



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

**SKRIPSI**

Oleh :  
**Hiqma Widya Isnandza D.**  
**NIM 110210103025**

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



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

**SKRIPSI**

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

Oleh :  
**Hiqma Widya Isnandza D.**  
**NIM 110210103025**

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

## PERSEMBAHAN

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

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

## MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.  
(terjemahan surat *Al-Mujadalah* ayat 11) <sup>\*)</sup>

Maksimalkan hidup untuk melihat banyak hal, karena dengan melihat kebelakang kita akan menjadi lebih dewasa, dengan melihat kedepan kita akan menjadi hebat, dengan melihat kebawah kita jadi lebih bijak, dan dengan melihat keatas kita akan menjadi kuat. <sup>\*\*)</sup>

My life my adventure. <sup>\*\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

<sup>\*\*)</sup> Hiqma Widya Isnandza D.

<sup>\*\*\*)</sup> Slogan Rokok

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Hiqma Widya Isnandza D.

NIM : 110210103025

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

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

Jember, 28 Mei 2015

Yang menyatakan,

Hiqma Widya Isnandza D.

NIM 110210103025

**SKRIPSI**

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

**Oleh**

**Hiqma Widya Isnandza D.**

**NIM 110210103025**

**Pembimbing**

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

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

**PERSETUJUAN**

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

**SKRIPSI**

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

Oleh

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

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

NIP. 19650426 1994031 1 001

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

NIP. 19730614 200801 2 008

**PENGESAHAN**

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

hari : Kamis

tanggal : 28 Mei 2015

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

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

NIP. 19650426 1994031 1 001

NIP. 19730614 200801 2 008

Anggota I,

Anggota II,

Dra. Pujiastuti, M.Si.

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

NIP. 19610222 198702 2 001

NIP. 19880120 201212 1 001

Mengesahkan :

Dekan FKIP Universitas Jember,

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.

