

**REGENERASI *IN VITRO* TANAMAN JAGUNG  
(*Zeamays*L.) VARIETAS BISI-2**

**SKRIPSI**

oleh

**ARIFAH NUR KARIMA PUTRI**

**155090101111015**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**2019**

**REGENERASI *IN VITRO* TANAMAN JAGUNG  
(*Zeamays*L.) VARIETAS BISI-2**

**SKRIPSI**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
dalam Bidang Biologi**

oleh

**ARIFAH NUR KARIMA PUTRI  
155090101111015**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**2019**



**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**REGENERASI IN VITRO TANAMAN JAGUNG**

**(*Zea mays* L.) VARIETAS Bisi-2**

**ARIFAH NUR KARIMA PUTRI**

**155090101111015**

Telah diseminarkan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 1 November 2019

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui  
Pembimbing

Dr. Wahyu Widoretno, M.Si.

NIP 196304141989032001

Mengetahui

Ketua Program Studi S-1 Biologi  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dian Siswanto, M.Sc., M.Si., Ph.D.

NIP 197703202005011002

## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arifah Nur Karima Putri  
NIM : 155090101111015  
Jurusan : Biologi  
Penulis Skripsi berjudul : Regenerasi *In Vitro* Tanaman Jagung  
(*Zea mays* L.) Varietas Bisi-2

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benara karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi
2. Apabila kemudon hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 1 November 2019

Yang menyatakan

Arifah Nur Karima Putri  
155090101111015

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

## Regenerasi *In Vitro* Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Varietas Bisi-2

Arifah Nur Karima Putri, Wahyu Widoretno

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Brawijaya

2019

### ABSTRAK

Keberhasilan pemuliaan tanaman melalui bioteknologi ditentukan oleh tersedianya metode regenerasi tanaman secara *in vitro*. Zat pengatur tumbuh (ZPT) dan eksplan merupakan faktor terpenting untuk keberhasilan regenerasi *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ZPT dan jenis eksplan terhadap regenerasi tanaman jagung (*Zea mays* L.) secara *in vitro*. Tahapan penelitian meliputi induksi tunas, multiplikasi tunas, induksi akar dan regenerasi planlet. Induksi tunas menggunakan eksplan *crown* dan embrio dikulturkan pada media MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) atau MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) + NAA 0,1 mg/L. Tunas yang terbentuk disubkultur pada media MS + BA 1 dan 2 mg/L untuk multiplikasi tunas. Tunas kemudian diinduksi akar dan diregenerasikan pada media  $\frac{1}{2}$  MS, MS dan MS + IBA 0,5 mg/L. Hasil eksplan *crown* pada media BA memberikan respon terbaik dalam induksi tunas. Persentase pembentukan tunas dari eksplan *crown* antara 25-65% pada media BA dan antara 5-20% pada media BA kombinasi NAA. Persentase pembentukan tunas dari eksplan embrio hanya berkisar 15-25% pada media BA dan berkisar antara 5-15% pada media BA kombinasi NAA. Persentase pembentukan tunas tertinggi diperoleh dari eksplan *crown* yang dikulturkan pada media dengan penambahan BA 1 mg/L yaitu sebesar 65% dengan 1,75 tunas per eksplan. Media BA 1 mg/L juga memberikan respons terbaik dalam multiplikasi tunas dengan tunas sebanyak 9,2 dan panjang 3,89 cm. Planlet yang dihasilkan dari tunas yang berasal dari media BA 1 mg/L memiliki jumlah serta panjang akar terbaik pada media  $\frac{1}{2}$  MS, dibandingkan tunas yang berasal dari media BA 2 mg/L. Planlet hasil regenerasi dari tunas yang berasal dari media BA 1 mg/L memiliki warna kekuningan jika dibandingkan dengan yang berasal dari media BA 2 mg/L.

Kata kunci: *crown*, embrio, regenerasi, *Zea mays* L., ZPT

## **In Vitro Regeneration Plants of Maize (*Zea mays* L.) Varieties Bisi-2**

Arifah Nur Karima Putri, Wahyu Widoretno  
Biology Department, Faculty of Mathematic and Natural Sciences,  
University of Brawijaya  
2019

### **ABSTRACT**

The success of plant breeding through biotechnology is determined by the availability of plant regeneration methods in vitro. Growth regulators (PGR) and explants are the most important factors for successful in vitro regeneration. This study aims to determine the effect of PGR and explant types on the regeneration of maize (*Zea mays* L.) plants in vitro. Stages of research include shoot induction, shoot multiplication, root induction and plantlet regeneration. Shoot induction using crown and embryo explants cultured on MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) or MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) + NAA 0.1 mg/L. The formed shoots were subcultured on MS + 1 and 2 mg/L BA media for shoot multiplication. The shoots were then root-induced and regenerated on  $\frac{1}{2}$  MS, MS and MS + 0.5 mg/L IBA media. The results showed that the crown explants on BA media provided the best response in shoot induction. The percentage of shoot formation from crown explants had 25-65% on BA media and between 5-20% in NAA combination BA media. The percentage of shoot formation from explant embryos was only around 15-25% in BA media and ranges from 5-15% in NAA combination BA media. The highest percentage of shoot formation was obtained from crown explants cultured on the media with the addition 1 mg/L of BA, which was 65% with 1.75 shoots per explant. BA media 1 mg/L also gave the best response in multiplication of shoots with as many as 9.2 shoots and 3.89 cm long. Plantlets were produced from shoots from 1 mg/L BA media had the best amount and root length in  $\frac{1}{2}$  MS medium, compared to shoots from 2 mg/LBA. Planlet shoots on shoots from 1 mg/LBA medium had a yellowish color compared to shoots from 2 mg/LBA.

Keywords: crown, embryo, PGR, regeneration, *Zea mays* L.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Aalamiin, dengan ungkapan rasa syukur pada Allah Yang Maha Kuasa akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Wahyu Widoretno, M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengarahan serta tambahan ilmu dan saran-saran yang berguna bagi penulis.
2. Ibu Ir. Retno Mastuti, M.Agr.Sc., DAgg.Sc. dan Bapak Dian Siswanto, M.Sc., M.Si., Ph.D selaku Dosen Penguji yang telah memberi saran yang bermanfaat demi perbaikan penyusunan skripsi.
4. Orang tua, kakak serta Ammar keponakandari penulis atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang tidak terkira.
5. Teman-teman anggota keluarga Laboratorium Fisiologi, Kultur Jaringan dan Mikroteknik, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya.
6. Ade Satria Ramadhan dan teman-teman Mi Goreng.
7. Retno Purwaningtyas, Ika Rizky Sekarwangi, Tika Faradina, Nur Lissa, Novia, Lathifa, Rifa, Icha, Isna, Farisan, Irma, Vani, serta rekan Biologi 2015 “Limfosit” dan seluruh civitas akademik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini merupakan upaya optimal penulis sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, 1 November 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Jagung ( <i>Zea mays</i> L.) dan Potensi sebagai Bahan Pangan.....	5
2.2 Jagung Varietas Bisi-2.....	7
2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan.....	8
2.4 Faktor-Faktor Keberhasilan Kultur Jaringan Tumbuhan.....	10
2.5 Regenerasi Tanaman Jagung secara <i>In Vitro</i> ....	13
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	15
3.1 Waktu dan Tempat.....	15
3.2 Pembuatan Media.....	15
3.3 Persiapan Eksplan.....	16
3.4 Induksi Tunas.....	16
3.5 Multiplikasi Tunas.....	16
3.6 Induksi Akar dan Regenerasi Planlet.....	17
3.7 Rancangan Penelitian.....	17
3.8 Analisis Data.....	18

<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	19
4.1 Induksi Tunas secara <i>In Vitro</i> .....	19
4.2 Multiplikasi Tunas.....	24
4.3 Induksi Akar dan Regenerasi Planlet.....	26
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	33
<b>LAMPIRAN</b> .....	39

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan pada kultur jaringan tumbuhan.....	12
2.	Perlakuan induksi tunas.....	17
3.	Perlakuan multiplikasi tunas.....	18
4.	Perlakuan pembentukan akar dan regenerasi planlet.....	18
5.	Komposisi larutan stok MS.....	40
6.	Rincian terhadap unsur media MS.....	40
7.	Hasil uji normalitas pada pembentukan tunas	41
8.	Hasil uji Duncan pada pembentukan tunas.....	42
9.	Hasil uji normalitas pada rata-rata jumlah tunas per eksplan.....	42
10.	Hasil uji Duncan pada rata-rata jumlah tunas per eksplan .....	44
11.	Hasil uji normalitas pada multiplikasi tunas..	44
12.	Hasil uji T pada panjang tunas hasil multiplikasi tunas.....	45
13.	Hasil uji T pada jumlah tunas hasil multiplikasi tunas.....	45
14.	Hasil uji normalitas pada induksi akar.....	45
15.	Hasil uji Duncan pada panjang akar.....	47
16.	Hasil uji Duncan pada jumlah akar.....	47

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Jagung varietas Bisi-2.....	8
	Respon pertumbuhan dua jenis eksplan yang dikultur pada media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi ZPT BA dan NAA.....	20
2.	Persentase pembentukan tunas eksplan <i>crowm</i> dan embrio pada media BA dan BA kombinasi NAA pada minggu ke 6 .....	21
3.	Jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan <i>crowm</i> dan embrio pada media BA dan BA kombinasi NAA pada minggu ke 6 .....	22
4.	Multiplikasi tunas dari eksplan <i>crowm</i> pada media beberapa konsentrasi BA.....	24
5.	Pengaruh konsentrasi BA terhadap panjang dan jumlah tunas hasil multiplikasi.....	25
6.	Induksi akar hasil regenerasi pada beberapa media .....	26
7.	Respon pembentukan akar pada beberapa jenis media induksi $\frac{1}{2}$ MS0, MS0 dan MS + IBA 0,5 mg/L dari tunas yang berasal media BA 1 dan 2 mg/L.....	27
8.	Planlet hasil regenerasi.....	28
9.		

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Komposisi media MS.....	38
2.	Larutan stok media MS.....	39
3.	Hasil analisis statistik induksi tunas jagung Bisi-2 pada media BA dan BA kombinasi NAA.....	40
4.	Hasil analisis statistik multiplikasi tunas pada media BA 1 mg/L dan BA 2 mg/L.....	44
5.	Hasil analisis statistik induksi akar pada media MS, ½ MS dan IBA.....	45

## DAFTAR SINGKATAN

### Simbol/singkatan

ZPT

RAK

RAL

MS

BA

NAA

IAA

IBA

PK

FS

### Simbol/singkatan

t/ha

ku/ha

mg/L

### Keterangan

Zat Pengatur Tumbuh

Rancangan Acak Kelompok

Rancangan Acak Lengkap

Murashige Skoog

*Benzyl Adenine*

*Naphthaleneacetic Acid*

*Indole-3-Acetic*

*Indolebutyric Acid*

Pipilan Kering

*Foundation Seed*

Nama unit

Ton/hektar

Kuintal/hektar

miligram/liter





## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan komoditas yang cukup penting bagi Indonesia sebagai bahan makanan pokok pengganti beras. Jagung memiliki kandungan gizi, serat kasar serta kandungan karbohidrat yang menduduki peringkat setelah beras dan gandum. Jagung juga merupakan bahan pakan utama peternakan unggas dan menjadi bahan baku industri olahan (Murni & Arief, 2008).

Data BPS 2015 menunjukkan bahwa produksi jagung dalam bentuk pipilan kering (PK) mencapai 19,03 juta ton atau mengalami kenaikan sebesar 2,81% dibandingkan pada tahun 2013 sebesar 18,51 juta ton. Disisi lain, pemenuhan kebutuhan jagung Nasional sampai saat ini masih bergantung pada impor. Tahun 2015, nilai impor jagung di Indonesia periode Januari-April 2015 sebesar USD 301 juta (BPPKP, 2016).

Indonesia memiliki beberapa varietas jagung unggul. Jagung Bisi-2 merupakan salah satu varietas unggul yang memiliki rata-rata hasil produksi mencapai 8,9 t/ha PK dengan bobot 1000 biji sebesar  $\pm$  265 g. Kemampuan genetik jagung Bisi-2 untuk menghasilkan 2 tongkol jagung yang sama besar dalam satu tanaman yang tidak terdapat pada varietas lain. Benih jagung Bisi-2 telah membantu para petani dalam meningkatkan produksi jagung mereka (Aqil dkk., 2012). Namun demikian, jagung Bisi-2 memiliki kerentanan terhadap penyakit busuk tongkol *Gibberella* disebabkan cendawan patogen *Gibberella zeae* atau *Fusarium graminearum* (Soenartiningih, 2015). Penyakit ini banyak menyerang pertanaman jagung di sentra produksi jagung terutama pada musim hujan atau pada daerah yang mempunyai kelembaban tinggi (CIMMYT, 2004). Gejala penyakit ini ditandai adanya miselium yang berwarna putih kemudian berubah menjadi kemerah-merahan sampai keunguan pada bagian tongkol atau pada biji (Beyer, 2005).

