



**KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4 D DAN BAP TERHADAP
INDUKSI KALUS CABE JAMU (*Piper retrofractum* Vahl)**

SKRIPSI

Oleh :

**RIFATUL AWWALIYAH
111510501014**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4 D DAN BAP TERHADAP
INDUKSI KALUS CABE JAMU (*Piper retrofractum* Vahl)**

SKRIPSI

Oleh :

**RIFATUL AWWALIYAH
111510501014**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4 D DAN BAP TERHADAP
INDUKSI KALUS CABE JAMU (*Piper retrofractum* Vahl)**

SKRIPSI

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

Oleh :

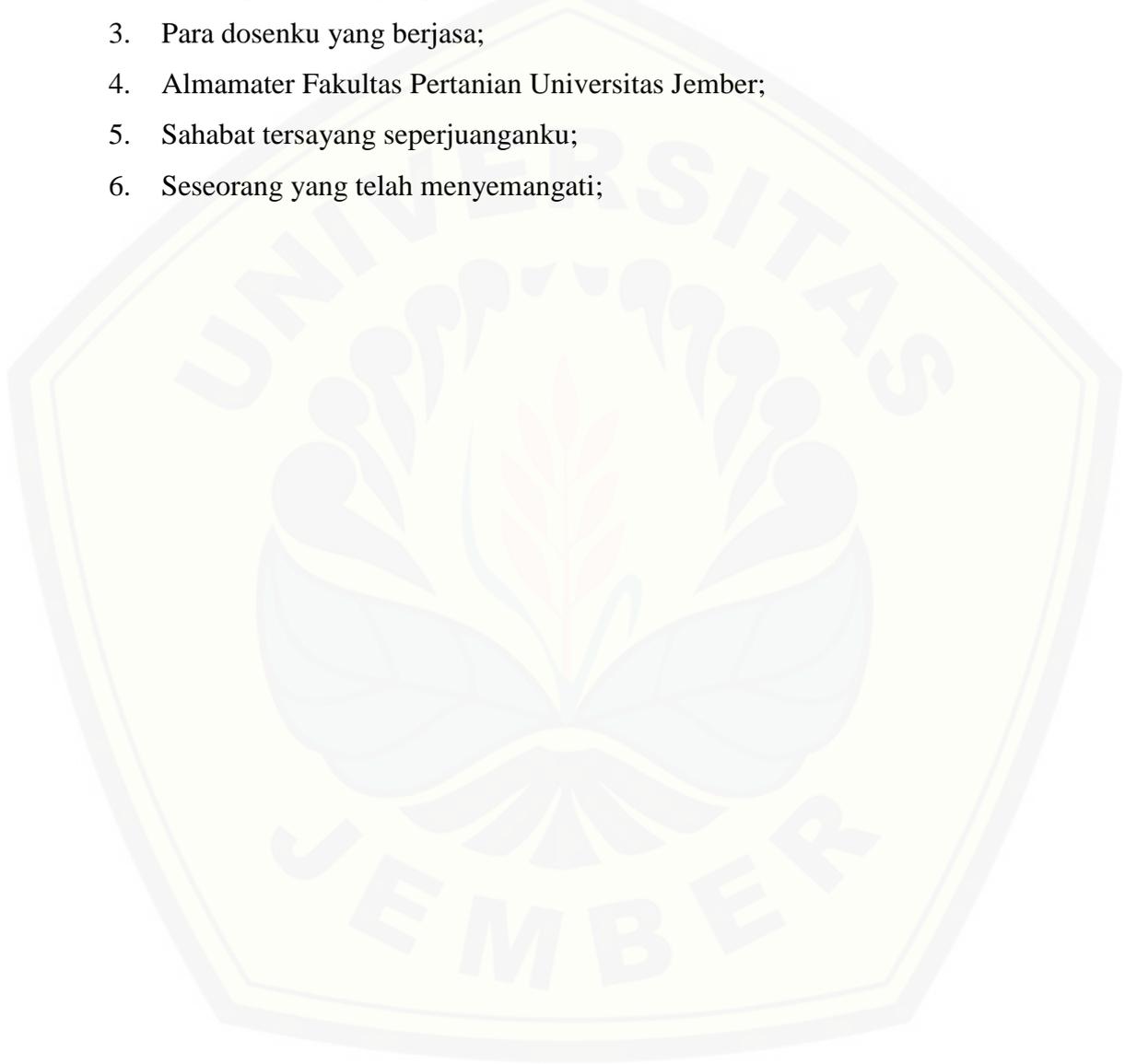
**Rifatul Awwaliyah
111510501014**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

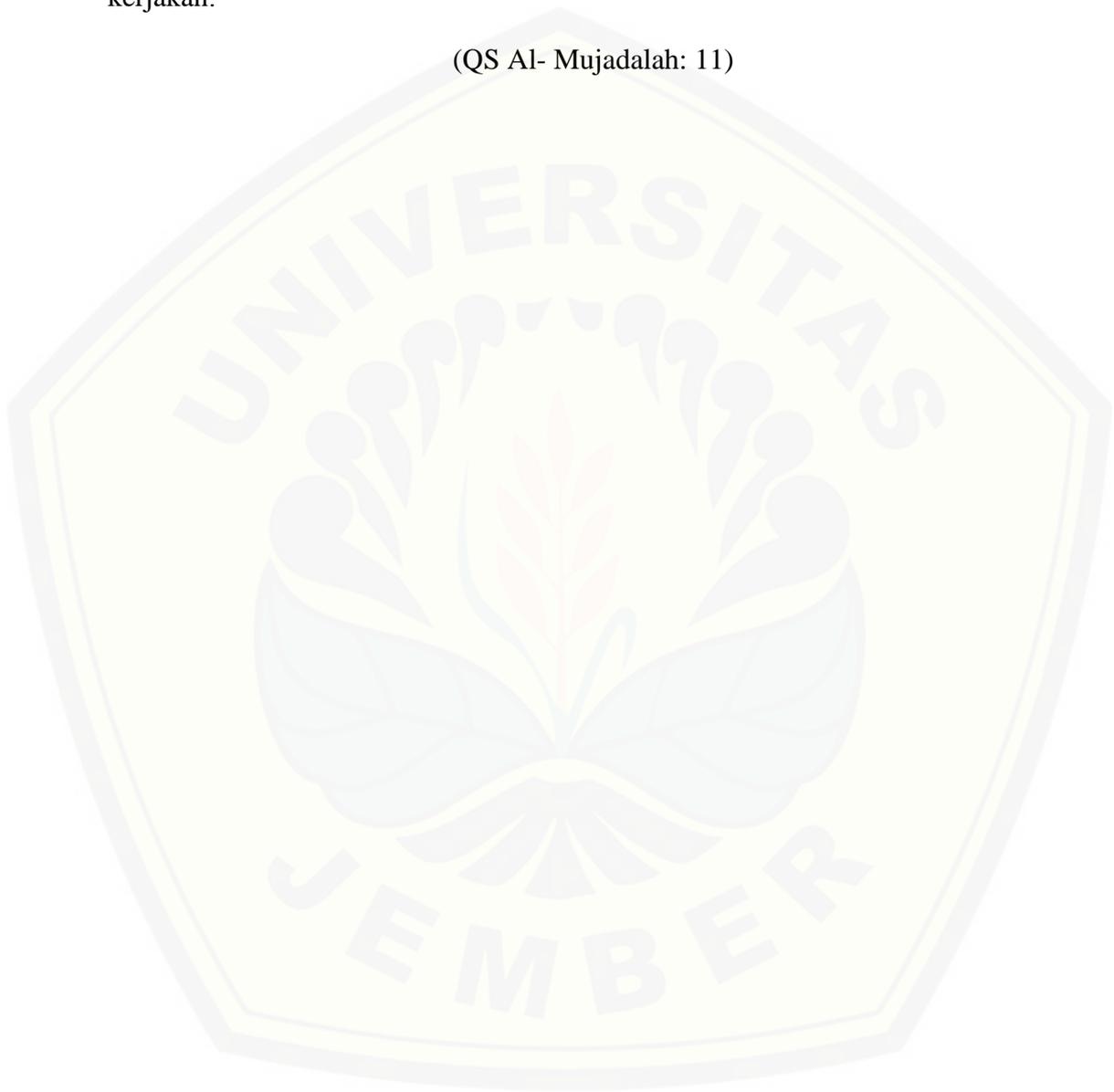
1. Ibu dan Bapak tercinta;
2. Keluarga besarku yang telah mendukungku;
3. Para dosenku yang berjasa;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember;
5. Sahabat tersayang seperjuanganku;
6. Seseorang yang telah menyemangati;



MOTO

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

(QS Al- Mujadalah: 11)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rifatul Awwaliyah

NIM : 111510501014

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “*Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Cabe Jamu (Piper retrofractum Vahl)*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

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

Jember, Februari 2016
Yang Menyatakan,

Rifatul Awwaliyah
NIM. 111510501014

SKRIPSI

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4 D DAN BAP
TERHADAP INDUKSI KALUS
CABE JAMU (*Piper retrofractum* Vahl)**

Oleh :

**Rifatul Awwaliyah
111510501014**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Halimatus Sadiyah, S.Si., M.Si.
NIP : 197908042005012003

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Cabe Jamu (*Piper retrofractum* Vahl)**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Februari 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

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

Dosen Pembimbing Anggota,

Halimatus Sadiyah, S.Si., M.Si.
NIP. 197908042005012003

Dosen Penguji,

Ir. Hidayat Bambang Setyawan, MM.
NIP. 195707071984031004

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Cabe Jamu (*Piper retrofractum* Vahl); Rifatul Awwaliyah, 111510501014; 2015: Halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Sektor pertanian merupakan salah satu unggulan yang dimiliki oleh negara Indonesia. Penduduk Indonesia sebagian besar bekerja sebagai petani untuk memenuhi kebutuhan pangan maupun ekonomi. Tanaman cabe jamu (*Piper retrifractum* vahl) salah satu tanaman yang dapat menunjang pembangunan ekonomi karena memiliki nilai ekonomi tinggi. Industri-industri pembuatan obat menggunakan cabe jamu sebagai bahan dasar pembuatan obat, sehingga banyak permintaan pasar untuk memenuhi kebutuhan tersebut baik di dalam dan luar negeri.

Cabe jamu merupakan famili dari Piperaceae yang masuk dalam golongan Piper yang masih memiliki kemiripan dengan tanaman lada (*Piper nigrum*) dan sirih (*Piper bettle*). Tanaman cabe jamu, lada dan sirih adalah tanaman yang tumbuhnya menjalar, bentuk daun ketiga tanaman tersebut memiliki bentuk yang sama. Tanaman cabe jamu berguna untuk kesehatan yang dapat menyembuhkan penyakit seperti beri-beri, kejang perut, masuk angin dan darah rendah. Prospek pengembangan cabe jamu untuk budidaya tanaman membutuhkan suatu teknologi kultur jaringan, dengan cara mengkombinasikan ZPT 2,4 D dan BAP untuk langkah awal menghasilkan tanaman yang memiliki kualitas baik, bebas penyakit dan seragam.

