


**PENGARUH KONSENTRASI AIR KELAPA, IAA
DAN GA₃ PADA PROPAGASI EKSPLAN
DAUN BIT GULA (*Beta vulgaris* L.)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana
Jurusan Budidaya Pertanian
pada Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

NANING RATNANINGTYAS

NIM. 961510101106

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
NOPEMBER, 2000**

MILIK PERPUSTAKA

UNIVERSITAS JEMBER

S

Asal	Tridiah	Klasifikasi
Tridiah	Im. Rev.	633.6
	10233439	RAT
		7

**PENGARUH KONSENTRASI AIR KELAPA, IAA DAN GA₃ PADA
PROPAGASI EKSPLAN DAUN BIT GULA
(*Beta vulgaris* L.)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana
Jurusan Budidaya Pertanian
Pada Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

NANING RATNANINGTYAS

NIM. 961510101106

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
NOPEMBER, 2000**

Diterima oleh Fakultas Pertanian

Universitas Jember sebagai :

Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Jum'at

Tanggal : 03 Nopember 2000

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

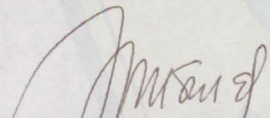
TIM PENGUJI

KETUA

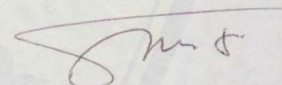
Ir. SOETILAH HS., MS.

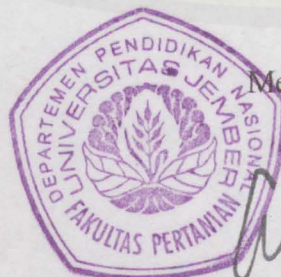
NIP.130 531 988

ANGGOTA I


Ir. MISWAR, MSi.
NIP.131 880 473

ANGGOTA II


Ir. SLAMETO
NIP. 131 658 010



Mengesahkan,

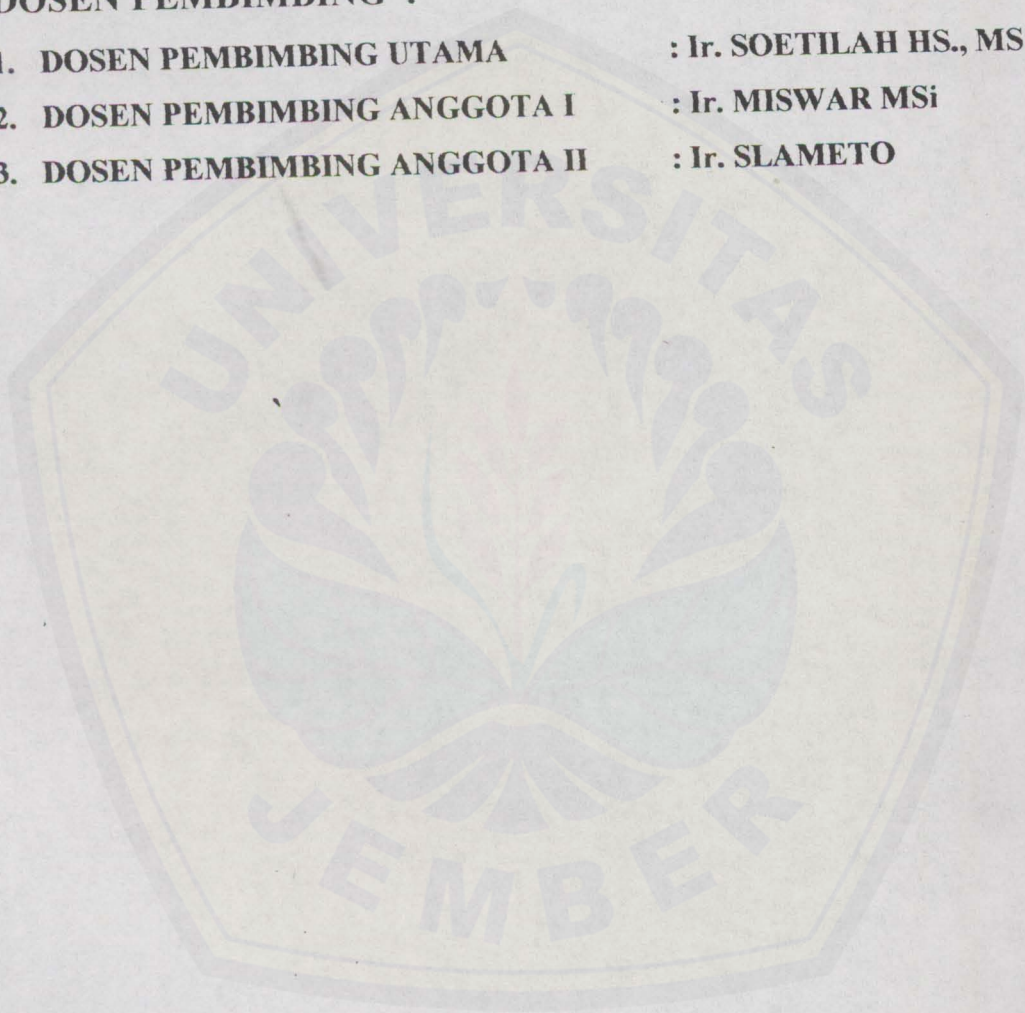
DEKAN

Ir. Hj. ARIE MUDJIHARJATI, MS.

NIP. 130 609 808

DOSEN PEMBIMBING :

1. **DOSEN PEMBIMBING UTAMA** : Ir. SOETILAH HS., MS
2. **DOSEN PEMBIMBING ANGGOTA I** : Ir. MISWAR MSi
3. **DOSEN PEMBIMBING ANGGOTA II** : Ir. SLAMETO



MOTTO

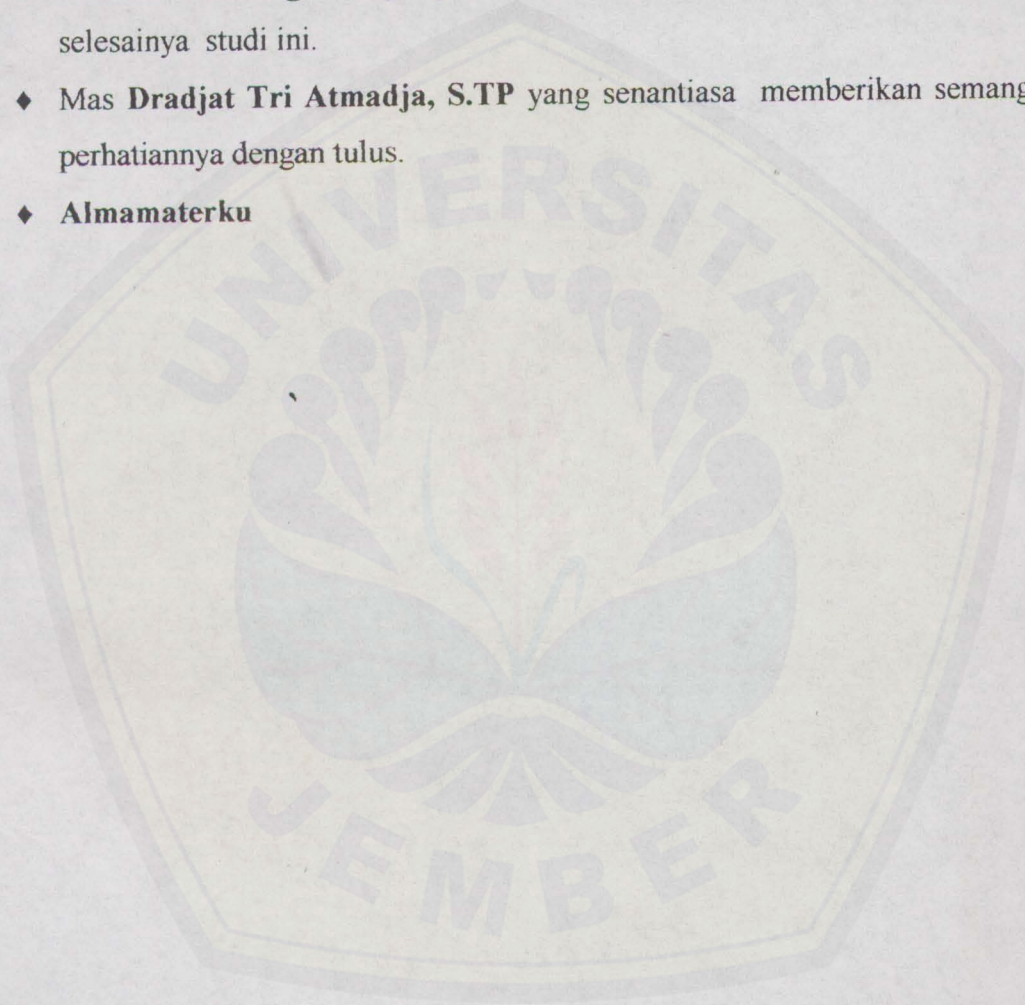
- ❖ Jadikanlah sabar sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar (QS : Al Baqarah : 153).

- ❖ Dan Dia telah memberikan kepadamu (keperluanmu) dari segala apa yang kamu mohonkan kepada-Nya. Dan jika kamu menghitung ni'mat Allah, tidaklah dapat kamu menghinggakannya (QS : Ibrahim : 34).

Digital Repository Universitas Jember

Karya Ilmiah Tertulis ini Kupersembahkan Kepada :

- ◆ Ayahanda **Bunyanun Marsus** dan Ibunda **Mindarsih** yang tidak pernah berhenti mendoakan dan merestui ananda untuk selalu maju dan berprestasi. Semoga nanda sempat membalasnya.
- ◆ Adikku **Mohammad Hasbi Alghomsah** atas dorongan dan pengorbanannya.
- ◆ **Seluruh keluargaku** yang senantiasa memberikan motivasinya hingga selesainya studi ini.
- ◆ Mas **Dradjat Tri Atmadja, S.TP** yang senantiasa memberikan semangat dan perhatiannya dengan tulus.
- ◆ **Almamaterku**



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis yang berjudul : **Pengaruh Air Kelapa, IAA dan GA3 pada Propagasi Eksplan Daun Bit Gula (*Beta vulgaris L.*)**. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada beberapa pihak atas kesempatan, bantuan, pengarahan, bimbingan dan saran yang telah diberikannya.