Pemuliaan tanaman yang efisien untuk peningkatan ketahanan jagung terhadap patogen dapat dilakukan melalui bioteknologi atau secara non konvensional. Keberhasilan pemuliaan tanaman jagung secara bioteknologi atau secara non konvensional tersebut ditentukan dari ketersediaan metode regenerasi secara *in vitro*. Regenerasi *in*

*in vitro* sangat dipengaruhi oleh genotipe tanaman, kondisi fisiologi eksplan seperti kemampuan meristematis, serta fase pertumbuhan dari jaringan atau sel (Carsono & Tomohiko, 2006). Regenerasi *in vitro* pada jagung telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Regenerasi *in vitro* tanaman jagung pertama kali dilaporkan oleh Green dan Phillips pada tahun 1975 menggunakan eksplan embrio imatur. Regenerasi tanaman juga telah dilaporkan dari eksplan yang berbeda, yaitu kepala sari, *glume*, perbungaan, jumbai, segmen daun, protoplas, ujung tunas, tunas meristem apikal, dan embrio matur (Gudlavalletti dkk., 2018).

Huang dan Wei (2004) menunjukkan bahwa hasil optimal pada regenerasi jagung dengan menggunakan eksplan embrio matur terjadi pada media MS + BA 0,5 mg/L. Regenerasi juga dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan *crown*, seperti penelitian Iriawati dkk. (2013) pada tanaman akar wangi (*Vetiveria zizanioides*), menunjukkan bahwa medium yang mengandung BA3 mg/L adalah media optimal untuk menginduksi tunas dan juga untuk multiplikasi tunas. Namun hingga kini penggunaan *crown* pada regenerasi jagung belum dilaporkan.

Regenerasi jagung menggunakan eksplan embrio imatur yang diperoleh saat berumur 6-18 hari setelah penyerbukan menghasilkan regenerasi yang buruk, bahkan di banyak genotipe tidak ada regenerasi sama sekali. Namun pada embrio imatur yang dipanen pada 12 hari setelah penyerbukan, regenerasi cukup tinggi dan berkisar antara 6,2% pada genotipe LM13 hingga 20,9% pada genotipe HK11105 (Abhishek dkk., 2014).

Regenerasi tanaman secara *in vitro* dapat melalui embriogenesis dan organogenesis (Damayanti dkk., 2017). Organogenesis dan embriogenesis dapat berasal dari kalus (Vasil, 2005). Proses organogenesis sangat dipengaruhi oleh peranan sitokinin, namun demikian hanya sel-sel yang kompeten saja yang mampu menghasilkan tunas. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi sitokinin dan auksin lebih efektif dalam memacu pembentukan tunas (Lestari & Rosa, 2008). Patel dkk. (2006) melaporkan bahwa IBA adalah auksin yang efisien dalam menghasilkan akar pada eksplan jagung.

Selain jenis eksplan dan ZPT, regenerasi *in vitro* jagung juga dipengaruhi oleh genotip. Regenerasi jagung *in vitro* galur CML-161

dengan eksplan embrio imatur pada media MS + IAA 0,5 mg/L + BA 1 mg/L menghasilkan regenerasi tunas berkisar antara 52%. Berbeda pada jagung galur CML-323 dengan hasil sebesar 47,66%, galur CML-161 pada media MS + IAA 0,1 mg/L + BA 0,5 mg/L menghasilkan regenerasi tunas sebesar 54% Shohael dkk. (2003). Namun demikian, hingga saat ini regenerasi *in vitro* pada jagung varietas Bisi-2 belum dilakukan. Berdasarkan uraian diatas diperlukan teknik regenerasi secara *in vitro* untuk jagung varietas Bisi-2 untuk membantu pengembangan tanaman jagung secara non konvensional.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh jenis eksplan terhadap induksi tunas jagung *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenin*) tunggal dan BA yang dikombinasi dengan NAA (*Naphthaleneacetic Acid*) terhadap induksi tunas jagung *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh BA terhadap multiplikasi tunas jagung *in vitro*?
4. Bagaimana pengaruh jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS0, MS0 dan MS + IBA 0,5 mg/L) pada induksi akar dan regenerasi plantlet jagung *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai pada penelitian ini, yaitu:

1. Mengetahui pengaruh jenis eksplan terhadap induksi tunas jagung *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh zat pengatur tumbuh BA (*Benzyl Adenin*) tunggal dan BA yang dikombinasi dengan NAA (*Naphthaleneacetic Acid*) terhadap induksi tunas jagung *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh BA terhadap multiplikasi tunas jagung *in vitro*.
4. Mengetahui pengaruh jenis media ( $\frac{1}{2}$  MS0, MS0 dan MS + IBA 0,5 mg/L) pada induksi akar dan regenerasi plantlet jagung *in vitro*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diperoleh metode regenerasi jagung secara *in vitro* yang efisien sehingga diharapkan mampu membantu pemuliaan tanaman jagung.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jagung (*Zea mays* L.) dan Potensi sebagai Bahan Pangan

Jagung merupakan anggota dari ordo Graminae (rumpu-rumputan), famili Graminaceae, subfamili Myadeae, dan genus *Zea* (Purwono & Rudi, 2005). Jagung merupakan tanaman semusim (annual). Paruh pertama dari siklus merupakan tahap pertumbuhan vegetatif dan paruh kedua untuk tahap pertumbuhan generatif. Jagung merupakan tanaman pangan yang hidup di iklim panas yang pada dasarnya tumbuh pada temperatur antara 21-30 °C, walaupun suhu optimum benih berkecambah pada temperatur lebih rendah, berkisar 18-21 °C (Martin, 2000).

Hasil atau produksi tinggi jagung membutuhkan waktu 130-140 hari untuk mencapai kematangannya. Produktivitas jagung akan menjadi kurang baik pada media tanam dengan tingkat pH <5 (masam) atau pada pH >8 (basa). Varietas-varietas jagung yang bersifat adaptif pada hari panjang di daerah beriklim sedang akan menjadi pendek dan tidak produktif pada hari pendek di daerah iklim tropis (Martin, 2000).

Susunan morfologi tanaman jagung terdiri atas akar, batang, daun, bunga dan buah. Sistem perakaran terdiri atas akar-akar seminal, koronal dan akar udara (Ermanita dkk., 2004). Batang jagung beruas-ruas dengan jumlah bervariasi antara 10-40 ruas. Daun tumbuh melekat pada buku-buku batang dengan struktur atas kelopak daun, lidah daun (*ligula*) dan helaian daun (Fisher dkk., 2006).

Tanaman jagung memiliki struktur pembungaan berupa *monocious* (berumah satu), dimana bunga jantan (*staminate*) berada di ujung tanaman (*tassel*) dan bunga betina (*pisillate*) di tunas bagian tengah batang. Jagung bersifat *protandry*, bunga jantan matang terlebih dahulu 1-2 hari dari bunga betina. Buah jagung terdiri atas tongkol, biji dan daun pembungkus. Biji jagung terdiri atas bagian utama berupa kulit biji (*seed coat*), endosperma dan embrio. Tanaman jagung memproduksi bijiannya pada tunas samping (*lateral*), tidak seperti sereal lainya (Fisher dkk., 2006).

Komoditas jagung memiliki peran yang strategis, baik dalam sistem ketahanan pangan maupun dalam ekonomi nasional. Jagung juga berkontribusi pada ketersediaan protein sebagai pangan.

Jagung menjadi sebuah komoditas menarik bagi pertumbuhan industri hulu dan pendorong pertumbuhan industri hilir yang cukup besar pada perekonomian nasional (Pratiwi, 2017).

Jagung menjadi bahan pangan pokok pada beberapa daerah di Indonesia, seperti di Madura dan Nusa Tenggara. Tidak hanya karena kandungan karbohidratnya, jagung dibudidaya untuk pakan ternak pada daun atau tongkolnya, minyak pada biji, tepung maizena dari biji, dan bahan baku industri lainnya. Pentosa pada tongkol jagung dapat digunakan sebagai pembuatan furfural. Jagung hasil rekayasa genetika juga berperan dalam bahan baku farmasi. Permintaan jagung akan terus mengalami peningkatan seiring bertambahnya jumlah penduduk, pendapatan serta daya beli masyarakat (Syah dkk., 2009). *Kebutuhan jagung nasional pada tahun 2017 mencapai 19 juta ton per tahun (Mansyur, 2017).*

Indonesia memiliki potensi yang sangat besar dalam meningkatkan produksi maupun produktivitas jagung. Lahan dengan kesuburan yang baik, persyaratan agroklimat sederhana, teknologi yang telah tersedia di Indonesia. Hal tersebut menjadi keuntungan dalam pembudidayaan jagung di Indonesia (Puslitbangtanak, 2002).

Jawa Timur dan Jawa Tengah merupakan provinsi utama penghasil jagung dengan nilai *share* terhadap produksi nasional sebesar 46,12% pada lima tahun terakhir (Suwandi, 2017). Daerah penghasil produksi jagung terbesar setelah Jawa Timur dan Jawa Tengah, terjadi di daerah Sumatera seperti Medan dan Lampung. Hal tersebut menjadikan hasil produksi di Indonesia mencapai 16 ton/tahun (Tim Karya Tani Mandiri, 2010).

Pada Tahun 2016 produksi jagung mengalami peningkatan sebesar 18,23% karena peningkatan produktivitas sebesar 2,07%. Luas panen mengalami peningkatan yang cukup signifikan 15,85% atau sebesar 600 ribu hektar. Produksi jagung mengalami peningkatan 1,07 ku/ha, pada tahun 2015 sebesar 51,78 ku /ha dan meningkat menjadi 52,85 ku/ha pada tahun 2016 (Chafid, 2016).

Sasaran produksi jagung tahun 2017 sebesar 30,54 juta ton PK. Nilai ini mengalami peningkatan 26,44% dari sasaran produksi jagung tahun 2016 dengan sasaran luas tanam jagung seluas 6,05 juta ha dan sasaran luas panen 5,74 juta ha. Sasaran produktivitas jagung tahun 2017 sebesar 53,18 ku/ha atau meningkat 0,39% dari sasaran produktivitas jagung 2016 (Direktorat Sirealia, 2016).

Upaya peningkatan produksi jagung ditujukan untuk mencapai swasembada jagung secara berkelanjutan. Permasalahan pada hal ini masih terdapat sejumlah kendala yang perlu diselesaikan. Penggunaan benih unggul merupakan faktor utama dalam peningkatan produksi jagung. Penggunaan benih unggul hibrida dapat menjadi peningkat produktivitas yang tinggi. Bisi-2 merupakan salah satu varietas jagung hibrid dengan keunggulan menghasilkan 2 tongkol, pertumbuhan seragam, tegak serta tahan roboh dengan potensi hasil mencapai 13 ton/ha, populasi tanaman lebih banyak sekitar 62000/ha dengan kebutuhan benih sekitar 15 kg/ha, waktu panen relatif singkat 103 hari siap untuk dipanen (Aqil dkk., 2012). Namun tingkat penggunaan benih hibrida tergolong masih rendah, sekitar 60% dari total penanaman. Hal ini disebabkan karena tingginya harga jual benih jagung hibrida yang sulit dijangkau oleh para petani. Penyebaran varietas jagung hibrida di wilayah Indonesia juga belum terdistribusi secara luas (Direktorat Jendral Tanaman Pangan, 2017).

## **2.2 Jagung Varietas Bisi-2**

Jagung varietas Bisi-2 merupakan hasil silang tunggal antara FS 4 dengan FS 9. FS 4 dan FS 9 merupakan *tropical inbred* yang dikembangkan oleh Charoen Seed Co., Ltd. Thailand dan Dekalb Plant Genetic, USA (Aqil dkk., 2012). Jagung varietas Bisi-2 merupakan salah satu jagung hibrida yang sering digunakan oleh para petani Indonesia. Jagung hibrida menggantikan jagung bersari bebas dikarenakan hasil produksi yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan ekspresi gen yang berasosiasi terhadap pengambilan fotosintesis, nutrisi, transpirasi, translokasi, metabolisme, dan interaksi gen terhadap lingkungan. Jagung hibrida memiliki sifat heterosis, memiliki kualitas visual seragam, mutu terjamin, zat gizi lebih baik dari bersari bebas, potensi hasil baik dan waktu panen yang lebih cepat. Jagung hibrid diperoleh dari hasil persilangan, sedangkan bersari bebas diperoleh dari pertanaman sebelumnya, atau belum diserbuki oleh varietas lain (Aprisa, 2012).

Batang jagung varietas Bisi-2 tumbuh tinggi dan tegap dengan warna hijau. Tinggi tanaman dapat mencapai  $\pm 232$  cm. Daunnya panjang, lebar dan terkulai dengan warna hijau cerah. Keragaman tanamnya bersifat seragam. Sistem perakarannya baik dan tahan

rebah. Kemampuan genetik untuk menghasilkan dua tongkol jagung yang berukuran sama besar dalam satu tanaman, tidak dimiliki oleh varietas lain (Gambar 2) (Aqil dkk., 2012).

