mengandung unsur N yang tinggi dalam bentuk NO<sub>3</sub> dan NH<sub>4</sub> yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan embrionik (Peirik, 1987).

Pertumbuhan somatik embriogenesis pada eksplan daun tembakau sangat cepat, setiap hari tahapan somatik embriogenesis cepat berkembang, hal ini dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. Eksplan daun tembakau yang

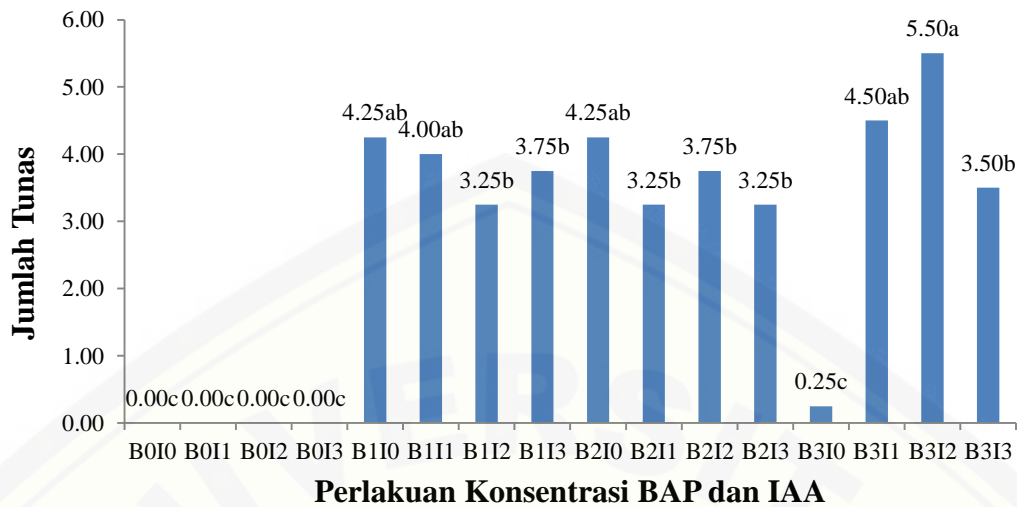


digunakan berumur 4 minggu, masih termasuk dalam jaringan muda dan masih memiliki meristem yang aktif membelah. Sehingga pertumbuhan eksplan sangat cepat. Eksplan yang dipilih dari tanaman yang sehat juga dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan. Menurut Nursetiadi (2008) tunas yang akan dijadikan eksplan harus berasal dari pohon induk yang fisiknya sehat. Perlakuan yang menghasilkan tahapan somatik embriogenesis ini menunjukkan hasil yang baik pada setiap parameter, baik jumlah tunas maupun panjang akar. Menurut Gaj (2001) somatik embriogenesis dapat dicirikan daristrukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, meristem akar dan meristem tunas. Kelebihan dari pertumbuhan eksplan kearah somatik embriogenesis ini yakni jumlah tanaman yang diperoleh dari hasil somatik embriogenesis lebih banyak dan lebih kuat karena terdapat tunas dan akar. Somatik embriogenesis tidak memerlukan tahapan induksi akar sehingga bibit akan terbentuk utuh dan lengkap. Pada pembahasan berikutnya akan dibahas mengenai parameter yang mendukung bahwa hasil somatik embriogenesis memiliki jumlah tunas yang lebih banyak (Toruan dan Sumaryono, 1994).

#### 4.3.2 Jumlah Tunas

Sitokinin dan auksin adalah zat pengatur tumbuh yang memiliki peran penting dalam kultur in vitro. Salah satu peran penting zat pengatur tumbuh adalah dalam pertumbuhan dan perkembangan. Penggunaan perbandingan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dari auksin pada media kultur diharapkan dapat menginduksi munculnya tunas. Pada penelitian somatik embriogenesis secara langsung dengan menggunakan eksplan daun tembakau terdapat hasil pertumbuhan kearah somatik embriogenesis, ada yang melalui kalus dan ada juga yang tumbuh kearah organogenesis. Pemberian zat pengatur tumbuh BAP dan IAA berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan. Data interaksi pada parameter jumlah tunas antara konsentrasi BAP dan IAA dapat dilihat pada Gambar 4.5. grafik dibawah ini diperoleh dari rata-rata jumlah tunas masing-masing perlakuan.



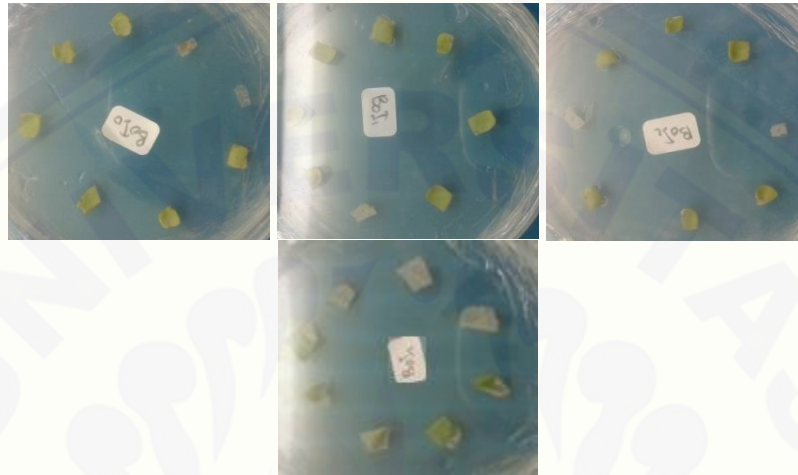


Gambar 4.5 Pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan IAA terhadap jumlah tunas

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.5 yaitu dari rata-rata tinggi tunas dan hasil dari uji lanjut menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT) 5 % dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dengan IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ) menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata jumlah tunas 5,50. Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi auksin akan memacu multiplikasi tunas. Perlakuan  $B_3I_2$  ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan  $B_3I_1$ ,  $B_1I_0$ ,  $B_1I_1$ , dan  $B_2I_0$ . Windasari (2004) menambahkan, pengaruh sitokinin dalam kultur jaringan tanaman berhubungan dengan proliferasi tunas ketiak, selain itu proliferasi tunas aksilar hanya memerlukan sitokinin yang tinggi tanpa auksin atau auksin dalam konsentrasi yang sangat rendah. Penambahan BAP berpengaruh linier pada peningkatan jumlah tunas dan jumlah daun. Menurut Nisak *et al* (2012) BAP berperan dalam pembelahan sel serta diferensiasi terbentuknya tunas. Namun, jika sitokinin (termasuk BAP) ditambah dengan auksin (termasuk IAA) maka sel akan mengalami pembelahan dan perkembangan terus menerus.

Perlakuan yang menunjukkan jumlah tunas terkecil adalah  $B_0I_0$ ,  $B_0I_1$ ,  $B_0I_2$ , dan  $B_0I_3$  dengan rata-rata jumlah tunas 0.00 dapat dilihat pada (Gambar 4.6), hal

ini karena hormon eksogen dan endogen merangsang pertumbuhan eksplan kearah kalus. Jumlah tunas terkecil kedua yakni pada perlakuan B<sub>3</sub>I<sub>0</sub>, hal ini dimungkinkan karena tidak seimbangnya auksin sitokinin dan dapat juga dikarenakan konsentrasi sitokinin yang tinggi. Konsentrasi sitokinin yang terlalu tinggi dapat menjadikan racun bagi eksplan.