Tujuan perbanyakan bibit cabe jamu dalam penelitian ini adalah langkah awal untuk mengetahui konsentrasi 2,4 D, BAP dan interaksinya yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan induksi kalus cabe jamu melalui kultur jaringan. Untuk mencapai tujuan tersebut maka dari itu dilaksanakan penelitian ini di laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, mulai tanggal 01 Februari sampai dengan 30 November 2015.

Penelitian ini menggunakan eksplan daun muda tanaman cabe jamu. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang

terdiri dari 2 (dua) faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi 2,4 D terdiri dari 4 (empat) taraf, yaitu A_0 (tanpa pemberian 2,4 D/ kontrol 0 ppm), A_1 (konsentrasi 2,4 D 0,5 ppm), A_2 (konsentrasi 2,4 D 1 ppm), dan A_3 (konsentrasi 2,4 D 1,5 ppm). Faktor kedua yaitu konsentrasi BAP terdiri dari 3 (tiga) taraf yaitu B_0 (tanpa konsentrasi BAP/ kontrol 0 ppm), B_1 (konsentrasi BAP 1 ppm) dan B_2 . Percobaan ini disusun secara faktorial yang diulang sebanyak 5 (lima) kali. Data dianalisis dengan Anova apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ)/Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dapat membentuk kalus dengan cepat terdapat pada perlakuan A_3B_0 (2,4 D 1,5 ppm) dengan rata-rata 22,8 hari eksplan membentuk kalus. Kalus terbaik hasil pengamatan variabel warna dan tekstur kalus pada perlakuan A_1B_1 (2,4 D 0,5 ppm dan BAP 1 ppm) memiliki tekstur friabel dan warna yang kuat. Namun kombinasi antara 2,4 D dan BAP belum menunjukkan pertumbuhan kalus yang optimal pada kecepatan terbentuknya kalus, berat kalus, warna kalus dan tekstur kalus.

Kata Kunci : *Kultur Jaringan*, cabe jamu, zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP.

SUMMARY

The Effect of Plant Growth Promoter 2,4 D and BAP to Callus Induction of Long Pepper (*Piper retrofractum* Vahl); Rifatul Awwaliyah, 11510501014, 2015: ... pages; Study Program of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember.

Agricultural sector is one of the featured sectors in Indonesia. Most of Indonesian work as farmers to fulfill either their food or economic. Long pepper (*P. retrofractum* Vahl) is a plant which potentially bears the economic development because of its high value. Medical industries use long pepper as the main materials, so impact on many market demand to fulfill the needs either domestics or overseas.

Long pepper belongs to Piperaceae family and include in Piper genus which characteristically similar with black pepper (*P. nigrum*) and betel pepper (*P. betel*). Long pepper, black pepper, and betel pepper are belonging as vine plants, even the leaves sharp of those three peppers are the same. Long pepper is usually used for medicine which believed to cure some diseases such as beriberi, abdominal epilepsy, colds, and low blood pressure. The prospect of this plant for cultivation needs tissue culture technic by the combination of 2,4 D and BAP as the first step of yielding good quality, uniform, and resistant plants.

The objective of long pepper seedling in this research was the first step to determine the combination of 2,4 D, BAP and their optimum interactions for the growth and development of long pepper callus induction through tissue culture technic. To fulfill those objectives, thus this research was conducted in Tissue Culture Laboratory, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Jember started from 1st February till 30th November 2015.

This research was using young leaves explant of long pepper. This research used Completely Randomized Design (CRD) factorial consisted of two factors. The first factor was the concentration of 2,4 D which consisted of four levels, namely A₀ (without 2,4 D addition/ control 0 ppm), A₁ (0,5 ppm 2,4 D concentration), A₂ (1 ppm 2,4 D concentration), and A₃ (1,5 ppm 2,4 D concentration). The second factor was the concentration of BAP which consisted

of 3 levels, namely B₀ (without BAP addition/ control 0 ppm), B₁ (1 ppm BAP concentration), and B₂ (2 ppm BAP concentration). This research was arranged as factorially and replicated 5 times. The data was analyzed using ANOVA and further significant result then continued using Tukey's HSD test with 95% confidence level.

The result shown that the finest treatment was able to formed callus fast on A₃B₀ treatment (1,5 ppm of 2,4 D) with callus formed in 22,8 days average. The finest callus based on the color and texture variables was on A₁B₁ treatment (0,5 ppm 2,4 D with 1 ppm BAP). It had friable texture and strong color. However, the combination of 2,4 D and BAP didn't show any optimum growth of callus on the callus formation rate, callus weight, callus color, and callus texture.

Keyword(s): *2,4 D, BAP, Long Pepper, Plant Growth Promoter, Tissue Culture.*

PRAKATA

Segala puji bagi Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala petunjuk, karunia dan jalan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "*Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4 D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Cabe Jamu (Piper retrofractum Vahl)*". Penyusunan karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

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

1. Dr. Ir. Jani Januar selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak mendidik saya, dan telah mengajarkan segala hal baik berupa bimbingan dan nasehat sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Halimatus Sadiyah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.
4. Ir. Hidayat Bambang Setyawan, MM. selaku Dosen Penguji, terima kasih atas bimbingan, dan nasehat yang di berikan.
5. Ir. Gatot Subroto M.P. selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih atas bimbingan, nasehat, serta motivasi yang diberikan hingga akhir semester.
6. Orang tuaku tercinta, Yusmianto dan Umi Fadzilah atas doa yang tiada pernah henti, dukungan semangat, nasehat, kasih sayang, dan dukungan material serta moril yang telah diberikan sehingga terselesaikannya skripsi ini. Tiada kata yang bisa mengungkapkan rasa terima kasihku atas apa yang telah kalian berikan.
7. Keluarga besar tersayang, Hj. Siti Rohmah, Mir'atul Khasanah, Ali Shodiqin, Imam Khumaidi, Ahmad Ubaidillah, Elmina Sakhifah S, Akmal Rijal M. dan lainnya yang tidak dapat kusebutkan, terimakasih atas dukungan, semangat,

bantuan moril yang telah kalian berikan selama perjuanganku menggapai pendidikan tinggi.

8. Terimakasih kepadamu Rahmatu Samsul Hadi yang tak jenuh memberikan semangat bagiku.
9. Sahabatku tercinta Putri Septiana H. N., Derry Marhaendar Mayang, Lutfi Handayani, Septi Nuning Kumalasari, Liswatun Hasanah, Robi'atul A., Rizky Aprilia Poetry, Kanatin Ni'mah dan Ainifatin terimakasih atas segala yang telah kalian berikan, semangat, kenangan, dan kasih sayang kalian yang takkan terlupakan.
10. Teman-teman Agroteknologi 2011, terima kasih semua kenangan kita akan tetap terlukis dihati ini, semoga kita semua tetap diberikan waktu untuk bertemu kembali, kelak dengan keadaan yang lebih sukses.
11. Saudara-saudaraku keluarga besar 117 A Rosydatul Umami, Siti Aisyatus S., Hajar, Hilma, Aulia Sulistya, Ulfi, Dwi dan Fina yang telah memberikan kesan, saat pikiran ini mulai jenuh mereka hadir untuk berbagi tawa dan pengalaman berharga saat berkumpul serta memberikan pengalaman hidup yang luar biasa.
12. Teman-teman Laboratorium Kultur Jaringan Zayyan Lutfhyah, Vidda Ryend, Pretty Ayuning, Ayu Vitrian, Hikma, Deni, Devina, Azalia, Mbak Fitri, Mbak Neli, Yufika Margareta, Rani, Rahma, Ulya, dan Jerry terimakasih atas bantuan dari kalian yang mungkin tak pernah kulupakan dan terimakasih juga kepada Pak Budi (teknisi Laboratorium) yang telah ikut serta membimbing dalam penelitianku.

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

Jember, Februari 2016

Penulis,

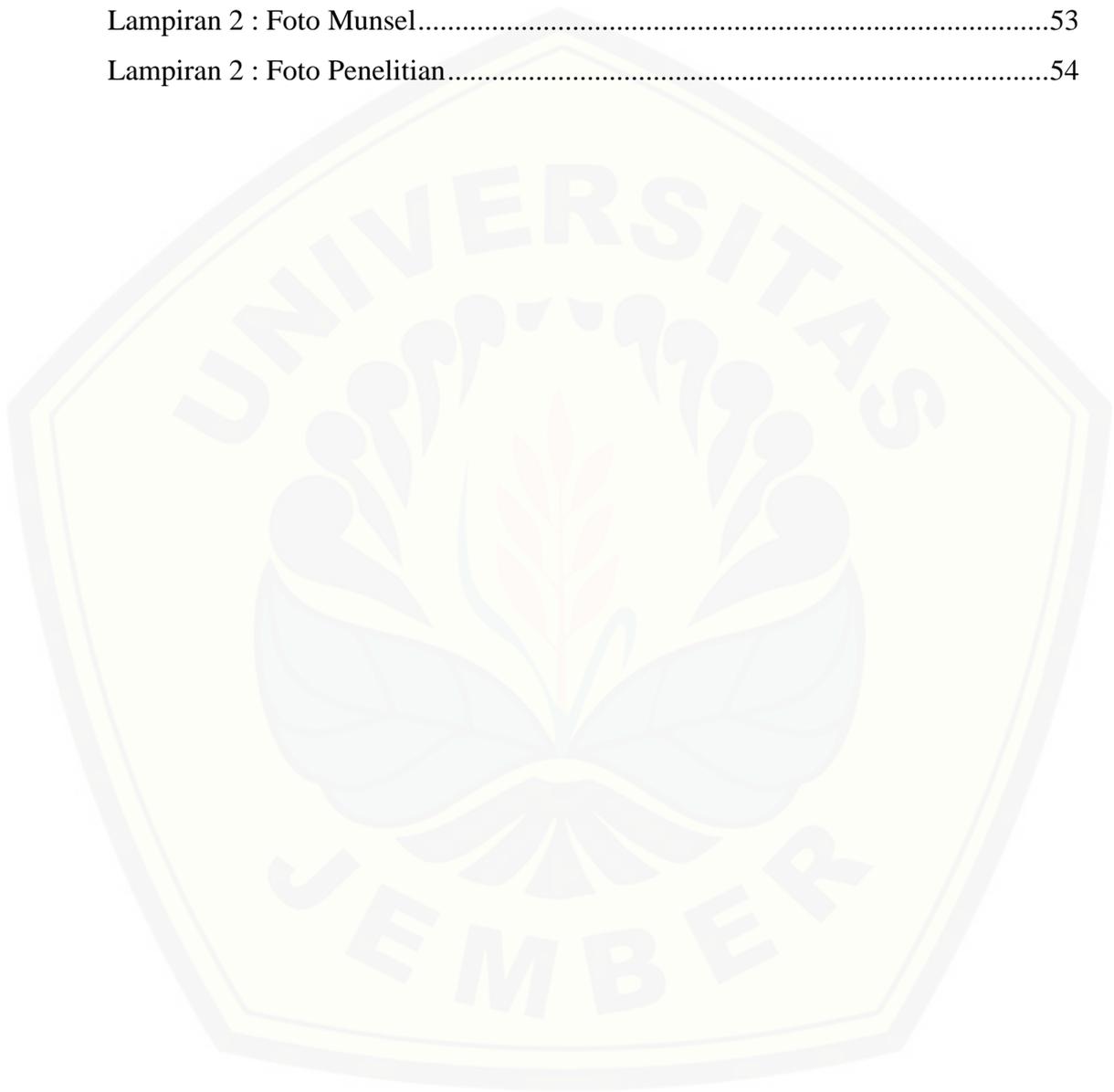
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Cabe Jamu	4
2.2 Perbanyak Tanaman dengan Kultur Jaringan	6
2.3 Media Kultur Jaringan	8
2.4 Komposisi Media	9
2.5 Hipotesis	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Rancangan Percobaan	13