NIP. 19540501 198303 1 005



## RINGKASAN

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

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

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

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

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

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

## PRAKATA

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

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

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

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

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

Jember, Mei 2015

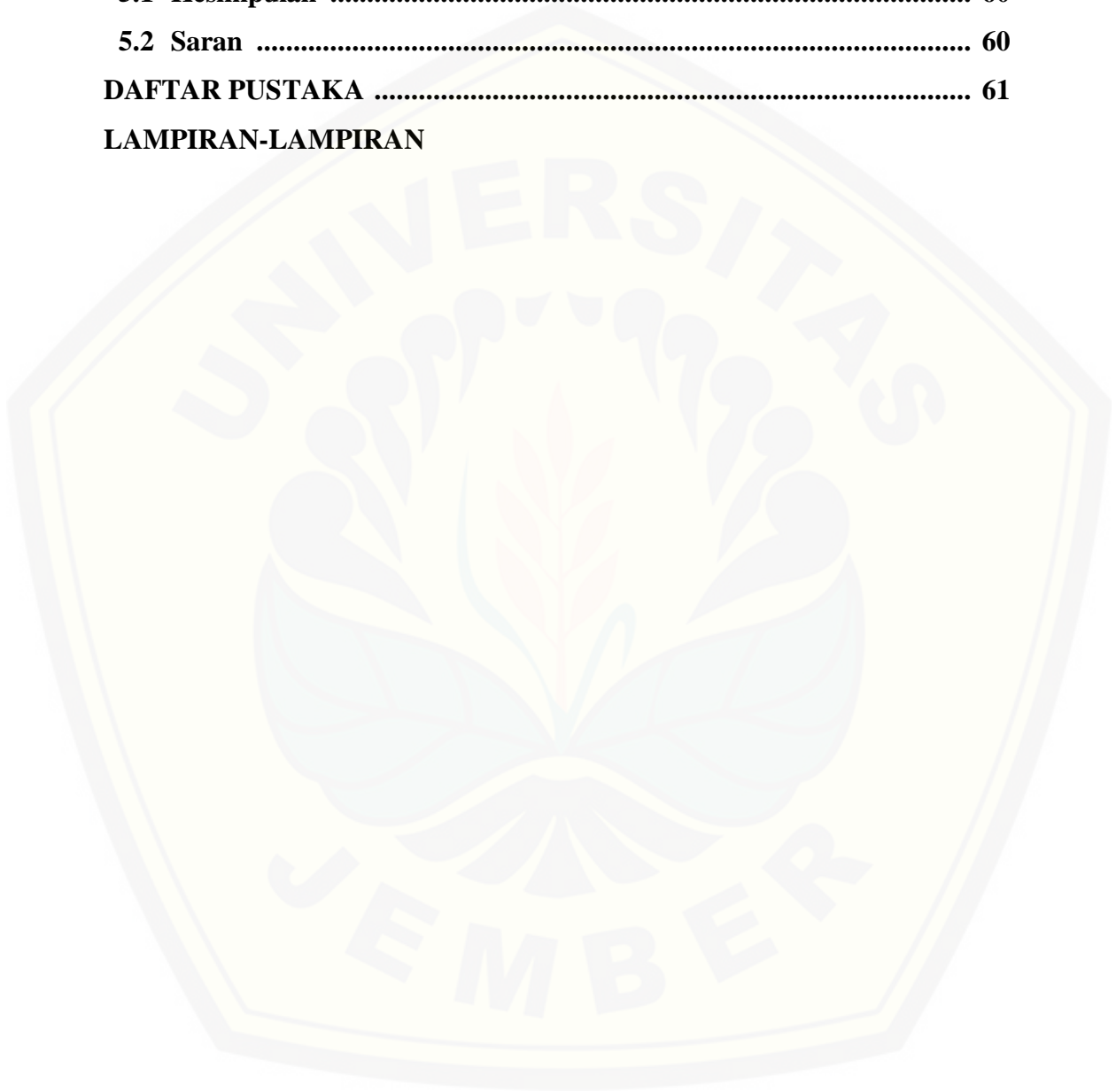
**Penulis**

DAFTAR ISI

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

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

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



DAFTAR TABEL

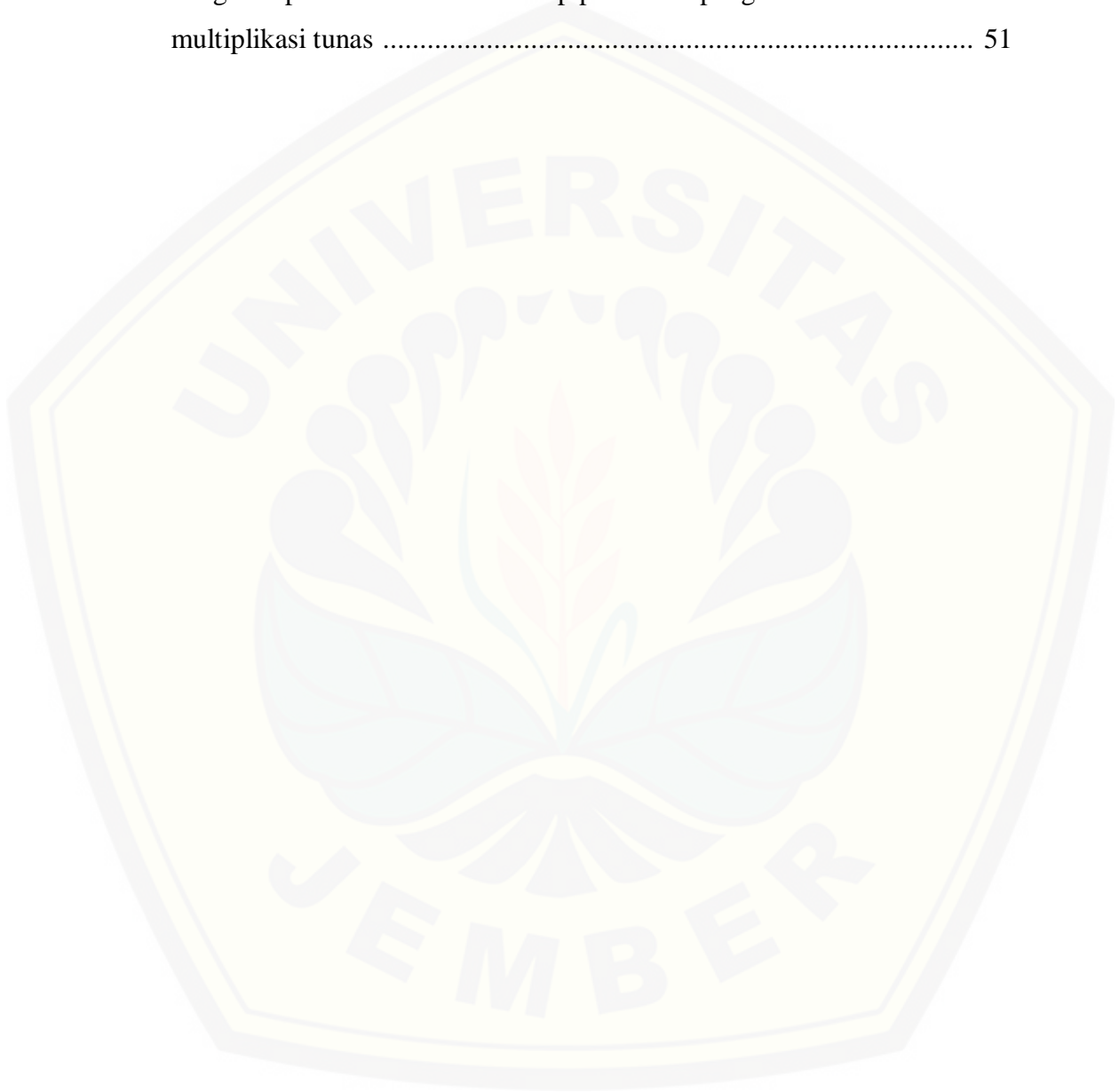
	<b>Halaman</b>
4.1 Nilai F-hitung parameter pengamatan tahap multiplikasi tunas .....	29
4.2 Rata-rata kedinian tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah daun dan berat basah (gr) .....	29
4.3 Rata-rata persentase eksplan bertunas umur 3 MST dan 7 MST .....	33
4.4 Nilai F-hitung parameter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