1. Ir. Hj. Arie Mudjiharjati, MS. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember
2. Dr. Ir. M. Setyo Poerwoko, MS. selaku Ketua Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Jember
3. Ir. Soetilah Hardjosudarmo, MS. selaku Dosen Pembimbing Utama
4. Ir. Miswar, MSi selaku Dosen Pembimbing Anggota I
5. Ir. Slameto selaku Dosen Pembimbing Anggota II
6. Seluruh dosen dan segenap staf Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Jember.
7. Mas Dradjat Tri Atmadja, S.TP semoga harapan dan cita-cita kita tercapai.
8. Mbak Netty Ermawati SP.
9. Sobat-sobatku Diah, Latifah, Lia, Iska, Nine, Eka, Marti, Rini, mbak Yetti dan Dwi.
10. Teman-temanku di Kalimantan VIII/18 A
11. Rekan-rekan angkatan '96 dan team Tissue Culture Fauzi, Luluk, Novi dan Izza.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.

Penulis sadar akan masih banyaknya kekurangan dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini, meski demikian penulis berharap semoga karya ini dapat memberikan tambahan pengetahuan dan manfaat bagi kita semua.

Jember, Nopember 2000

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
RINGKASAN	xi
I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kegunaan Penelitian	3
II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Bit Gula	4
2.2 Teknik Kultur Jaringan	4
2.3 Faktor Pendukung Keberhasilan Kultur Jaringan	5
2.4 Zat Pengatur Tumbuh IAA	6
2.5 Zat Pengatur Tumbuh Giberelin	7
2.6 Air Kelapa	8
2.7 Hipotesis	8
III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	9
3.2 Bahan dan Alat	9
3.3 Metode Penelitian	9
3.4 Pelaksanaan Percobaan	10
3.4.1 Persiapan Alat	10
3.4.2 Pembuatan Media	11
3.4.3 Sterilisasi Eksplan	11

3.4.4 Penanaman Eksplan	11
3.4.5 Pemeliharaan Kultur	12
3.5 Parameter Pengamatan	12
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kedinian Terbentuknya Kalus (Hari).....	13
4.2 Kedinian Terbentuknya Akar (Hari).....	15
4.3 Jumlah Akar yang Terbentuk.....	17
4.4 Panjang Akar (cm).....	18
4.5 Berat Basah Biomassa (gram).....	20
4.6 Berat Kering Biomassa (gram)	21
4.7 Persentase Terbentuknya Kalus	21
V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	22
5.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Rangkuman Sidik Ragam pada Semua Parameter	13
2.	Rata-rata Kedinian terbentuknya Kalus (Hari) pada Faktor Macam dan Konsentrasi ZPT	14
3.	Rata-rata Kedinian Terbentuknya Akar (Hari) pada Ketiga Faktor Perlakuan	15
4.	Rata-rata Jumlah Akar yang Terbentuk pada Interaksi Ketiga Faktor Perlakuan	17
5.	Rata-rata Panjang Akar (cm) pada Ketiga Faktor Perlakuan	19
6.	Rata-rata Berat Basah (g) pada Faktor Macam dan Konsentrasi ZPT	20
7.	Rata-rata Berat Kering (g) pada Faktor jenis ZPT	21

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
1.	Komposisi Media De-Greff and Jacobs	26
2.	Hasil Pengamatan Kedinian terbentuknya Kalus (Hari)	27
3.	Sidik Ragam Kedinian Terbentuknya Kalus (Hari)	27
4.	Hasil Pengamatan Kedinian Terbentuknya Akar (Hari)	28
	A. Data Asli Kedinian Terbentuknya Akar (Hari).....	28
	B. Data Hasil Transformasi dengan Rumus $\sqrt{A+ 0,5}$ pada Kedinian Terbentuknya Akar.....	28
5.	Sidik Ragam Kedinian Terbentuknya Akar (Hari)	29
6.	Hasil pengamatan Jumlah Akar yang Terbentuk	29
	A. Data Asli Jumlah Akar yang Terbentuk.....	29
	B. Data Hasil Transformasi dengan Rumus $\sqrt{A+ 0,5}$ pada Jumlah Akar yang Terbentuk.....	30
7.	Sidik Ragam Jumlah Akar yang Terbentuk	30
8.	Hasil Pengamatan Panjang Akar (cm)	31
	A. Data Asli Panjang Akar (cm).....	31
	B. Data Hasil Transformasi dengan Rumus $\sqrt{A+ 0,5}$ pada Panjang Akar (cm)	31
9.	Sidik Ragam Panjang Akar (cm).....	32
10.	Hasil Pengamatan Berat Basah Biomassa (g)	32
11.	Sidik Ragam Berat Basah Biomassa (g)	33
12.	Hasil Pengamatan Berat Kering Biomassa (g).....	33
13.	Sidik Ragam Berat Kering Biomassa (g).....	34
14.	Perhitungan Persentase Terbentuknya Kalus.	34
15.	Foto Kegiatan.....	35

Ringkasan

Naning Ratnaningtyas/ 9615101106 : Pengaruh Air Kelapa, IAA dan GA₃ pada Propagasi Eksplan Daun Bit Gula (*Beta vulgaris* L.), dengan dosen pembimbing **Ir. Soetilah HS., MS dan Ir. Miswar, MSi.**

Bit gula (*Beta vulgaris* L.) merupakan tanaman utama penghasil gula didaerah subtropis dan mempunyai kandungan gula jauh lebih tinggi daripada kandungan gula dari tebu. Suatu metode perbanyakan yang dapat ditempuh dalam upaya memenuhi kebutuhan tanaman bit gula untuk daerah dataran rendah adalah tehnik kultur jaringan. Melalui cara ini sejumlah besar tanaman dapat dihasilkan dalam tempo yang relatif singkat dengan hanya menggunakan sejumlah kecil bahan tanam awal dan tidak dipengaruhi musim.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT yang tepat untuk mengoptimalkan pertumbuhan bit gula secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan faktorial 3 x 2 x 3 dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Faktor I, Konsentrasi Air Kelapa yang terdiri dari 3 taraf yaitu : A1 = 0 ppm, A2 = 15 ppm, A3 = 30 ppm. Faktor II, Jenis ZPT yang terdiri dari dua taraf yaitu : P0 = IAA, P1 = GA₃. Faktor III, Konsentrasi ZPT yang terdiri dari 3 taraf yaitu: V0 = 0 ppm, V1 = 1 ppm, V2 = 2 ppm. Analisa data dilakukan dengan analisa varian dan bila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Jarak berganda duncan pada taraf kepercayaan 5%.

Parameter yang diamati meliputi; kedinian terbentuknya kalus (hari), kedinian terbentuknya akar (hari), jumlah akar yang terbentuk, panjang akar (cm), berat basah biomassa (g), berat kering biomassa (g) dan persentase terbentuknya kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan air kelapa dengan konsentrasi 0 ppm pada media yang ditambah dengan IAA dan GA₃ memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan air kelapa pada konsentrasi 15 dan 30 ppm. Pemberian IAA pada konsentrasi 2 ppm memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan IAA pada konsentrasi 0 dan 1 ppm. Pemberian GA₃ pada konsentrasi 1 ppm memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan GA₃ pada konsentrasi 0 dan 2 ppm. Interaksi antara air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada parameter kedinian terbentuknya akar, jumlah akar dan panjang akar dan berbeda tidak nyata pada parameter kedinian terbentuknya kalus, berat basah biomassa dan berat kering biomassa.

**Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember,
Nopember 2000**

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Bit gula (*Beta vulgaris* L.) merupakan tanaman utama penghasil gula di daerah subtropis dan mempunyai kandungan gula sekitar 12 – 22% (Kipps, 1961). Di Belgia, kadar gula pada bit mencapai rata-rata 16,3% (Vukov, 1977). Kadar gula yang terkandung pada bit gula jauh lebih tinggi daripada kandungan gula dari tebu yang ditanam di Indonesia. Penanaman bit gula ini dimaksudkan untuk melihat peluangnya sebagai pemasok bahan baku pabrik gula atau sebagai sumber pemanis secara umum.

Bit gula umumnya dikembangbiakkan dengan cara generatif menggunakan biji. Pengembangan tanaman bit gula hanya bisa dilakukan di daerah dengan ketinggian 1000 m dari permukaan air laut (dpl). Dalam pengembangannya kendala yang dihadapi yaitu tidak tersedianya benih untuk daerah dataran rendah dan sulitnya mendapatkan benih bit gula, karena harus diimpor dari luar negeri (Aak, 1992).

Suatu metode perbanyakan yang dapat ditempuh dalam upaya memenuhi kebutuhan tanaman bit gula adalah teknik kultur jaringan tanaman. Melalui cara ini sejumlah besar tanaman dapat dihasilkan dalam tempo yang relatif singkat dengan hanya menggunakan sejumlah kecil bahan tanam awal (Priyono dan Mawardi, 1993). Metode kultur jaringan mempunyai beberapa keuntungan yaitu perbanyakan tanaman secara cepat, pembebasan virus pada tanaman, pertumbuhan cepat dan tidak dipengaruhi musim karena kondisi lingkungan dapat dikontrol dan dapat dilakukan dimana saja, tidak tergantung pada letak geografis dan iklim (Yulianto, 1987).

Teknik kultur jaringan sangat berguna bagi perbanyakan berbagai tanaman hortikultura dan perkebunan yang lazim diperbanyak secara vegetatif. Teknik ini dapat menghasilkan sejumlah kecil jaringan awal dibandingkan dengan perbanyakan klon biasa seperti setek dan okulasi yang membutuhkan banyak bahan tanam serta penyebar utama dari penyakit virus (Makmur, 1988).

Nazir (1991), menyatakan bahwa keberhasilan dalam kultur jaringan sangat bergantung pada media yang digunakan, konsentrasi zat pengatur tumbuh dan pemilihan bahan tanam/eksplan. Media kultur harus berisi semua zat yang diperlukan

Digital Repository Universitas Jember

untuk menjamin pertumbuhan eksplan. Media kultur menyediakan unsur-unsur hara makro, mikro, karbohidrat yang umumnya berupa gula, vitamin, asam amino dan zat pengatur tumbuh (Gunawan, 1987). Media yang secara umum digunakan untuk kultur *in vitro* bit gula adalah media De-greff and Jacobs. Komposisi media De-greff and Jacobs ini hampir sama dengan media MS yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Dalam media MS sumber amonium berasal dari NH_4NO_3 sedangkan pada media De-greff and Jacobs berasal dari $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Hasil penelitian De-greff and Jacobs (1974) pada eksplan daun bit gula yang ditambahkan dengan IAA 1 ppm dan kinetin 0,1 ppm ternyata menghasilkan kalus pada 9 minggu setelah tanam. Berdasarkan penelitian tersebut penambahan ZPT pada konsentrasi yang lebih tinggi perlu diberikan agar didapatkan plantlet yang diharapkan.