3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	14
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	14
3.4.2 Pembuatan Media	14
3.4.3 Sterilisasi Eksplan.....	15
3.4.4 Penanaman Eksplan	16
3.4.5 Tahapan Induksi Kalus	16
3.4.6 Tahapan Induksi Tunas	16
3.4.7 Pemeliharaan Tanaman.....	16
3.5 Variabel Pengamatan	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Eksplan Cabe Jamu	19
4.2 Sterilisasi Eksplan.....	19
4.3 Pengaruh ZPT 2,4 D Dan BAP Terhadap Induksi Kalus Tanaman Cabe Jamu (<i>Piper retrofractum</i> Vahl).....	25
a. Kecepatan Terbentuknya Kalus (Hari)	27
b. Berat Kalus	33
c. Warna Kalus.....	36
d. Tekstur Kalus.....	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Analisis Data	49
Lampiran 2 : Foto Munsel.....	53
Lampiran 2 : Foto Penelitian.....	54



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Cabe Jamu	5
Gambar 2.2 Keragaman Buah dan Daun Cabe Jamu	6
Gambar 4.1 Eksplan Cabe Jamu	19
Gambar 4.2 Kontaminasi Eksplan Sterilisasi 1	20
Gambar 4.3 Kontaminasi Eksplan Sterilisasi 2	21
Gambar 4.4 Kontaminasi Eksplan Sterilisasi 3	22
Gambar 4.5 Hasil Dari Masing-Masing Teknik Sterilisasi	22
Gambar 4.6 Kontaminasi Bakteri dan Jamur	24
Gambar 4.7 Tahapan Eksplan Berkalus	28
Gambar 4.8 Pengaruh Pemberian Konsentrasi 2,4 D Pada BAP Yang Sama Terhadap Kecepatan Terbentuknya Kalus	32
Gambar 4.9 Pengaruh Pengaruh Pemberian Konsentrasi BAP Pada 2,4 D Yang Sama Terhadap Kecepatan Terbentuknya Kalus	32
Gambar 4.10 Pengaruh 2,4 D Terhadap Berat Kalus	35
Gambar 4.11 Perbedaan Warna Kalus Dari Beberapa Perlakuan	38
Gambar 4.12 Perubahan Warna Kalus	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1	Komposisi Larutan Stok MS.....15
Tabel 4.1	Hasil Analisis Ragam.....26
Tabel 4.2	Rangkuman Uji Tukey Pada Pengaruh Faktor A Pada B Yang sama Terhadap Kecepatan Terbentuknya Kalus29
Tabel 4.3	Rangkuman Uji Tukey Pada Pengaruh Faktor B Pada A Yang sama Terhadap Kecepatan Terbentuknya Kalus30
Tabel 4.4	Hasil Uji Tukey Pada Pengaruh 2,4 D Terhadap Berat Kalus.....34
Tabel 4.5	Munsel Warna Kalus Cabe Jamu37
Tabel 4.6	Skoring Tekstur Kalus Cabe Jamu.....40

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki keunggulan utama di sektor pertanian, dimana sebagian besar penduduk Indonesia bekerja sebagai petani. Sektor pertanian berperan penting dalam meningkatkan kesejahteraan nasional yang berhubungan dengan pembangunan ekonomi di dalam pasar domestik maupun global. Pembangunan ekonomi melalui sektor pertanian yang mencakup tanaman pangan, perkebunan, perikanan dan peternakan menjadi sektor andalan. Salah satunya yaitu sektor perkebunan yang memiliki sub sektor untuk penyerapan tenaga kerja dan membutuhkan bahan baku untuk industri pengolahan yang berperan dalam kelestarian lingkungan hidup.

Salah satu komoditi pertanian yang dapat menunjang pembangunan ekonomi yaitu tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl). Tanaman cabe jamu merupakan famili dari Piperaceae dari golongan Piper yang memiliki kemiripan dengan tanaman lada (*Piper nigrum*) dan sirih (*Piper bettle*). Tanaman cabe jamu berguna untuk penyembuhan penyakit seperti beri-beri, kejang perut, masuk angin dan obat kuat. Cabe jamu sebagai bahan baku obat-obatan dan paling banyak dibutuhkan oleh industri pengolahan obat-obatan, yang tidak hanya dibutuhkan didalam negeri tapi juga di ekspor, sehingga cabe jamu memiliki nilai ekonomi tinggi.

Perkembangan industri cabe jamu di Indonesia sangat pesat dengan adanya permintaan untuk kebutuhan obat-obatan penduduk dunia. Di sisi lain peluang ekspor cabe jamu juga cukup besar, selain dibutuhkan sebagai bahan baku pembuatan obat yang sangat berpengaruh bagi kesehatan manusia. Selain itu Indonesia merupakan negara yang memiliki iklim tropis dan lahan yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman cabe jamu sehingga menghasilkan produktifitas yang tinggi dibandingkan dengan negara lain.

Budidaya tanaman cabe jamu sangat memberikan peluang usaha bagi para petani. Permintaan akan kebutuhan industri pengolahan obat-obatan dari tahun ke

tahun meningkat pesat namun produksinya masih belum bisa mencukupi kebutuhan pasar. Menurut data dari Dinas Kehutanan dan Perkebunan Sumenep (2012) hasil produksi cabe jamu sebesar 8500 ton. Namun produksi cabe jamu tersebut belum dapat memenuhi permintaan karena produksinya masih rendah (Runhayat dan Taryono, 2008). Oleh karena itu dibutuhkan teknologi teknik budidaya yang tepat untuk dapat meningkatkan produktifitas tanaman cabe jamu dengan cara penyediaan bibit.

Prospek pengembangan budidaya tanaman cabe jamu membutuhkan suatu teknologi budidaya dengan cara penyediaan bibit yang memiliki kualitas baik, bebas penyakit dan tanaman seragam sehingga diharapkan dapat meningkatkan produktifitas. Penyediaan bibit cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) dapat dikembangkan melalui teknik kultur *in vitro*, karena biasanya cabe jamu diperbanyak dengan teknik stek menggunakan bagian tanaman yaitu batang tanaman tersebut dan selain itu perbanyak juga dapat dilakukan menggunakan buah. Namun dengan cara perbanyak melalui stek maupun buah membutuhkan waktu yang relatif lama untuk tumbuh menjadi tanaman sekitar 4-6 bulan dan tidak seragam pertumbuhannya.

Tujuan perbanyak bibit tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) secara kultur *in vitro* mengarahkan peneliti untuk melakukan perbanyak tanaman cabe jamu dengan disesuaikan kebutuhan pasar yang semakin meningkat. Alasan utama pada penelitian ini menggunakan tanaman cabe jamu sebagai bahan perbanyak bibit, dikarenakan tanaman cabe jamu merupakan salah satu tanaman obat yang masih belum dikembangkan secara luas, padahal permintaan cabe jamu cukup tinggi dikarenakan manfaatnya untuk campuran ramuan obat dan kosmetik. Penyediaan bibit tanaman melalui teknik perbanyak kultur *in vitro* tidak hanya dilakukan dengan tujuan perbanyak bibit tanaman cabe jamu, akan tetapi untuk memperoleh bibit tanaman bermutu baik serta seragam dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat. Perbanyak menggunakan teknik kultur *in vitro* pada kondisi steril dengan adanya penambahan zat pengatur tumbuh berbagai konsentrasi pada media yang dapat mendukung pertumbuhan organ tanaman.

Jenis ZPT yang digunakan adalah 2,4 D dan BAP yang berperan dalam pembentukan kalus, sehingga dengan adanya eksplan cabe jamu yang ditanam diharapkan dapat menjadi sebuah tanaman lengkap, sehat dan selanjutnya dalam budidaya tanaman berproduktifitas tinggi. Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang perbanyakan tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) secara kultur *in vitro*. Penambahan zat pengatur tumbuh dalam penelitian ini diharapkan mampu memperoleh konsentrasi zat pengatur tumbuh terbaik yang sesuai untuk induksi kalus cabe jamu yang baik.

1.2 Rumusan Masalah

Permintaan pasar yang menginginkan kualitas buah dan produktifitas tanaman tinggi mengakibatkan adanya permintaan bibit berkualitas baik dan seragam semakin meningkat, sehingga dibutuhkan solusi untuk mengatasi masalah tersebut. Salah satu solusi yang dapat ditawarkan yaitu melalui perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur *in vitro*. Diharapkan dalam hal ini mampu menghasilkan tanaman yang memiliki kualitas baik dan juga mencukupi permintaan pasar. Langkah awal penelitian ini diarahkan pada induksi tanaman cabe jamu (*Piper retrifractum* Vahl) dengan cara mengkombinasikan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan BAP yang dapat menginduksi pertumbuhan kalus dari eksplan tanaman cabe jamu.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui konsentrasi 2,4 D yang berpengaruh baik terhadap pertumbuhan kalus cabe jamu secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi BAP yang berpengaruh baik terhadap induksi kalus cabe jamu secara *in vitro*.
3. Memperoleh konsentrasi 2,4 D dan BAP yang tepat terhadap induksi kalus.