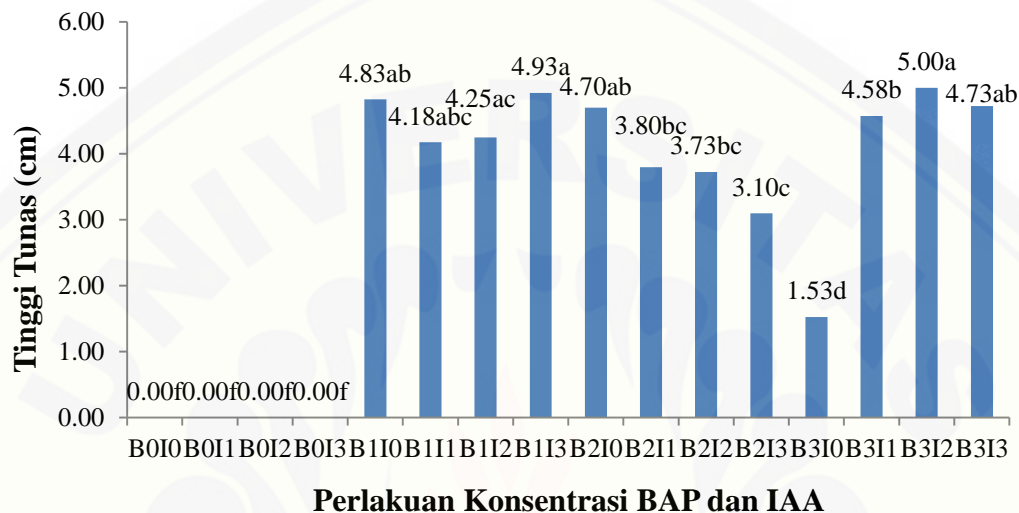
Gambar 4.6 Kondisi eksplan yang tidak menumbuhkan tunas pada perlakuan; (a) tanpa BAP dan tanpa IAA; (b) IAA 0.1 ppm tanpa BAP; (c) IAA 0.2 ppm tanpa BAP (d) IAA 0.3 pmm tanpa BAP

Hasil perlakuan B<sub>1</sub>I<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>I<sub>3</sub>, B<sub>2</sub>I<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>I<sub>2</sub>, dan B<sub>3</sub>I<sub>3</sub> tidak berbeda nyata dengan perlakuan B<sub>1</sub>I<sub>0</sub>, B<sub>1</sub>I<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>I<sub>0</sub> dan B<sub>3</sub>I<sub>1</sub> kemungkinan pada hasil perlakuan BAP 2,0 ppm dan 2,5 pmm menunjukkan perlakuan pemberian konsentrasi yang baik dibantu dengan adanya penambahan IAA. Menurut Fatmawati dkk, 2006 mengungkapkan bahwa dengan adanya auksin dan sitokinin dalam medium dapat menstimulasi sel-sel jaringan parenkim tembakau untuk membelah. Sitokinin telah diketahui memainkan peranan penting dalam hampir semua aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman termasuk di dalamnya pembelahan sel, inisiasi dan pertumbuhan tunas, serta perkembangan fotomorfogenesis. Fotomorfogenesis adalah dimana perubahan morfologi terutama dalam hal kultur jaringan karena adanya pengaruh cahaya. Eksplan berupa tunas pucuk merupakan eksplan yang paling tinggi persentasenya menghasilkan planlet, terutama jika ditumbuhkan pada media tanpa auksin (Irawati, 2000).

Eksplan yang diinokulasikan pada medium dengan penambahan BAP tanpa IAA dapat menginduksi tunas. Hasil ini terlihat dari perlakuan  $B_1I_0$ ,  $B_2I_0$  dan  $B_3I_0$ , walaupun pada perlakuan  $B_3I_0$  jumlah tunasnya sangat sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin sangat efektif dalam memicu pertumbuhan tunas baik secara langsung maupun tidak langsung. Akan tetapi pada umumnya sitokinin digunakan bersama dengan auksin (George 1989). Hal ini berkaitan dengan fungsi sitokinin yang menurut Kusumo (1984) dalam Maryani Dan Zamroni, (2005) merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pembelahan sel dan morfogenesis. Sedangkan pada eksplan yang diinokulasikan pada medium dengan kombinasi IAA dan BAP mampu menginduksi tunas. Keseimbangan antara auksin dan sitokinin akan menghasilkan organogenesis yang optimal. Konsentrasi auksin ataupun sitokinin yang terlalu tinggi dapat bersifat antagonis dalam pertumbuhan eksplan. Terlihat pada perlakuan  $B_3I_0$  dan  $B_3I_3$  yang jumlah tunasnya menurun. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media kultur jaringan (Pierik, 1987). Keseimbangan antara auksin dan sitokinin mampu mengontrol pembentukan tunas akar dan kalus secara *in vitro* (Ali *et al.*, 2007). Oleh karena itu untuk mendapatkan hasil kultur jaringan tembakau yang optimal diperlukan kombinasi komposisi ZPT berupa hormon auksin dan sitokinin yang tepat (Ali *et al.*, 2007). Pada perlakuan BAP 3,0 ppm dan IAA 0,3 ppm ( $B_3I_3$ ) jumlah tunas berkurang dimungkinkan karena kelebihan konsentrasi ZPT. Hoesen (1996) melaporkan bahwa penambahan sitokinin menginduksi pembentukan tunas secara nyata. Peningkatan jumlah tunas akibat penambahan BAP ternyata berpengaruh buruk pada penampilan tunas yang terbentuk. Ada kemungkinan ini adalah efek buruk dari BAP pada konsentrasi tinggi.

### 4.3.3 Tinggi tunas

Hasil uji analisis ragam menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan konsentrasi IAA dan BAP berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tunas tanaman tembakau. Data perbedaan tinggi tunas pada berbagai kombinasi perlakuan disajikan pada Gambar 4.7



Gambar 4.7 pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan IAA terhadap tinggi tunas

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.7 dapat diketahui bahwa perlakuan BAP dengan konsentrasi 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ) menghasilkan tinggi eksplan tertinggi. Menurut Wetherell (1982) dan Beyl (2000), selain pembelahan sel, sitokinin mampu menstimulasi pertumbuhan tunas dalam kultur *in vitro*. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata tinggi eksplan 5.00. Perlakuan BAP dengan konsentrasi 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm mampu mempercepat pemanjangan tunas. Interaksi dari konsentrasi yang tepat antara perlakuan BAP dan IAA dapat meningkatkan tinggi tunas. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin (termasuk BAP) dan auksin (termasuk IAA) berperan saling melengkapi dalam menginduksi tunas (Maryani dan zamroni, 2005). Tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata dengan  $B_3I_2$  adalah perlakuan BAP 2,0 ppm dan IAA 0,3 ppm ( $B_1I_3$ ) dengan rerata tinggi eksplan 4,93 cm tertinggi kedua setelah perlakuan  $B_3I_2$ . Selanjutnya adalah perlakuan  $B_1I_0$ ,  $B_1I_1$ ,  $B_1I_2$ ,  $B_2I_0$  dan  $B_3I_3$  juga menghasilkan hasil yang



tidak berbeda nyata. Auksin dalam konsentrasi rendah yang dikombinasikan dengan sitokinin dalam konsentrasi tertentu mampu dengan cepat memperpanjang tunas yang telah terbentuk (Anis, 2014).