Ada dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan dan organ. Selain auksin dan sitokinin, giberelin dan persenyawaan-persenyawaan lain juga dapat berpengaruh pada kultur jaringan dalam kasus-kasus tertentu (Gunawan, 1987). Menurut Murashige (1974) dalam Widiastoety, dkk. (1991) menyatakan bahwa konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dipilih tergantung pada macam jaringan yang digunakan sebagai eksplan, kandungan hormon endogen dan pola pertumbuhan yang diinginkan. Menurut Gamborg dan Shyluk (1981), Hartman dan Kester (1983) dalam Widiastoety dkk (1991) dalam kultur jaringan, auksin mendorong pembelahan dan pembesaran sel, pembentukan kalus dan pembentukan akar, sedangkan sitokinin dapat merangsang pembentukan tunas pada jaringan tanaman yang mempunyai kemampuan untuk organogenesis.

Penggunaan Giberelin dalam kultur jaringan kadang-kadang membantu dalam proses morfogenesis pada tanaman. Dalam kultur kalus dimana hanya dengan auksin dan sitokinin saja pertumbuhan sudah cepat, maka penambahan giberelin seringkali malah menghambat. Pada umumnya giberallin terutama GA_3 menghambat perakaran. Pengaruh positif giberelin ditemukan dalam kultur bit gula, dimana GA_3 merangsang pertumbuhan pucuk dari potongan inflorescens (Gunawan, 1987). Kegunaan lainnya adalah memperpanjang batang, memperbesar luas daun dan

Digital Repository Universitas Jember

mempengaruhi proses-proses fisiologis lainnya (Wattimena, 1987). Wochok dan Sluis (1980) dalam Wang dan Hu (1981), mengemukakan bahwa GA₃ mempunyai pengaruh dalam multiplikasi tunas sebelum menstimulir pemanjangannya.

Persenyawaan lain seperti air kelapa juga memberikan pertumbuhan yang baik terhadap eksplan (Rahardja,1993). Air kelapa dapat digunakan sebagai bahan suplemen dalam media kultur jaringan karena selain sukrosa dan gula lainnya juga mengandung unsur-unsur hara dan zat-zat penstimulir pertumbuhan dalam jumlah yang seimbang untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan-jaringan yang dibiakkan dengan kultur jaringan (Scully, 1967 dalam Harjadi Pamenang, 1981). Air kelapa juga mengandung persenyawaan kompleks yang antara lain mengandung hormon auksin dan sitokinin (George dan Sherington, 1984 dalam Priyono dan Mawardi, 1993). Efek air kelapa pada pertumbuhan menjadi lebih baik bila dalam media juga diberi auksin, karena keduanya dapat bersifat sinergis (Gunawan,1987).

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh zat pengatur tumbuh Air kelapa, IAA dan GA₃ terhadap propagasi bit gula secara *in vitro* pada media De-greef and Jacobs.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT serta interaksi ketiga faktor perlakuan terhadap pembentukan plantlet bit gula secara *in vitro*.

1.3 Kegunaan Penelitian

Diharapkan dapat digunakan sebagai bahan acuan dan bahan pertimbangan dalam pengadaan bit gula melalui teknik *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bit Gula

Bit gula (*Beta vulgaris* L.) merupakan tanaman utama penghasil gula di daerah sub tropis. Penanaman bit secara umum pada ketinggian 1000 meter dari permukaan air laut (dpl) seperti Lembang, Cipanas, Batu (Sunaryono, 1990). Dari percobaan tahun 1987 pada lahan seluas 3 m², Osche dalam Heyne (1987) melaporkan bahwa kadar gula tanaman bit dapat mencapai 3 kali lebih tinggi dibandingkan kadar gula dari tebu. Pada tahun 1984 dilakukan lagi percobaan di Cibodas pada ketinggian 1500 m dpl akan tetapi kadar gulanya hanya 1,3 - 6,3 %.

Tanaman ini membutuhkan tanah yang subur (banyak mengandung humus), gembur dengan kelembaban cukup. Tanah aluvial yang kaya akan unsur hara dan solumnya dalam merupakan media yang sesuai untuk bit gula. Derajat keasaman tanah yang dikehendaki antara pH 6,5 - 8,0 (Sunaryono, 1990). Kipps (1961) menyatakan bahwa pada tanah mineral dianjurkan adanya rotasi tanaman untuk bit gula setelah penanaman beberapa tanaman leguminosae, rumput atau campurannya dengan maksud untuk memperoleh bahan organik tanah yang cukup. Bit akan menghasilkan gula tertinggi apabila dipanen pada musim panas (Martin, 1978).

2.2 Teknik Kultur Jaringan Tanaman

Teknik kultur *in vitro* berkembang berdasarkan teori totipotensi dari Schwann dan Schleiden (1838) yang secara teoritis menyatakan bahwa sel mempunyai sifat otonomi dan pada prinsipnya mempunyai kapasitas regenerasi membentuk tanaman sempurna (Pierik, 1987). Kultur *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptis sehingga dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1987).

Teknik perbanyak tanaman secara *in vitro* meliputi beberapa tahap antara lain : (1) Pengambilan bahan tanam dari lapang; (2) Persiapan eksplan; (3) Sterilisasi; (4) Pemilihan jaringan yang digunakan sebagai eksplan; (5) Penanaman

pada medium kultur; (6) Pemindahan planlet dari laboratorium ke rumah kaca; (7) dan evaluasi hasil di lapang (Krikorian, 1989).

2.3 Faktor Pendukung Keberhasilan Kultur Jaringan

Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan kultur *in vitro* adalah susunan nutrisi media. Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber energi, zat pengatur tumbuh, vitamin, dan agar atau materi penyangga lain. Tiap tanaman membutuhkan 9 elemen makro nutrisi yaitu : Nitrogen (N), Kalium (K), Magnesium (Mg), Kalsium (Ca), Belerang (S), Fosfor (P), Karbon (C), Hidrogen (H), Oksigen (O) dan 7 elemen mikro nutrisi yaitu Besi (Fe), Mangan (Mn), Seng (Zn), Tembaga (Cu), Boron (B), Molibdenum (Mo), Clor (Cl) dalam bentuk ikatan kimia dan perbandingan yang sesuai (Wetherell, 1982). Unsur hara makro dan mikro selalu ada dalam media, unsur hara mikro merupakan komponen protein sel tanaman yang penting dalam proses metabolisme dan proses fisiologis lainnya (Gunawan, 1987).

Gula diberikan dalam medium sebagai sumber energi karena pada tahap-tahap permulaan, eksplan yang baru tumbuh membentuk kalus belum mengadakan fotosintesis atau setidaknya cara hidupnya belum autotrofik. Kandungan gula yang tinggi dalam medium ini mendukung pertumbuhan mikrobia seperti jamur dan bakteri untuk tumbuh lebih cepat dari kultur, sehingga sterilisasi diperlukan untuk menekan pertumbuhan mikrobia (Sugiyarta, 1991).

Vitamin yang sering digunakan adalah myo-inositol, thiamine (vitamin B1), ascorbic acid (vitamin C), nicotinic acid dan pyridoxin. Vitamin C dalam konsentrasi tinggi digunakan sebagai anti oksidan (Pierik, 1987). Variabel penting lain dalam media adalah kemasaman atau pH. Untuk pertumbuhan tanaman secara *in vitro* diperkirakan pH optimum berada pada kisaran 5 - 6,5 (Pierik, 1987).

Kultur *in vitro* memanfaatkan zat pengatur tumbuh untuk memacu terbentuknya jaringan dari sel-sel kalus yang belum terdeferensiasi (Rahardja, 1993). Auksin dan sitokinin adalah zat pengatur tubuh yang mempunyai peran ganda. Zat

pengatur tumbuh mempunyai kemampuan untuk merangsang pertumbuhan eksplan dan mempengaruhi pertumbuhan akar (Wetherell, 1982).

Dalam kultur *in-vitro* untuk mempercepat penampilan sifat totipotensi sangat dianjurkan menggunakan eksplan sebagai bahan tanam adalah organ/jaringan yang muda yang masih dalam keadaan meristematis (Sastrowijono, 1991). Lebih lanjut Hussey (1978), menerangkan bahwa jaringan yang muda lebih sering membentuk kalus maupun planlet seperti yang diharapkan, hal ini disebabkan jaringan muda lebih tanggap terhadap pemakaian ZPT seperti sitokinin, giberelin, auksin, inhibitor dan faktor pertumbuhan lain. Hal lain yang harus diperhatikan dalam memilih eksplan adalah organ yang menjadi sumber jaringan, umur fisiologis organ, musim ketika eksplan diambil, ukuran eksplan dan kualitas tanaman secara keseluruhan.

Kondisi lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan meliputi cahaya, suhu, dan kelembaban. Cahaya diperlukan untuk pengaturan morfogenesis tertentu. Keperluan kultur akan cahaya melibatkan gabungan dari beberapa komponen cahaya antara lain: intensitas cahaya, lama penyinaran, dan kualitas cahaya. Suhu ruang inkubasi dipersiapkan secara terkendali antara 20° C sedang kelembaban relatif dari ruang inkubasi diatur kira-kira 70 – 80%. Apabila kelembaban kurang dari 50%, maka media yang disimpan akan cepat mengering, sedangkan kelembaban yang tinggi akan menyebabkan meningkatnya kontaminasi.

2.4 Zat Pengatur Tumbuh IAA

Auksin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang tidak terlepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman (Abidin, 1989). Menurut Thimann (tth) dalam Wilkins (Ed). (1989), fungsi auksin yang paling karakteristik adalah meningkatkan pembelahan sel. Auksin mempengaruhi pengembangan dinding sel, yang mengakibatkan berkurangnya tekanan dinding sel sehingga air masuk ke dalam vakuola, volume sel meningkat sampai keseimbangan baru tercapai, sehingga diperoleh sel yang panjang-panjang dengan vakuola yang besar (Dwidjoseputro, 1990).

IAA (auksin) digunakan secara luas dalam kultur *in vitro* untuk merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan, 1987). Menurut Wetherell (1982), peranan IAA dalam kultur *in vitro* dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru serta merangsang pembentukan akar.

2.5 Zat Pengatur Tumbuh Giberelin

Penggunaan giberelin dalam kultur jaringan kadang-kadang membantu dalam proses morfogenesis pada tanaman. Tetapi dalam kultur kalus dimana hanya dengan auksin dan sitokinin saja pertumbuhan sudah cepat, maka penambahan giberelin seringkali malah menghambat perakaran. Pada umumnya giberelin terutama GA_3 menghambat perakaran. Pengaruh positif giberelin ditemukan dalam kultur bit gula, dimana GA_3 merangsang pertumbuhan pucuk dari potongan inflorescens (Gunawan, 1987).