1.4 Manfaat

Untuk mengetahui konsentrasi 2,4 D dan BAP yang optimal untuk pertumbuhan kalus cabe jamu dan untuk langkah awal perbanyak bibit yang seragam dalam waktu yang singkat.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cabe Jamu (*Piper retrofractum* Vahl)

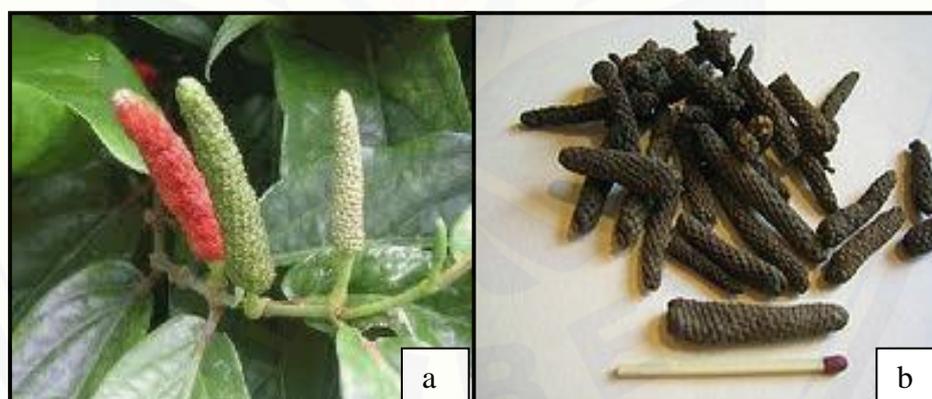
Luas lahan pertanaman cabe jamu dari tahun ke tahun mengalami peningkatan yang pesat. Luas areal tanaman cabe jamu nasional pada tahun 1999 sekitar 3.234 ha dengan produksi sebesar 4.948 ton (BPS, 2001). Tahun 2002 luas lahan meningkat menjadi 3.754 ha (Kemala *et al.*, 2005). Lahan berproduksi sekitar 3.552 ha, sedangkan sisanya seluas 204 ha merupakan lahan yang tidak atau belum berproduksi. Berdasarkan data tersebut perkiraan rata-rata produksi tanaman cabe jamu haya $\pm 1,48$ t/ha/th. Djauhariya *et al.*, (2006) dalam Djauhariya dan Rosman (2010) menyatakan padahal potensi produksi bisa mencapai 2,5 t/ha/th. Rendahnya produktifitas ini terutama disebabkan karena teknik budidaya tanaman cabe jamu yang belum memadai.

Cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) merupakan tanaman merambat memanjang dan memiliki buah, masuk kedalam famili Piperaceae yang mempunyai 10 genera dan lebih dari 1.000 species. Famili terdekat yang masih satu jenis dengan tanaman lada (*Piper nigrum*) dan sirih (*Piper bettle*). Dalam bahasa Inggris cabe jamu dikenal dengan nama *Java long pepper*, sedangkan di Indonesia dikenal hampir di semua tempat dengan nama daerah yang berbeda, seperti lada panjang, cabe panjang (Sumatera), cabe jawa (Sunda), cabean, cabe alas, cabe sula, cabe jamu (Jawa), cabe jhamo, cabe ongghu, cabe solah (Madura), cabia, cabian (Sulawesi) (Djauharia dan Rosman, 2010).

Bagian tanaman yang berguna adalah buah cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) yang banyak digunakan untuk campuran ramuan obat. Bagian yang bermanfaat adalah buahnya yang mengandung minyak atsiri, piperin, piperidin, asam palmitat, asam tetrahidropiperat, sesamin, guinensina, protein, karbohidrat, gliserida, tanin dan kariofelina (Setiawan, 2009). Tanaman cabe jamu dapat tumbuh baik pada ketinggian tempat 1-600 m dpl, temperatur ketinggian tempat 1-600 m dpl, temperature 20-300 C, curah hujan 1.2003.000 mm/th dan kelembapan udara 40-80% (Djauhariya dan Rosman, 2008). Jenis tanah yang dikehendaki adalah Andosol, Latosol, Grumusol, Regosol, dan Podsolik dengan

tekstur tanah liat berpasir, porus, dan berdrainase baik, serta pH tanah 5,5-7,0 (Haryudin dan Rostiana, 2011).

Tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) memiliki daun muda yang umumnya berwarna hijau muda, daun dewasa berwarna hijau sampai hijau tua. Bentuk daun bervariasi dari lanset sampai oval. Sedangkan batang dan cabang tanaman cabe jamu umumnya berbentuk bulat, baik di habitat asli maupun habitat baru. Tumbuh memanjat pada tiang panjat untuk menopang tubuh tanaman. Warna batang muda hijau dan coklat, sedangkan batang tua berwarna coklat kehitaman. Bentuk percabangan monopodial dengan arah percabangan lateral, tegak dan menggantung. Tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) memiliki bentuk buah bervariasi dari bulat panjang (conical), bulat pendek (globular), panjang pipih (foliform) dan panjang kecil (cylindrical). Buah cabe jamu mulai dari terbentuk bunga sampai menjadi buah siap panen, berubah warna yaitu warna hijau pada awal pembentukan, kemudian berubah putih dan berubah lagi menjadi hijau dan berubah lagi menjadi warna kuning kemerahan pada saat siap petik (Haryudin dan Rostiana, 2009).



Gambar 2.1 a) Tanaman cabe jamu b) Buah kering cabe jamu

Keragaman varietas cabe jamu yang ditanam di sentra produksi terutama terlihat jelas dari karakter buah dan daunnya seperti disajikan pada Gambar 2. Karakter batang, cabang, dan kandungan buah juga menunjukkan banyak variasi, karena tanaman cabe jamu sendiri pada setiap daerah asal tumbuh memiliki tipe yang berbeda dengan daerah yang lain. Haryudin dan Rostiana (2009) menyatakan adanya karakter daun juga sangat bervariasi bila dilihat dari panjang

daun, lebar daun, tebal daun, panjang tangkai daun dan jumlah daun per cabang, namun yang paling mudah dibedakan adalah bentuk daun yang lanset atau bulat dengan ukuran yang bervariasi dari kecil sampai besar.



Sumber: Haryudin dan Rostiana (2011)

Gambar 2.2 Keragaman buah dan daun cabe jamu

Pertanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) banyak terdapat di Madura yang digunakan sebagai ramuan penghangat badan yang dicampur dengan teh, susu, dan kopi. Burkill (1935) dalam Nirwan dan Aziz (2006) menyatakan selain itu cabe jamu dapat digunakan sebagai obat luar untuk mengobati penyakit beri-beri dan rheumatik. Sedangkan menurut Mardjodiswojo dan Sudarso (1975) cabe jamu juga dapat dimanfaatkan untuk mengobati influenza, tekanan darah rendah, cholera, sakit kepala, lemah syahwat dan sesak napas.

2.2 Perbanyak Tanaman dengan Cara Kultur Jaringan

Tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) saat ini sangat dibutuhkan sebagai bahan baku pembuatan obat karena banyak memiliki khasiat sehingga harus tersedia. Tanaman cabe jamu yang sudah berproduktifitas tidak mampu untuk memenuhi permintaan pasar. oleh karena itu dibutuhkan teknologi dalam penyediaan bahan tanam secara kultur *in vitro*. Salah satu cara untuk menyediakan

bahan tanam cepat, seragam, bebas dari penyakit dan membutuhkan waktu yang relatif singkat.

Kultur *in vitro* adalah membudidayakan suatu jaringan tanaman untuk dijadikan tanaman kecil yang memiliki sifat seperti tanaman induknya. Kultur *in vitro* akan berhasil karena dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu sterilisasi, pemilihan eksplan atau bahan tanam, suhu, cahaya, pH dan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang ada didalam media kultur jaringan (Hendaryono, 1994). Menurut Larkin dan Scrowcroft (1981) menyatakan bahwa perbanyakan tanaman yang dilakukan secara vegetatif melalui teknik kultur jaringan untuk memperoleh tanaman yang tidak memiliki sifat yang sama dengan tanaman induknya. Perbedaan sifat tersebut diperoleh ketika terjadinya keragaman somaklonal yang disebabkan oleh adanya konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan seperti auksin dan adanya pengaruh lamanya kalus yang disub kultur.

Pembentukan tunas *in vitro* sangat menentukan keberhasilan produksi bibit yang cepat dan banyak. Semakin banyak tunas yang terbentuk akan berkorelasi positif dengan bibit yang dapat dihasilkan melalui kultur jaringan. Dengan demikian untuk memacu factor multiplikasi tunas yang tinggi diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin. Tunas ganda (tunas majemuk) yang terbentuk secara langsung lebih stabil secara genetic dibandingkan dengan tunas tidak langsung (Lestari, 2011).

Menurut Green *et al.*, (1984) dalam Kadir *et al.*, (2007) setelah eksplan ditanam akan tumbuh menjadi kalus embriogenik yaitu kalus yang memiliki potensi untuk dapat beregenerasi menjadi tanaman melalui tahap organogenesis dan embryogenesis. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang memiliki sedikit potensi untuk tumbuh menjadi tanaman. Kalus embriogenik memiliki struktur kompak, tidak dapat ditembus cahaya dan memiliki pertumbuhan yang relative lambat merupakan kalus yang baik dalam kultur *in vitro*.

Kultur meristem adalah bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan dalam perbanyakan kultur jaringan tanaman. Kultur meristem berupa jaringan-jaringan meristematik yang memiliki titik tumbuh perkembangan pada tanaman.

Penggunaan jaringan yang sering dipakai adalah pada meristem pucuk terminal atau meristem tunas aksilar. Ketika dilakukan kultur meristem, eksplan akan berkembang dengan sempurna menjadi tanaman yang utuh dari jaringan tersebut dan sekaligus dapat langsung diperbanyak secara masal (Yuliarti, 2010).

Meristem tanaman terdapat pada setiap bagian tertentu organ tanaman yang juga dapat digunakan dalam kultur jaringan. Kultur organ dalam ilmu fisiologi dipergunakan untuk studi diferensiasi dan fungsi dari jaringan-jaringan khusus tanaman. Organ tanaman yang memiliki jaringan meristem dan sering digunakan dalam kultur jaringan adalah helai daun, tuber rhizogenum, pucuk kormus, tuber caulogenum, buku kormus, inflorescentia, buku bulp, mata tunas samping, buku batang tunggal, hipokoti dan epikotil, ruas batang muda dan akar (Yuliarti, 2010).

2.3 Media Kultur Jaringan

Media kultur *in vitro* merupakan salah satu faktor penting keberhasilan, perlu adanya kecocokan antar media yang dikombinasikan sesuai kebutuhan dan tujuan. Kecocokan media akan mendukung tanaman dalam merespon penyerapan zat pengatur tumbuh sehingga eksplan akan tumbuh dan berkembang. Komponen yang terdapat pada media kultur jaringan meliputi makronutrien, mikronutrien, karbon, hormon, vitamin dan asam-asam organik serta air dan agar. Media kultur jaringan dibuat sedemikian rupa dengan menambahkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berupa sitokinin dan auksin (Al dan Henuhili, 2011). Selain itu menurut Hidayat (2007) menyatakan sitokinin dan auksin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media budidaya jaringan dan diberikan dengan konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan.