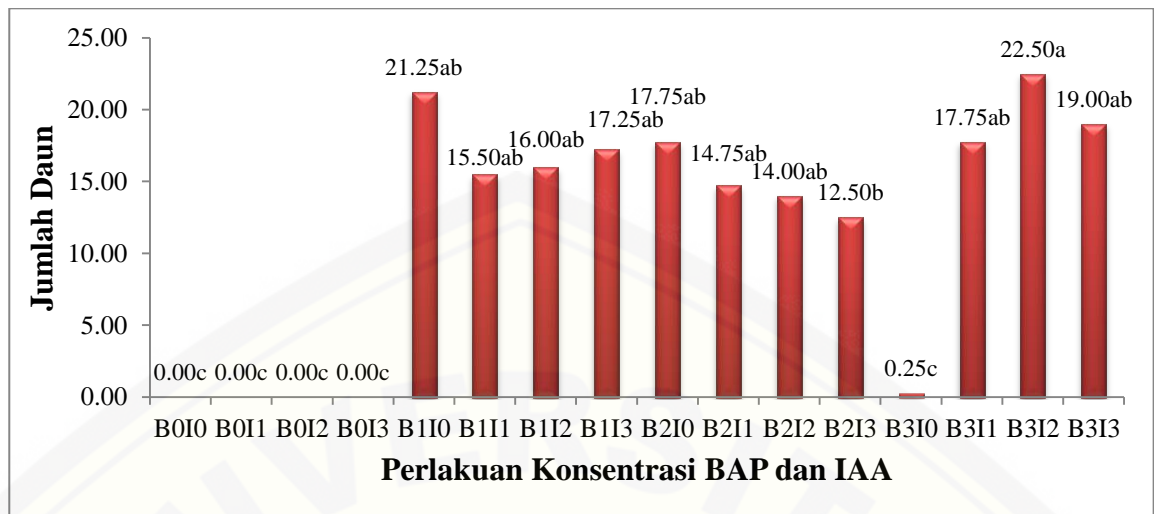
Perlakuan yang menunjukkan tinggi eksplan terkecil adalah  $B_0I_0$ ,  $B_0I_1$ ,  $B_0I_2$ , dan  $B_0I_3$  dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00, tinggi eksplan terkecil kedua yakni pada perlakuan  $B_3I_0$ . Semakin tinggi konsentrasi BAP dan IAA menyebabkan turunnya tinggi tunas contoh pada perlakuan  $B_3I_0$  dan  $B_3I_3$ , terjadi penurunan tinggi tunas. Pada perlakuan BAP tanpa IAA dengan konsentrasi BAP yang tinggi juga menyebabkan penurunan pada tinggi tunas. Tingginya konsentrasi BAP menghambat pemanjangan tunas, karena dengan BAP yang tinggi akan meningkatkan jumlah tunas sehingga pengaruh pemanjangan tunas dihambat oleh pembentukan tunas baru (Arniputri dkk, 2003).

Perlakuan BAP tanpa IAA juga menampakkan adanya tinggi tunas, dalam perlakuan  $B_{1I0}$ ,  $B_{2I0}$ , dan  $B_{3I0}$ . Menurut Gunawan (1992), dalam kultur *in vitro*, ada sel-sel yang dapat tumbuh dan memperbanyak diri tanpa pemberian auksin seperti halnya pada sel-sel tumor. Kemampuan tumbuh dan multiplikasi sel tanpa pemberian auksin, kadang-kadang ditemukan juga dalam kultur yang telah lama dipelihara dan disubkultur beberapa kali. Kemungkinan besar dalam sel-sel tersebut telah terjadi peningkatan level auksin, sehingga tidak memerlukan auksin dari luar.

#### 4.3.4 Jumlah Daun

Pemberian auksin dan sitokinin yang seimbang berpengaruh positif terhadap jumlah daun pada eksplan. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jumlah daun yang terbentuk berbeda sangat nyata, sehingga perlu diuji lanjut menggunakan Uji Duncan 5% dan hasilnya ditunjukkan oleh Gambar 4.8





Gambar 4.8 pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan IAA terhadap tinggi tunas

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dengan IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ) mampu menghasilkan jumlah daun terbanyak. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata tinggi eksplan 22.50. Daun merupakan organ vegetatif, pertumbuhannya dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media. Selain itu daun merupakan organ yang penting dalam pertumbuhan tanaman karena daun sebagai tempat terjadinya fotosintesis, yaitu proses pembentukan karbohidrat dari  $CO_2$  dan  $H_2O$  dengan bantuan sinar matahari. Semakin banyak jumlah daun, mengindikasikan pertumbuhan eksplan yang semakin baik (Acima, 2006).

Jumlah daun terbanyak kedua ditunjukkan pada perlakuan  $B_1I_0$ . Perbandingan konsentrasi sitokinin yang lebih besar dari auksin cenderung memperlihatkan stimulasi pertumbuhan daun. Menurut Wareing dan Philips (1970) dalam Fahria (2012), konsentrasi dari auksin dan sitokinin pada media kultur menunjukkan bahwa hormon-hormon tersebut memiliki peranan penting dalam pembentukan organ. Wetherell (1982) dalam Fahria (2012) menyatakan, secara umum dapat dikatakan bahwa perbandingan sitokinin dan auksin yang tinggi baik untuk pembentukan daun. Gunawan (1992) melaporkan bahwa sitokinin sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.

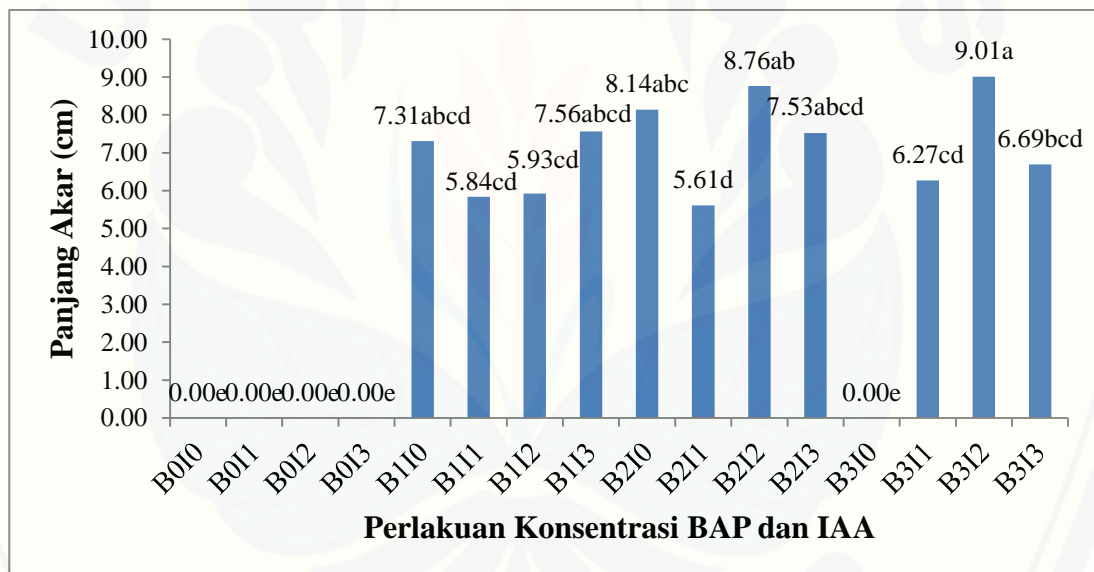
Pengamatan jumlah daun menghasilkan hasil seragam, hasil yang ditunjukkan pada Gambar 4.8 menunjukkan bahwa semua perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata kecuali pada jumlah daun yang terkecil. Perlakuan yang menunjukkan tinggi eksplan terkecil adalah  $B_0I_0$ ,  $B_0I_1$ ,  $B_0I_2$ , dan  $B_0I_3$  dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00, tinggi eksplan terkecil kedua yakni pada perlakuan  $B_3I_0$ . Eksplan dengan zat pengatur tumbuh tanpa BAP tidak menumbuhkan tunas, karena fungsi BAP adalah sebagai pembelahan sel dan menunjang adanya pertumbuhan tunas, sehingga tanpa adanya sitokinin dari luar maupun dari dalam maka, eksplan tidak akan bias tumbuh. Adanya auksin dalam eksplan berfungsi untuk pertumbuhan akar atau kalus, sehingga tidak dapat membantu dalam perkembangan tunas.