DAFTAR GAMBAR

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

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

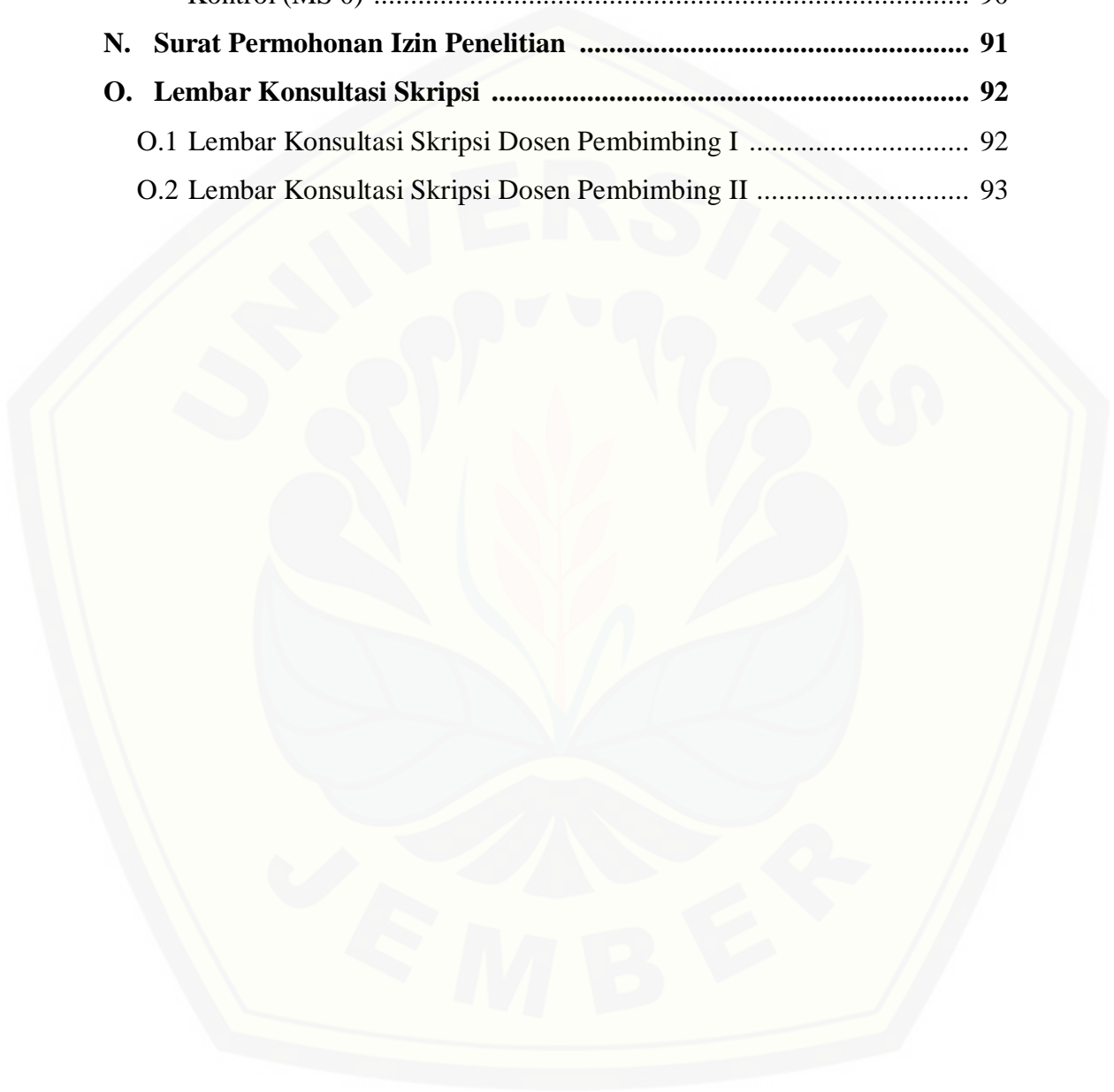


DAFTAR LAMPIRAN

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

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

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



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

## 1.2 Rumusan Masalah

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

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

## 1.3 Batasan Masalah

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

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

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

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

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

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

### **1.5 Manfaat Penelitian**

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

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

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

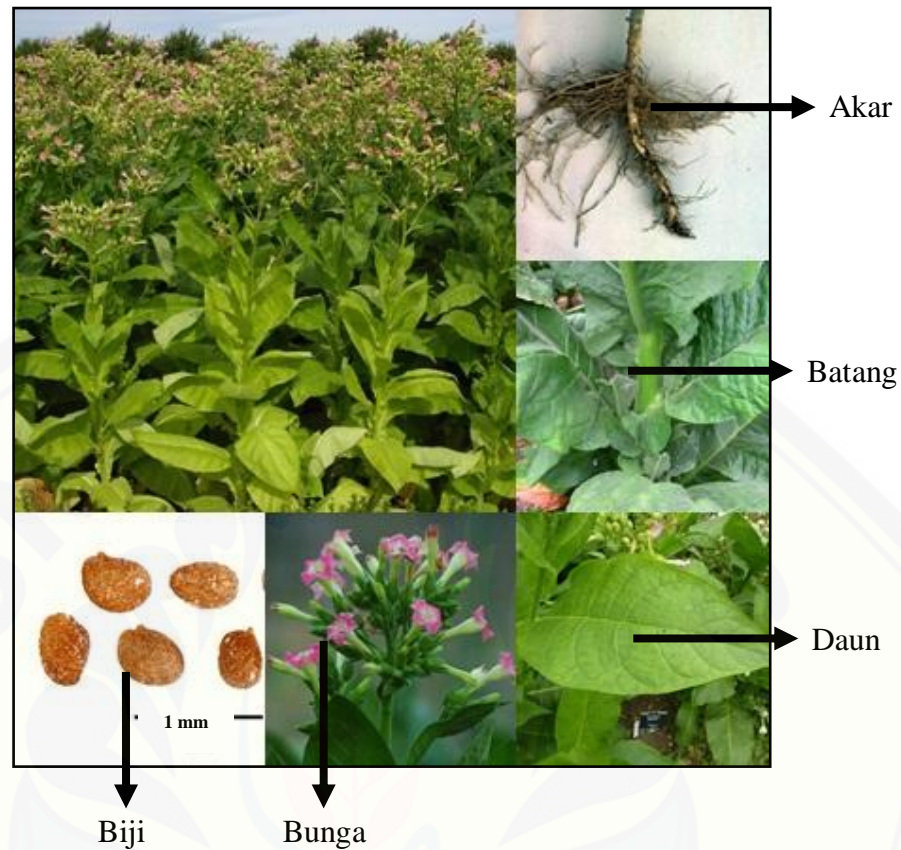
### 2.1 Botani Tanaman Tembakau

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

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

(Plantamor, 2012)