Ali *et al.*, (2007) menyatakan bahwa konsentrasi hormon pertumbuhan dalam media kultur jaringan sangat berperan penting dalam morfogenesis. Keseimbangan antara sitokinin dan auksin mengatur pembentukan akar tunas dan kalus dalam kultur *in vitro*. Sitokinin dan auksin berperan dalam pertumbuhan tunas aksilar dan akar lateral pada kultur jaringan tanaman tembakau.

Pada teknik kultur *in vitro* tanaman, respon morfogenetik eksplan sangat dipengaruhi oleh keseimbangan hormon auksin dan sitokinin yang terdapat didalam media. Menurut Wongtiem *et al.*, (2011), untuk proses induksi somatik embrio dapat dengan menggunakan komposisi hormon auksin dan sitokinin, dengan rasio 4 : 1. Perbanyakan tanaman ubi kayu secara *in vitro* dapat menghasilkan bahan tanam yang bebas virus. Teknik kultur jaringan sangat berpotensi besar untuk memproduksi bahan tanam yang sehat dalam jumlah banyak (Ogero *et al.*, 2012). Menurut Santana *et al.* (2009) menyatakan kegiatan kultur jaringan juga dapat digunakan untuk menghasilkan bahan tanam yang memiliki kualitas tinggi, dan mampu mencapai tingkat produksi > 30 t/ha. Peningkatan produktivitas tanaman juga ditentukan oleh jenis kultivar tanaman resisten terhadap hama dan penyakit atau juga yang toleran terhadap lingkungan kritis.

2.4 Komposisi Zat Pengatur Tumbuh

Kunci keberhasilan perbanyakan tanaman yang dilakukan melalui teknik kultur jaringan yang menentukan adalah komposisi media yang akan digunakan. Pada umumnya komposisi media yang saat ini banyak digunakan dan telah berkembang adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog). Media dasar MS cocok untuk tanaman berkayu maupun tanaman herba, keberhasilan tersebut dengan adanya modifikasi pada media dasar MS dan penambahan zat pengatur tumbuh. Penambahan ZPT seperti sitokinin dalam bentuk BAP (*Benzyl Amino Purine*) pada tunas tanaman jati akan berhasil pada tahap induksi maupun elongasi (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

Sitokinin berpengaruh terhadap inisiasi tunas, salah satu bentuk sitokinin yaitu BAP (*Benzyl Amino Purin*) yang memiliki efektivitas tinggi. Sitokinin sangat efektif dalam pembentukan tunas jika diberikan dengan konsentrasi yang tepat (Yuniastuti *et al.*, 2010). Selain itu Maryani dan Zamroni (2003) juga berpendapat bahwa sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pembelahan sel dan juga morfogenesis tanaman. Sitokinin merupakan derivat adenin, yaitu suatu basa purin yang terdapat pada DNA dan RNA.

Bersama dengan auksin, sitokinin mendorong pembelahan sel serta menentukan arah terbentuknya diferensiasi sel. Dalam kultur jaringan sitokinin mempunyai dua peran penting yaitu merangsang morfogenesis eksplan serta merangsang pembentukan tunas muda (Hopkins, 1999).

BAP (*Benzyl Amino Purine*) merupakan sitokinin sintesis yang terbukti mampu mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi akar, mendorong perkecambahan, mendorong pembelahan sel pertumbuhan secara umum dan menunda penuaan. Penggunaan BAP dalam media kultur jaringan dalam dilakukan pada konsentrasi yang rendah, karena pada saat digunakan dengan konsentrasi tinggi akan berfungsi sebagai herbisida sehingga akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Capanoglu dan Boyicioglu, 2009). Selain itu konsentrasi auksin juga sangat menentukan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Konsentrasi yang tinggi akan bersifat menghambat, dimana terjadi persaingan antar ZPT pada kedudukan penerima pada dinding sel, yang menyebabkan kurang efektifnya gabungan tersebut. Disamping itu adanya respon sangat bervariasi tergantung pada kepekaan organ tanaman (Gardner *et al.*, 1991).

Auksin adalah salah satu hormone yang tidak terlepas dari proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hormone yang pertama kali ditemukan ialah auksin. Auksin berperan merangsang pembelahan dan pembesaran sel, pembentukan kalus dan akar, sedang sitokinin akan memacu pembentukan tunas (Salisbury dan Ross, 1995).

Zat pengatur tumbuh 2,4 D sangat berpengaruh pada bagian meristem pucuk maupun akar tanaman. Penggunaan 2,4 D pada tanaman yaitu akan menstimulus pertumbuhan, meremajakan sel tua dan merangsang terjadinya yang abnormal pada sel tanaman muda. Selain itu 2,4 D juga menstimulus nukleida dan protein yang sangat berpengaruh pada aktifitas enzim, proses respirasi dan divisi sel yang menyebabkan banyak ditemukan malformasi pada pertumbuhan daun, batang dan akar (Walters, 2006). Zat pengatur tumbuh 2,4 D akan mendorong pemanjangan dari sel batang hanya pada konsentrasi tertentu kurang dari 0,9 g/l. Apabila pemakaian diatas konsentrasi tersebut maka proses pemanjangan sel batang akan terhambat. Dikarenakan terjadinya kemungkinan pada konsentrasi 2,4

D yang tinggi mengakibatkan tanaman mensintesis ZPT lain yaitu etilen yang memberikan pengaruh perlawanan dengan hormone auksin (Bioma, 2008).

Perbandingan sitokinin yang lebih besar dari pada auksin pada kultur *in vitro* akan menstimulasi pertumbuhan tunas dan daun. Sehingga diduga pada kultur *in vitro* tanaman seperti Anthurium dengan konsentrasi 2 ppm BAP ini cukup optimal untuk mendukung pembentukan daun pada eksplan. Pertumbuhan eksplan sebagai indikasi keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh garam-garam mineral makro dan mikro pada media dasar dan konsentrasi ZPT. Pada konsentrasi tinggi, sitokinin akan meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan (Yuniastuti dkk., 2010).

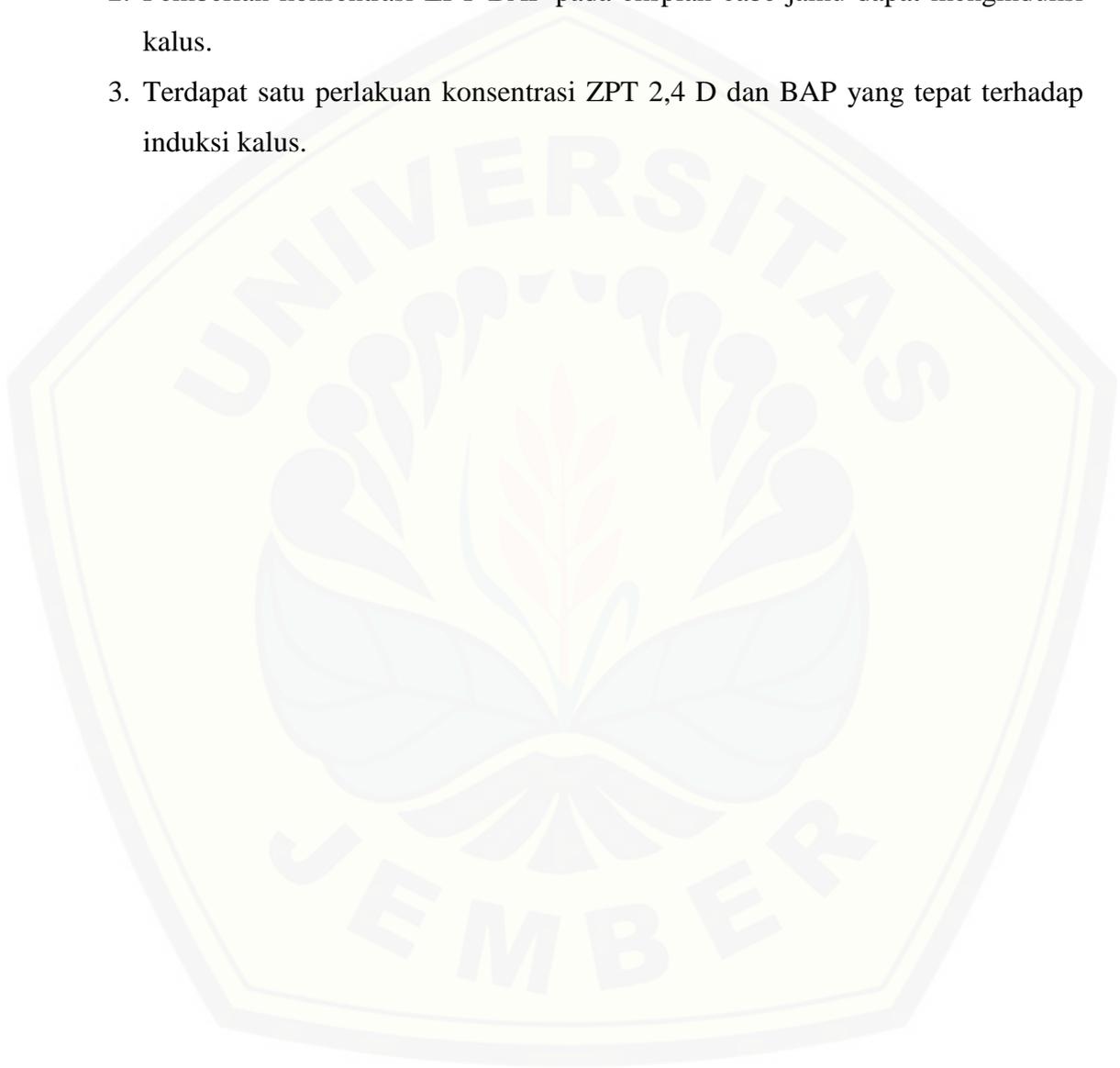
Menurut teori Skoog dan Miller arah organogenesis (deferensiasi – spesialisasi) ditentukan oleh perbandingan auxin dan sitokinin. Pada penelitian sebelumnya medium tidak ditambah dengan sitokinin, dan hanya mengandalkan sitokinin endogen pada eksplan. Dalam rentang konsentrasi aplikasi 2,4-D sampai 7,5 mg/l, kalus dan tunas bisa dibentuk tetapi gagal membentuk akar. Inisiasi perakaran pada kultur *in vitro* umumnya terinduksi pada konsentrasi auxin yang relatif ‘tinggi’ dengan sitokinin yang ‘rendah’. Sebaliknya, pada sitokinin tinggi dengan auxin rendah, eksplan akan terinduksi membentuk tunas. Hasil penelitian menunjukkan terbentuknya kalus dan tunas tetapi tidak berhasil membentuk akar diduga pada mediumnya defisien auxin. Perbedaan respon antara eksplan daun dan batang tampaknya akibat dari perbedaan kondisi jaringan dan hormone endogennya (Al dan Henuhili, 2011).