Menurut Harminingsih (2007) dengan semakin meningkatnya konsentrasi BAP, semakin menurun jumlah daun yang terbentuk. Hal ini dikarenakan eksplan yang diberi BAP sebagian besar tidak memunculkan akar, sehingga tidak terjadi sintesis sitokinin di ujung akar dan tidak terjadi pengangkutan nutrisi melalui xylem ke seluruh bagian tanaman seperti yang terlihat pada perlakuan dengan BAP 3,0 ppm tanpa IAA ( $B_3I_0$ ) dan BAP 3,0 ppm dengan IAA 0,3 ppm ( $B_3I_3$ ). Menurut Yelnititis *et al.* (1999) penambahan sitokinin dapat mendorong meningkatnya jumlah dan ukuran daun, terlihat pada perlakuan BAP 3,0 ppm ditambah dengan IAA 0,2 ppm. Namun, penyerapan sitokinin dari media dipengaruhi 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).

Selain pertumbuhan panjang akar, auksin dibantu dengan sitokinin juga dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan daun. Daun merupakan salah satu organ tanaman yang sangat penting terutama untuk fotosintesis supaya tanaman dapat menghasilkan makanan dan mengalami pertumbuhan yang optimum. Semakin bertambah jumlah daun, ukuran panjang serta lebar daun maka semakin besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman (Sylvia, 2009).

#### 4.3.5 Panjang Akar

Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Auksin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan untuk induksi akar. Interaksi antara auksin dan sitokinin dalam konsentrasi tertentu dapat menginduksi akar (Fatmawati dkk, 2006). Tanpa sitokinin, eksplan tidak akan memiliki akar karena dalam konsentrasi tinggi, auksin akan menumbuhkan kalus pada eksplan. George (1989) mengemukakan bahwa rasio auksin yang lebih tinggi pada medium akan memicu pertumbuhan kalus dan menginisiasi terbentuknya akar. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa panjang akar yang terbentuk berbeda sangat nyata, sehingga perlu diuji lanjut menggunakan Uji Duncan 5% dan hasilnya ditunjukkan oleh Gambar 4.9



Gambar 4.9 Pengaruh interaksi konsentrasi BAP dan IAA terhadap panjang akar

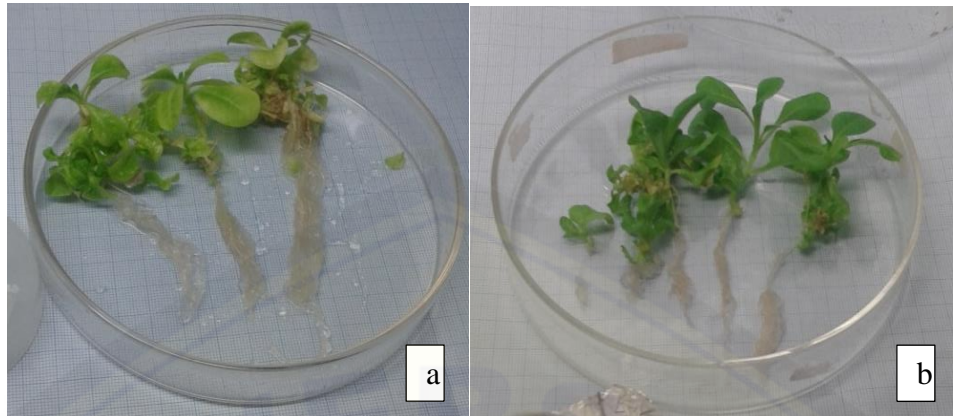
Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.9 dapat diketahui bahwa panjang akar tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm (B<sub>3</sub>I<sub>2</sub>). Tunas berakar hasil perbanyakan embriogenesis somatik, tingkat adaptasinya di lapangan pada saat aklimatisasi lebih tinggi dari pada tunas tidak berakar (Rostiana & Sewita, 2007). Dalam penelitian Arimasetiowati dan Ardiyani (2012) tentang somatic embriogenesis pada kopi auksin jenis IAA pada konsentrasi

0,1 mg/L menghasilkan akar terpanjang. Perlakuan ini menghasilkan rata-rata panjang akar 9.01. Menurut Septiana (2014) auksin berfungsi untuk memacu proses terbentuknya akar serta pertumbuhannya. Jumlah daun yang lebih banyak akan memicu adanya auksin, auksin diproduksi di daun dan ditransfer ke akar melalui xylem. Jumlah daun yang lebih besar akan menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak, karena produksi auksin meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah daun. Pertumbuhan akar ini didahului dengan pertumbuhan tunas aksilar terlebih dahulu (Harlina dkk., 2012).

Perlakuan yang menunjukkan panjang akar terkecil adalah B<sub>0</sub>I<sub>0</sub>, B<sub>0</sub>I<sub>1</sub>, B<sub>0</sub>I<sub>2</sub>, B<sub>0</sub>I<sub>3</sub> dan B<sub>3</sub>I<sub>0</sub> dengan rata-rata tinggi eksplan 0.00. konsentrasi auksin tanpa adanya sitokinin akan dapat meunculkan akar pada eksplan yang sudah berkalus, tetapi jika konsentrasi auksin tinggi akan menyebabkan eksplan menjadi kalus. Pernyataan didukung dengan Armaniar (2002) konsentrasi IAA yang lebih tinggi akan menghasilkan kalus tanp memperhatikan sitokinin.

Husniati (2010) menyatakan bahwa auksin memicu terjadinya pembelahan sel, sehingga diperlukan untuk pembentukan akar. Akan tetapi pada kondisi tertentu auksin juga dapat bersifat meracuni tanaman. Terlihat pada perlakuan dengan konsentrasi auksin IAA 0,3 ppm pada perlakuan B<sub>2</sub>I<sub>3</sub> dan B<sub>3</sub>I<sub>3</sub> jumlah panjang akar turun dari perlakuan IAA 0,2 ppm. Interaksi antara auksin dan sitokinin juga merupakan salah satu cara tumbuhan dalam mengatur derajat pertumbuhan akar dan tunas (Lawalatta, 2011).





Gambar 4.10 Panjang akar; (a) MS + BAP 3,0 ppm + IAA 0,2 ppm; (b) MS+BAP 2,5 ppm+IAA 0,2 ppm

Pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin saja tidak dapat memicu pertumbuhan akar seperti yang terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 3,0 ppm tanpa adanya auksin IAA. Dikarenakan sitokinin hanya dapat memunculkan pertumbuhan tunas. Tanpa adanya hormon endogen pada eksplan maka eksplan yang ditanam tidak dapat memunculkan pertumbuhan akar. Fuchs (1986) dalam Arimasetiowati dan Ardianti (2012) mengatakan bahwa penambahan auksin dengan konsentrasi tertentu tidak selalu meningkatkan pertumbuhan akar tetapi justru dapat menurunkan pertumbuhan akar. Zat pengatur tumbuh BAP mampu menekan pertumbuhan akar. Kemampuan menghambat pertumbuhan akar ini sangat penting dalam penggandaan tunas (Maryani dan zamroni, 2005).



## **BAB 5. PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi konsentrasi BAP dan IAA yang baik adalah perlakuan kombinasi antara BAP 3,0 ppm dan IAA 0,2 ppm ( $B_3I_2$ ) dalam induksi somatik embriogenesis. Hal ini ditunjukkan dari morfologi somatik embriogenesis yang terdapat 4 tahapan yakni tahapan globular, hati, torpedo dan planlet. Pada perlakuan tersebut juga menunjukkan hasil terbaik untuk parameter jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang akar.