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



Gambar 2.1 Struktur morfologi tembakau  
(Sumber: [www.gobotany.newenglandwild.org](http://www.gobotany.newenglandwild.org))

a. Akar

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

b. Batang

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

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

c. Daun

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

d. Bunga, Buah dan Biji

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

## 2.2 Syarat Tumbuh Tanaman Tembakau

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

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

### 2.3 Karakteristik Tembakau Varietas TS3



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

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

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

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

#### **2.4 Teknik *In Vitro* (Kultur Jaringan)**

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

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



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

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

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

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

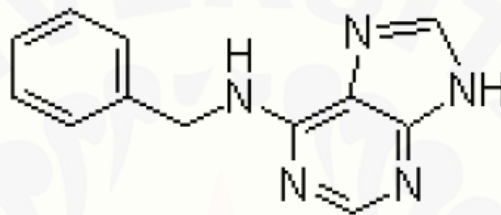
## 2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) untuk Tanaman Tembakau

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

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

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

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



Gambar 2.3 Struktur kimia BAP (Sari, 2008)

BAP didalam kultur jaringan akan memicu terjadinya pembelahan dan diferensiasi sel seperti halnya fungsi sitokinin pada umumnya. Mekanisme kerja BAP sama dengan mekanisme kerja sitokinin alami pada tumbuhan, yakni BAP yang terdapat didalam media kultur jaringan akan diserap oleh eksplan dan akan mencari jaringan target dengan bergerak naik dalam getah xilem. BAP akan terus mendorong kebagian ujung dengan menghambat pembentukan akar, kemudian akan menekan terjadinya regenerasi sel-sel baru dibagian ujung dan membentuk struktur pertunasan (Campbell, 2005). Hal tersebut seperti penelitian tentang multiplikasi tunas yang dilakukan oleh Raghu dkk (2011) menunjukkan bahwa media yang baik digunakan adalah media yang mengandung 0,5 ppm BAP dan 0,1 ppm GA<sub>3</sub>.

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

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

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

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

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

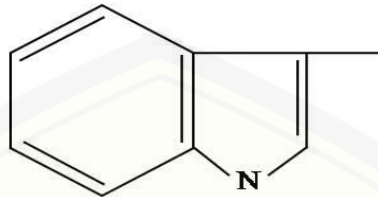
namun tidak akan terspesialisasi. Tetapi jika sitokinin ditambahkan bersama dengan auksin, sel-sel akan membelah dan terspesialisasi (Campbell, 2005).

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

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

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

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



Gambar 2.4 Struktur kimia IBA (Wilkins, 1992)

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

## 2.6 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah :

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

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

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

### 3.2 Variabel Penelitian

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

### 3.3 Definisi Operasional

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

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

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



### 3.4 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1 Alat Penelitian

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

#### 3.4.2 Bahan Penelitian

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

### 3.5 Rancangan Penelitian

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

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

Keterangan :

$i$  : 1, 2, .....,  $t$  (perlakuan)

$j$  : 1, 2, .....,  $r$  (ulangan)