Tongkol berkedudukan di tengah-tengah batang dengan ukuran sedang, berbentuk silindris dan seragam. Kelobot menutup tongkol dengan baik. Biji bertipe setengah mutiara (*semi flint*) dengan warna kuning oren. Bobot pada 1000 biji sebesar  $\pm 265$  gram. Rata-rata hasil dapat mencapai 8,9 t/ha PK. Jagung Bisi-2 memiliki ketahanan berupa toleran terhadap penyakit bulai dan karat daun. Jagung varietas ini sangat sesuai apabila ditanam di dataran rendah hingga ketinggian 1000 m dpl (Aqil dkk., 2012).



(Aqil dkk., 2012)

Gambar 1. Jagung varietas Bisi-2

### 2.3 Kultur Jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan merupakan suatu metode isolasi bagian jaringan tanaman. Kultur jaringan disebut pula sebagai kultur *in vitro* tumbuhan. Pemberian istilah ini dikarenakan sel, jaringan atau organ tanaman hasil isolasi tersebut tumbuh, berkembang dan beregenerasi secara aseptis pada medium di dalam wadah botol gelas (tabung)



transparan secara *in vitro* dan dalam keadaan kondisi yang terkontrol. Bagian tumbuhan (sel, jaringan, organ) yang digunakan untuk memulai suatu kultur disebut sebagai eksplan. Pelaksanaan teknik kultur jaringan tumbuhan dilakukan dalam kondisi aseptis, terbebas dari bakteri, jamur, ragi maupun jasad renik lainnya (Manuhara, 2014).

Bagian tanaman baik sel maupun jaringan yang akan ditumbuhkannya disebut eksplan (beberapa jaringan dengan sifat mampu merespon lebih baik dibanding yang lain). Eksplan dapat berasal dari seluruh bagian tumbuhan baik organ (akar, batang, daun) maupun jaringan dan sel yang spesifik (endosperm, polen, mesofil, hipokotil dan kotiledon) (Mastuti, 2017). Teknik kultur jaringan tumbuhan digunakan untuk berbagai tujuan seperti modifikasi genotipe (pemuliaan tanaman), propagasi (perbanyakan), produksi biomassa produk-produk kimiawi, patologi tanaman, penyimpanan dan pengawetan, serta dapat digunakan sebagai penelitian ilmiah dan lainnya (Hartman dkk., 2000).

Sistem regenerasi dalam teknologi kultur jaringan terdapat dua macam, yaitu organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis merupakan proses diferensiasi yang bersifat unipolar, yang membentuk ujung tunas menjadi tunas, atau ujung akar yang membentuk akar (*rhizogenesis*). Organogenesis melewati dua tahapan induksi, pertama induksi pembentukan tunas dengan penambahan hormon sitokinin atau campuran auksin dengan sitokinin. Tahap kedua yaitu induksi pembentukan akar dengan penambahan hormon auksin (Manuhara, 2014).

Embriogenesis adalah proses diferensiasi meristem bipolar pada bakal tunas atau akar untuk pertumbuhan tanaman utuh. Pertumbuhan dan perkembangan embrio melalui proses embriogenesis zigotik, dengan terbentuknya struktur bipolar melalui tahapan *globular* (bulat), *heart* (jantung), torpedo yang kemudian berkecambah menjadi planlet. Embrio somatik ini dapat diinduksi dengan penambahan kombinasi ZPT dengan konsentrasi yang berbeda (Manuhara, 2014).

Organogenesis dan embriogenesis merupakan bagian dari proses morfogenesis. Morfogenesis dapat terjadi secara langsung (*direct morphogenesis*) atau tidak langsung (*indirect morphogenesis*). Morfogenesis langsung terjadi pada eksplan yang langsung membentuk tunas atau akar secara langsung. Morfogenesis tidak

langsung dengan pembentukan kalus terlebih dahulu dan kemudian berinduksi membentuk tunas atau akar (Manuhara, 2014).

Proses morfogenesis langsung dapat dilakukan dengan menggunakan medium dengan kombinasi ZPT. Medium yang hanya terdiri dari garam-garam makro dan manitol dapat menginduksi sel-sel embriogenik. Medium ini dapat disebut sebagai medium *starvation* atau medium minimal (Manuhara, 2014).

Morfogenesis tidak langsung dapat dilakukan dengan penanaman eksplan dalam medium induksi kalus menggunakan tambahan hormon auksin. Kalus disubkultur pada medium dengan ZPT kombinasi auksin dengan konsentrasi rendah dan sitokinin dengan konsentrasi yang lebih dibanding auksin. Kalus yang disubkultur pada medium cair akan membentuk suspensi sel yang aktif tumbuh (Eide & Walter, 2011). Medium cair tersebut dilakukan dengan penggojogan yang kemudian berdiferensiasi membentuk sel-sel embriogenik, kemudian membentuk tunas atau akar (Gupta & Ibarakri, 2008).

## **2.4 Faktor-Faktor Keberhasilan Kultur Jaringan Tumbuhan**

Keberhasilan dalam kultur jaringan tumbuhan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor-faktor seperti pemilihan eksplan, keadaan fisiologis eksplan atau tanaman donor, kondisi kultur dan juga komposisi medium (Manuhara, 2014). Kultur jaringan juga tergantung pada beberapa faktor seperti genotipe (Carsono & Tomohiko, 2006).

Eksplan yang sehat akan menghasilkan planlet yang sehat pula. Eksplan yang digunakan haruslah terbebas dari hama, penyakit maupun organisme yang merugikan. Umur tanaman donor juga mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Pemilihan tanaman donor sebaiknya pada umur rata-rata, tidak terlalu muda ataupun tua. Umur yang terlalu muda beresiko sulit untuk tumbuh karena kandungan senyawa fenol yang tinggi, sehingga mudah terjadi *browning* yang berujung kematian. Umur yang terlalu tua juga tidak baik, karena sifat totipotensi yang berkurang bahkan tidak ada (Neumann dkk., 2009).

Respon setiap tanaman sangat bervariasi tergantung pada jenisnya. Pengaruh genotipe memiliki hubungan erat pada faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan seperti pada

zat pengatur tumbuh, nutrisi, atau kondisi lingkungan. Setiap varietas membutuhkan kondisi yang berbeda, meskipun teknik yang digunakan sama. Perbedaan respon dapat diketahui dari pertumbuhan dan kemampuan beregenerasi. Perbedaan ini disebabkan karena kontrol genetik dari masing-masing varietas serta gamet tanaman induk (Manuhara, 2014).

Medium dalam kultur jaringan tumbuhan mengandung komponen berupa elemen mineral (nutrisi makro-mikro), zat pengatur tumbuh (ZPT), dan senyawa organik. Elemen mineral terdiri atas nutrisi inorganik sebagai makro dan mikro nutrien yang terkandung seperti dalam tanah bagi tanaman. Nutrisi makro terdiri atas Pottasium (K), Fosfor (P) dan Nitrogen (N) dari  $\text{NO}_3$  dan  $\text{NH}_4$ . Nutrisi mikro terdiri atas B, Mg, Ca, Cl, Fe, Mn, S, Na, Zn, Cu, Mo, Co, dan I (Acquaah, 2004).

Senyawa organik dapat berupa sumber karbon serta faktor lain yang dapat mendukung. Sumber karbon dapat menentukan keberhasilan kultur jaringan selain kombinasi zat tumbuh. Sumber karbon berperan sebagai sumber energi yang dibutuhkan oleh sel untuk dapat melakukan pertumbuhan. Senyawa organik yang umum digunakan yaitu vitamin, gula, dan myo-inositol. Glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan. Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus (Manuhara, 2014).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) tanaman merupakan senyawa organik bukan nutrisi. Zat pengatur tumbuh pada tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman, baik menghambat, mendorong atau mengubah pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan secara kualitatif. Pertumbuhan dan perkembangan pada kultur dapat dimanipulasi dengan memvariasikan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan pada kultur jaringan tumbuhan adalah auksin dan sitokinin (Tabel 1) (Acquaah, 2004).

Interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen (diproduksi oleh jaringan tanaman) dengan eksogen pada media mengakibatkan pembentukan organ. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat menjadi faktor pemicu dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Lestari, 2011).

Auksin pada umumnya digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi dan akar. Hal ini karena sifatnya yang memacu pemanjangan dan pembelahan sel. Pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik umumnya membutuhkan auksin dalam konsentrasi yang relatif tinggi (Lestari, 2011).

Tabel 1. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan pada kultur jaringan tumbuhan

Zat Pengatur Tumbuh	Peranan
Auksin	Pemanjangan akar adventif dan sel. Berperan dalam dominansi apikal. Induksi kalus dari eksplan dan embriogenesis somatik.
Contoh auksin alami: <i>Indole-3-Butyric Acid</i> (IBA), <i>Indole-3-Acetic Acid</i> (IAA)	
Contoh auksin sintetik: <i>2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4-D), <i>1-Naphthalene Acetic Acid</i> (NAA), <i>2,4,5-Trichlorophenoxy Acetic Acid</i> (2,4,5-T), Picloram, Tordon 4-CPA, Dicamba	
Sitokinin	Memiliki dampak berlawanan terhadap dominansi apikal. Menghambat induksi akar dan embriogenesis.
Contoh sitokinin alami: zeatin	
Contoh sitokinin sintetik: kinetin, benzyladine (BA)	

(Acquaah, 2004)

Kondisi lingkungan dalam kultur *in vitro* meliputi cahaya, temperatur dan pH medium juga dapat mempengaruhi hasil kultur jaringan tumbuhan. Sel tumbuhan selama dalam kultur *in vitro*, relatif tidak melakukan fotosintesis secara efisien dan umumnya dalam keadaan non autotrof. Energi yang berasal dari gula tidak cukup untuk pertumbuhan, dibutuhkan juga cahaya untuk

menghasilkan planlet hijau dengan daun normal (Sugiharto dkk., 2007).

Temperatur yang digunakan dalam kultur *in vitro* pada umumnya lebih tinggi dari kondisi suhu *in vivo*, untuk mempercepat pertumbuhan dan morfogenesis eksplan. Kelembaban di ruang kultur umumnya adalah sekitar 70%. Kelembapan dibawah 70% akan mengakibatkan media cepat menguap dan mengering, namun bila terlalu tinggi menyebabkan daun menjadi lemah, mudah patah, dan ukuran yang lebih kecil (Basri, 2016).

## **2.5 Regenerasi Tanaman Jagung secara *In Vitro***

Embriogenesis merupakan salah satu jalur regenerasi secara *in vitro*. Embriogenesis pada kultur *in vitro* dapat terjadi secara langsung dengan terbentuk tanpa melalui fase kalus dan secara tidak langsung dengan melalui fase kalus. Eksplan yang sering dipergunakan dalam induksi dan mempelajari embriogenesis secara langsung dapat menggunakan embrio zigotik muda. Hal ini dikarenakan jaringan secara alami telah embriogenik dan hanya membutuhkan sedikit nutrisi jika dibandingkan dengan jaringan embriogenik lainnya untuk memperoleh respons (Aprisa, 2012). Regenerasi tanaman jagung secara *in vitro* pertama kali dilaporkan oleh Green dan Phillips pada tahun 1975 (Aprisa, 2012). Peletakan posisi eksplan terhadap media dapat mempengaruhi hasil. Embrio muda yang diletakkan dengan aksis tunas-akar menyentuh media, perkecambahan embrionya menjadi lambat dan terjadi peningkatan proliferasi sel skutelar untuk membentuk kalus yang dapat diregenerasikan. Kalus yang dibentuk bersifat kompak, dimodelkan sebagai kalus tipe I. Kalus tipe ini pada tanaman jagung bersifat embriogenik dan kompak, dimana pada kalus ini pada beberapa kasus mendukung embriogenesis dan organogenesis (Somers dkk., 1988).

Regenerasi tanaman dapat melalui organogenesis dan embriogenesis somatik (Aprisa, 2012). Organogenesis dan embriogenesis tersebut berasal dari kalus yang keras, putih atau kuning, kompak menyerupai skutelar. Embriogenesis merupakan jalur regenerasi tanaman yang sering terjadi pada poliferasi jaringan kompak yang berasal dari skutelum embrio muda pada jagung (Vasil dkk., 2005).

Percobaan embriogenesis menggunakan jagung (genotip A188 dan B73) dengan eksplan berupa embrio muda. Respon menunjukkan bahwa sebagian besar dipengaruhi oleh stadia perkembangan eksplan. Kalus embriogenik yang terbentuk terdapat dua tipe yang berbeda. Kalus Tipe I bersifat keras dan berwarna putih hingga krem, dengan perkembangan struktur lanjut (ditandai dengan perkembangan embrio yang sangat baik dan terdapat struktur yang berwarna hijau) (Finner, 2005).