### **5.2 Saran**

Berdasarkan penelitian yang saya lakukan proses embrio somatik pada eksplan daun tembakau memiliki tahapan yang cepat sehingga jika ada yang melakukan penelitian tentang somatic embryogenesis diharapkan dapat melakukan pengamatan dengan rutin agar tahapan tidak terlewatkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. dan Soedarmanto. 1986. *Budidaya Tembakau*. Jakarta : CV Yasaguna.
- Acima. 2006. *Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Adenium (Adenium obesum) secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Negeri Surakarta.
- Ali, G., F. Hadi, Z. Ali, M. Tariq, and M. A. Khan. 2007. Callus Induction and *In Vitro* Complete Plant Regeneratio of Different Cultivars Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) on Media of Different Hormonal Concentration. *Biotechnology* 6 (4) : 561-566
- Ammirato PV. *Hand Book of Plant Cell Culture* Evans. In: D. A. *et al.* (Eds.) Macmillan, New York, 1983; 1:82–123
- Anonim. 2008. Harvesting Tobacco Seed. <http://toolmarkingart.com/page/34/>. [12 November 2014]
- Arimasetiowati R., Dan F. Ardiyanti. 2012. Pengaruh Penambahan Auxin terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyak Somatik Embriogenesis. *Pelita Perkebunan* 2: 82-90
- Armaniar. 2002. *Induksi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jati (Tectona grandis L.F) pada Media MS Modifikasi*. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Sumatra Utara.
- Arniputri R.B., Praswanto, D. Pumomo. 2003. Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman Kunir Putih (*Kaempferia rotunda* L.) Secara *In Vitro*. *Agrosains* 5:48-51
- Beyl, C.A. 2000. Getting started with Tissue Culture, Media Preparation, Sterile Technique and Laboratory Equipment, p. 21-38. In R. N. Trigiano and D. J. Gray (Eds.). *Plant Tissue Culture Concept and Laboratory Exercise*. Second Edition. CRC Press. New York.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1989. *Plant Tissue Culture Theory and Practise*. New York : Elsevier.

- Biondi, S. and T.A. Thorpe, 1981. *Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture*. Academic New York. Pres, Inc.,
- Cahyono, 1998. *Tembakau, Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. Yogyakarta : Kanisius.
- Dalmadiyo, G. 2001. *Peranaan dan Tantangan Tembakau Cerutu Besuki*. Malang : Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (Ballittas).
- Dewi K., Masrizal, dan Mugiono. 1998. Regenerasi Tanaman dari beberapa Sumber Eksplan pada Mutan Kacang Tanah. Batan: *Penelitian dan Pengembangan Aplikasi isotop dan Radiasi*.
- Fahriah N.S.L. 2012. *Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh IAA Dan BAP terhadap Regenerasi Anthurium andreanum Linden Tropical secara In Vitro* Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Fatmawati T.A., T. Nurhidayati., N. Jadid. 2006. *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA Dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau Nicotiana tabacum L. Varietas Prancak 95*. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Fuchs. H.W.M. (1986). *Root Regeneration of Rose Plants as Influenced by Applied Auxins. Acta Horticulture 189. Agricultural University. Netherlands: Department of Horticulture*
- Gaj, M. D. 2001. Direct Somatic Embryogenesis as a Rapid and Efficient System for In Vitro Regeneration of Arabidopsis Thaliana. *Plant Cell and Organ Culture* 64: 39-46
- George, E.F. & P.D. Sherrington (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited. England. 284 - 330.
- George, E.F., dan P.D. Sherrington. 1989. *Plant Propagation by Tissue Culture*. England : Exegetics Limited.
- Gill R, Saxena PK. Somatic Embryogenesis in *Nicotiana tabacum* L. Induction by TDZ of Direct Embryo Differentiation from Cultured Leaf Discs. *Plant Cell Rep* 1993; 12:154-9
- Gunawan, I. 2007. *Perlakuan Sterilisasi Eksplan anggrek Kuping Gajah (Bulbophyllum beccarii Rchb.f) dalam Kultur In Vitro*. Tugas Akhir, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Harliana, Weaniati, Muslimin, dan I. N., Suwastika. 2012. Organogenesis Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus Nobilis* LOUR.) Secara *In Vitro* Pada Media MS Dengan Penambahan berbagai Konsentrasi IAA dan BAP. *Jurnal Natural Science* 1(1): 34-42
- Harminingsih, I. 2007. *Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Tunas Anthurium (Anthurium andraeanum Linden) Pada Beberapa Media Dasar Secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Negeri Surakarta.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kasinus.
- Hoesen, D. S. H. 1996. Pembentukan Tunas Kencur secara *In Vitro*. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 3 :21-23
- Husniati, K. 2010. Pengaruh Media Tanam dan Konsentrasi Auksin terhadap Pertumbuhan Stek Basal Daun Mahkota Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) cv. Queen. *Sripsi*. Program Studi Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Irawati, 2000. Diferensiasi Berbagai Macam Eksplan pada Perbanyakan *Philodendron goeldii* secara *In Vitro*. *Berita Biologi* 5 (1) :69-75.
- Jafari, N., R. Y. Othman, dan N. Khalid. 2011. Effect of Benzylaminopurine (BAP) Pulsing on *In Vitro* Shoot Multiplication of Banana (*Musa acuminata*) Cultivar. *Berangan. African Biotechnology* 10(13) : 2446-2450.
- Karsinah, R. Triaminingsih, dan Sunyoto. 1995. Kultur Hipokotil, Kotiledon dan Cincin Kotil pada Tanaman Durian secara *In Vitro*. *Penelitian Hortikultura* 7(2) : 10-16.
- Lawalata I. J. 2011. Pemberian Beberapa Kombinasi ZPT terhadap Regenerasi Tanaman Gloxinia (*Sinningia speciosa*) dari Eksplan Batang dan Daun Secara *In Vitro*. *Exp. Life Sci*. 1 (2): 56-110.
- Lelu, M.A., K.K. Klimaszewska, C. Jones, C. Ward, P. Van Aderkas, and P.J. Charest. 1993. *A Laboratory Guide to Somatic Embryogenesis in Spruce*



- and Larch. Canada: Information Report Petawawa National Forestry Institute.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Agrobiogen* 7(1):63-68.
- Madhulatha P, Anbalagan M, Jayachandran S, Sakthivel N. 2004. Influence of Liquid Pulse Treatment with Growth Regulators on *In Vitro* Propagation Of Banana (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell Tissue Organ Cult* 76: 189-192.
- Marlina, N. 2004. Teknik Modifikasi Media Murashige dan Skoog (MS) untuk Konservasi *In Vitro*. *Teknik Pertanian* 9 (1): 4-6.
- Maryani Dan Zamroni, 2005 Maryani. Penggandaan Tunas Krisan Melalui Kultur Jaringan. *Ilmu Pertanian* 12 : 51-55
- Matnawi, H. 1997. *Budidaya Tembakau Bawah Naungan*. Yogyakarta : Kasinus.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1997. *Plant Propagation Through Tissue Cultures*. Annual Review of Plant Physiology.
- Murni, P. 2010. Embriogenesis Somatik pada Kultur *In Vitro* Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* var. Robusta chev.). *Biospecies* 2 (2) : 22-26
- Nisak, K., Tutik Nurhidayati, dan Kristanti I.Purwani. (2012). Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* varietas Prancak 95. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* 1(1) : 1-6.
- Nursetiadi, E. 2008. *Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (Garcinia mangostana L.) secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Pangesti, Nugrahani., Sukendah, dan Makziah. 2011. *Regenerasi eksplan melalui organogenesis dan embriogenesis somatik*. Modul Dasar Bioteknologi Tanaman, Universitas Pembangunan Negara Veteran Jawa Timur.
- Pathi, K. M., S. Tula., dan N. Tuteja. 2013. High Frequency Regeneration Via Direct Somatic Embryogenesis and Efficient Agrobacterium- Mediated Genetic Transformation Of Tobacco. *Plant Signaling & Behavior* 8(6) : 1-8