Komponen media meliputi unsur hara makro, mikro, sumber karbon, vitamin dan zat pengatur tumbuh. Setiap tanaman memiliki genotype yang berbeda-beda sehingga pada saat pemberian ZPT akan menunjukkan respon yang berbeda pula meskipun ditumbuhkan pada media kultur jaringan yang sama. Selain itu sumber eksplan tanaman yang telah digunakan membutuhkan kondisi optimal yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Damayanti *et al.*, 2007).

2.5 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang tujuan penelitian dan kajian pustaka, maka dapat dihipotesiskan bahwa:

1. Pemberian konsentrasi ZPT 2,4 D pada eksplan dapat menginduksi kalus.
2. Pemberian konsentrasi ZPT BAP pada eksplan cabe jamu dapat menginduksi kalus.
3. Terdapat satu perlakuan konsentrasi ZPT 2,4 D dan BAP yang tepat terhadap induksi kalus.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

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

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah bagian daun muda tanaman cabe jamu, larutan stok MS, zat pengatur tumbuh 2,4D, dan BAP, alkohol 96%, sukrosa, agar, NaOH, HCL, *tissue*, clorox 20%, plastik *poliethylen* dan aquadest.

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

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang tersusun secara faktorial dengan dua faktor perlakuan, adapun faktor yang diteliti yaitu:

A. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4 D terdiri dari 4 taraf:

$A_0 = 0$ ppm (kontrol)

$A_1 = 0,5$ ppm

$A_2 = 1$ ppm

$A_3 = 1,5$ ppm

B. Faktor kedua adalah konsentrasi BAP terdiri dari 3 taraf:

$B_0 = 0$ ppm (kontrol)

$B_1 = 1$ ppm

$B_2 = 2$ ppm (Andaryani, 2010)

Kombinasi perlakuan:

A ₀ B ₀	A ₁ B ₀	A ₂ B ₀	A ₃ B ₀
A ₀ B ₁	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	A ₃ B ₁
A ₀ B ₂	A ₁ B ₂	A ₂ B ₂	A ₃ B ₂

Setiap kombinasi perlakuan terdapat 5 ulangan

Persamaan untuk percobaan ini sebagai berikut :

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

Keterangan :

- Y_{ijk} = Nilai pengamatan dari ulangan ke-k yang mendapat taraf ke-i dari faktor 2,4 D dan taraf ke-j dari faktor BAP
- μ = Nilai tengah umum
- α_i = Pengaruh aditif dari faktor 2,4 D taraf ke-i
- β_j = Pengaruh aditif dari faktor BAP taraf ke-j
- $\alpha\beta_{ij}$ = Pengaruh interaksi antara α dan β yang memperoleh perlakuan ke-i dan ke-j.
- ε_{ijk} = Pengaruh galat percobaan ke-k yang memperoleh taraf perlakuan ke-i faktor α dan taraf ke-j yang memperoleh faktor β

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA), apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan taraf 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi peralatan yang akan digunakan yaitu menggunakan autoklaf. Alat-alat yang akan digunakan sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf dibungkus terlebih dahulu menggunakan plastik khusus atau kertas yang tahan terhadap suhu tinggi dan ditutup rapat. Sehingga peralatan yang akan digunakan tidak mudah rusak dan terjaga dari kontaminan.

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam kultur jaringan yaitu media MS (Murashige and Skoog) ditambah dengan sukrosa 30g/l. Penambahan hormon pada media

disesuaikan dengan kebutuhan perlakuan. Sebelum media di autoklaf, pH media diatur antara 5,8 – 6,2 dengan menambah NaOH atau HCl. Selanjutnya di autoklaf selama kurang lebih 150 menit pada suhu 121°C. Berikut komposisi larutan stok MS sebagai berikut.

Tabel 3.1 Komposisi larutan stok MS (Murashige and Skoog)

Jenis Stok	Jenis Bahan Kimia	MS (mg/l)	Volume Pemakaian
			MS I (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	1650	20
B	KNO ₃	1900	20
C	CaCl ₂ H ₂ O	440	10
D	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	10
	KH ₂ PO ₄	170	
E	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	5
	NaEDTA	37,3	
F	MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3	5
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	
	H ₃ BO ₃	6,2	
	KI	0,83	
	Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,25	
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	
	Mio-inositol	100	
Vitamin	Niacin	0,5	1
	Pyridoksin HCl	0,5	
	Thiamine HCl	0,1	
	Glycine	2,0	
	Sukrosa	30000	30 g

3.4.3 Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun-daun muda tanaman cabe jamu. Eksplan sebelum ditanam pada media, dilakukan sterilisasi dengan cara mencuci eksplan dengan sabun sunlight daun muda cabe jamu. Selanjutnya membilas eksplan dengan air mengalir. Pencucian eksplan dilakukan sampai eksplan benar – benar bersih. Selanjutnya eksplan dimasukkan kedalam petridish steril untuk dibawa kedalam Laminar Air Flow (LAF). Kemudian memindahkan daun-daun muda kedalam botol steril untuk dilakukan perendaman dengan menggunakan larutan clorox 20% (Bayclin). Perendaman eksplan

dilakukan selama 5 menit sambil digojok. Kemudian Setelah 5 menit, selanjutnya eksplan dibilas dengan air steril. Perendaman eksplan dengan menggunakan larutan klorox dilakukan 4 kali ulangan dengan waktu yang sama. Selanjutnya setelah eksplan dibilas dengan aquades dilakukan 2 kali kemudian dipindahkan kedalam petridish untuk disterilisasi menggunakan betadine. Eksplan direndam dalam cairan betadine selama 15 menit. Kemudian eksplan dipindan ke petridish yang sebelumnya sudah dipanaskan diatas bunsen.

3.4.4 Penanaman eksplan

Ekplan daun muda yang sudah steril kemudian dipotong menggunakan gunting dengan ukuran 1 x 1 cm didalam petridis steril. Potongan eksplan diambil menggunakan pinset, kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur yang terisi media. Botol kultur yang sudah terisi eksplan ditutup dan dibalut menggunakan plastic warp kemudian diletakkan ke ruang penyimpanan dan disusun pada rak kultur.

3.4.5 Tahapan induksi kalus

Pada tahapan ini, setelah eksplan cabe jamu ditanam dan tumbuh kalus selanjutnya dengan memberikan perlakuan hormon 2,4 D pada media tanam sesuai konsentrasi yang ditentukan setiap media tanam.

3.4.6 Tahapan induksi tunas

Eksplan yang digunakan yaitu eksplan cabe jamu yang telah disterilisasi. Untuk merangsang pertumbuhan tunas pada eksplan, diberikan perlakuan hormon BAP sesuai konsentrasi dalam setiap media tanam.

3.4.7 Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan meliputi: menjaga kebersihan lingkungan kultur, pemisahan media yang terkontaminasi dari mikroorganismenya, penyemprotan dengan alkohol 70% pada ruang dan botol kultur setiap hari selama penelitian sampai eksplan bermultiplikasi untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Subkultur tanaman

dilakukan apabila terjadi kontaminasi pada media yang tidak mengenai eksplan, media berubah warna karena adanya senyawa fenolik, selain itu juga subkultur dilakukan pada saat kandungan hara mulai sedikit, biasanya ditandai dengan media agar yang pecah.

3.5 Variabel Pengamatan

Penelitian ini dilakukan dengan mengamati pertumbuhan dan perkembangan eksplan disetiap perlakuan. Adapun variabel yang diamati adalah:

a. Kecepatan terbentuknya kalus (hari)

Pengamatan ini dilakukan dengan menghitung hari saat munculnya kalus pertama. Perhitungan dilakukan dengan menghitung jumlah hari yang dibutuhkan eksplan untuk membentuk kalus.

b. Warna kalus

Pengamatan warna kalus berdasarkan buku pedoman warna kalus yaitu *Munsell Color Charts For Plant Tissue* yang diamati setiap minggu. Kriteria pengukuran didasarkan pada kecocokan warna kalus dengan warna yang ada di buku pedoman. Untuk menerjemahkan warna kalus berdasarkan spectrum warna yang terdapat pada buku, maka penulisannya diatur dengan *H Value / Chrome*. *H* berarti *Hue* yang merupakan warna dasar. Warna dasar meliputi *blue* (B), *green* (G), *yellow* (Y), *red* (R), dan *purple* (P). *Value* merupakan suatu notasi yang menggambarkan derajat kecerahan suatu warna yang letaknya vertikal. Hitam pada *value* disimbolkan dengan 0/, sedangkan putih disimbolkan dengan 10/. Notasi *chroma* mengindikasikan kekuatan warna dasar (H) pada *value* yang sama.

c. Berat kalus

Pengamatan ini dilakukan setiap 2 minggu sekali dimulai setelah eksplan ditanam pada media. Pengukuran berat kalus dilakukan dengan menggunakan neraca analitik. Untuk mengetahui berat kalus pada akhir pengamatan dilakukan dengan cara menimbang selisih media dan eksplan pada saat setelah penanaman sampai minggu terakhir penanaman.

d. Tekstur kalus

Pengamatan perkembangan kalus dilakukan dengan cara skor, dimana kalus yang terbentuk dibagi dalam 6 tingkat menurut Karomah (1998):