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

$\mu$  : Nilai rata-rata umum

$\alpha_i$  : Pengaruh perlakuan ke- $i$

$\varepsilon_{ij}$  : Pengaruh acak pada perlakuan ke- $i$  ulangan ke- $j$

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

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

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

### **3.6 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.6.1 Sterilisasi Alat**

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

#### **3.6.2 Pembuatan Media dan Sterilisasi Media**

##### **a. Pembuatan media dan sterilisasi media tahap multiplikasi tunas**

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

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

b. Pembuatan media dan sterilisasi media tahap induksi akar

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

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

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

### 3.6.3 Sterilisasi Eksplan dan Penanaman Eksplan pada Media

#### a. Tahap multiplikasi tunas

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

#### b. Tahap induksi akar

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

### 3.6.4 Pemeliharaan

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

### 3.6.5 Aklimatisasi

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

## 3.7 Parameter Pengamatan

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

### 3.7.1 Multiplikasi tunas

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

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

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

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

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

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

### 3.7.2 Induksi akar

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

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

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

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

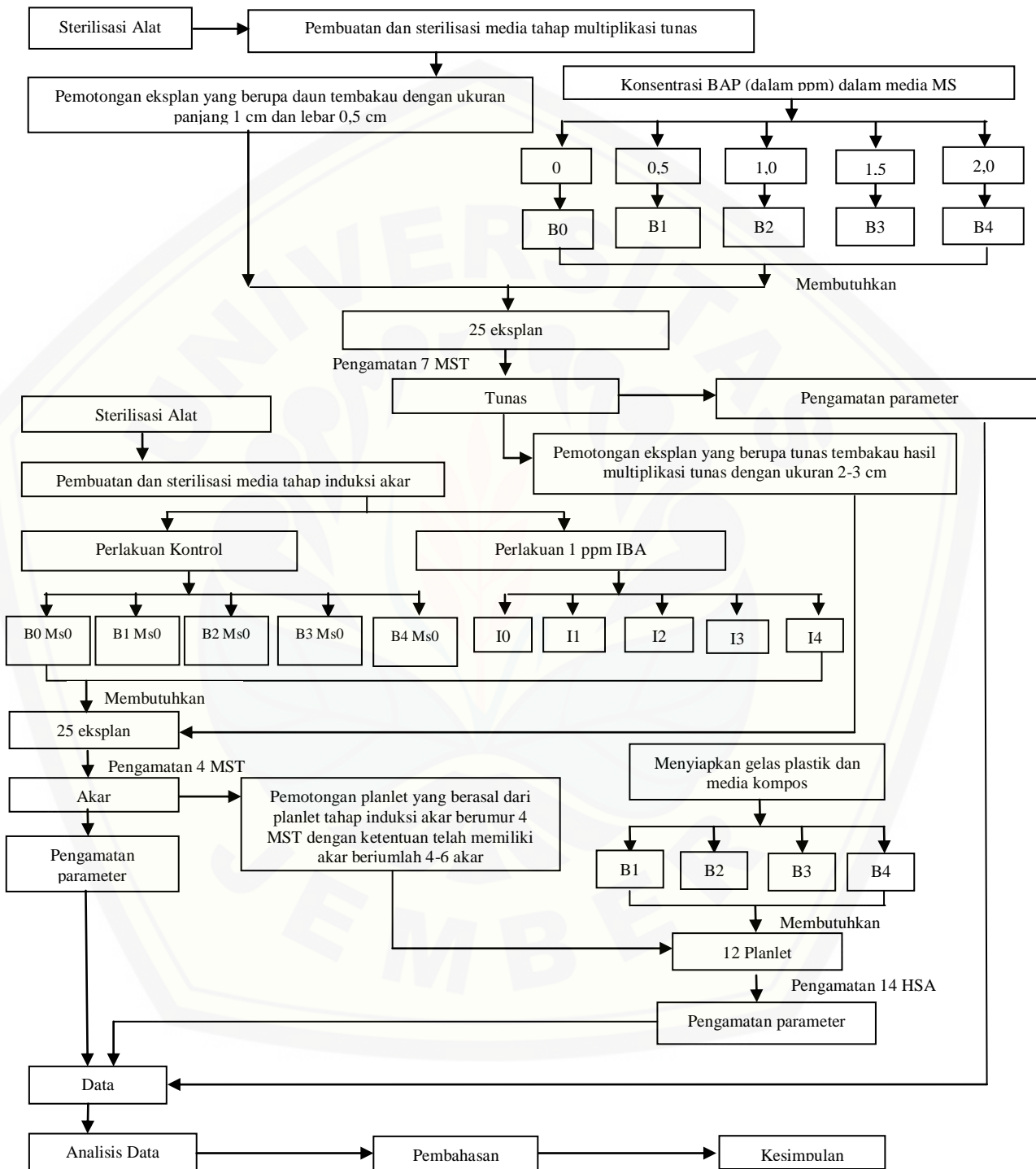
$$(\%) \text{ Berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berkalus}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100 \%$$

### 3.7.3 Aklimatisasi

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

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

### 3.8 Skema Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema alur penelitian