- Peirik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher plant*. Martinus Nijhoff Publish boston. Pp : 183-230
- Peirik, R.L.M. 1971. *Plant Tissue Culture as Motivation for The Symposium*. Wageningen : Vennman dan Zonen.
- Rai, V.R. and J. McComb. 2002. Direct Somatic Embryogenesis from Mature Embryos of Sandalwood. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 69: 65-70.
- Rostiana, O. & 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. *Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik* 17: 39-48.
- Sylvia, I. 2009. *Pengaruh IBA Dan NAA terhadap Stek Aglonema Var. Donna Carmen dengan Perendaman*. Skripsi. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Simth, R.H. 1992. *Plant Tissue Culture*. New York : Academic Press Inc.
- Stolarz, A., J. Macewicz, H. Lorz. 1991. Direct Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Leaf Explants of *Nicotiana tabacum* L. *Plant Physiol* 137:347- 357
- Sukmadjaja, D. 2005. Embriogenesis Somatik Langsung pada Tanaman Cendana. *Bioteknologi Pertanian* 10(1) : 1-6
- Suyadi, A., Purwantoro, A. dan Trisnowati, S. 2003. Pengadaan Tunas Abaca Melalui Kultur Meristem. *Ilmu Pertanian* 10 (2) : 11 – 16.
- Taryono. 2012. *Pengantar Bioteknologi Tanaman*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada
- Tohir, K.A., 1983. *Teknik Kultur Jaringan Kentang*. Jakarta: Pradnya Paramitha.
- Toonen, M.A.J. & S.C. de Vries (1996). Initiation of Somatic Embryos from Single Cells. *Bios Scientific Publishers Limited. Oxford*.p. 173-177.
- Toruan M.N., dan Sumaryono. 1994. Pemanfaatan Teknologi Benih Sintetik untuk Perbanyakkan Klonal secara Massal. *Biotek perkebunan* 1 (1) : 10-16
- Waloyaningsih, D. 2004. *Pengaruh konsentrasi IAA dan BAP pada medium MS terhadap tingkat multiplikasi tunas Bawang Putih (Allium sativum*

*L)secara in vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Negeri Surakarta.

Wattimena, G.A, dkk. 1992. *Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Wetherell, D.F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro* (diterjemahkan dari : Introduction to *In Vitro* Propagation, penerjemah : Koensoemardiyah dan D. Gunawan). IKIP Semarang Press. Semarang

Winata, L. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor : Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.

Windasari, A. 2004. *Pengaruh Kombinasi Auksin dan Sitokinin pada Perbanyakan Tanaman Krisan Pot (Chrysanthemum morifolium) Varietas Delano Red secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.

Yelnititis, N., Bermawie, dan Syafaruddin, 1999. Perbanyakan Klon Lada Varietas Panniyur secara *In Vitro*. *Penelitian Tanaman Industri* 5(3) : 109-114.

Yuliarti, N.,2010. *Kultur Jaringan Tanaman Sekala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.

Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta : Bumi Aksara

LAMPIRAN

1. Lampiran Data Pengamatan

a. Jumlah Daun Minggu Ke-8

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I0	30.00	17.00	18.00	20.00	85.00	21.25
B1I1	8.00	25.00	22.00	7.00	62.00	15.50
B1I2	25.00	12.00	15.00	12.00	64.00	16.00
B1I3	15.00	13.00	23.00	18.00	69.00	17.25
B2I0	18.00	23.00	18.00	12.00	71.00	17.75
B2I1	18.00	14.00	13.00	14.00	59.00	14.75
B2I2	7.00	18.00	13.00	18.00	56.00	14.00
B2I3	15.00	8.00	17.00	10.00	50.00	12.50
B3I0	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.25
B3I1	32.00	18.00	2.00	19.00	71.00	17.75
B3I2	20.00	29.00	21.00	20.00	90.00	22.50
B3I3	10.00	29.00	17.00	20.00	76.00	19.00
Jumlah	198.00	206.00	180.00	170.00	754.00	
Rata-rata	12.38	12.88	11.25	10.63		11.78

b. Sidik Ragam Jumlah Daun Minggu Ke-8

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	4367.44	291.16	9.67 **	1.88	2.44
B	3.00	3038.19	1012.73	33.63 **	2.80	4.22
I	3.00	94.31	31.44	1.04 <sup>ns</sup>	2.80	4.22
B X I	9.00	1234.94	137.22	4.56 **	2.08	2.80
Galat	48.00	1445.50	30.11			
Total	63.00	5812.94		KK	46.58	

**c. Uji Beda Nyata Duncan Jumlah Daun Minggu Ke-8**

Perlakuan	Rata-Rata	B3I2	B1I0	B3I3	B3I1	B2I0	B1I3	B1I2	B1I1	B2I1	B2I2	B2I3	B3I0	B0I0	B0I1	B0I2	B0I3	Notasi
		22.50	21.25	19.00	17.75	17.75	17.25	16.00	15.50	14.75	14.00	12.50	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	
B3I2	22.50	0.00																a
B1I0	21.25	1.25	0.00															ab
B3I3	19.00	3.50	2.25	0.00														ab
B3I1	17.75	4.75	3.50	1.25	0.00													ab
B2I0	17.75	4.75	3.50	1.25	0.00	0.00												ab
B1I3	17.25	5.25	4.00	1.75	0.50	0.50	0.00											ab
B1I2	16.00	6.50	5.25	3.00	1.75	1.75	1.25	0.00										ab
B1I1	15.50	7.00	5.75	3.50	2.25	2.25	1.75	0.50	0.00									ab
B2I1	14.75	7.75	6.50	4.25	3.00	3.00	2.50	1.25	0.75	0.00								ab
B2I2	14.00	8.50	7.25	5.00	3.75	3.75	3.25	2.00	1.50	0.75	0.00							ab
B2I3	12.50	10.00	8.75	6.50	5.25	5.25	4.75	3.50	3.00	2.25	1.50	0.00						b
B3I0	0.25	22.25	21.00	18.75	17.50	17.50	17.00	15.75	15.25	14.50	13.75	12.25	0.00					c
B0I0	0.00	22.50	21.25	19.00	17.75	17.75	17.25	16.00	15.50	14.75	14.00	12.50	0.25	0.00				c
B0I1	0.00	22.50	21.25	19.00	17.75	17.75	17.25	16.00	15.50	14.75	14.00	12.50	0.25	0.00	0.00			c
B0I2	0.00	22.50	21.25	19.00	17.75	17.75	17.25	16.00	15.50	14.75	14.00	12.50	0.25	0.00	0.00	0.00		c
B0I3	0.00	22.50	21.25	19.00	17.75	17.75	17.25	16.00	15.50	14.75	14.00	12.50	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	c
P		17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
Pr		3.45	3.44	3.42	3.43	3.40	3.40	3.36	3.37	3.35	3.32	3.29	3.25	3.20	3.12	3.04	2.89	
UJD 5%		9.45	9.44	9.39	9.41	9.32	9.33	9.23	9.25	9.19	9.11	9.03	8.92	8.78	8.56	8.34	7.93	

**d. Data Pengamatan Berat Eksplan Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	1	2	3	4	10.00	2.50
B0I1	1.27	0.89	1.97	2.41	6.54	1.64
B0I2	1.46	1.59	1.45	1.59	6.09	1.52
B0I3	2.44	2.36	1.42	0.38	6.60	1.65
B1I0	1.62	0.85	1.61	1.35	5.43	1.36
B1I1	1.59	1.51	2.34	2.11	7.55	1.89
B1I2	2.49	2.46	0.81	2.18	7.94	1.99
B1I3	2.2	2.11	1.69	3.95	9.95	2.49
B2I0	2.32	1.74	2.24	2.32	8.62	2.16
B2I1	1.55	2.2	5.37	1.2	10.32	2.58
B2I2	2.97	1.88	2.34	1.05	8.24	2.06
B2I3	2.37	2.57	2.89	2.28	10.11	2.53
B3I0	1.42	0.37	2.19	1.36	5.34	1.34
B3I1	3.29	1.94	2.34	2.92	10.49	2.62
B3I2	1.75	1.81	1.72	1.96	7.24	1.81
B3I3	1.87	1.52	1.57	1.79	6.75	1.69
Jumlah	31.61	27.80	34.95	32.85	127.21	
Rata-rata	1.98	1.74	2.18	2.05		1.99