Kalus Tipe II bersifat remah dan berwarna krem hingga kuning. Pada permukaan kalus embriogenik jagung terdapat somatik embrio. Stadia embrio lanjut (skutelar dan koleoptilar) pada kalus jagung Tipe I mengalami perkembangan sangat cepat selama dalam kultur media perkembangan. Kalus Tipe II membentuk proliferasi embrio terlebih dahulu pada stadia perkembangan awal. Namun, kalus tipe II membutuhkan waktu lebih lama untuk membentuk stadia embrio lanjut (Finer, 2005).

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2018 – November 2019. Penelitian bertempat di Laboratorium Fisiologi, Kultur Jaringan, dan Mikroteknik Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.

### 3.2 Pembuatan Media

Pembuatan media MS diawali dengan disiapkan larutan stok Murashige Skoog (MS) (Lampiran 1). Larutan stok kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml untuk pembuatan media 1 liter, meliputi larutan stok A ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) 20 ml, larutan stok B ( $\text{KNO}_3$ ) 20 ml, larutan stok C ( $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 10 ml, larutan stok D ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 10 ml, larutan stok E ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 5 ml, larutan stok F ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 5 ml, larutan stok G ( $\text{KI}$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 0,5 ml, larutan vitamin 1 ml, Myoinositol 10 ml dan penambahan ZPT. Media MS padat untuk induksi tunas ditambahkan ZPT BA (0, 1, 2, 3 mg/L) atau BA (0, 1, 2, 3 mg/L) + NAA 0,1 mg/L. Media MS padat untuk multiplikasi tunas ditambahkan BA (1 dan 2 mg/L). Media MS padat untuk regenerasi planlet ditambahkan IBA 0,5 mg/L atau tanpa ZPT (MS0) atau  $\frac{1}{2}$  MS0 (Lampiran 3).

Gula ditimbang sebanyak 30 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi larutan stok MS dengan campuran ZPT, kemudian akuades ditambahkan hingga volume kurang dari 1000 ml. Larutan dihomogenkan hingga merata menggunakan *magnetic stirer* hingga homogen. Tingkat pH larutan disesuaikan pada pH 5,8 dengan ditambahkan NaOH jika pH larutan < 5,8 dan ditambahkan HCl jika pH > 5,8. Larutan ditambahkan bubuk agar sebanyak 11 gram dan ditambahkan akuades hingga volume 1000 ml, dihomogenkan hingga merata menggunakan *magnetic stirer* serta dipanaskan dengan pemanas hingga mendidih.

Media yang telah mendidih, dimasukkan ke dalam 100 botol kultur yang telah disterilisasi (masing-masing botol kultur berisi kurang lebih 10 ml media). Media disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1.5

atm pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media dikeluarkan dari autoklaf dan disimpan di ruang penyimpanan. Media perkecambahan adalah media agar dengan prosedur pembuatan yang sama dengan media MS, namun tidak diberikan larutan stok dan ZPT. Media hanya terdiri atas bubuk agar dan akuades.

### 3.3 Persiapan Eksplan

Biji jagung varietas Bisi-2 disterilisasi dengan pemutih komersial 30% (bahan aktif NaClO 5,25%) selama 20 menit. Biji kemudian dibilas dengan akuades steril selama 5 menit, sebanyak 2 kali. Keseluruhan biji yang telah steril, dipisahkan menjadi 2 perlakuan berbeda yaitu direndam dengan akuades steril lalu disimpan pada suhu 4° C selama 2 hari untuk mendapatkan embrio dan biji steril lainnya dikecambahkan secara *in vitro* selama 7 hari pada media agar untuk diperoleh eksplan *crowm*.

### 3.4 Induksi Tunas

Eksplan embrio diambil dari biji steril yang telah lunak hasil perendaman 2 hari, sedangkan eksplan *crowm* diisolasi dari kecambah berumur 7 hari. Eksplan embrio dan *crowm* dikulturkan pada media MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) atau MS + BA (0, 1, 2, 3 mg/L) + NAA 0,1 mg/L dengan ulangan sebanyak 5 kali, tiap ulangan berisikan 4 eksplan. Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu ruang 24-25 °C, dengan pencahayaan 600 lux selama 24 jam. Pada tiap 2 hari sekali dievaluasi waktu muncul tunas atau kalus. Eksplan dievaluasi terhadap persentase yang membentuk tunas atau kalus, jumlah tunas per eksplan diamati pada minggu ke 2, 4, 6, sedangkan berat basah kalus + eksplan ditimbang pada minggu ke 6.

### 3.5 Multiplikasi Tunas

Tunas yang terbentuk disubkultur pada media dasar MS yang diberi konsentrasi hormon terbaik dari tahapan sebelumnya yaitu MS + BA 1 atau MS + BA 2 mg/L. Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu ruang 24-25 °C, dengan pencahayaan 600 lux selama 24 jam. Jumlah tunas per eksplan dan panjang tunas dievaluasi seminggu sekali selama 6 minggu.



### 3.6 Induksi Akar dan Regenerasi Planlet

Induksi akar dan regenerasi planlet dilakukan dengan mengkultur tunas hasil multiplikasi pada media  $\frac{1}{2}$  MS0 atau MS0 atau MS + IBA 0,5 mg/L. Kultur kemudian diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu ruang 24-25 °C, dengan pencahayaan 600 lux selama 24 jam. Pada tiap 2 hari sekali dievaluasi waktu muncul akar. Evaluasi juga dilakukan pada minggu ke empat terhadap jumlah akar, panjang akar, jumlah dan tinggi planlet.

### 3.7 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAK pada induksi tunas dan RAL pada multiplikasi tunas, induksi akar dan regenerasi planlet dengan 3 faktor (jenis eksplan, jenis ZPT dan konsentrasi ZPT) pada induksi tunas (Tabel 2), 1 faktor (konsentrasi BA) pada multiplikasi tunas (Tabel 3) dan 2 faktor (jenis media asal dan jenis media induksi akar) (Tabel 4) pada induksi akar dan regenerasi planlet, ulangan sebagai kelompok.

Tabel 2. Perlakuan induksi tunas

Eksplan	NAA (mg/L)	BA (mg/L)
Embrio	0	0
		1
		2
0,1	0	3
		1
		2
0,1	0	3
		1
		2
0,1	0	3
		1
		2
0,1	0	3
		1
		2

Tabel 3. Perlakuan multiplikasi tunas

Eksplan	BA (mg/L)
<i>Crown</i>	1 2

Tabel 4. Perlakuan pembentukan akar dan regenerasi planlet

Eksplan	Jenis Media
<i>Crown</i>	½ MS0 (setengah konsentrasi)
	MS0 (tanpa ZPT)
	MS + IBA (0,5 mg/L)

### 3.9 Analisis Data

Analisis dilakukan dengan Two-Way ANOVA (*Analysis of Varians*) dengan uji lanjutan Duncan atau *T-test* pada induksi tunas serta induksi akar dan regenerasi planlet dan One-Way ANOVA (*Analysis of Varians*) dengan uji lanjutan *T-test* pada multiplikasi tunas.

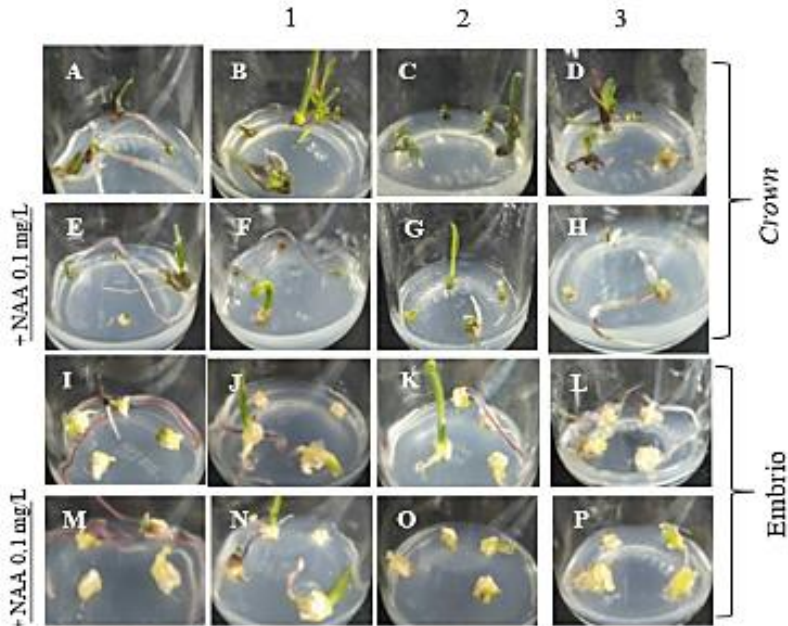
## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Induksi Tunas secara *In Vitro*

Hasil penelitian menunjukkan eksplan *crown* dan embrio dapat menginduksi pembentukan tunas. Sebagian besar tunas yang terbentuk berwarna hijau muda segar (Gambar 2A), namun tunas yang terbentuk dari eksplan *crown* media BA memiliki warna sedikit tua (Gambar 2B-D). Tunas yang terbentuk dari eksplan *crown* pada media MS0 berukuran pendek dan hanya tumbuh 1 tunas per eksplan, sedangkan tunas pada media MS + BA tanpa kombinasi NAA pembentukan tunas per eksplan lebih dari 1 tunas (Gambar 2B-D). Tunas yang dihasilkan pada media dengan penambahan BA 1 mg/L mampu diinduksi dengan jumlah tunas per eksplan terbanyak dan tunas yang dihasilkan lebih panjang (Gambar 2B). Media dengan penambahan konsentrasi BA di atas 1 atau 2 mg/L dapat menghambat pertumbuhan tunas. Sedangkan eksplan embrio pada media MS0 dan media dengan penambahan BA menunjukkan pertumbuhan satu tunas tiap eksplan (Gambar 2I-L). Pemberian BA 3 mg/L pada media eksplan embrio hanya mampu menyebabkan pembesaran ukuran eksplan saja dan kurang mampu menginduksi pembentukan tunas (Gambar 2L). Sedangkan pertumbuhan tunas pada media MS + BA kombinasi NAA pada eksplan *crown* dan embrio tidak sebaik pada eksplan *crown* pada media MS + BA. Tunas yang terbentuk pada kedua eksplan pada media MS + BA kombinasi NAA hanya satu tunas tiap eksplan. Sebagian besar eksplan embrio pada media MS + BA kombinasi NAA tidak mampu membentuk tunas (Gambar 2N-P).

Jenis eksplan dan media dapat mempengaruhi waktu kemunculan tunas. Eksplan *crown* pada media MS + BA 1 dan 2 mg/L memiliki rerata waktu muncul tunas tercepat dibandingkan dengan media lainnya, yaitu 2-3 hari. Sedangkan waktu kemunculan tunas dari eksplan *crown*, pada media MS0 dan MS + BA 3 mg/L membutuhkan 3-5 hari. Eksplan *crown* pada media BA kombinasi NAA membutuhkan waktu lebih lama, berkisar 4-6 hari. Eksplan embrio pada seluruh jenis media membentuk tunas mulai hari ke 3-5.

Konsentrasi BA 0

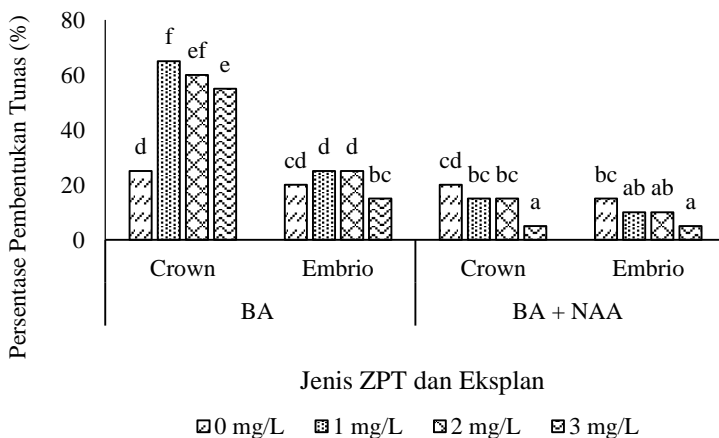


Gambar 2. Respon pertumbuhan dua jenis eksplan yang dikultur pada media MS dengan penambahan beberapa konsentrasi ZPT BA dan NAA. A-H) eksplan crown; I-P) eksplan embrio

Pembentukan dan pertumbuhan tunas *in vitro* pada tanaman jagung dipengaruhi oleh jenis eksplan yang digunakan dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media kultur. Eksplan *crown* memberikan respon pertumbuhan tunas lebih baik dibandingkan dengan eksplan embrio. Sedangkan media MS dengan zat pengatur tumbuh BA saja lebih mampu menginduksi pembentukan tunas dibandingkan dengan BA yang dikombinasikan dengan NAA. Persentase pembentukan tunas dan jumlah tunas yang terbentuk tiap eksplan juga dipengaruhi oleh konsentrasi BA yang diberikan (Gambar 3 dan 4).