Heddy (1986) menyatakan bahwa GA_3 dapat mempercepat pembelahan sel, tetapi bagaimana proses pembelahan sel tersebut belum dapat diketahui dengan jelas. Respon tanaman terhadap pemberian GA_3 meliputi pembelahan sel dan pembesaran sel. Van Overbeek (1966) dalam Weaver (1972) yang menyatakan bahwa GA_3 akan membantu pembentukan enzim proteolitik yang akan membebaskan triptophan sebagai asal mula bentuk auksin. Selanjutnya auksin yang dihasilkan akan dapat memacu pembelahan sel. Hubungan giberelin dengan perpanjangan sel (*cell elongation*) bahwa giberelin mendukung pengembangan dinding sel. Giberelin menstimulasi hidrolisa pati yang akan mendukung terbentuknya enzim α -amilase, sehingga konsentrasi gula meningkat, tekanan osmosis dalam sel naik maka ada kecenderungan sel berkembang (Abidin, 1989).

Kegunaan giberelin lainnya adalah memperpanjang batang, memperbesar luas daun dan mempengaruhi proses-proses fisiologis lainnya (Wattimena, 1987). Rangsangan pertumbuhan yang ditimbulkan oleh giberelin meliputi pembelahan sel dan pengembangan sel, Sachs dan Naber dalam Leopold dan Kriedman, (1979). Wochok dan Sluis (1980) dalam Wang dan HU (1981) mengemukakan bahwa GA_3

mempunyai pengaruh dalam multiplikasi tunas sebelum menstimulir pemanjangannya.

2.6 Air Kelapa

Penggunaan air kelapa pertama kali dilaporkan oleh Van Overbeek (1941) dalam kultur embrio *Datura stramonium* (Gunawan, 1987). Menurut George dan Sherrington (1984) dalam Meldia dkk (1992), air kelapa hanya mengandung asam amino, asam malat, purine, gula, vitamin dan mineral. Kovorr (1962) mengemukakan bahwa air kelapa berisi bahan kimia yang analog dengan kinetin (sitokinin), Letham (1974) menemukan 9- β -D-ribofuranosyl (sitokinin), Van Steden dan Drewis (1975) menemukan zeatin dan zeatin riboside (Pierik, 1987).

Siera dan Velesco (1976) dalam Margaretha dan Rumokoi (1993) menyatakan bahwa senyawa-senyawa kimia yang bertindak sebagai zat pengatur tumbuh adalah 1,3 difenil urea, heksitol, phyllocozim, sitokinin, elatin ribozida, myo-inositol, scyllo inositol dan sorbitol. 1,3 difenil urea tersebut mempunyai aktivitas seperti sitokinin, yaitu dalam pembelahan sel.

2.7 Hipotesis

1. Terdapat konsentrasi air kelapa yang memberikan pengaruh paling baik pada kultur *in vitro* bit gula.
2. Terdapat jenis dan konsentrasi ZPT yang memberikan pengaruh paling baik pada kultur *in vitro* bit gula.
3. Terdapat interaksi antara konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT yang memberikan pengaruh pada kultur *in vitro* bit gula

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2000.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah potongan daun bit gula sebagai bahan tanam (eksplan). Komposisi media dasar yang digunakan adalah De-greef and Jacobs. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah IAA dan GA₃ dengan konsentrasi 0,1,2 ppm dan air kelapa dengan konsentrasi 0, 15, 30 ppm. Bahan yang digunakan untuk sterilisasi eksplan adalah Tween 20, Betadine, Alkohol 70%, NaOCl, Aguadest steril dan spiritus, dan bahan lain yang mendukung.

Alat-alat yang digunakan meliputi botol kultur, erlenmeyer, autoclave, oven, neraca analitis, Laminar Air Flow Cabinet (LAFB), gelas ukur, beaker glass, pipet ukur, pipet tetes, pH meter, petridish, pinset, scalpel, gunting, kertas aluminium foil, lampu spiritus dan rak inkubasi.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan faktorial 3 x 2 x 3 dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan.

Faktor I, Konsentrasi Air Kelapa yang terdiri dari 3 taraf yaitu :

A₁ = 0 ppm , A₂ = 15 ppm, A₃ = 30 ppm

Faktor II, Jenis ZPT yang terdiri dari dua taraf yaitu :

P₀ = IAA, P₁ = GA₃

Faktor III, Konsentrasi ZPT yang terdiri dari 3 taraf yaitu:

V₀ = 0 ppm, V₁ = 1 ppm, V₂ = 2 ppm

Model matematika rancangan yang digunakan Menurut Yitnosumarto (1993) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + J_j + K_k + (AJ)_{ij} + (JK)_{jk} + (AK)_{ik} + (AJK)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Keterangan :

Y_{ijkl} = nilai pengamatan yang mendapat perlakuan konsentrasi air kelapa ke-I, jenis ZPT ke-j dan konsentrasi ZPT ke-k pada ulangan ke-l

μ = nilai rata-rata populasi

A_i = Pengaruh konsentrasi air kelapa ke-I

J_j = Pengaruh Jenis ZPT ke-j

K_k = Pengaruh Konsentrasi ZPT ke-k

$(AJ)_{ij}$ = Pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa ke-I dan jenis ZPT ke-j

$(JK)_{jk}$ = Pengaruh interaksi antara jenis ZPT ke-j dan konsentrasi ZPT ke-k

$(AK)_{ik}$ = Pengaruh interaksi antara Konsentrasi air kelapa ke-I dan konsentrasi ZPT ke-k

$(AJK)_{ijk}$ = Pengaruh interaksi antara konsentrasi air kelapa ke-I, jenis ZPT ke-j dan konsentrasi ZPT ke-k

E_{ijkl} = komponen random dari error yang berhubungan dengan interaksi antara ketiga faktor ke-ijk pada ulangan ke-l

Analisa data dilakukan dengan analisa varian dan bila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Persiapan Alat

Alat-alat yang terbuat dari gelas dan logam dicuci bersih menggunakan detergent. Setelah bersih alat-alat yang terbuat dari gelas dimasukkan kedalam oven selama 24 jam pada suhu 150°C, sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam dibungkus kertas terlebih dahulu kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu yang sama.

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang dipergunakan dalam percobaan adalah media De-greef and Jacobs. Tahap-tahap pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Larutan stok dibuat sesuai dengan komposisi media De-greef and Jacobs ;
2. Larutan stok makro dan mikro dipipet sesuai dengan volume pengambilan untuk masing-masing stok per liter media;
3. Menambahkan $\text{Fe}+\text{Na}_2\text{EDTA}$, vitamin, gula, agar, air kelapa, dan ZPT (IAA dan GA_3) sesuai perlakuan;
4. PH media (larutan) dipertahankan 5,8 dengan menambahkan larutan HCl 1 N atau NaOH 1 N;
5. Larutan dipanaskan sampai mendidih sehingga bahan pematat (agar) benar-benar larut dalam media;
6. Larutan media dalam keadaan panas dituangkan kedalam botol-botol kultur secara merata, kemudian ditutup rapat dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoclave dengan tekanan 16 psi pada suhu 121°C selama 30 menit.

3.4.3 Sterilisasi Eksplan

Eksplan dicuci bersih dengan air kran selama 15 menit dan direndam dalam larutan Dithane 0,2% selama 1,5 jam. Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan di laminer air flow cabinet dengan merendam-kocok eksplan tersebut dalam larutan alkohol 70% selama 2 menit, larutan NaOCl 2% ditambah tiga tetes tween 20 selama 15 menit dan dilanjutkan dengan perendaman lagi dalam larutan Betadine 3 tetes selama 5 menit. Setelah itu eksplan dibilas dengan air steril tiga kali.

3.4.4 Penanaman Eksplan

Eksplan ditanam pada medium De-greef and Jacobs tanpa ZPT selama 3 - 4 hari untuk mendapatkan eksplan yang aseptik, kemudian ditanam pada medium perlakuan selama 8 minggu. Pengamatan terhadap eksplan dilakukan setiap hari sampai 8 minggu setelah tanam untuk mengetahui kedinian terbentuknya kalus dan kedinian terbentuknya akar

3.4.5 Pemeliharaan Kultur

Pemeliharaan kultur dilakukan dengan menjaga kondisi ruang kultur tetap bersih dan steril. Setiap hari dilakukan penyemprotan alkohol 70% disekitar botol kultur untuk menghindari kemungkinan terjadinya kontaminasi dan segera mengeluarkan botol kultur yang terkontaminasi agar tidak mencemari botol yang lain.

3.5 Parameter Pengamatan

1. Kedinian terbentuknya kalus (hari)
2. Kedinian terbentuknya akar (hari)
3. Jumlah akar yang terbentuk
4. Panjang akar (cm)
5. Berat basah biomassa (g)
6. Berat Kering biomassa (g)
7. Persentase terbentuknya kalus.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT berpengaruh nyata pada semua parameter pengamatan, sedangkan interaksi antara air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada parameter kedininian terbentuknya akar, jumlah akar dan panjang akar dan berbeda tidak nyata pada parameter kedininian terbentuknya kalus, berat basah biomassa dan berat kering biomassa. Hasil rangkuman sidik ragam semua parameter disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rangkuman Sidik Ragam Pada Semua Parameter.

Sidik Ragam	KTK (hari)	KTA (hari)	JA	PA (cm)	BB (gr)	BK (gr)
Perlakuan	3,30**	4,05**	7,60**	4,05**	11,42**	2,24*
Faktor A	3,92*	8,57**	17,23**	8,57**	31,49**	0,88ns
Faktor P	18,43**	9,78**	21,40**	9,77**	20,68**	11,30**
Faktor V	4,44*	4,26*	9,49**	4,26*	4,40**	3,57*
Interaksi AP	1,57ns	1,76ns	1,20*	1,76ns	2,12ns	1,33ns
Interaksi AV	1,25ns	0,30ns	3,98**	0,30**	2,36ns	1,15ns
Interaksi PV	4,61*	8,21**	10,08**	8,20**	5,36**	1,56ns
Interaksi APV	0,91ns	3,09*	3,99**	3,09*	1,09ns	1,86ns

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

* = berbeda nyata

ns = berbeda tidak nyata

KTK = Kedininian Terbentuknya Kalus

KTA = Kedininian Terbentuknya Akar

JA = Jumlah Akar

PA = Panjang akar

BB = Berat Basah

BK = Berat Kering

4.1 Kedininian Terbentuknya Kalus (Hari)

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 1) menunjukkan bahwa pembentukan kalus sangat nyata dipengaruhi oleh faktor konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT. Hasil uji Jarak Berganda Duncan terhadap kedininian terbentuknya kalus karena pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Kedonian Terbentuknya Kalus (Hari) pada Faktor Macam dan Konsentrasi ZPT.