0 = eksplan mati

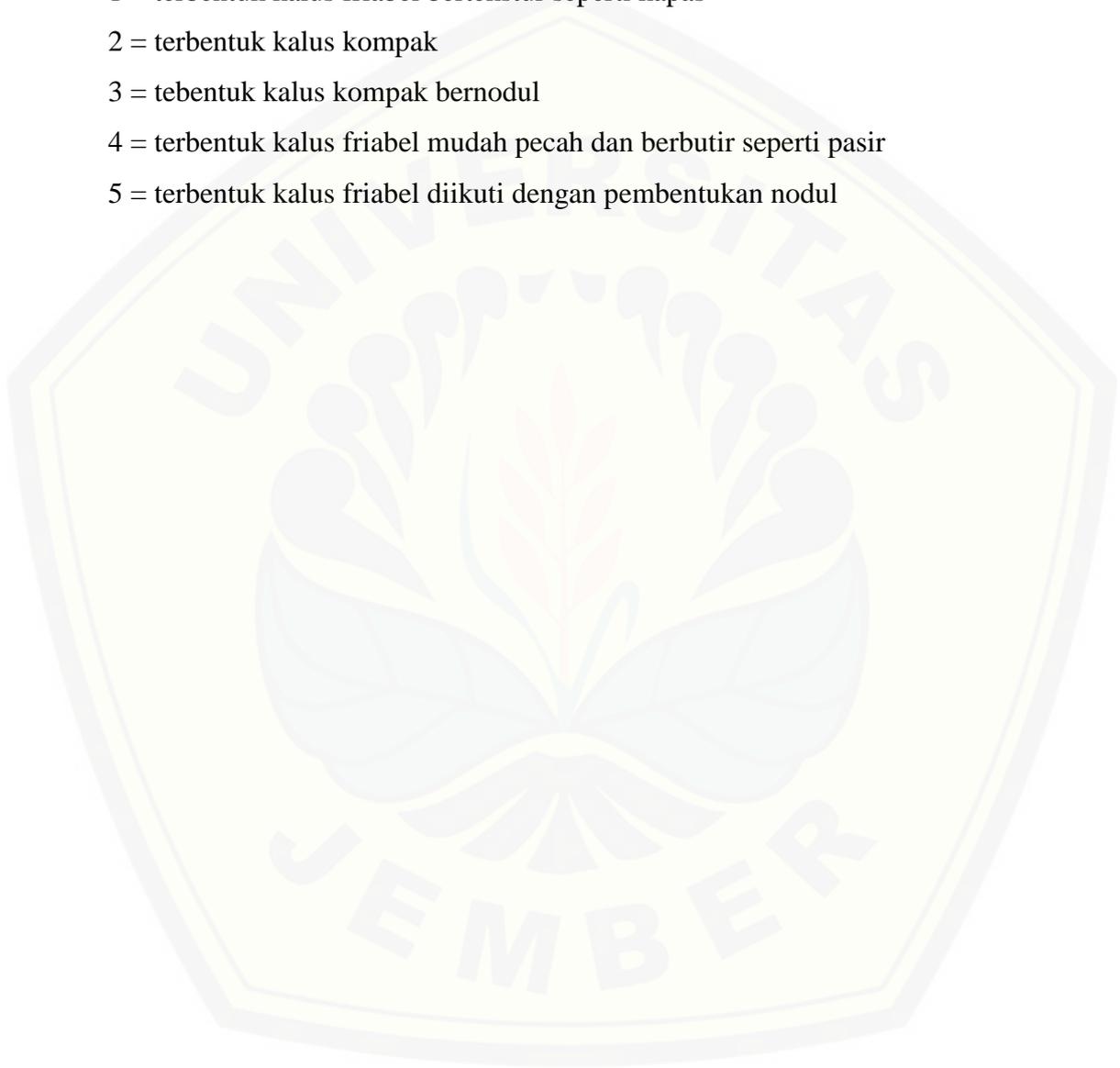
1 = terbentuk kalus friabel bertekstur seperti kapas

2 = terbentuk kalus kompak

3 = terbentuk kalus kompak bernodul

4 = terbentuk kalus friabel mudah pecah dan berbutir seperti pasir

5 = terbentuk kalus friabel diikuti dengan pembentukan nodul



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Eksplan terbaik yang membentuk kalus terdapat pada perlakuan A3B0 (2,4 D 1,5 ppm dan BAP 0 ppm) dengan rata-rata 22,8 hari, sedangkan perlakuan terlama pada perlakuan A0B0 (kontrol) dengan rata-rata 59 hari.
2. Pemberian konsentrasi BAP belum optimal dalam pembentukan kalus tetapi terdapat kalus terbaik memiliki warna hijau kekuningan yang cerah dan tekstur friabel yang diikuti pembentukan nodul pada perlakuan A1B1 (2,4 D 0,5 ppm dan BAP 1 ppm).
3. Interaksi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D, BAP dan kombinasinya belum menunjukkan pertumbuhan kalus cabe jamu yang optimal pada kecepatan terbentuknya kalus, berat kalus, warna kalus dan tekstur kalus.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada eksplan cabe jamu perlu melakukan kegiatan sub kultur lebih sering untuk meminimalisir terjadinya kehabisan unsur hara dalam media dan melakukan pengamatan lebih rutin untuk mengetahui proses pembentukan eksplan menjadi kalus pada setiap perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2005. *Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuhan*. Bandung : Angkasa
- Ali, Gowher *et al.* 2007. Callus Induction and In Vitro Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (*Nicotiana Tabaccum* L.) on Media of Different Hormonal Concentration. *Biotechnology* 6 (4) : 561-566.
- Al, S. dan Hanunihili, V. 2011. Induksi Kalus Dan Organogenesis Tanaman Ngukilo (*Gynura Procumbens* (Lour) Merr.) Dengan 2,4 D Dan Kombinasi NAA - Air Kelapa Secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional "Biology And Local Wisdom*. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Andaryani, S. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4 D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Secara In Vitro. Surakarta: Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Bioma. 2008. *Peranan ZPT Dalam Pertumbuhan dan Perkembangan Tumbuhan*. [on line]. <http://mybioma.wordpress.com/categorg/fisiologi-prod-tum>. Diakses tanggal 20 November 2014.
- Badan Pusat Statistik Jawa Timur. 2001. Provinsi Jawa Timur.
- Capanoglu, E. dan Boyicioglu, D. 2009. *Plant Growth Regulators*. [on line] <http://atlas.cc.itu.edu.tr/~boyaci/plantgrowthregulators.pdf>. Diakses tanggal 20 November 2014.
- Daud, Hazwani, N., Jayaraman, S. Dan Rozi, M. 2012. An Improved Surface Sterilization Tehnique for Introducing Leaf, Nodal dan Seed Explants *Aquilaria malacensis* From Field Sources into Tissue Culture. *Biology Biotechnol* 20(2): 55-58.
- Dewi K., Masrizal dan Mugiono. 1998. *Regenerasi Tanaman Dari Beberapa Sumber Eksplan Pada Mutan Kacang Tanah*. Batam: Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi.
- Dinas Kehutanan dan Perkebunan Sumenep. 2012. *Sumenep dalam Angka*. Kabupaten Sumenep.
- Djauharia, E. dan Rosman, R. 2010. *Status Teknologi Tanaman Cabe Jamu (Piper retrofractum* Vahl). Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.

- Fathurrahman. 2011. Multiplikasi Eksplan Anthurium (*Anthurium sp.*) dengan Pemberian *Benzil Amino Purin* (BAP) dan *Indole Acetic Acid* (IAA) secara Kultur Jaringan. *Agroteknologi* 2 (1): 25-34.
- Fatmawati, T. A., Nurhidayati, T. Dan Jadid, N. 2012. Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum L. Var Prancak 95*. Progtam Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Gardner, F. P., Pearce, R., Brent dan Mitchel, R. L. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Gunawan, L. W. 1998. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Tanaman Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Gustian. 2009. *Upaya Perbanyak Tanaman Penghasil Gaharu (Aquilaria malacensis Larnk) secara In Vitro*. [on line] <http://repository.unand.ac.id/562/1/>. Diakses tanggal 13 November 2015.
- Hanifah, N. 2007. *Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Eksplan Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Secara In Vitro*. Surakarta: Skripsi Fakultas Pertanian.
- Haryudin, W. dan Rostiana, O. 2009. Karakteristik Morfologi Tanaman Cabe Jamu (*Piper retrofractum Vahl.*) di Beberapa Sentra Produksi. *Litro* 20 (1): 1-10.
- Hendaryono, D. 1994. *Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modern*. Kanisius: Yogyakarta.
- Hidayat. 2007. Induksi Pertumbuhan Eksplan Endosperm Ulin dengan IAA dan Kinetin. *Agritop* 26 (4) : 147-152.
- Hopkins, W. G. 1999. *Introductions to Plant Physiology*. Sons. Inc: USA.
- Hussain, A. H. And Shinwari, Z. K. 2011. Tissue Culture of Black Paper (*Piper ningrum L.*) in Pakistan. *Botanical* 43(2): 1069-1078.
- Karomah, N. M. 1998. Embriogenesis Somatik Dari Calon Bunga Jantan Pada Beberapa Kultivar Pisang (*Musa spp*). Bogor: Tesis Jurusan Biologi FMIPA Institut Pertanian Bogor.

- Kemala, S., Sudiarto, E.R. Pribadi, JT. Yuhono, L. Mauludi, M. Rahardjo, Y. Ferry, B. Waskito, dan H. Nurhayati. 2005. *Studi Serapan, Pasokan dan Pemanfaatan Tanaman Obat di Indonesia*. Laporan Akhir. Proyek/Bagian Proyek Pengkajian Teknologi Pertanian Partisipatif/PAATP, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian (tidak dipublikasikan).
- Lingga, P. 1995. *Hidroponik Bercocok Tanam Tanpa Tanah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Agrobiogen* 7 (1) : 63-68.
- Lizawati. 2012. Poliferasi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jarak Pagar (*Jathropa curcas* L.) dengan Berbagai Kombinasi ZAPT dan Asam Amino. *Biomol* 4(2): 28-40.
- Mardjodiswojo dan Sudarso. 1975. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*. Karya Wreda: Jakarta.
- Maryani, Y. dan Zamroni. 2005. Penggandaan Tunas Krisan Melalui Kultur Jaringan. *Ilmu Pertanian* (12).
- Nadeak, R. 2012. *Respon Eskplan Biji Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.) Terhadap Pemberian NAA Dan IBA Secara In Vitro*. Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Nirwan dan Aziz, S. A. 2006. Multiplications and Anthocyanins Pigmentation of *Gynura pseudochina* (L.) DC In Vitro. *Agron* 34(22) : 112-118.
- Ogero, O.K., Gitonga N. M., Mwangi M., Ombori, O. and Ngugi M. 2012. Cost-effective Nutrient Sources for Tissue Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African Journal of Biotechnology* 11 (66) : 12964 – 12973.
- Palupi, A. D., Solichatun dan Marliana, S. D. 2004. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benziladenin (BA) Terhadap Kandungan Minyak Atsiri Kalus Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *BioSMART* 6(2): 99-103.
- Parida, R. And Dhal, Y. 2011. A Study on The Micropropagation and Antioxidant Activity of *Piper Longum* (An Important Medical Plant). *Medicinal Plant Research* 5(32): 6991-6994.