Persentase pembentukan tunas dari eksplan *crown* antara 25-65% pada media BA dan antara 5-20% pada media BA kombinasi NAA. Sedangkan persentase pembentukan tunas dari eksplan embrio

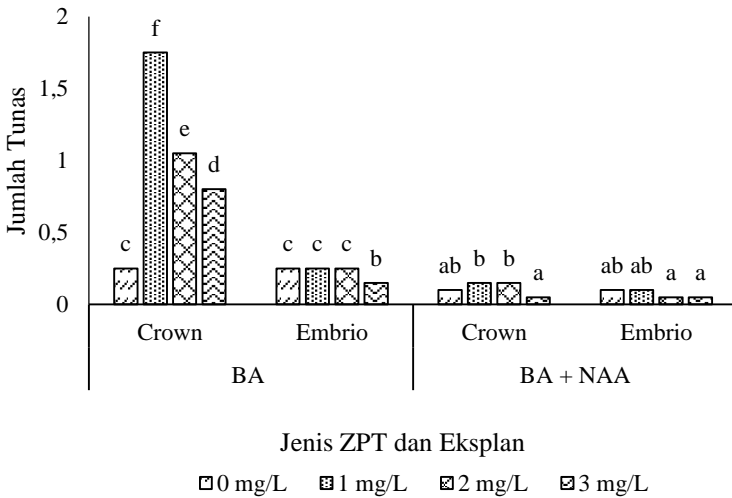
hanya berkisar antara 15-25% pada media BA dan berkisar antara 5-15% pada media BA kombinasi NAA (Gambar 3). Persentase pembentukan tunas terbaik terjadi pada eksplan *crown* dengan media MS + BA 1 mg/L yaitu sebesar 65%. Persentase pembentukan tunas pada media dengan pemberian konsentrasi BA 2 mg/L mulai terjadi penghambatan pembentukan tunas menjadi 60 % namun tidak signifikan dan semakin menurun pada media dengan pemberian BA 3 mg/L menjadi 55 %. Sedangkan persentase pembentukan tunas pada media MS0 sebesar 25%. Pada eksplan embrio dengan pemberian BA memiliki hasil terbaik pada konsentrasi BA 1 mg/L dan 2 mg/L dengan persentase pembentukan tunas sebesar 25%. Persentase pembentukan tunas pada konsentrasi BA 3 mg/L mulai menghambat pembentukan tunas menjadi 15%. Sedangkan pada media MS0 pembentukan tunas dari eksplan embrio sebesar 20%.



Gambar 3. Persentase pembentukan tunas pada eksplan *crown* dan embrio pada media BA dan BA kombinasi NAA pada minggu ke 6. Keterangan: huruf berbeda menunjukkan beda nyata pada uji Duncan

Konsentrasi BA yang meningkat pada media kombinasi NAA juga dapat menghambat pembentukan tunas pada kedua eksplan. Eksplan *crown* pada media NAA mampu membentuk tunas sebesar 20% dan eksplan embrio sebesar 15%. Persentase pembentukan tunas pada konsentrasi BA 1 dan 2 mg/L pada *crown* sebesar 15%

dan eksplan embrio sebesar 10%. Persentase pembentukan tunas terendah pada media BA kombinasi NAA terjadi pada konsentrasi BA 3 mg/L sebesar 5% pada kedua jenis eksplan.



Gambar 4. Jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan *crown* dan embrio pada media BA dan BA kombinasi NAA pada minggu ke 6. Keterangan: huruf berbeda menunjukkan beda nyata pada uji Duncan

Rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dari eksplan *crown* berkisar antara 0,25-1,75 tunas per eksplan pada media penambahan BA dan berkisar antara 0,05-0,15 tunas per eksplan pada media BA kombinasi NAA. Sedangkan rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dari eskplan embrio berkisar antara 0,15-0,25 tunas per eksplan pada media penambahan BA, sedangkan pada media BA kombinasi NAA tunas yang terbentuk antara 0,05-0,10 tunas per eksplan (Gambar 4).

Jumlah tunas per eksplan tertinggi terjadi pada media MS + BA 1 mg/L dengan eksplan *crown* yaitu sebesar 1,75 tunas. Jumlah tunas per eksplan mulai mengalami penurunan pada konsentrasi BA 2 mg/L menjadi 1,05 tunas dan semakin menurun pada konsentrasi BA

3 mg/L menjadi 0,8 tunas. Sedangkan jumlah tunas pada media kontrol MS0 sebesar 0,25 tunas. Jumlah tunas per eksplan pada media BA 0-2 mg/L eksplan embrio berjumlah seperti pada media MS0 pada eksplan *crown* yaitu sebanyak 0,25 tunas per eksplan dan mengalami penurunan pada konsentrasi BA 3 mg/L menjadi 0,15 tunas per eksplan (Gambar 4).

Jumlah tunas per eksplan pada media BA kombinasi NAA tidak terdapat pengaruh nyata, namun eksplan *crown* pada media BA 3 mg/L terjadi penghambatan pembentukan tunas. Hasil jumlah tunas per eksplan *crown* yang diperoleh dari media BA 1 dan 2 mg/L kombinasi NAA sebanyak 0,15 tunas dan mengalami penurunan pada konsentrasi BA 3 mg/L menjadi 0,05 tunas. Sedangkan jumlah tunas per eksplan yang dihasilkan dari eksplan *crown* pada media NAA tunggal sebanyak 0,1 tunas. Jumlah tunas per eksplan embrio pada media NAA tunggal dan media dengan pemberian BA 1 mg/L sebanyak 0,1 tunas dan mengalami penurunan pada konsentrasi BA 2 dan 3 mg/L menjadi 0,05 tunas, namun tidak berbeda signifikan (Gambar 4). Pemberian BA dalam media mampu meningkatkan persentase pembentukan tunas dan jumlah tunas yang terbentuk tiap eksplan, namun demikian penambahan BA dalam konsentrasi yang lebih tinggi dapat menyebabkan penghambatan pembentukan tunas. Hal ini mungkin dikarenakan ketidaksesuaian konsentrasi yang dibutuhkan oleh eksplan.

Pembentukan tunas sangat dipengaruhi oleh keberadaan hormon sitokinin. Hormon BA merupakan hormon sintetik dan memiliki sifat lebih stabil dan kuat jika dibandingkan dengan jenis hormon sitokinin lainnya, seperti kinetin dan zeatin. BA memiliki pengaruh utama pada perkembangan eksplan dalam pembentukan tunas, multiplikasi tunas dan memacu pembelahan sel dalam metabolisme tanaman untuk membentuk organ atau bagian yang diperlukan (Ashraf dkk., 2014). Konsentrasi hormon BA yang sesuai akan bekerja secara optimal pada tanaman tertentu dalam hal induksi tunas (Harahap dkk., 2014). Konsentrasi auksin yang relatif lebih rendah dibandingkan konsentrasi sitokinin dapat memacu pertumbuhan tunas (Nisak dkk., 2012). Dalam kultur jaringan kebanyakan tanaman membutuhkan sitokinin untuk pembentukan tunas dan daun, sedangkan auksin bersifat menghambat (Karjadi, 2007). Penelitian oleh Shudarson dkk. (2014) pada *Hybanthus enneaspermus* varietas

tanaman pisang, dimana peningkatan konsentrasi BA yang diberikan pada media dapat menurunkan jumlah tunas dan panjang tunas. Pemberian BA 2 mg/L pada media memberikan respons terbaik dengan 11,28 tunas dengan panjang 6,68 cm, namun pada pemberian BA 3 mg/L mengalami penghambatan menjadi 10,34 dengan panjang 6,12 cm. Hal tersebut dimungkinkan bahwa konsentrasi sitokinin (BA) yang tinggi atau melebihi kadar optimum dapat menurunkan kemampuan pertumbuhan tunas dan terhambatnya perkembangan tajuk dan tunas (Tiwari dkk., 2000).

*Crown* merupakan salah satu daerah yang bersifat meristematik. Pembelahan sel dalam jaringan meristematik diikuti oleh ekspansi sel yang bertanggung jawab dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. *Crown* terbentuk ketika pucuk tanaman berkembang dari benih embrio yang berkecambah, dari *terminal buds* rhizoma, serta dari pucuk aksilar yang kemudian membentuk anakan. *Crown* merupakan daerah dimana tempat bergabungnya antara batang dengan akar. *Crown* juga dapat disebut sebagai pangkalan tanaman yang memiliki peranan sebagai jalur transfer energi dan nutrisi antara akar dan batang (Brilman, 2019).

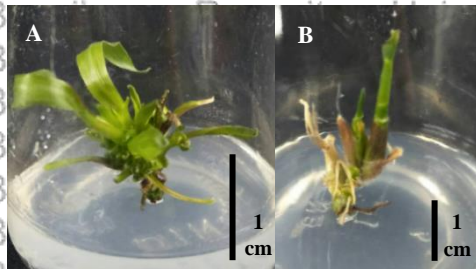
Propagasi menggunakan *crown* merupakan salah satu metode termudah yang dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*, terutama pada tanaman herba, pakis dan rerumputan. Perbanyakan tanaman ini tidak tumbuh melalui biji atau umbi. Penggunaan *crown* dalam perbanyakan menjadikan bagian yang terpisah memiliki sistem pucuk atau akar sendiri, sehingga mampu menghasilkan tanaman baru. Pembelahan yang terjadi pada *crown* terjadi ketika tanaman membutuhkan peremajaan. Pada bagian jaringan tanaman yang mengalami kematian atau tampak lemah, *crown* akan terus mengalami pembelahan dan menghilangkan bagian tanaman yang mati serta mendorong tanaman untuk menumbuhkan tunas atau akar kembali yang lebih sehat (Brilman, 2019).

#### 4.2 Multiplikasi Tunas

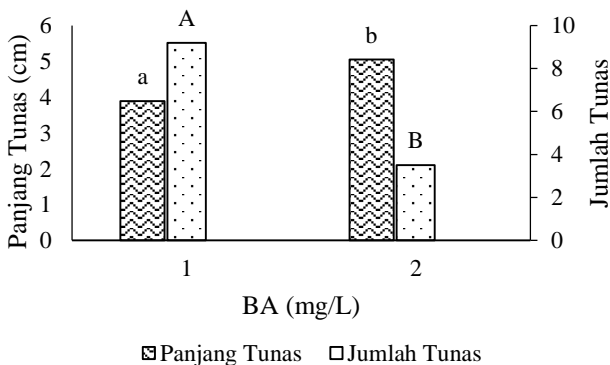
Tunas hasil induksi terbaik disubkultur pada media yang sama untuk tahapan multiplikasi. Tunas hasil induksi eksplan *crown* pada media MS + BA 1 mg/L dan 2 mg/L dipilih sebagai hasil tunas terbaik. Konsentrasi BA yang diberikan pada media memiliki pengaruh terhadap multiplikasi tunas dalam hal jumlah dan panjang



tunas. Setelah 6 minggu subkultur, tunas yang dihasilkan pada media MS + BA 1 mg/L mampu terbentuk dengan jumlah tunas lebih banyak dibandingkan dengan media BA 2 mg/L, namun panjang tunasnya berukuran lebih pendek (Gambar 5). Hal tersebut menunjukkan bahwa media dengan penambahan BA konsentrasi rendah mampu mendorong kemampuan dalam multiplikasi tunas namun menghambat pertumbuhan panjang tunas. Media dengan penambahan BA 1 mg/L mampu membentuk jumlah tunas per eksplan sebanyak 9,2 tunas dengan rata-rata panjang 3,89 cm. Sedangkan tunas pada media MS + BA 2 mg/L mulai terjadi penurunan jumlah tunas per eksplan menjadi 3,5 tunas dengan rata-rata panjang 5,05 cm (Gambar 6). Tunas pada kedua jenis media terlihat tampak berwarna hijau muda ketunaan (Gambar 5).



Gambar 5. Multiplikasi tunas dari eksplan *crown* pada media beberapa konsentrasi BA. A) 1 mg/L; B) 2 mg/L



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi BA terhadap panjang dan jumlah tunas. Keterangan: huruf berbeda menunjukkan beda nyata pada uji T tiap parameter

Multiplikasi merupakan salah satu upaya dalam meningkatkan perbanyakan pada eksplan yang digunakan. Tahapan multiplikasi biasanya didahului dengan induksi tunas agar eksplan dapat mengalami pertumbuhan dan perkembangan (Akbar dkk., 2017). Media kultur yang terdiri dari garam mineral, karbohidrat, dan zat pengatur tumbuh berperan dalam proses multiplikasi. Keberhasilan multiplikasi secara *in vitro* dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh di media kultur. Peran regulator pertumbuhan dalam menentukan jalur pengembangan kultur sel dan jaringan disebabkan oleh akumulasi biokimia spesifik dalam sel atau jaringan (Widoretno dkk., 2017).