Perlakuan	Rata-rata
P_1V_2	20.11 c
P_1V_0	16.33 b
P_0V_0	15.56 b
P_1V_1	15.22 ab
P_0V_2	13.11 ab
P_0V_1	12.11 a

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan

Dilihat dari Tabel 2 jenis ZPT IAA pada konsentrasi 1 ppm (P_0V_1) berpengaruh lebih cepat terhadap kedonian terbentuknya kalus yaitu pada hari ke-12 setelah penanaman dan berbeda nyata dengan GA_3 pada konsentrasi 2 ppm (P_1V_2). Perlakuan IAA pada konsentrasi 2 ppm (P_0V_2) memberikan respon yang lebih lambat terhadap pembentukan kalus daripada IAA pada konsentrasi 1 ppm (P_0V_1). Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Ross (1985) yang menyatakan adanya IAA dalam konsentrasi tinggi akan memperbesar munculnya faktor penghambat pertumbuhan sel yaitu etilen. Kehadiran etilen akan mengurangi aktivitas IAA sehingga menurunkan kecepatan pembelahan sel. Pada perlakuan P_0V_2 , P_1V_1 , P_0V_0 dan P_1V_0 menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata pada kedonian terbentuknya kalus. Kalus terbentuk oleh adanya pembelahan sel yang begitu cepat karena pengaruh IAA dan GA_3 . Pembelahan sel yang terlalu cepat menyebabkan sel tidak terdiferensiasi secara normal sehingga terbentuklah kalus. Menurut Heddy (1986), Yoeman dan Macleod (1977), bahwa IAA dapat ditambahkan pada medium kultur untuk merangsang pembentukan dan pertumbuhan kalus. Pembentukan kalus terlebih dahulu terjadi pada bagian tepi eksplan, akibat adanya pelukaan (pemotongan eksplan) sehingga sel-sel pada bagian tepi eksplan banyak yang mengalami kerusakan. Sel-sel yang mengalami kerusakan tetapi tidak pecah akan membelah membentuk kalus. Gunawan (1987) menyatakan bahwa pembentukan kalus selain dipengaruhi IAA, juga dipengaruhi jenis tanaman, bagian tanaman, dan umur fisiologis dari jaringan waktu diisolasi.

4.2 Kedonian Terbentuknya Akar (hari)

Dari analisa yang dilakukan diketahui bahwa pembentukan akar dipengaruhi oleh konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT serta interaksi ketiga faktor tersebut (Tabel 1). Hasil uji Jarak Berganda Duncan terhadap kedonian terbentuknya akar karena pengaruh interaksi dari ketiga faktor perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Kedonian Terbentuknya Akar (Hari) pada Ketiga Faktor Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata
$A_1P_0V_2$	31.33 c
$A_2P_0V_2$	25 bc
$A_1P_1V_1$	22.33 bc
$A_2P_0V_1$	19.33 bc
$A_2P_1V_1$	19.33 bc
$A_1P_1V_0$	15.67 abc
$A_2P_0V_0$	13.67 ab
$A_1P_0V_1$	12 ab
$A_3P_0V_2$	8.67 ab
$A_3P_0V_1$	8.33 ab
$A_1P_0V_0$	0 *
$A_1P_1V_2$	0 *
$A_2P_1V_0$	0 *
$A_2P_1V_2$	0 *
$A_3P_0V_0$	0 *
$A_3P_1V_0$	0 *
$A_3P_1V_1$	0 *
$A_3P_1V_2$	0 *

- Keterangan : 1. Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan
 2. Tanda (*) menunjukkan tidak terbentuk akar pada perlakuan tersebut.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa air kelapa 30 ppm dengan IAA pada konsentrasi 1 ppm ($A_3P_0V_1$) memberikan nilai rata-rata terbaik pada kedonian terbentuknya akar yaitu 8 hari setelah penanaman dan berbeda nyata dengan perlakuan $A_1P_0V_2$. Zat pengatur tumbuh IAA dan air kelapa sama-sama mempunyai kemampuan dalam pembelahan sel. Pengaruh bersama IAA dan air kelapa mampu meningkatkan pertumbuhan eksplan. Menurut Steward (1958) dalam Pierik (1987), penggunaan air kelapa bersama dengan auksin akan menginduksi pembelahan sel. air

kelapa mengandung ZPT, vitamin dan senyawa organik diantaranya asam amino yang mampu mendukung pertumbuhan akar. Asam amino merupakan sumber nitrogen (Boulenne, 1949) dalam Wilkins (1989) dan vitamin (Torrey, 1956) dalam Wilkins (1989) mampu meningkatkan pertumbuhan akar. Selanjutnya Tulecke, *et al* (1961) dalam Nuryani dan Soedjono (1992) menjelaskan bahwa penambahan air kelapa dalam medium berarti meningkatkan nutrisi dalam media yang terdiri dari bahan organik yang kompak dan ZPT yang mampu mempercepat pertumbuhan sel.

Menurut Salisbury dan Ross (1985) adanya auksin (IAA) sangat berpengaruh terhadap proses pembentukan akar, karena auksin akan mendukung pembelahan sel akar atau penyempurnaan sel akar beberapa spesies tanaman, dan selalu terdapat dalam konsentrasi rendah dalam tanaman ($10^{-7} - 10^{-13}$ M). Pada perlakuan $A_1P_0V_2$ menghasilkan jumlah rata-rata kedirian terbentuknya akar paling lambat. Pemberian air kelapa yang rendah dan IAA yang tinggi akan menurunkan kedirian terbentuknya akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Ross (1985) yang menyatakan bahwa adanya IAA dalam konsentrasi tinggi justru akan menurunkan kecepatan pembentukan akar. IAA dalam konsentrasi tinggi akan memperbesar munculnya faktor penghambat pertumbuhan sel yaitu etilen. Kehadiran etilen akan mengurangi aktivitas IAA (auksin) sehingga menurunkan kecepatan pembelahan sel. Pada perlakuan air kelapa 0 ppm dan IAA 0 ppm ($A_1P_0V_0$) tidak terbentuk akar, hal ini menunjukkan karena tidak ada zat pengatur tumbuh yang diberikan sehingga proses pembentukan akar akan terhambat.

Pada perlakuan air kelapa 0 ppm dan GA_3 pada konsentrasi 2 ppm ($A_1P_1V_2$) ternyata akar tidak terbentuk. Pada perlakuan tersebut tampak bahwa konsentrasi GA_3 yang lebih tinggi ternyata menghambat pembentukan akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Gunawan (1987) yang menyatakan pada umumnya giberelin terutama GA_3 pada konsentrasi tinggi menghambat perakaran.

4.3 Jumlah Akar yang Terbentuk

Jumlah akar yang terbentuk pada 8 minggu setelah tanam dipengaruhi secara nyata oleh faktor konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT serta interaksi dari ketiga faktor perlakuan (Tabel 1). Hasil uji Jarak Berganda Duncan pada interaksi ketiga faktor perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Jumlah Akar yang Terbentuk pada Interaksi Ketiga Faktor Perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata
$A_1P_0V_2$	43 d
$A_1P_0V_1$	26.33 c
$A_1P_1V_1$	17.67 bc
$A_2P_0V_2$	11 ab
$A_3P_0V_2$	8.67 ab
$A_2P_0V_0$	8 ab
$A_3P_0V_1$	5 ab
$A_2P_0V_1$	4 a
$A_2P_1V_1$	4 a
$A_1P_1V_0$	3.33 a
$A_1P_0V_0$	0 a*
$A_1P_1V_2$	0 a*
$A_2P_1V_0$	0 a*
$A_2P_1V_2$	0 a*
$A_3P_0V_0$	0 a*
$A_3P_1V_0$	0 a*
$A_3P_1V_1$	0 a*
$A_3P_1V_2$	0 a*

Keterangan : 1. Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Jarak Berganda Duncan

2. Tanda (*) menunjukkan tidak terbentuk akar pada perlakuan tersebut

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa jumlah akar pada konsentrasi air kelapa 0 ppm dengan IAA pada konsentrasi 2 ppm ($A_1P_0V_2$) memberikan nilai rata-rata terbaik dan hasil terendah diperoleh pada perlakuan air kelapa 0 ppm dengan GA_3 pada konsentrasi 0 ppm ($A_1P_1V_0$). Senyawa-senyawa kimia dalam air kelapa sulit diduga yang berpengaruh paling menonjol pada pembelahan sel.

Menurut Steward *et al* (tth) dalam Noggle dan Fritz (1985) bahwa air kelapa mengandung sejumlah senyawa kimia, sebagian senyawa aktif dengan sendirinya,

sebagian berinteraksi dengan senyawa non aktif yang ada dan diidentifikasi bukan sebagai ZPT tetapi sebagai nutrisi. Selanjutnya Steward (1961) dalam Wilkins (Ed) (1989) menjelaskan bahwa tidak satupun zat dalam air kelapa yang berpengaruh menonjol pada pembesaran sel tetapi akibat dari terlibatnya banyak zat yang saling mempengaruhi.

Perlakuan $A_1P_0V_2$ dan $A_1P_0V_1$ berbeda nyata. Dari perlakuan tersebut tampak bahwa dengan konsentrasi air kelapa 0 ppm tetapi dengan konsentrasi IAA yang berbeda (2 ppm dan 1 ppm) memberikan nilai rata-rata yang berbeda pada jumlah akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Delvin (1975) dalam Abidin (1989), yang menyatakan bahwa adanya IAA dalam konsentrasi tinggi akan menekan perpanjangan akar tetapi akan mendorong perbanyakkan sel akar. Sel hanya mampu untuk tumbuh dan berdiferensiasi ke arah satu pertumbuhan saja. Adanya IAA dalam media akan memacu metabolisme sel untuk aktif membelah. IAA akan memacu penyerapan air dari media dan zat hara lain sehingga adanya air dalam sel akan memacu pembelahan sel. Kondisi ini menyebabkan jumlah sel akan meningkat dan mengarahkan pada pembentukan primordia akar.