- Rahayu, B., Solichatun dan Anggarwulan, E. 2003. Pengaruh Asam 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4 D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofams* 1(1): 1-6.
- Rahmawati, M. 2008. *Pengaruh BAP dan GA3 Terhadap Perkecambahan Heliconia caribaea Lam. Secara In Vitro*. Bogor: Skripsi Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Ruhnayat, A. dan Taryono. 2008. *Cabe Jawa*. Jakarta: Swadaya.
- Rusdianto. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucus carota*) Menggunakan 2,4 D. *Bionature*: 13(2): 136-145.
- Sallisburry, F. B. dan Ross, W. 1995. *Plant Physiology*. California.
- Santana, M. A, G. Romay, J. Matehus, J. L. Vicente-Villardón, and J. R. Demey. 2009. A Simple and Low-Cost Strategy for Micropropagation of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African Journal of Biotechnology*, 8 (16) : 3789 – 3897.
- Sandra, E. dan Karyaningsih, I. 2000. *Panduan Teknis Pelatihan Kultur Jaringan*. Unit Kultur Jaringan Laboratorium Konservasi Tumbuhan Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan Fakultas Kehutanan IPB. Bogor: PAU-IPB.
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Setiawan, E. 2009. Kajian Hubungan Unsur Iklim Terhadap Produktifitas Cabe Jamu (*Piper retrofractum* Vahl.) di Kabupaten Sumenep. *Agrovigor* 2(1) : 1-7.
- Street, H. E. 1972. *Plant Tissue and Cell Culture*. London: Blackwell Scientific.
- Sugiyarto, L. Dan Paramita, C. K. 2014. Pengaruh 2,4 D dan BAP Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta Analisis Kandungan Flavonoid Total. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Yogyakarta.
- Solichatun, Bektu R., Endang, A. 2003. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi* 1 (1): 1-6.

- Sujatha, M. and Prabakaran, A. J. 2001. High Frequency Embryogenesis in Immature Zygotic Embryo of Sunflower. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 65(41): 23-29.
- Sukmadjaja, D., dan Mariska, I. 2003. *Perbanyak Bibit Jati Melalui Kultur Jaringan*. [on line] <http://blogen.litbang.deptan.go.id>. Diakses tanggal 20 November 2014.
- Sukmadjaja, D., Mariska, I. dan Gati, E. 1991. *Regenerasi Tanaman Lada Melalui Kultur Jaringan*. Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Bopolimer Untuk Industri. Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Webster, S., Mitchell, S. A. and Ahmad, M. H. 2003. *A Novel Surface Sterilization Method for Reducing Fungal and Bacterial Contamination of Field Grown Medicinal Explants Intended for In Vitro Culture*. Technology Driven Agriculture and Agro Processing SRC, Jamaica. [on line] <http://www.kitchenculturekit.com/surfaceSterilizationMitchell2003.pdf>. Diakses tanggal 3 November 2015.
- Wetter, L. R. Dan Constabel, F. 1991. *Metode Klutir Jaringan Tanaman Edisi Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Widiyastuti, L. O. 2015. Induksi Kalus Pada Eksplan Batang Tanaman Binahong (*Anrederacordifolia*) secara In Vitro dengan Konsentrasi 2,4 D dan BAP yang Berbeda. Surakarta: Skripsi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah.
- Wongtiem, P., D. Courtois, B. Florin, M. Juchaux, D. Peltier, P. Broun, dan J.P. Ducos . 2011. Effect of Cytokinins on Secondary Somatic Embryogenesis of Selected Clone Rayong 9 of *Manihot esculenta* Crantz for Ethanol Production. *African Journal of Biotechnology*, 10 (9) : 1600 – 1608.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz). *Pemuliaan Tanaman Hutan* 6 (3): 181-194.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien Cetakan Ketiga*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

Yusniastuti, E., Purwanto, dan Harminingsih, S. 2010. The Effect Of BAP Concentration Of Anthurium's (*Anthurium Andraeanum* Linden) Shoot Multiplication On Some Nutrient Mediums By In Vitro. *Caraka Tani* 26 (1).

Zainal, A. 2010. *Kultur Kalus Pada Tumbuhan*. [on line] www.gudangmateri.com. Diakses tanggal 16 November 2015.



LAMPIRAN 1

1. Lampiran Data Pengamatan

a. Berat Kalus

Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
A0B0	0,54	0,70	0,49	0,68	0,90	3,31	0,66
A0B1	1,13	1,07	0,76	1,09	1,17	5,22	1,04
A0B2	0,28	1,66	0,59	1,57	1,51	5,61	1,12
A1B0	1,30	0,93	1,19	0,89	1,10	5,41	1,08
A1B1	1,61	1,78	1,59	0,99	1,65	7,62	1,52
A1B2	0,89	1,33	1,38	1,51	1,53	6,64	1,33
A2B0	1,64	1,36	1,72	1,53	1,91	8,16	1,63
A2B1	1,67	1,24	1,50	1,35	1,19	6,95	1,39
A2B2	2,01	1,64	1,21	1,45	1,75	8,06	1,61
A3B0	1,59	1,34	1,04	1,46	0,87	6,30	1,26
A3B1	1,61	0,97	1,29	1,54	1,28	6,69	1,34
A3B2	1,19	0,77	1,27	1,53	1,34	6,10	1,22
Jumlah	15,46	14,79	14,03	15,59	16,20	76,07	
Rata-rata	1,29	1,23	1,17	1,30	1,35		1,27

b. Sidik Ragam Berat Kalus

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	11,00	4,08	0,37	4,21**	1,99	2,64
A	3,00	2,76	0,92	10,46**	2,80	4,22
B	2,00	0,36	0,18	2,02ns	3,19	5,08
A X B	6,00	0,96	0,16	1,81ns	2,29	3,20
Galat	48,00	4,23	0,09			
Total	59,00	8,30		KK	23,41	

c. Uji Beda Nyata Tukey

		A2	A1	A3	A0	Notasi
		1,54	1,31	1,27	0,96	
A2	1,54	0				A
A1	1,31	0,233333	0			A
A3	1,27	0,272	0,038667	0		A
A0	0,96	0,584667	0,351333	0,312667	0	B

d. Kecepatan Terbentuknya Kalus

Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
A0B0	60	69	55	51	60	295	59
A0B1	50	41	43	45	35	214	42,8
A0B2	46	56	33	55	55	245	49
A1B0	26	48	33	30	33	170	34
A1B1	38	28	47	40	52	205	41
A1B2	36	30	43	47	36	192	38,4
A2B0	29	32	28	28	36	153	30,6
A2B1	41	41	31	27	35	175	35
A2B2	27	42	48	35	30	182	36,4
A3B0	23	29	15	15	32	114	22,8
A3B1	29	25	46	25	43	168	33,6
A3B2	23	36	43	43	33	178	35,6
Jumlah	428	477	465	441	480	2291	
Rata-rata	35,66667	39,75	38,75	36,75	40		38,18333

e. Sidik Ragam Kecepatan Terbentuknya Kalus

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-Hitung	F-Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	11,00	4661,38	423,76	7,00**	1,99	2,64
A	3,00	3302,32	1100,77	18,17**	2,80	4,22
B	2,00	105,83	52,92	0,87ns	3,19	5,08
A X B	6,00	1253,23	208,87	3,45**	2,29	3,20
Galat	48,00	2907,60	60,58			
Total	59,00	7568,98		KK	20,38	

f. Pengaruh Interaksi 2,4 D dan BAP Terhadap Keceptan Terbentuknya Kalus

a. Faktor A pada B

	B0
A0	59,00
A1	34,00
A2	30,60
A3	22,80

	B1
A0	42,80
A1	41,00
A2	35,00
A3	33,60

	B2
A0	49,00
A1	38,40
A2	36,40
A3	35,60

	B0	A0	A1	A2	A3	
		59,00	34,00	30,60	22,80	
A0	59,00	0,00				A
A1	34,00	25,00	0,00			B
A2	30,60	28,40	3,40	0,00		B
A3	22,80	36,20	11,20	7,80	0,00	B

	B1	A0	A1	A2	A3	
		42,80	41,00	35,00	33,60	
A0	42,80	0,00				A
A1	41,00	1,80	0,00			A
A2	35,00	7,80	6,00	0,00		A
A3	33,60	9,20	7,40	1,40	0,00	A

	B2	A0	A1	A2	A3	
		49,00	38,40	36,40	35,60	
A0	49,00	0,00				A
A1	38,40	10,60	0,00			A
A2	36,40	12,60	2,00	0,00		A
A3	35,60	13,40	2,80	0,80	0,00	A

FAKTOR A
PADA B

	B0	B1	B2
A0	59,00 a	42,8 a	49 a
A1	34,00 b	41 a	38,4 a
A2	30,60 b	35 a	36,4 a
A3	22,80 b	33,6 a	35,6 a

b. Faktor B pada A

	A0
B0	59,00
B1	42,80
B2	49,00

	A1
B0	34,00
B1	41,00
B2	38,40

	A2
B0	30,60
B1	35,00
B2	36,40

	A3
B0	22,80
B1	33,60
B2	35,60

	A0	B0	B2	B1	
B0	59,00	59,00	49,00	42,80	a
B2	49,00	10,00	0,00		a
B1	42,80	16,20	6,20	0,00	a

	A1	B1	B2	B0	
B1	41,00	41,00	38,40	34,00	a
B2	38,40	2,60	0,00		a
B0	34,00	7,00	4,40	0,00	a

	A2	B2	B1	B0	
B2	36,40	36,40	35,00	30,60	a
B1	35,00	1,40	0,00		a
B0	30,60	5,80	4,40	0,00	a

	A3	B2	B1	B0	
B2	35,60	35,60	33,60	22,80	a
B1	33,60	2,00	0,00		a
B0	22,80	12,80	10,80	0,00	a

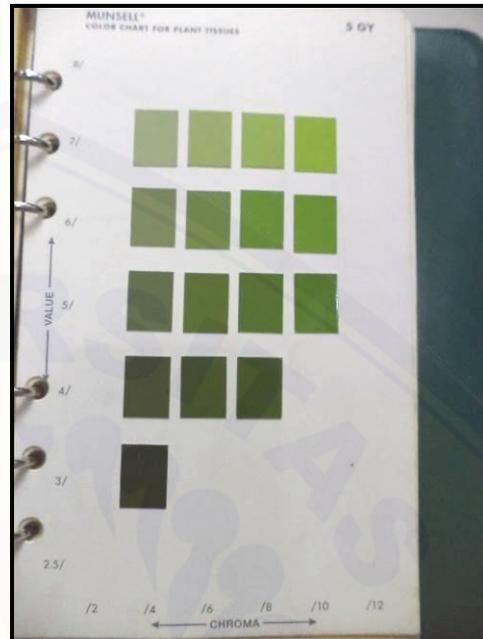
FAKTOR B pada A

	A0	A1	A2	A3
B0	59 a	34 a	30,6 a	22,8 a
B1	42,8 a	41 a	35 a	33,6 a
B2	49 a	38,4 a	36,4 a	35,6 a

LAMPIRAN 2



Munsel 7.5 GY



Munsel 5 GY



Munsel 2.5 GY

LAMPIRAN FOTO KEGIATAN



a. Pembuatan larutan stok



b. Pembuatan media MS



c. Pengukuran berat kalus



d. Persiapan penanaman dan sub kultur



d. Penanaman eksplan



f. Eksplan yang sudah ditanam