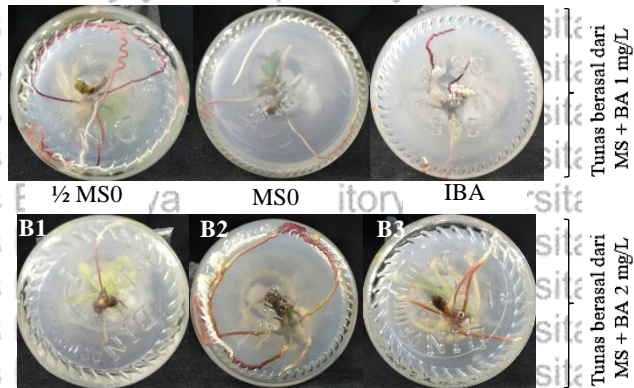
Media MS dengan pemberian BA konsentrasi 2 mg/L dan 4 mg/L pada kultur jagung memberikan respon perbanyakan tunas lebih baik dibandingkan dengan BA konsentrasi 1 mg/L, 3 mg/L dan 5 mg/L dengan eksplan endosperm. Pemberian sitokinin dapat mempengaruhi kultur tanaman *in vitro*, tetapi ketika BA ditambahkan ke media memiliki respon rendah pada induksi tunas karena lebih bekerja dalam perpanjangan tunas dari pada perbanyakan tunas (Shree dkk., 2018). Peningkatan konsentrasi BA pada media mampu meningkatkan multiplikasi tunas *in vitro*, tetapi pada konsentrasi BA yang lebih tinggi (diatas 3 mg/L) menyebabkan penurunan kemampuan multiplikasi tunas, meskipun tidak secara signifikan pada tanaman akar wangi (Widoretno dkk., 2017). Perbedaan dalam jumlah dan panjang tunas juga dapat disebabkan adanya perbedaan dalam kemampuan menyerap nutrisi serta hormon yang telah diberikan pada media (Julianti dkk., 2013).

#### **4.3 Induksi Akar dan Regenerasi Planlet**

Hasil menunjukkan bahwa ketiga jenis media yang digunakan berpengaruh terhadap induksi akar. Tunas pada ketiga jenis media mulai mampu membentuk akar pada hari ke 3-4. Akar yang terbentuk memiliki warna putih pada ujung dan memerah pada arah ke pangkal (Gambar 7).

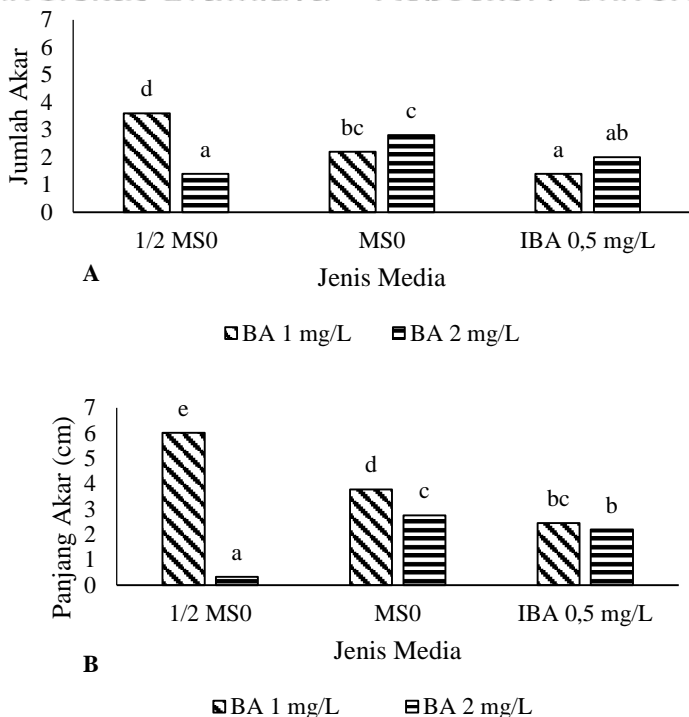
Media asal tunas dengan media induksi akar memiliki interaksi terhadap proses pembentukan akar. Media  $\frac{1}{2}$  MS0 memiliki respon pembentukan akar terbaik pada tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L. Tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L pada media induksi akar  $\frac{1}{2}$  MS0 mampu membentuk akar sebanyak 3,6

akar dengan panjang 6,01 cm. Akar pada tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L pada media MS0 mampu terbentuk sebanyak 2,2 akar dengan panjang 3,78 cm dan pada media MS + IBA 0,5 mg/L mampu membentuk akar sebanyak 1,4 akar dengan panjang 2,45 cm (Gambar 8).



Gambar 7. Induksi akar pada tunas hasil regenerasi pada beberapa media. A) MS + BA 1 mg/L; B) MS + BA 2 mg/L, 1) 1/2 MS0; 2) MS0; 3) MS + IBA 0,5 mg/L. Keterangan: huruf menunjukkan asal tunas, angka menunjukkan media induksi akar

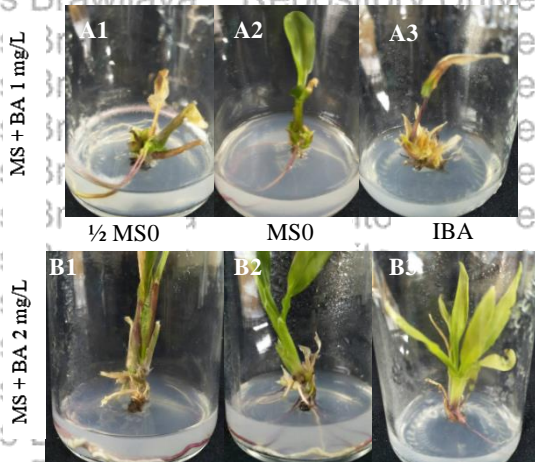
Berbeda dengan tunas yang berasal dari media BA 2 mg/L, induksi akar terbentuk dengan baik pada media MS0 dengan jumlah akar sebanyak 2,8 akar dan panjang mencapai 2,75 cm. Akar yang terbentuk pada media IBA 0,5 mg/L sebanyak 2 akar dengan panjang 2,19 cm. Media 1/2 MS0 merupakan media dengan respon kurang baik dibandingkan pada media lainnya, dengan jumlah akar sebanyak 1,4 akar dan panjang 0,33 cm (Gambar 8). Hal ini menunjukkan bahwa untuk menginduksi akar jagung *in vitro* tidak diperlukan lagi zat pengatur tumbuh karena kandungan auksin endogen yang dibutuhkan untuk menstimulir induksi akar sudah cukup tersedia didalam jaringan tanaman.



Gambar 8. Respon pembentukan akar dan regenerasi planlet pada beberapa jenis mediadari tunas yang berasal media BA 1 dan 2 mg/L. A) Jumlah akar; B) Panjang akar. Keterangan: huruf berbeda menunjukkan beda nyata pada uji Duncan tiap parameter

Ketiga jenis media yang digunakan tidak memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tunas. Tunas tidak mengalami peningkatan panjang maupun jumlah. Hal tersebut menjadikan panjang dan jumlah tunas planlet memiliki ukuran yang sama seperti tunas saat pada tahapan multiplikasi. Setelah 7-9 hari kultur pada ketiga jenis media, tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L mengalami perubahan warna menjadi lebih kuning dibandingkan pada tunas yang berasal dari media MS + BA 2 mg/L ((Gambar 9). Hal ini mungkin dikarenakan ukuran planlet yang berasal dari tunas media MS + BA 1 mg/L berukuran lebih kecil, sehingga memiliki daya

adaptasi yang lebih lemah dibandingkan pada planlet yang berukuran lebih besar (dari media MS + BA 2 mg/L). Hal ini memperlihatkan planlet yang berasal dari tunas media BA 2 mg/L memiliki warna tunas lebih hijau.



Gambar 9. Planlet hasil regenerasi. A) Tunas hasil MS + BA 1 mg/L; B) Tunas hasil MS + BA 2 mg/L; 1) 1/2 MS0; 2) MS0; 3) MS + IBA 0,5 mg/L

Pada penelitian regenerasi jagung oleh Ambarwati dkk. (2015), tunas jagung *in vitro* dari eksplan embrio muda yang terbentuk dan dipindah ke media perakaran MS dengan penambahan NAA 1 mg/L mengalami kemunculan akar setelah 1,5 bulan. Kemunculan akar menjadikan tunas yang semula berwarna hijau menjadi putih hingga cokelat pucat. Akar dapat tumbuh dengan baik setelah tiga bulan pada media perakaran, namun daun menjadi cokelat. Hal ini terjadi akibat tunas tidak dapat bertahan pada media induksi akar. Pada penelitian Akbar dkk. (2017) bahwa jenis media yang berbeda dari media awal, dapat memperlambat respon dan mengakibatkan eksplan membutuhkan waktu pada tahap penyesuaian zat pengatur yang diberikan.

Pemberian auksin IBA 0,5 mg/L dan 1 mg/L pada media tidak memberikan pengaruh nyata jika dibandingkan dengan media tanpa ZPT padatahapan induksi akar *Agavesp.* (Rhidawati dkk., 2017). IBA merupakan ZPT auksin yang umumnya digunakan dalam induksi

akar. Zat pengatur tumbuh tersebut diangkut secara basipetal sehingga terjadi akumulasi auksin pada pangkal tunas dan pada akhirnya terbentuk akar (Supriati dkk., 2002). Namun pada struktur kimia IBA terdapat atom N, yang apabila terdapat dalam jumlah banyak pada media dilaporkan kurang baik untuk pertumbuhan akar karena asam amino yang terbentuk dapat menghambat pertumbuhan akar (Arimarsetiowati & Ardiyani 2012). Media induksi akar dengan pemberian IBA pada tunas tebu *in vitro* tidak diperoleh hasil. Hal ini dapat disebabkan konsentrasi IBA yang terlalu rendah. Hasil penelitian pada tanaman mawar (*Rosa rugosa* Thunb.) juga tidak menunjukkan respons dari pemberian IBA pada media meskipun konsentrasi IBA telah ditingkatkan dari 0,1 hingga 1 mg/L (Xing dkk., 2010). Namun pemberian IBA 3 mg/L mampu memacu perakaran planlet pisang raja (Prayoga, 2006).

Penelitian oleh Supriati dan Adil (2005) juga melaporkan bahwa tidak terdapat interaksi nyata antara perlakuan konsentrasi media dasar dengan ZPT IBA pada tahap regenerasi kultur mawar. Pemberian IBA maupun IAA 1-3 mg/L pada media tidak dapat meningkatkan tinggi tanaman, jumlah tunas per tanaman, jumlah buku per tanaman, jumlah akar per tanaman, dan panjang akar mawar introduksi pada umur 8 minggu. Namun tidak untuk panjang akar dengan penambahan IBA (1, 2, dan 3 mg/l) yang dapat menekan pertumbuhan akar, berbeda nyata dengan media tanpa adanya auksin (IBA 0 mg/l). Hal ini diduga jaringan tanaman mempunyai kandungan auksin yang memadai bagi terbentuknya akar (Supriati & Adil, 2005).

Media dasar MS dengan media  $\frac{1}{2}$  konsentrasi MS juga tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah tunas per tanaman, jumlah akar per tanaman serta panjang akar pada tanaman mawar. Pengenceran garam makro pada media MS tetap mampu menginduksi akar mawar lokal. Panjang dan jumlah akar pada media dasar yang dicairkan hingga  $\frac{1}{2}$  konsentrasi tidak berbeda nyata dengan media yang konsentrasi garam mineralnya sesuai dengan formulasi dasar. Pengenceran media dasar (terutama pada garam makro) umumnya dilakukan terhadap media dasar yang mempunyai kandungan total ion yang tinggi, antara lain Murashige & Skoog, Linsmaier dan Skoog, serta Gamborg. Banyak hasil penelitian yang melaporkan bahwa konsentrasi garam mineral yang rendah lebih baik

dalam memacu perakaran dibandingkan media yang konsentrasi garamnya tinggi (Supriati & Adil, 2005).

Hal ini juga serupa dengan penelitian oleh Hsia & Korban (1996) bahwa pada tanaman mawar *R. hybrida* dan *R. chinensis*, di mana pada media dasar MS tanpa auksin mampu menginduksi akar dengan baik. Pemberian IBA 0,5 atau 1 mg/L pada media regenerasi illes-iles, terlihat tunas semakin pendek. Tunas yang dihasilkan dari media kontrol MS maupun  $\frac{1}{2}$  MS (tanpa IBA) memiliki ukuran tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa IBA memberi pengaruh negatif terhadap pemanjangan tunas illes-iles (Supriati & Adil, 2005).