4.4 Panjang Akar (cm)

Dari sidik ragam diketahui bahwa konsentrasi air kelapa, konsentrasi ZPT dan interaksi ketiga faktor berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata panjang akar pada 8 minggu setelah tanam untuk semua perlakuan dan berpengaruh tidak nyata pada faktor jenis ZPT (Tabel 1). Hasil uji Jarak Berganda Duncan pada interaksi ketiga faktor perlakuan disajikan pada Tabel 5.

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa perlakuan air kelapa 0 ppm dan GA_3 1 ppm ($A_1P_1V_1$) memberikan nilai rata-rata terbaik yaitu sebesar 3,37 cm. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi air kelapa yang rendah dengan penambahan GA_3 cenderung merangsang pemanjangan akar. Pada perlakuan air kelapa 0 ppm dan GA_3 pada konsentrasi 2 ppm ($A_1P_1V_2$) ternyata akar tidak terbentuk. Pada perlakuan tersebut tampak bahwa konsentrasi GA_3 yang lebih tinggi ternyata menghambat pembentukan dan perpanjangan akar. Pemanjangan akar menurut Thiman (1977)

dalam Wang dan Hu (1981) menyatakan bahwa fase pemanjangan akar sangat sensitif terhadap konsentrasi gibberelin dan dapat terhambat pada konsentrasi yang lebih tinggi. Gunawan (1987) juga menyatakan pada umumnya gibberelin terutama GA₃ menghambat perakaran.

Tabel 5. Rata-rata Panjang Akar (cm) pada Ketiga Faktor Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata
A ₁ P ₁ V ₁	3.77 c
A ₂ P ₀ V ₂	0.77 b
A ₁ P ₀ V ₂	0.71 b
A ₂ P ₀ V ₀	0.59 ab
A ₃ P ₀ V ₁	0.53 ab
A ₁ P ₀ V ₁	0.49 ab
A ₁ P ₁ V ₀	0.4 ab
A ₃ P ₁ V ₁	0.37 ab
A ₂ P ₁ V ₁	0.33 ab
A ₂ P ₀ V ₁	0.15 ab
A ₁ P ₀ V ₀	0 a *
A ₁ P ₁ V ₂	0 a *
A ₂ P ₁ V ₀	0 a *
A ₂ P ₁ V ₂	0 a *
A ₃ P ₀ V ₀	0 a *
A ₃ P ₁ V ₀	0 a *
A ₃ P ₀ V ₂	0 a *
A ₃ P ₁ V ₂	0 a *

- Keterangan : 1. Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan
 2. Tanda (*) menunjukkan tidak terbentuk akar pada perlakuan tersebut

Panjang akar untuk kombinasi perlakuan antara air kelapa pada semua konsentrasi dan IAA sampai pada taraf yang dicobakan ternyata mampu meningkatkan perpanjangan akar. Dalam proses pembentukan akar tidak terlepas dari perbesaran dan perpanjangan sel. Menurut Wareing dan Phillips (1981), bahwa IAA berperan meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga air, ion-ion anorganik dan molekul organik masuk ke dalam sel yang menyebabkan meningkatnya perpanjangan akar.

4.5 Berat Basah Biomassa (gram)

Berdasarkan hasil sidik ragam yang tertera pada Tabel 1 tampak bahwa konsentrasi air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT berpengaruh sangat nyata pada semua perlakuan, dan berpengaruh tidak nyata pada interaksi ketiga faktor tersebut. Hasil uji Jarak Berganda Duncan pada faktor jenis dan konsentrasi ZPT dapat dilihat pada Tabel 6.

Pada Tabel 6 tampak bahwa IAA dengan konsentrasi 2 ppm (P_0V_2) memberikan nilai rata-rata terbaik pada berat basah yaitu sebesar 0,38 g, sedangkan nilai rata-rata berat basah pada GA_3 dengan konsentrasi 1 ppm (P_1V_1) adalah 0,24 g dan berbeda tidak nyata dengan IAA pada konsentrasi 0 ppm (P_0V_0). Perlakuan GA_3 pada konsentrasi 0 ppm (P_1V_0) dan 2 ppm (P_1V_2) menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata pada uji Jarak Berganda Duncan. Perlakuan IAA memberikan respon yang lebih baik daripada GA_3 pada semua konsentrasi yang dicobakan.

Tabel 6. Rata-rata Berat Basah (g) pada Faktor Macam dan Konsentrasi ZPT

Perlakuan	Rata-rata
P_0V_2	0.38 c
P_0V_1	0.29 b
P_1V_1	0.24 ab
P_0V_0	0.24 ab
P_1V_2	0.21 a
P_1V_0	0.21 a

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan

IAA dan GA_3 adalah dua hormon yang bekerja secara kumulatif dan berpengaruh terhadap berat basah. IAA berpengaruh terhadap pengembangan dan pembelahan sel. Pemberian IAA akan meningkatkan persentase berat basah karena IAA berperan dalam sintesa protein. IAA berfungsi membebaskan DNA dari histon untuk sintesa mRNA, mRNA yang terbentuk akan ditranslasikan menjadi protein dimana kandungan protein yang terbentuk akan memacu kerja enzim yang akan meningkatkan plastisitas dan pelebaran sel. IAA juga berpengaruh terhadap tekanan difusi sel yang menyerap air dari medium sehingga konsentrasi air dalam sel

meningkat. Menurut Abidin (1989) bahwa giberelin mendukung perpanjangan sel karena giberelin menstimulasi hidrolisa pati yang akan mendukung terbentuknya α -amilase. Adanya α -amilase menyebabkan meningkatnya konsentrasi gula dan tekanan osmotik. Peningkatan konsentrasi gula dan tekanan osmotis ini mengakibatkan pengembangan sel sehingga berat basah plantlet akan meningkat.

4.6 Berat Kering Biomassa (gram)

Berat kering pada 8 minggu setelah tanam dipengaruhi secara nyata oleh faktor jenis dan konsentrasi ZPT, sedangkan faktor konsentrasi air kelapa dan interaksi ketiga faktor tersebut menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata (Tabel 1). Hasil uji Jarak Berganda Duncan pada faktor jenis ZPT disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata Berat Kering (g) pada Faktor Jenis ZPT

Perlakuan	Rata-rata
P ₀	0.029 b
P ₁	0.017 a

Dari Tabel 7 dapat dilihat bahwa pemberian IAA menghasilkan rata-rata berat kering plantlet yang lebih tinggi daripada perlakuan GA₃. Hal ini disebabkan oleh pengaruh IAA yang berfungsi memacu pertumbuhan sel dalam hal penimbunan material-material sel sebagai penyusun protoplasma sel. Selanjutnya GA₃ menurut Van Overbeek (1966) dalam Weaver (1972) akan membantu pembentukan enzim proteolitik yang akan membebaskan triptophan sebagai asal mula bentuk auxin dan selanjutnya auxin yang dihasilkan akan dapat memacu pembelahan sel dan akan meningkatkan berat kering plantlet.

4.7 Persentase Terbentuknya Kalus.

Dari hasil perhitungan (Lampiran 14) dapat diketahui bahwa persentase pembentukan kalus pada pertumbuhan eksplan daun bit gula sebesar 100 %. Hal ini menunjukkan bahwa semua eksplan yang ditanam memberikan respon nyata terhadap semua perlakuan dalam tingkat respon yang berbeda, dengan tingkat pembentukan kalus yang berbeda.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Penambahan air kelapa dengan konsentrasi 0 ppm pada media yang ditambah dengan IAA dan GA₃ memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan Air kelapa pada konsentrasi 15 dan 30 ppm.
2. Pemberian IAA pada konsentrasi 2 ppm memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan IAA pada konsentrasi 0 dan 1 ppm.
3. Pemberian GA₃ pada konsentrasi 1 ppm memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan GA₃ pada konsentrasi 0 dan 2 ppm
4. Interaksi antara air kelapa, jenis dan konsentrasi ZPT menunjukkan pengaruh berbeda nyata pada parameter kedinian terbentuknya akar, jumlah akar dan panjang akar dan berbeda tidak nyata pada parameter kedinian terbentuknya kalus, berat basah biomasa dan berat kering biomasa.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ZPT lain terhadap propagasi eksplan daun bit gula (*Beta vulgaris* L.), agar didapatkan plantlet yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aak, 1992, *Petunjuk Praktis Bertanam Sayuran*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Abidin, Z., 1989, *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*, Angkasa Bandung, Bandung.
- De Greef W. and M. Jacobs, 1974, *In Vitro Culture of the Sugar Beet : Description of a Cell Line with High Regeneration Capacity Plant Sci Left*.
- Dwidjoseputro, 1990, *Pengantar Fisiologi Tanaman*, Gramedia, Jakarta.
- Nazir, E., Warsinah dan M. Winarno, 1991, *Pengaruh Beberapa Konsentrasi 2,4 D dan Casein Hydrolisate terhadap Proliferasi Kalus Durian dan Rambutuan secara In Vitro*, Penelitian Hortikultura, Jakarta , 4(3) :13 - 19 h
- George, E.F. dan P.D Sherrington, 1984, *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Commercial Laboratories Exegetics Ltd.*, Eversley, Basingstoke, England.
- Gunawan, L.W., 1987, *Teknik Kultur Jaringan*, Laboratorium Kultur Jaringan PAU Bioteknologi Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Harjadi dan Pamenang, 1981, *Pengaruh Sukrosa dan Air Kelapa pada Kultur Anggrek*, Buletin Agronomi XIV (1), Bogor, 1-11p
- Heddy, S., 1986, *Hormon Tumbuhan*, Rajawali, Jakarta.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Indonesia Berguna II*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Wijaya, Jakarta.
- Hussey, G., 1978, *The Application of Tissue Culture to Vegetatif Propagation*, Sci. Prog, (65). 185 - 208 .
- Kipps, M.S., 1961, *Production of Field Crops*, Mcgraw Hill Book Company, New York.
- Krikorian, A.D., 1989, *In vitro Culture of Bananas and Plantains, Background, Update and Call for Information*, Tropical Agricultural. 66 (3) : 194 - 199p.
- Leopold, A.C. dan P.E. Kriedemann, 1975, *Plant Growth and Development*, Tata Mc. Graw Hill Publishing Company Ltd, New Delhi.
- Makmur, A., 1988, *Pengantar Pemuliaan Tanaman*, Bina Aksara, Jakarta.