**e. Sidik Ragam Berat Eksplan Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	12.00	0.80	0.91 ns	1.88	2.44
B	3.00	2.60	0.87	0.98 ns	2.80	4.22
I	3.00	1.45	0.48	0.55 ns	2.80	4.22
B X I	9.00	7.95	0.88	1.00 ns	2.08	2.80
Galat	48.00	31.16	0.65			
Total	63.00	43.17		KK	40.54	



**f. Data Pengamatan Jumlah Tunas Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I0	6.00	4.00	3.00	4.00	17.00	4.25
B1I1	4.00	4.00	4.00	4.00	16.00	4.00
B1I2	4.00	0.00	4.00	5.00	13.00	3.25
B1I3	4.00	3.00	4.00	4.00	15.00	3.75
B2I0	5.00	4.00	3.00	5.00	17.00	4.25
B2I1	4.00	3.00	3.00	3.00	13.00	3.25
B2I2	3.00	4.00	4.00	4.00	15.00	3.75
B2I3	3.00	4.00	3.00	3.00	13.00	3.25
B3I0	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.25
B3I1	7.00	3.00	6.00	2.00	18.00	4.50
B3I2	4.00	6.00	7.00	5.00	22.00	5.50
B3I3	2.00	5.00	4.00	3.00	14.00	3.50
Jumlah	46.00	40.00	46.00	42.00	174.00	
Rata-rata	2.88	2.50	2.88	2.63		2.72

**g. Sidik Ragam Jumlah Tunas Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	225.94	15.06	13.64 **	1.88	2.44
B	3.00	158.81	52.94	47.94 **	2.80	4.22
I	3.00	8.06	2.69	2.43 ns	2.80	4.22
B X I	9.00	59.06	6.56	5.94 **	2.08	2.80
Galat	48.00	53.00	1.10			
Total	63.00	278.94		KK	38.65	

**h. Uji Beda Nyata Duncan Jumlah Tunas Minggu Ke-8**

Perlakuan	Rata-Rata	B3I2	B3I1	B2I0	B3I1	B1I1	B1I3	B2I2	B3I3	B1I2	B2I1	B2I3	B3I0	B3I0	B0I1	B0I2	B0I3	Notasi
		5.50	4.50	4.25	4.25	4.00	3.75	3.75	3.50	3.25	3.25	3.25	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	
B3I2	5.50	0.00																a
B3I1	4.50	1.00	0.00															ab
B2I0	4.25	1.25	0.25	0.00														ab
B1I0	4.25	1.25	0.25	0.00	0.00													ab
B1I1	4.00	1.50	0.50	0.25	0.25	0.00												ab
B1I3	3.75	1.75	0.75	0.50	0.50	0.25	0.00											b
B2I2	3.75	1.75	0.75	0.50	0.50	0.25	0.00	0.00										b
B3I3	3.50	2.00	1.00	0.75	0.75	0.50	0.25	0.25	0.00									b
B1I2	3.25	2.25	1.25	1.00	1.00	0.75	0.50	0.50	0.25	0.00								b
B2I1	3.25	2.25	1.25	1.00	1.00	0.75	0.50	0.50	0.25	0.00	0.00							b
B2I3	3.25	2.25	1.25	1.00	1.00	0.75	0.50	0.50	0.25	0.00	0.00	0.00						b
B3I0	0.25	5.25	4.25	4.00	4.00	3.75	3.50	3.50	3.25	3.00	3.00	3.00	0.00					c
B0I0	0.00	5.50	4.50	4.25	4.25	4.00	3.75	3.75	3.50	3.25	3.25	3.25	0.25	0.00				c
B0I1	0.00	5.50	4.50	4.25	4.25	4.00	3.75	3.75	3.50	3.25	3.25	3.25	0.25	0.00	0.00			c
B0I2	0.00	5.50	4.50	4.25	4.25	4.00	3.75	3.75	3.50	3.25	3.25	3.25	0.25	0.00	0.00	0.00		c
B0I3	0.00	5.50	4.50	4.25	4.25	4.00	3.75	3.75	3.50	3.25	3.25	3.25	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	c
P		17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
Pr		3.45	3.44	3.42	3.43	3.40	3.40	3.36	3.37	3.35	3.32	3.29	3.25	3.20	3.12	3.04	2.89	
UJD 5%		1.81	1.81	1.80	1.80	1.79	1.79	1.77	1.77	1.76	1.74	1.73	1.71	1.68	1.64	1.60	1.52	

**i. Data Pengamatan Panjang akar Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I0	8.17	5.00	8.33	7.75	29.25	7.31
B1I1	5.30	6.00	5.70	6.35	23.35	5.84
B1I2	6.53	3.63	4.80	8.75	23.71	5.93
B1I3	8.00	5.50	8.60	8.15	30.25	7.56
B2I0	9.25	6.20	6.27	10.83	32.55	8.14
B2I1	5.25	5.60	5.60	6.00	22.45	5.61
B2I2	11.25	6.80	7.45	9.55	35.05	8.76
B2I3	9.75	7.95	7.40	5.00	30.10	7.53
B3I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B3I1	5.97	5.17	7.10	6.83	25.07	6.27
B3I2	10.15	11.47	7.00	7.40	36.02	9.01
B3I3	5.60	5.17	7.75	8.25	26.77	6.69
Jumlah	85.22	68.49	76.00	84.86	314.57	
Rata-rata	5.33	4.28	4.75	5.30		4.92

**j. Sidik Ragam Panjang Akar Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	758.49	50.57	26.41**	1.88	2.44
B	3.00	548.24	182.75	95.44**	2.80	4.22
I	3.00	42.27	14.09	7.36**	2.80	4.22
B X I	9.00	167.98	18.66	9.75**	2.08	2.80
Galat	48.00	91.91	1.91			
Total	63.00	850.40		KK	28.15	

**k. Uji Beda Nyata Duncan Panjang Akar Minggu Ke-8**

Perlakuan	Rata-Rata	B3I2	B2I2	B2I0	B1I3	B2I3	B1I0	B3I3	B3I1	B1I2	B1I1	B2I1	B3I0	B0I0	B0I1	B0I2	B0I3	Notasi
		9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
B3I2	9.01	0.00																a
B2I2	8.76	0.25	0.00															ab
B2I0	8.14	0.87	0.62	0.00														abc
B1I3	7.56	1.45	1.20	0.58	0.00													abcd
B2I3	7.53	1.48	1.23	0.61	0.03	0.00												abcd
B1I0	7.31	1.70	1.45	0.83	0.25	0.22	0.00											abcd
B3I3	6.69	2.32	2.07	1.45	0.87	0.84	0.62	0.00										bcd
B3I1	6.27	2.74	2.49	1.87	1.29	1.26	1.04	0.42	0.00									cd
B1I2	5.93	3.08	2.83	2.21	1.63	1.60	1.38	0.76	0.34	0.00								cd
B1I1	5.84	3.17	2.92	2.30	1.72	1.69	1.47	0.85	0.43	0.09	0.00							cd
B2I1	5.61	3.40	3.15	2.53	1.95	1.92	1.70	1.08	0.66	0.32	0.23	0.00						d
B3I0	0.00	9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00					e
B0I0	0.00	9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00	0.00				e
B0I1	0.00	9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00	0.00	0.00			e
B0I2	0.00	9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00	0.00	0.00	0.00		e
B0I3	0.00	9.01	8.76	8.14	7.56	7.53	7.31	6.69	6.27	5.93	5.84	5.61	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	e
P		17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
Pr		3.45	3.44	3.42	3.43	3.40	3.40	3.36	3.37	3.35	3.32	3.29	3.25	3.20	3.12	3.04	2.89	
UJD 5%		2.38	2.38	2.37	2.37	2.35	2.35	2.33	2.33	2.32	2.30	2.28	2.25	2.21	2.16	2.10	2.00	