Penelitian oleh Tyas dkk. (2012) menunjukkan tunas planlet pamelu yang tumbuh pada media  $\frac{1}{2}$  MS memiliki ukuran lebih pendek dibandingkan tunas pada media MS. Hal ini diakibatkan penurunan konsentrasi hara pada media. Tanaman pada media yang miskin hara akan melakukan efisiensi hara dalam pertumbuhannya. Penurunan hara mengakibatkan tanaman memperluas daerah penyerapan hara dengan membentuk akar dan meningkatkan jumlah akar. Pembentukan akar dapat terjadi tanpa penambahan auksin, dikarenakan kandungan auksin endogen pada tunas tanaman sudah cukup tinggi. Hal ini menjadikan planlet pada media  $\frac{1}{2}$  MS memiliki jumlah akar terbanyak dibandingkan media MS.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Eksplan *crown* mampu membentuk tunas lebih baik dibandingkan dengan eksplan embrio. Media MS dengan zat pengatur tumbuh BA saja lebih mampu menginduksi pembentukan tunas lebih baik dibandingkan dengan BA yang dikombinasikan dengan NAA. Persentase pembentukan tunas tertinggi diperoleh dari eksplan *crown* yang dikulturkan pada media dengan penambahan BA 1 mg/L sebesar 65%. Konsentrasi BA lebih dari 1 mg/L pada media dapat menghambat pertumbuhan tunas. Pada tahapan multiplikasi, konsentrasi BA rendah pada media mampu memacu multiplikasi tunas lebih banyak tunas namun berukuran pendek. Planlet yang diregenerasikan dari tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L memiliki jumlah serta panjang akar terbaik pada media  $\frac{1}{2}$  MS, dibandingkan tunas hasil BA 2 mg/L. Tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L memiliki kemampuan regenerasi planlet lebih baik dibandingkan dengan tunas yang berasal dari media MS + BA 2 mg/L pada media  $\frac{1}{2}$  MSO.

### 5.2 Saran

Planlet yang diregenerasikan dari tunas yang berasal dari media MS + BA 1 mg/L lebih baik perlu dilakukan pemanjangan tunas terlebih dahulu untuk menghindari senescensi.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abhishek, A., Chikkappa, G. K., Ravindra, N., Meenakshi, B., Pramod, W. R., Pradyumn, K., Sain, D., & Sai, K. 2014. Differential effect of immature embryo's age and genotypes on embryogenic type II callus production and whole plant regeneration in tropical maize inbred line (*Zea mays* L.). *Indian Journal Genetics*. 74(3):317-324.
- Acquaah, G. 2004. **Understanding Biotechnology: An Integrated and Cyber-Based Approach**. Pearson Education., Inc. London.
- Akbar, A., Eny, F., Sapto, I., & Toni, H. 2017. Induksi Tunas, Multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke secara *in Vitro*. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 11:1-13.
- Ambarwati, A.D., Edy, L., Slamet, Umar, Sustiprijatno, & Sutoro. 2015. Induksi dan Regenerasi Kalus Jagung yang Ditransformasi dengan Gen *CsNitr1-L* melalui Penembakan Partikel. *Jurnal AgroBiogen* 11(1):25–32.
- Aprisa, R. 2012. **Induksi Kalus Embriogenik Dua Genotipe Mutan Jagung (*Zea mays* L.) pada Media Dasar MS dan N6**. Institut Pertanian Bogor, Bogor. Skripsi.
- Aqil, M., Constance, R. & Zubachtiradin. 2012. **Deskripsi Varietas Jagung Unggul**. Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pertanian. Maros.
- Arimarsetiowati, R. & Ardiyani, F. 2012. Pengaruh penambahan Auxin terhadap pertunasan dan perakaran kopi arabika perbanyak somatik embriogenesis. *Pelita Perkebunan*. 28(2):82–90.
- Ashraf, M.F., Aziz, M.A., Kemat, N. & Ismail, I. 2014. Effect of cytokinin types, concentrations and their interactions on *in vitro* shoot regeneration of *Chlorophytum borivilianum* Sant. & Fernandez. *Electronic Journal of Biotechnology*. (17):275-279.
- Badan Pengkajian dan Pengembangan Kebijakan Perdagangan (BPPKP). 2016. **Potret Jagung Indonesia: Menuju Swasembada Tahun 2017**. Kementerian Perdagangan RI. Jakarta.

- Basri, A.H.H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyakkan Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstenzia* 10(1):64-73.
- Beyer M. & Verreet, J.A. 2005. Germination of *Gibberella zeae* scospores as affected by age of spores after discharge and environmental factors. *European Journal of Plant Pathology*. 111 (2): 381- 389.
- Brilman, L. 2019. **Establishing Tall Fescue from Seed.** <https://forages.oregonstate.edu>. Diakses pada 6 November 2019.
- Carsono, N. & Tomohiko Y. 2006. Plant Regeneration Capacity of Calluses Derived from Mature Seed of Five Indonesian Rice Genotypes. *Plant Production Science*. 9(1) : 71-77.
- Chafid, M. 2016. **Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan: Jagung.** Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta.
- CIMMYT. 2004. **Maize Diseases: A guide for Field Identification.** D.F. CIMMYT. Mexico.
- Damayanti, D., Sudarsono, Ika, M., & M. Herman. 2017. Regenerasi Pepaya melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal AgroBiogen* 3(2):49-54.
- Davey, M.R. & Anthony, P. 2010. **Plant Cell Culture: Essential Methods.** John Wiley & Sons. London.
- Direktorat Jendral Tanaman Pangan. 2017. **Petunjuk Pelaksanaan Kegiatan Budidaya Jagung Tahun 2017.** Kementerian Pertanian. Jakarta
- Direktorat Serealia. 2016. **Pedoman Pelaksanaan Kegiatan 2017: Jagung.** Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Eide, H.K.A. & Walter, P. 2011. **Liquid Culture System for In Vitro Plant Propagation.** Springer. London.
- Ermanita., Yusnida, B. & Firdaus, L. N. 2004. Pertumbuhan vegetatif dua varietas jagung pada tanah gambut yang diberi limbah pulp & paper. *Jurnal Biogenesis*. 1(1):1-8.
- Finner, J.J. 2005. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** Springer. New York.
- Fisher, N. M. & P. R. Goldsworthy., 2006. **Jagung Trofik dalam Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik.** UGM-Press. Yogyakarta.

- Gudlavalletil, P.K., Sreenu, P., Sridevi, M., Reddy, M.K., & Sateesh, K.P. 2018. Coleoptilar node – A season-independent explant source for in vitro culture in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 6(3):20-28.
- Gupta, D.S. & Ibaraki, Y. 2008. **Plant Tissue Culture Engineering**. Springer. Netherlands.
- Harahap, F., Poerwanto, R., Suharsono, Suriani, C., & Rahayu S. 2014. In vitro growth and rooting of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) on medium with different concentrations of plant growth regulator. *HAYATI Journal of Biosciences*, 21(4), 151- 158.
- Hartmann, H.T., D.E. Klester, & F.T. Davies. 2000. **Plant Propagation Principle and Practices**. Prentice Hall. New Jersey.
- Hsia, C., & Korban. 1996. Organogenesis and somatic embryogenesis in callus of *Rosa hybrida* and *Rosa chinensis minima*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 44:1-6.
- Huang, X. Q. & Wei, Z. M. 2004. High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Rep* 22:793-800.
- Iriawati, R.R., Esyanti, W., Natalia & N. Zahya. 2013. In vitro plant regeneration of Java Vetiver (*Vetiveria zizanioides*). *International Journal of Agricultural and Biosystem Engineering* 7(9):867-869.
- Julianti, Reine, S. & Herlina, D. 2013. Penambahan NAA dan BAP terhadap Multiplikasi Subkultur Tunas Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Jurnal Hutan Lestari* 1(3)14-20
- Karjadi, A. K. 2007. Perkecambahan dan Perbanyakan Gaharu secara *In Vitro*. *Jurnal Hort* 17(3): 217 – 233.
- Lestari, E.G & Rosa, Y. 2008. Callus Induction and Shoot Regeneration of In Vitro Rice Var. Fatmawati. *Bul. Agron*. 36 (2): 106 – 110.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7(1):63-68.
- Mansyur. 2017. **Kementan: Kebutuhan jagung nasional 19 juta ton per tahun.**  
[www.antaraneews.com/berita/642880/kementan-kebutuhan-](http://www.antaraneews.com/berita/642880/kementan-kebutuhan-)

jagung-nasional-19-juta-ton-per-tahun. Diakses pada 13 September 2018.

Manuhara, Y.S.W. 2014. **Kapita Selekta: Kultur Jaringan Tumbuhan**. Airlangga University Press. Surabaya.

Martin, W.F. 2000. **Maize**. Echo Technical Note, USA.

Murni, A.M. & Arief, R.W. 2008. **Teknologi Budidaya Jagung**. Bogor: Balitbang Pertanian, Deptan.

Nisak, K., Tutik N. & Kristanti I.P. 2012. Pengaruh Kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada Kultur Jaringan Tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* 1(1) : 1-6.

Neuman, K.H., Kumar, A. & Imani, J. 2009. **Plant Cell and Tissue Culture a Tool in Biotechnology: Basic Application**. Springer. Berlin.

Patel, M. B., Bharadwaj, R. & Joshi, A. 2006. Organogenesis in *vignaiate(L.)Wilczek*. *Indian J Exp Biol*. 29:619-622.

Pratiwi, N.A. 2017. **Peran Agroindustri Hulu dan Hilir dalam Perekonomian dan Distribusi Pendapatan di Indonesia**. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. Tesis.

Prayoga, L. 2006. **Mikropropagasi pisang raja melalui induksi dan pertumbuhan tunas mikro pada kultur In Vitro**. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. Tesis.

Purwono & Rudi, H. 2005. **Bertanam Jagung Unggul**. Penebar Swadaya. Bogor.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanah dan Agroklimat (Puslitbangtanak). 2002. **Peta: Potensi Lahan Pengembangan Jagung di Indonesia**. Bahan Pameran pada Festival Jagung Pangan Pokok Alternatif di Bogor 26-27 April 2002.

Ridhawati, A., Tantri, D.A.A. & Rully, D.P. 2017. Pengaruh Komposisi Media Terhadap Induksi Tunas dan Akar Lima Genotipe Tanaman *Agave* Pada Kultur In Vitro. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri* 9(1):1-9.

Shohael, A.M., M.A.L. Akanda, S. Parvez, S. Mahfuja, M.F. Alam, R. Islam, & N. Joarder. 2003. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Embryo Derived Callus of Inbred Maize (*Zea mays* L.). *Biotechnology* 2:154-161.

- Shree, B., Manigopa, C., Madhuparna, B., Krishna, P., & Rana, M. 2018. Tissue culture dependent regeneration of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1: 2466-2468.
- Soenartingsih. 2015. Uji Ketahanan beberapa Varietas Unggul Jagung terhadap Penyakit Gibberella dan Diplodia. *Biosfera* 32 (2):103-108.
- Somers, D.A., R.L. Phillips, & H.W. Rines. 1988. **Corn and oat tissue culture and genetic variation in regenerated plants**. Proceeding of the Seminar Cell and Tissue Culture in Field Crop Improvement. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pasific Region. Taiwan, Republic of China. 1:51-65.
- Shudarson, S., Anbazhagan, M., Balachandran, B., & Arumugam, K. 2014. Effect of BAP in vitro propagation of *Hybanthus enneaspermus* (L.) Muell, an important medicinal plant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8), 397-402.
- Sugiharto, B., Triastuti, R. & Mukhiissul, F. 2007. Propagasi Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) secara In Vitro dengan Kombinasi Sitokinin dan Auksin 2,4. *Jurnal MIPA* 17(1):39-47.
- Supriati, Y. & Adil, W. H. 2005. Induksi Akar Batang Bawah Mawar dan Aklimatisasinya. *J. Hort.* 15(2):83-90.
- Supriati, Y., Adil, W.H., Sukmadjaja, D. & Mariska, I. 2002. **Peningkatan multiplikasi tunas dan induksi akar tanaman iles-iles melalui kultur In Vitro**. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisandan Bioteknologi Tanaman, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Pusat Penelitiandan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor, hlm. 222-229.
- Suwandi. 2017. **Komoditas Jagung Indonesia Siap Swasembada di Tahun 2017**. Pusdatin. Jakarta.
- Syah, D., Dian, H., Antung, S.F., Rath, D.H., Feri, K., Nurheni, S.P., Sutrisno, K., & Dias, I. 2009. **Strategi Pengembangan dan Riset Jagung untuk Diversifikasi Pangan**. SEAFast Center. Bogor.
- Tim Karya Tani Mandiri. 2010. **Pedoman Bertanam Jagung**. Nuansa Aulia. Bandung.