- Margaretha, M. dan M. Rumokoi, 1993, *Prospek Pemanfaatan Air Kelapa di Indonesia*, Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian XII (4): 87 - 94h.
- Martin, J.H., 1978, *Principles of Field Crop Production*, Mc Millan Publishing Co, Inc, New York.
- Meldia, Y., M. Winarno dan Sunyoto, 1992, *Pengaruh IAA dan BAP terhadap Inisiasi dan Multiplikasi Tunas pada beberapa Varietas Pisang secara In Vitro*, Penelitian Hortikultura. 5(1) : 23 - 31h.
- Noggle, G.R and G.J Fritz, 1983, *Introductory Plant Physiologi*, Prentice Hall Inc., Englewood Cliefs, New Jersey.
- Nuryani S. dan Soedjono, 1993, *Budidaya Pisang*, Dahara Price, Semarang.
- Pierik, R.L.M., 1987, *In Vitro Culture of Higher Plants*, Martinus Nijhoff Publishers, Pordrecht, Netherlands.
- Priyono dan S. Mawardi, 1993, *Kajian Penggunaan Pisang (*Musa sp.*) sebagai Penaung pada Kopi dan Kakao, Penyediaan Bibit Secara In Vitro, Penggandaan Tunas Mikro pada *Musa Paradisiaca* dalam* (S. Mawardi, Ed.), Pelita Perkebunan, Pusat Penelitian Perkebunan Jember, Jember, 9(2): 67 - 73.
- Rahardja, D.C., 1989, *Kultur Jaringan, Teknik Perbanyak Tanaman secara Modern*, Penerbit Swadaya, Jakarta.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross, 1985, *Plant Physiology third Edition*, Ward Worth Publishing Company, Belmont California.
- Sastrowijono, S., 1991, *Perkembangan Kultur Jaringan di Indonesia*, Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Gula Indonesia, Pasuruan.
- Sugiyarta E., 1991, *Persyaratan Laboratorium dan Penetapan Media pada Teknik Kultur Jaringan Tebu*, Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan.
- Sunaryono, H., 1990, *Kunci Bercocok Tanam Sayuran Penting di Indonesia*, Sinar Baru, Bandung.
- Vukov, K., 1977, *Physics and Chemistry of Sugar Beet*, in : *Sugar Beet Manufacture*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Wang, P.J., and C.Y. Hu, 1982, *In Vitro Mass Tubarization and Virus- Free Seed Potato Production in Taiwan*, Am., Potato J.59 : 33 - 37
- Wardiyati, Nur Basuki, Radian dan Soetarso, 1992, *Penggunaan Air Kelapa dalam Medium Kultur Jaringan Pisang (*Musa paradisiaca*)*, Agrivita.16(2) : 83 - 85h

- Wattimena, 1987, *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi, IPB, Bogor.
- Weaver, Robert J., 1972, *Plant Growth Substances in Agriculture*, W. H Foreman and Company, San Francisco.
- Wetherell, D.F., 1982, *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro (Edisi Bahasa Indonesia)*, IKIP Semarang Press, Semarang.
- Widiastoety, D., Syafril dan B. Haryanto, 1991, *Kultur In Vitro Anggrek Dendrodium dalam Media Cair dalam* (S. Tirtosoekotjo, Ed.), Jurnal Hortikultura, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Jakarta. 8(4) : 74 - 78.
- Wilkins, M.B. (Ed.), 1989, *Fisiologi Tanaman, (Edisi Bahasa Indonesia)*, Bina Aksara, Jakarta.
- Yitnosumarto, S., 1993, *Percobaan Perancangan, analisis, dan Interpretasinya*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yoeman, M.M and A.J Macloed, 1977, *Tissue (Callus) Culturete Tehnigues in : street, A. E., Eds, Plant Tissue and Cell Culture, Bot Monographs Vol. II*, Blackwell Scientific Publication.
- Yulianto, A., 1987, *Studi Pertumbuhan dan Kandungan Kalus Citus Auranti Folia Swinale yang Ditanam pada Media Buatan*, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya. 7(2) : 26 - 31.
- Wareing P.F. dan I.D.J Phillips, 1981, *The Control of Growth and differentiation in Plants*, Pergamon Press Ltd, New York.

Lampiran 1. Komposisi Media De-greef and Jacobs.

1	2	3(gr/l)	4(ml/l)	5(mg/l)
KNO ₃	A	20	100	2000
CaCl ₂ .2H ₂ O		3	-	300
MgSO ₄ .7H ₂ O		5	-	500
KCl		6	-	600
KH ₂ PO ₄		2.5	-	250
(NH ₄) ₂ SO ₄		4	-	400
MnSO ₄ .4H ₂ O	B	0.222	10	2.22
ZnSO ₄ .7H ₂ O		0.106	-	1.06
H ₃ BO ₃		1.062	-	10.62
KI		0.158	-	1.58
CuSO ₄ .5H ₂ O		0.250	-	2.50
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O		0.250	-	2.50
CoCl ₂ .6H ₂ O		0.250	-	2.50
FeSO ₄ .7H ₂ O	C	2.78	5	13.9
Na ₂ EDTA.2H ₂ O		3.72	-	18.6
Myo-Inositol	D	0.1	1	100
Thiamin HCl		0.01	-	10
Nicotinic Acid		0.001	-	1
Pyridoxine.HCl		0.001	-	1
Sukrosa		30		
Agar-agar		8		
Air Kelapa		*		
IAA		*		
GA ₃		*		
PH		5.8		

Keterangan:

1. Komponen nutrisi
 2. Label larutan stok
 3. Konsentrasi stok media
 4. Volume stok
 5. Konsentrasi akhir media
- *. Sesuai dengan perlakuan

Lampiran 2. Hasil Pengamatan Kedinian Terbentuknya Kalus (Hari)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	14	15	16	45	15
A ₁ P ₁ V ₀	16	15	14	45	15
A ₁ P ₀ V ₁	8	8	9	25	8,33
A ₁ P ₁ V ₁	12	15	15	42	14
A ₁ P ₀ V ₂	10	12	10	32	10,67
A ₁ P ₁ V ₂	24	22	20	66	22
A ₂ P ₀ V ₀	10	12	25	47	15,67
A ₂ P ₁ V ₀	12	14	25	51	17
A ₂ P ₀ V ₁	13	14	15	42	14
A ₂ P ₁ V ₁	16	13	14	43	14,33
A ₂ P ₀ V ₂	14	13	10	37	12,33
A ₂ P ₁ V ₂	15	16	20	51	17
A ₃ P ₀ V ₀	17	15	16	48	16
A ₃ P ₁ V ₀	20	14	17	51	17
A ₃ P ₀ V ₁	10	17	15	42	14
A ₃ P ₁ V ₁	16	20	16	52	17,33
A ₃ P ₀ V ₂	16	15	18	49	16,33
A ₃ P ₁ V ₂	21	23	20	64	21,33
Jumlah	264	273	295	832	
Rata-rata	14,67	15,17	16,39		15,41

Lampiran 3. Sidik Ragam Kedinian Terbentuknya Kalus (Hari)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	17	541,70	31,86	3,30	**	1,92	2,51
Faktor A	2	75,59	37,80	3,92	*	3,26	5,25
Faktor P	1	177,85	177,85	18,43	**	4,11	7,39
Faktor V	2	85,81	42,91	4,45	*	3,26	5,25
Interaksi AP	2	30,26	15,13	1,57	ns	3,26	5,25
Interaksi AV	4	48,30	12,07	1,25	ns	2,63	3,89
Interaksi PV	2	88,93	44,46	4,61	*	3,26	5,25
Interaksi APV	4	34,96	8,74	0,91	ns	2,63	3,89
Galat	36	347,33	9,65				
Total	53	889,04					

Keterangan :
 ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Kedinian Terbentuknya Akar (Hari)**A. Data Asli Kedinian Terbentuknya Akar (Hari)**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₁ P ₁ V ₀	0	21	26	47	15,67
A ₁ P ₀ V ₁	10	12	14	36	12
A ₁ P ₁ V ₁	22	22	23	67	22,33
A ₁ P ₀ V ₂	28	40	26	94	31,33
A ₁ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₀	20	21	0	41	13,67
A ₂ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₁	28	0	30	58	19,33
A ₂ P ₁ V ₁	0	29	29	58	19,33
A ₂ P ₀ V ₂	28	27	20	75	25
A ₂ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₁	25	0	0	25	8,33
A ₃ P ₁ V ₁	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₂	26	0	0	26	8,67
A ₃ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0

B. Data Hasil Transformasi dengan rumus $\sqrt{A+0,5}$ pada Kedinian Terbentuknya Akar

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₁ P ₁ V ₀	0,71	4,64	5,15	10,5	3,50
A ₁ P ₀ V ₁	3,24	3,54	3,81	10,59	3,53
A ₁ P ₁ V ₁	3,74	3,74	4,85	12,33	4,11
A ₁ P ₀ V ₂	5,34	6,36	5,15	16,85	5,62
A ₁ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₀	4,53	4,64	0,71	9,88	3,29
A ₂ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₁	5,34	0,71	5,52	11,57	3,86
A ₂ P ₁ V ₁	0,71	5,43	5,43	11,57	3,86
A ₂ P ₀ V ₂	5,34	5,24	4,53	15,11	5,04
A ₂ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₁	5,05	0,71	0,71	6,47	2,16
A ₃ P ₁ V ₁	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₂	5,15	0,71	0,71	6,57	2,19
A ₃ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
Jumlah	44,83	41,40	42,25	128,48	
Rata-rata	2,49	2,30	2,35		2,38

Lampiran 5. Sidik Ragam Kedonian Terbentuknya Akar (Hari).