**I. Data Pengamatan Presentase Terbentuknya Kalus Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	3.00	0.00	0.00	0.00	3.00	0.75
B0I1	0.00	0.67	0.00	0.00	0.67	0.17
B0I2	0.00	0.00	0.67	0.33	1.00	0.25
B0I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B2I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B2I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B2I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B2I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B3I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B3I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B3I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B3I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Jumlah	3.00	0.67	0.67	0.33	4.67	
Rata-rata	0.19	0.04	0.04	0.02		0.07

**m. Sidik Ragam Presentase Terbentuknya Kalus Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	2.27	0.15	0.98 ns	1.88	2.44
B	3.00	1.02	0.34	2.21 ns	2.80	4.22
I	3.00	0.31	0.10	0.68 ns	2.80	4.22
B X I	9.00	0.94	0.10	0.68 ns	2.08	2.80
Galat	48.00	7.39	0.15			
Total	63.00	9.66		kk	537.79	



**n. Data Transformasi Presentase Terbentuknya Kalus Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	1.87	0.71	0.71	0.71	3.99	1.00
B0I1	0.71	1.08	0.71	0.71	3.20	0.80
B0I2	0.71	0.71	1.08	0.91	3.41	0.85
B0I3	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B1I0	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B1I1	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B1I2	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B1I3	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B2I0	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B2I1	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B2I2	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B2I3	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B3I0	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B3I1	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B3I2	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
B3I3	0.71	0.71	0.71	0.71	2.83	0.71
Jumlah	12.48	11.69	11.69	11.52	47.37	
Rata-rata	0.78	0.73	0.73	0.72		0.74

**o. Sidik Ragam Presentase Terbentuknya Kalus Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	0.39	0.03	0.17 ns	1.88	2.44
B	3.00	0.21	0.07	0.45 ns	2.80	4.22
I	3.00	0.04	0.01	0.10 ns	2.80	4.22
B X I	9.00	0.13	0.01	0.10 ns	2.08	2.80
Galat	48.00	1.22	0.03			
Total	63.00	1.61		KK	21.53	

**p. Data Pengamatan Tinggi Tunas Minggu Ke-8**

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
B0I0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B0I3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B1I0	5.50	5.00	3.80	5.00	19.30	4.83
B1I1	4.50	4.80	5.40	2.00	16.70	4.18
B1I2	5.00	2.20	5.00	4.80	17.00	4.25
B1I3	4.80	5.20	5.00	4.70	19.70	4.93
B2I0	5.00	4.80	5.00	4.00	18.80	4.70
B2I1	4.00	3.70	3.90	3.60	15.20	3.80
B2I2	2.50	3.50	4.10	4.80	14.90	3.73
B2I3	3.50	2.80	3.20	2.90	12.40	3.10
B3I0	1.50	1.80	2.00	0.80	6.10	1.53
B3I1	5.00	4.80	3.80	4.70	18.30	4.58
B3I2	4.80	5.20	4.90	5.10	20.00	5.00
B3I3	3.00	5.50	5.50	4.90	18.90	4.73
Jumlah	49.10	49.30	51.60	47.30	197.30	
Rata-rata	3.07	3.08	3.23	2.96		3.08

**q. Sidik Ragam Tinggi Tunas Minggu Ke-8**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	15.00	246.27	16.42	32.86 **	1.88	2.44
B	3.00	207.38	69.13	138.35 **	2.80	4.22
I	3.00	2.28	0.76	1.52 ns	2.80	4.22
B X I	9.00	36.61	4.07	8.14 **	2.08	2.80
Galat	48.00	23.98	0.50			
Total	63.00	270.25		KK	22.93	

**r. Uji Beda Nyata Duncan Tinggi Tunas Minggu Ke-8**

Perlakuan	Rata-Rata	B3I2	B1I3	B1I0	B3I3	B2I0	B3I1	B1I2	B1I1	B2I1	B2I2	B2I3	B3I0	B0I0	B0I1	B0I2	B0I3	Notasi
		5.00	4.93	4.83	4.73	4.70	4.58	4.25	4.18	3.80	3.73	3.10	1.53	0.00	0.00	0.00	0.00	
B3I2	5.00	0.00																a
B1I3	4.93	0.07	0.00															a
B1I0	4.83	0.17	0.10	0.00														ab
B3I3	4.73	0.27	0.20	0.10	0.00													ab
B2I0	4.7	0.30	0.23	0.13	0.03	0.00												ab
B3I1	4.58	0.42	0.35	0.25	0.15	0.12	0.00											ab
B1I2	4.25	0.75	0.68	0.58	0.48	0.45	0.33	0.00										abc
B1I1	4.18	0.82	0.75	0.65	0.55	0.52	0.40	0.07	0.00									abc
B2I1	3.8	1.20	1.13	1.03	0.93	0.90	0.78	0.45	0.38	0.00								bc
B2I2	3.73	1.27	1.20	1.10	1.00	0.97	0.85	0.52	0.45	0.07	0.00							bc
B2I3	3.1	1.90	1.83	1.73	1.63	1.60	1.48	1.15	1.08	0.70	0.63	0.00						c
B3I0	1.53	3.47	3.40	3.30	3.20	3.17	3.05	2.72	2.65	2.27	2.20	1.57	0.00					d
B0I0	0.00	5.00	4.93	4.83	4.73	4.70	4.58	4.25	4.18	3.80	3.73	3.10	1.53	0.00				f
B0I1	0.00	5.00	4.93	4.83	4.73	4.70	4.58	4.25	4.18	3.80	3.73	3.10	1.53	0.00	0.00			f
B0I2	0.00	5.00	4.93	4.83	4.73	4.70	4.58	4.25	4.18	3.80	3.73	3.10	1.53	0.00	0.00	0.00		f
B0I3	0.00	5.00	4.93	4.83	4.73	4.70	4.58	4.25	4.18	3.80	3.73	3.10	1.53	0.00	0.00	0.00	0.00	f
P		17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
Pr		3.45	3.44	3.42	3.43	3.40	3.40	3.36	3.37	3.35	3.32	3.29	3.25	3.20	3.12	3.04	2.89	
UJD 5%		1.22	1.22	1.21	1.21	1.20	1.20	1.19	1.19	1.18	1.17	1.16	1.15	1.13	1.10	1.07	1.02	

2. Lampiran Foto Kegiatan Penelitian



Larutan stok MS dan ZPT



Membuat media



Menimbang berat awal sebelum tanam



Benih tembakau yang telah ditanam

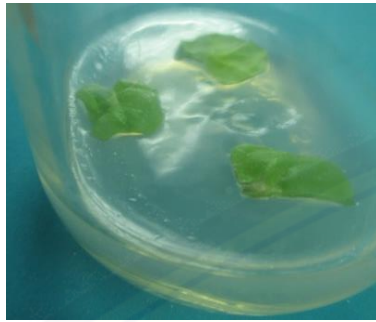


Hasil kecambah benih tembakau

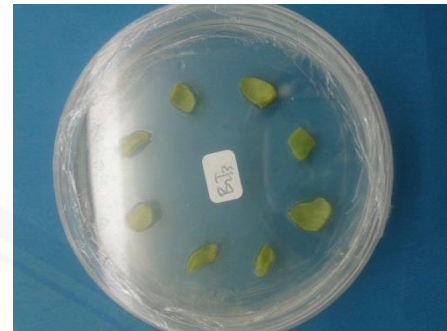


Penanaman daun tembakau

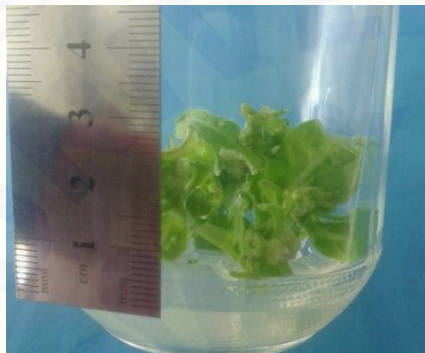




Daun muda yang baru ditanam



Daun untuk pengamatan



Pengamatan inggi tunas



Pengamatan panjang akar