- Tiwari, V., Tiwari, K.N., & Singh, B.D. 2000. Comparative studies of cytokinins on in vitro propagation of *Bacopa monniera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. (17):435-459.
- Tyas, K.N., Susanto, S., Iswari, S. D., & Nurul, K. 2012. Konservasi Pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) dengan Penurunan Konsentrasi Medium dan Sukrosa. *Buletin Kebun Raya* 15 (2):102-111.
- Vasil, I.K. 2005. Tissue culture of maize. *Maydica* 50:361-365.
- Widoretno, W., Arbaul, F., Serafinah, I., & Edi, P.U. 2017. Clonal propagation of *Vetiveria zizanoides* L. through tissue Culture technique. *Indonesian Journal of Essential Oil*. 2 (1) : 38 – 44.
- Xing, W., Bao, M., Qin, H. & Ning, G. 2010. Micropropagation of *Rosa rugosa* through axillary shoot proliferation. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 52(2):69–75.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Komposisi Media MS

#### LT1. Rincian terhadap unsur media MS

<b>Komponen</b>	<b>Komposisi (mg/L)</b>
<b>Unsur Makro</b>	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
<b>Unsur Mikro</b>	
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (dilarutkan dengan Na <sub>2</sub> EDTA 37,3 mg/L)	27,8
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8,6
KI	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	0,025
<b>Vitamin</b>	
Nicotinic Acid	0,5
Pyridoxin HCl	0,5
Thiamin HCl	0,1
Glycine	2
Myo inositol	100
Sukrosa	30 000
Agar	11 000

## Lampiran 2. Larutan stok media MS

### LT2. Komposisi larutan stok MS dan pembuatan stok ZPT

Larutan Stok	Bahan	Berat (g) untuk volume 100 ml	Pengambilan untuk media 1 liter
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	8.25	20 ml
B	KNO <sub>3</sub>	9.50	20 ml
C	CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	4.40	10 ml
D	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.70	10 ml
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.70	
E	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.56	
	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	0.75	5 ml
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.12	
F	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.34	5 ml
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.17	
	KI	0.20	
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.05	
G	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.005	0.5 ml
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.005	
	Nicotinic acid	0.05	
Vitamin	Pyridoxine-HCl	0.05	
	Thiamine-HCl	0.01	1 ml
	Glycine	0.20	
Myo	Myo-Inositol	1.00	10 ml
ZPT	Auksin/Sitokinin	0.10	1 ml untuk 1 ppm

## 2. Stok Sitokinin dan Auksin

Sitokinin atau auksin ditimbang sebanyak 0,1 g, dimasukkan dalam erlenmeyer 100 ml yang telah berisi akuades ± 50 ml. Larutan kemudian dipanaskan sebentar dan tetesi dengan NaOH 0,1 N sampai larutan menjadi jernih. Larutan yang dingin, dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades sampai volume 100 ml. Larutan kemudian dipindahkan dalam botol stok dan diberi label. Sitokinin, 100 mg/100ml, 1 ppm= 1 ml/l



**Lampiran 3.** Hasil analisis statistik induksi tunas jagung Bisi 2 pada media BA dan media BA kombinasi NAA  
LT 3. Hasil uji normalitas pada pembentukan tunas

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
presentase_pembentukan_tunas	80	24,0563	19,22683	5,00	75,00
jenis_media	80	1,5000	,50315	1,00	2,00
konsentrasi_zpt	80	2,5000	1,12509	1,00	4,00
jenis_eksplan	80	1,5000	,50315	1,00	2,00
interaksi	80	8,5000	4,63886	1,00	16,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test						
		presentase_pembentukan_tunas	jenis_media	konsentrasi_zpt	jenis_eksplan	interaksi
N		80	80	80	80	80
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	24,0563	1,5000	2,5000	1,5000	8,5000
	Std. Deviation	19,22683	,50315	1,12509	,50315	4,63886
Most Extreme Differences	Absolute	,293	,340	,172	,340	,087
	Positive	,293	,340	,172	,340	,087
	Negative	-,161	-,340	-,172	-,340	-,087
Test Statistic		,293	,340	,172	,340	,087
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000 <sup>a</sup>	,000 <sup>a</sup>	,000 <sup>a</sup>	,000 <sup>a</sup>	,200 <sup>a,b</sup>

a. Test distribution is Normal.

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: presentase_pembentukan_tunas					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	27063,797 <sup>a</sup>	15	1804,253	53,954	,000
Intercept	46296,253	1	46296,253	1384,431	,000
jenis_media	11895,003	1	11895,003	355,705	,000
konsentrasi_zpt	1332,509	3	444,170	13,282	,000
jenis_eksplan	5686,878	1	5686,878	170,059	,000
jenis_media * konsentrasi_zpt	2526,259	3	842,086	25,182	,000
jenis_media * jenis_eksplan	3451,878	1	3451,878	103,224	,000
konsentrasi_zpt * jenis_eksplan	959,384	3	319,795	9,563	,000
jenis_media * konsentrasi_zpt * jenis_eksplan	1211,884	3	403,961	12,080	,000
Error	2140,200	64	33,441		
Total	75500,250	80			
Corrected Total	29203,997	79			

a. R Squared = ,927 (Adjusted R Squared = ,910)

LT 4. Hasil uji Duncan pada pembentukan tunas

presentase_pembentukan_tunas							
Duncan <sup>a,b</sup>							
Interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
c_ban_3	5	5,0000					
e_ban_3	5	5,0000					
e_ban_1	5	10,0000	10,0000				
e_ban_2	5	10,0000	10,0000				
c_ban_2	5		14,9000	14,9000			
c_ban_1	5		15,0000	15,0000			
e_ba_3	5		15,0000	15,0000			
e_ban_0	5		15,0000	15,0000			
c_ban_0	5			20,0000	20,0000		
e_ba_0	5			20,0000	20,0000		
c_ba_0	5				25,0000		
e_ba_1	5				25,0000		
e_ba_2	5				25,0000		
c_ba_3	5					55,0000	
c_ba_2	5					60,0000	60,0000
c_ba_1	5						65,0000
Sig.		,219	,240	,230	,231	,176	,176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term (s Mean Square/Error) = 33,441.

LT 5. Hasil uji Normalitas pada rata-rata jumlah tunas per eksplan

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jenis_media	80	1,5000	,50315	1,00	2,00
konsentrasi_zpt	80	2,5000	1,12509	1,00	4,00
jenis_eksplan	80	1,5000	,50315	1,00	2,00
interaksi	80	8,5000	4,63886	1,00	16,00
rata_rata_jumlah_jumlah_tunas	80	,3438	,45635	,05	1,75

		jenis_media	konsentrasi_zpt	jenis_eksplan	interaksi	rata_rata_jumlah_jumlah_tunas
N		80	80	80	80	80
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1,5000	2,5000	1,5000	8,5000	,3438
	Std. Deviation	,50315	1,12509	,50315	4,63886	,45635
Most Extreme Differences	Absolute	,340	,172	,340	,087	,394
	Positive	,340	,172	,340	,087	,394
	Negative	-,340	-,172	-,340	-,087	-,260
Test Statistic		,340	,172	,340	,087	,394
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000 <sup>c</sup>	,000 <sup>c</sup>	,000 <sup>c</sup>	,209 <sup>c</sup>	,000 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: rata_rata_jumlah_jumlah_tunas					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	16,347 <sup>a</sup>	15	1,090	664,254	,000
Intercept	9,453	1	9,453	5761,905	,000
jenis_media	5,000	1	5,000	3047,619	,000
konsentrasi_zpt	1,678	3	,559	340,952	,000
jenis_eksplan	3,003	1	3,003	1830,476	,000
jenis_media * konsentrasi_zpt	1,356	3	,452	275,566	,000
jenis_media * jenis_eksplan	2,450	1	2,450	1493,333	,000
konsentrasi_zpt * jenis_eksplan	1,541	3	,514	313,016	,000
jenis_media * konsentrasi_zpt * jenis_eksplan	1,319	3	,440	267,937	,000
Error	,105	64	,002		
Total	25,905	80			
Corrected Total	16,452	79			

a. R Squared = ,994 (Adjusted R Squared = ,992)

LT 6. Hasil uji Duncan pada rata rata jumlah tunas per eksplan

Duncan <sup>a,b</sup>							
Interaksi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
c_ban_3	5	.0500					
e_ban_2	5	.0500					
e_ban_3	5	.0500					
e_ban_0	5	.1000	.1000				
e_ban_1	5	.1000	.1000				
c_ban_0	5	.1000	.1000				
c_ban_1	5		.1500				
c_ban_2	5		.1500				
e_ba_3	5		.1500				
c_ba_0	5			.2500			
e_ba_0	5			.2500			
e_ba_1	5			.2500			
e_ba_2	5			.2500			
c_ba_3	5				.8000		
c_ba_2	5					1.0500	
c_ba_1	5						1.7500
Sig.		.092	.092	1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 4. Hasil analisis stastistik multiplikasi tunas pada media BA 1 mg/L dan BA 2 mg/L

LT 7. Hasil uji normalitas pada multiplikasi tunas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
		jenis_media	panjang_tunas	jumlah_tunas
N		20	20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.5000	4.4700	6.4000
	Std. Deviation	.51299	.60446	2.92719
Most Extreme Differences	Absolute	.335	.310	.294
	Positive	.335	.282	.294
	Negative	-.335	-.310	-.263
Test Statistic		.335	.310	.294
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000 <sup>c</sup>	.000 <sup>c</sup>	.000 <sup>c</sup>
a. Test distribution is Normal.				
b. Calculated from data.				
c. Lilliefors Significance Correction.				

LT 8. Hasil uji T pada panjang tunas hasil multiplikasi tunas

Group Statistics					
	jenis_media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
panjang_tunas	BA1	10	3,8900	,11972	,03786
	BA2	10	5,0500	,09718	,03073

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower		Upper				
panjang_tunas	Equal variances assumed	3,273	,087	-33,789	18	,000	-1,16000	,04876	-1,26245	-1,05755
	Equal variances not assumed			-33,789	17,270	,000	-1,16000	,04876	-1,26276	-1,05724

LT 9. Hasil uji T pada jumlah tunas hasil multiplikasi tunas

Group Statistics					
	jenis_media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah_tunas	BA1	10	9,2000	,63246	,20000
	BA2	10	3,5000	,51640	,16330

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower		Upper				
jumlah_tunas	Equal variances assumed	,000	1,000	21,689	18	,000	5,60000	,29820	5,05754	6,14246
	Equal variances not assumed			21,689	17,300	,000	5,60000	,29820	5,05598	6,14402

Lampiran 5. Analisis statistik induksi akar pada media MS, ½ MS, dan IBA

LT 10. Hasil uji normalitas pada induksi akar

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jenis_media_awal	30	1,5000	,50855	1,00	2,00
jenis_media_akhir	30	2,0000	,83045	1,00	3,00
jumlah_akar	30	2,2333	,09763	1,00	4,00
interaksi	30	3,5000	1,73702	1,00	6,00
panjang_akar	30	2,9173	1,76648	,33	6,55

		jenis_media_aval	jenis_media_akhir	jumlah akar	interaksi	panjang akar
N		30	30	30	30	30
Normal Parameters**	Mean	1,5000	2,0000	2,2333	3,5000	2,9173
	Std. Deviation	,50855	,83045	,89763	1,73702	1,70646
Most Extreme Differences	Absolute	,337	,219	,289	,139	,135
	Positive	,337	,219	,289	,139	,119
	Negative	-,337	-,219	-,197	-,139	-,135
Test Statistic		,337	,219	,289	,139	,135
Asymp. Sig. (2-tailed)		,600 <sup>a</sup>	,091 <sup>a</sup>	,000 <sup>a</sup>	,142 <sup>a</sup>	,171 <sup>a</sup>

a. Test distribution is Normal.  
b. Calculated from data.  
c. Lilliefors Significance Correction.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18,167 <sup>a</sup>	5	3,633	16,759	,000
Intercept	149,633	1	149,633	690,615	,000
jenis_media_aval	,833	1	,833	3,846	,062
jenis_media_akhir	4,267	2	2,133	9,846	,001
jenis_media_aval * jenis_media_akhir	13,067	2	6,533	30,154	,000
Error	5,200	24	,217		
Total	173,000	30			
Corrected Total	23,367	29			

a. R Squared = ,777 (Adjusted R Squared = ,731)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	88,849 <sup>a</sup>	5	17,770	259,762	,000
Intercept	255,325	1	255,325	3732,367	,000
jenis_media_aval	40,414	1	40,414	590,782	,000
jenis_media_akhir	5,434	2	2,717	39,718	,000
jenis_media_aval * jenis_media_akhir	43,001	2	21,500	314,296	,000
Error	1,642	24	,068		
Total	345,816	30			
Corrected Total	90,491	29			

a. R Squared = ,987 (Adjusted R Squared = ,978)

LT 11. Hasil uji Duncan pada panjang akar

panjang_akar						
Duncan**						
interaksi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
b2_1/2ms	5	.3300				
b2_iba	5		2.1900			
b1_iba	5		2.4450	2.4460		
b2_ms	5			2.7500		
b1_ms	5				3.7800	
b1_1/2ms	5					6.0000
Sig.		1,000	.135	.079	1,000	1,000

LT 12. Hasil uji Duncan pada jumlah akar

jumlah_akar					
Duncan**					
interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
b1_iba	5	1.4000			
b2_1/2ms	5	1.4000			
b2_iba	5	2.0000	2.0000		
b1_ms	5		2.2000	2.2000	
b2_ms	5			2.8000	
b1_1/2ms	5				3.6000
Sig.		.064	.503	.053	1,000