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	17	152,09	8,95	4,05	**	1,92	2,51
Faktor A	2	37,82	18,91	8,57	**	3,26	5,25
Faktor P	1	21,56	21,56	9,78	**	4,11	7,39
Faktor V	2	18,80	9,40	4,26	*	3,26	5,25
Interaksi AP	2	7,78	3,89	1,76	ns	3,26	5,25
Interaksi AV	4	2,66	0,67	0,30	ns	2,63	3,89
Interaksi PV	2	36,23	18,11	8,21	**	3,26	5,25
Interaksi APV	4	27,25	6,811	3,09	*	2,63	3,89
Galat	36	79,46	2,21				
Total	53	231,55					

Lampiran 6. Hasil Pengamatan Jumlah Akar yang Terbentuk**Lampiran 6A. Data Asli Jumlah Akar yang Terbentuk**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₁ P ₁ V ₀	0	5	5	10	3,33
A ₁ P ₀ V ₁	27	36	16	79	26,33
A ₁ P ₁ V ₁	17	16	20	53	17,67
A ₁ P ₀ V ₂	48	43	38	129	43
A ₁ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₀	1	23	0	24	8
A ₂ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₁	5	0	7	12	4
A ₂ P ₁ V ₁	0	6	6	12	4
A ₂ P ₀ V ₂	5	5	23	33	11
A ₂ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₁	15	0	0	15	5
A ₃ P ₁ V ₁	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₂	26	0	0	26	8,67
A ₃ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0

Lampiran 6B. Data Hasil Transformasi dengan rumus $\sqrt{A+0,5}$ pada Jumlah Akar

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₁ P ₁ V ₀	0,71	2,35	2,35	5,41	1,80
A ₁ P ₀ V ₁	6,24	6,04	4,06	16,34	5,45
A ₁ P ₁ V ₁	4,18	4,06	4,53	12,77	4,26
A ₁ P ₀ V ₂	6,96	6,59	6,20	19,75	6,58
A ₁ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₀	1,22	4,85	0,71	6,78	2,26
A ₂ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₁	2,35	0,71	2,74	5,80	1,93
A ₂ P ₁ V ₁	0,71	2,55	2,55	5,81	1,94
A ₂ P ₀ V ₂	2,35	2,35	4,85	9,55	3,18
A ₂ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₁	3,94	0,71	0,71	5,36	1,79
A ₃ P ₁ V ₁	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₂	5,15	0,71	0,71	6,57	2,19
A ₃ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
Jumlah	39,49	36,6	35,09	111,18	
Rata-rata	2,19	2,03	1,95		2,06

Lampiran 7. Sidik Ragam Jumlah Akar yang Terbentuk

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	17	158,45	9,32	7,60	**	1,92 2,51
Faktor A	2	42,25	21,12	17,23	**	3,26 5,25
Faktor P	1	26,24	26,24	21,40	**	4,11 7,39
Faktor V	2	23,26	11,63	9,49	**	3,26 5,25
Interaksi AP	2	2,93	1,47	1,20	ns	3,26 5,25
Interaksi AV	4	19,50	4,88	3,98	**	2,63 3,89
Interaksi PV	2	24,71	12,35	10,08	**	3,26 5,25
Interaksi APV	4	19,59	4,90	3,99	**	2,63 3,89
Galat	36	44,14	1,23			
Total	53	202,62				

Lampiran 8. Hasil Pengamatan Panjang Akar (cm)**Lampiran 8A. Data asli Panjang Akar (cm)**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₁ P ₁ V ₀	0	0,5	0,7	1,2	0,4
A ₁ P ₀ V ₁	0,54	0,52	0,4	1,46	0,49
A ₁ P ₁ V ₁	3,5	3,4	3,2	10,1	3,37
A ₁ P ₀ V ₂	0,72	0,8	0,6	2,12	0,71
A ₁ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₀	0,7	1,07	0	1,77	0,59
A ₂ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₂ P ₀ V ₁	0,20	0	0,25	0,45	0,15
A ₂ P ₁ V ₁	0	0,3	0,7	1	0,33
A ₂ P ₀ V ₂	0,9	0,7	0,7	2,3	0,77
A ₂ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₁ V ₀	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₁	1,6	0	0	1,6	0,53
A ₃ P ₁ V ₁	0	0	0	0	0
A ₃ P ₀ V ₂	1,1	0	0	1,1	0,37
A ₃ P ₁ V ₂	0	0	0	0	0

Lampiran 8B. Data Hasil Transformasi dengan rumus $\sqrt{A+0,5}$ pada panjang akar

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₁ P ₁ V ₀	0,71	0,51	1,10	2,32	0,77
A ₁ P ₀ V ₁	1,02	1,01	0,45	2,48	0,83
A ₁ P ₁ V ₁	2,00	1,97	1,92	5,89	1,96
A ₁ P ₀ V ₂	1,10	1,14	1,05	3,29	1,10
A ₁ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₀	1,10	1,25	0,71	3,06	1,02
A ₂ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₂ P ₀ V ₁	0,84	0,71	0,87	2,42	0,81
A ₂ P ₁ V ₁	0,71	0,89	1,10	2,70	0,90
A ₂ P ₀ V ₂	1,18	1,10	1,10	3,38	1,13
A ₂ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₁ V ₀	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₁	1,45	0,71	0,71	2,87	0,96
A ₃ P ₁ V ₁	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
A ₃ P ₀ V ₂	1,26	0,71	0,71	2,68	0,89
A ₃ P ₁ V ₂	0,71	0,71	0,71	2,13	0,71
Jumlah	17,05	15,68	15,4	48,13	
Rata-rata	0,95	0,87	0,86		0,89

Lampiran 9. Sidik Ragam Panjang Akar (cm)

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	17	152,09	8,95	4,05	**	1,91	2,51
Faktor A	2	37,82	18,91	8,57	**	3,26	5,25
Faktor P	1	21,56	21,56	9,77	**	4,11	7,39
Faktor V	2	18,80	9,40	4,26	*	3,26	5,25
Interaksi AP	2	7,78	3,89	1,76	ns	3,26	5,25
Interaksi AV	4	2,66	0,66	0,30	ns	2,63	3,89
Interaksi PV	2	36,23	18,11	8,20	**	3,26	5,25
Interaksi APV	4	27,25	6,81	3,09	*	2,63	3,89
Galat	36	79,46	2,21				
Total	53	231,55					

Lampiran 10. Hasil Pengamatan Berat Basah Biomassa (gram)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0,13	0,12	0,12	0,37	0,12
A ₁ P ₁ V ₀	0,13	0,12	0,13	0,37	0,12
A ₁ P ₀ V ₁	0,40	0,40	0,41	1,21	0,40
A ₁ P ₁ V ₁	0,28	0,27	0,28	0,82	0,28
A ₁ P ₀ V ₂	0,57	0,60	0,50	1,67	0,56
A ₁ P ₁ V ₂	0,37	0,30	0,3203	0,99	0,33
A ₂ P ₀ V ₀	0,77	0,36	0,33	1,45	0,48
A ₂ P ₁ V ₀	0,39	0,42	0,32	1,13	0,37
A ₂ P ₀ V ₁	0,33	0,30	0,29	0,91	0,30
A ₂ P ₁ V ₁	0,29	0,29	0,28	0,85	0,28
A ₂ P ₀ V ₂	0,30	0,42	0,33	1,05	0,35
A ₂ P ₁ V ₂	0,20	0,12	0,15	0,47	0,16
A ₃ P ₀ V ₀	0,14	0,11	0,12	0,37	0,12
A ₃ P ₁ V ₀	0,10	0,13	0,12	0,35	0,11
A ₃ P ₀ V ₁	0,14	0,13	0,21	0,49	0,16
A ₃ P ₁ V ₁	0,18	0,21	0,13	0,52	0,17
A ₃ P ₀ V ₂	0,28	0,29	0,12	0,69	0,23
A ₃ P ₁ V ₂	0,14	0,12	0,13	0,40	0,13
Jumlah	5,14	4,73	4,27	14,13	
Rata-rata	0,28	0,26	0,24		0,26

Lampiran 11. Sidik Ragam Berat Basah Biomassa (gram)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	17	0,93	0,05	11,42	**	1,92	2,51
Faktor A	2	0,30	0,15	31,50	**	3,26	5,25
Faktor P	1	0,10	0,10	20,68	**	4,11	7,39
Faktor V	2	0,04	0,02	4,40	*	3,26	5,25
Interaksi AP	2	0,02	0,01	2,12	ns	3,26	5,25
Interaksi AV	4	0,39	0,10	2,36	ns	2,63	3,89
Interaksi PV	2	0,05	0,03	5,36	**	3,26	5,25
Interaksi APV	4	0,02	0,01	1,10	ns	2,63	3,89
Galat	36	0,17	0,004				
Total	53	1,099					

Lampiran 12. Hasil Pengamatan Berat Kering Biomassa (gram)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ P ₀ V ₀	0,0106	0,0181	0,0183	0,047	0,01567
A ₁ P ₁ V ₀	0,0117	0,0167	0,011	0,0394	0,01313
A ₁ P ₀ V ₁	0,04	0,0489	0,0245	0,1134	0,0378
A ₁ P ₁ V ₁	0,0264	0,0254	0,0214	0,0732	0,0244
A ₁ P ₀ V ₂	0,0771	0,0386	0,0575	0,1732	0,05773
A ₁ P ₁ V ₂	0,0119	0,0156	0,01269	0,04019	0,0134
A ₂ P ₀ V ₀	0,0167	0,0172	0,0612	0,0951	0,0317
A ₂ P ₁ V ₀	0,01	0,0149	0,0147	0,0396	0,0132
A ₂ P ₀ V ₁	0,0358	0,0138	0,0198	0,0694	0,02313
A ₂ P ₁ V ₁	0,0231	0,0267	0,0211	0,0709	0,02363
A ₂ P ₀ V ₂	0,0318	0,0244	0,0433	0,0995	0,03317
A ₂ P ₁ V ₂	0,0094	0,0147	0,0116	0,0357	0,0119
A ₃ P ₀ V ₀	0,0117	0,0104	0,0153	0,0374	0,01247
A ₃ P ₁ V ₀	0,0101	0,0127	0,0155	0,0383	0,01277
A ₃ P ₀ V ₁	0,0115	0,0102	0,086	0,1077	0,0359
A ₃ P ₁ V ₁	0,0277	0,0169	0,0192	0,0638	0,02127
A ₃ P ₀ V ₂	0,0239	0,0295	0,0133	0,0667	0,02223
A ₃ P ₁ V ₂	0,0244	0,0162	0,0243	0,0649	0,02163
Jumlah	0,4138	0,3709	0,49069	1,27539	
Rata-rata	0,02299	0,02061	0,02726		0,02362

Lampiran 13. Sidik Ragam Berat Kering Biomassa (gram)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	17	0,00735	0,00043	2,238181	*	1,915 2,513
Faktor A	2	0,00034	0,00017	0,880308	ns	3,260 5,250
Faktor P	1	0,00218	0,00218	11,304842	**	4,110 7,390
Faktor V	2	0,00138	0,00069	3,575878	*	3,260 5,250
Interaksi AP	2	0,00051	0,00026	1,332361	ns	3,260 5,250
Interaksi AV	4	0,00089	0,00022	1,147994	ns	2,630 3,890
Interaksi PV	2	0,00060	0,00030	1,556875	ns	3,260 5,250
Interaksi APV	4	0,00144	0,00036	1,865354	ns	2,630 3,890
Galat	36	0,00695	0,00019			
Total	53	0,01430				

Lampiran 14. Perhitungan Persentase Terbentuknya Kalus

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang membentuk kalus}}{\text{Jumlah semua eksplan}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase terbentuknya kalus} = \frac{54}{54} \times 100\% = 100\%$$

Lampiran 15. Foto Kegiatan.

