

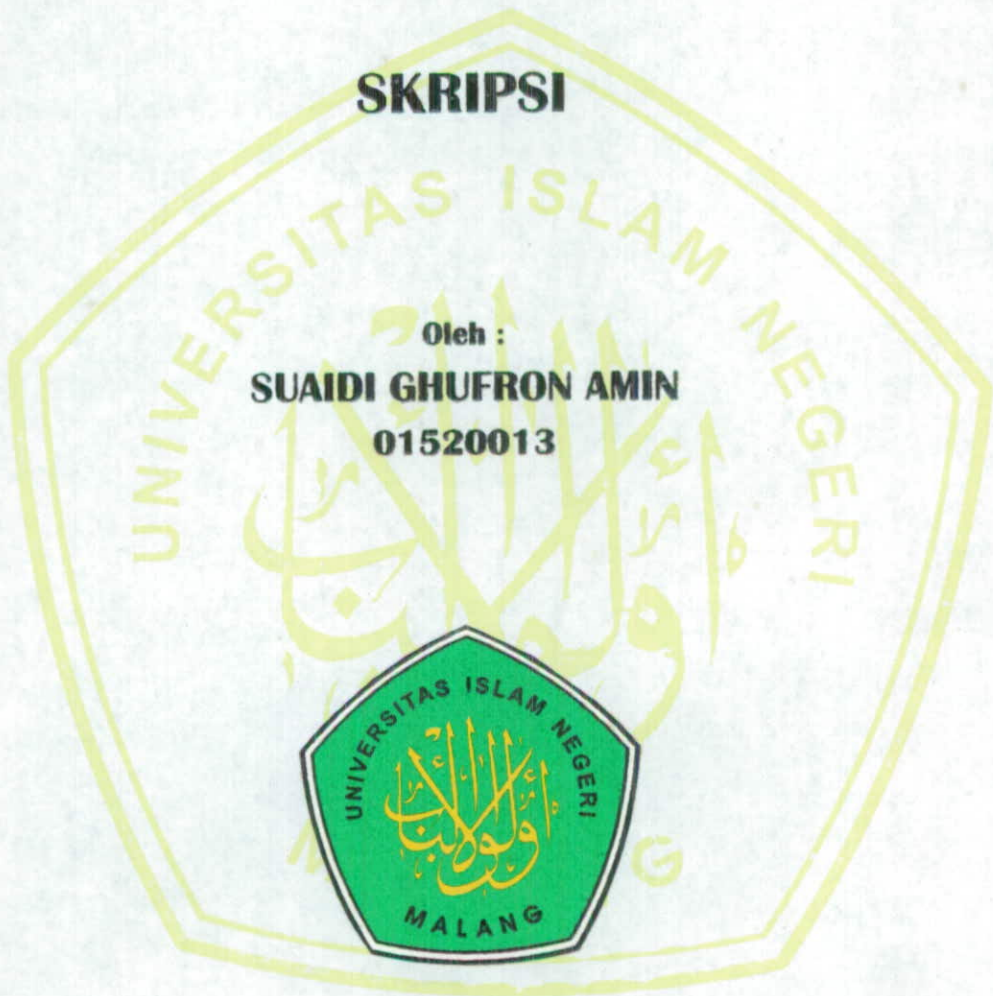
**PROLIFERASI EKSPAN RUAS JERUK KEPROK
(*Citrus reticulata* L. Blanco) BATU 55 SECARA
IN VITRO PADA BEBERAPA KONSENTRASI
6-BENZYL AMINOPURINE DAN THIDIAZURON**

SKRIPSI

Oleh :

SUAIDI GHUFRON AMIN

01520013



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
2005**

**PROLIFERASI EKSPAN RUAS JERUK KEPROK
(*Citrus reticulata* L. Blanco) BATU 55 SECARA *IN VITRO*
PADA BEBERAPA KONSENTRASI
6-BENZYL AMINOPURINE DAN THIDIAZURON**

SKRIPSI

Diajukan kepada
Universitas Islam Negeri Malang
Untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh:

SUAIDI GHUFRON AMIN
01520013

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
2005**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : SU'AIDI GHUFRON AMIN
NIM : 01520013
Fakultas/Jurusan : SAINTEK/BIOLOGI
Alamat : RT. 05 RW. III PURWOREJO-PACITAN-JAWA
TIMUR 63551

menyatakan bahwa "SKRIPSI" yang saya buat untuk memenuhi persyaratan kelulusan pada Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, dengan judul:

"PROLIFERASI EKSPAN RUAS JERUK KEPROK
(*Citrus reticulata* L. Blanco) BATU 55 SECARA *IN VITRO*
PADA BEBERAPA KONSENTRASI 6-BENZYLAMINOPURINE
DAN THIDIAZURON"

adalah hasil karya sendiri, bukan "duplikasi" dari karya orang lain.

Selanjutnya apabila dikemudian hari ada "claim" dari pihak lain, bukan menjadi tanggung jawab Dosen Pembimbing/atau Pengelola Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, tetapi menjadi tanggung jawab saya sendiri.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan tanpa paksaan dari siapapun.

Malang, 26 November 2005




SUAIDI GHUFRON AMIN

LEMBAR PENGESAHAN

Telah dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Malang dan diterima untuk memenuhi sebagian dari syarat-syarat dalam memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Pada Tanggal : 26 November 2005


Dewan Penguji

Ketua : Agus Mulyono, M. Kes

Sekretaris : Ir. Lilik Harianie. A.R

Penguji Utama : Ulfah Utami, M. Si

Tanda tangan


(.....)
NIP. 150 294 457


(.....)
NIP. 150 290 059


(.....)
NIP. 150 291 272

Mengesahkan
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Malang



Drs. H. Turmudi. M. Si
NIP. 150 209 630

**PROLIFERASI EKSPLAN RUAS JERUK KEPROK
(*Citrus reticulata* L. Blanco) BATU 55 SECARA *IN VITRO*
PADA BEBERAPA KONSENTRASI
6-BENZYLAMINOPURINE DAN THIDIAZURON**

SKRIPSI

Oleh:

SUAIDI GHUFRON AMIN
01520013

Telah disetujui:

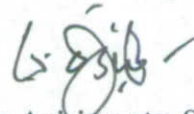
Tanggal: 05 November 2005

Pembimbing I



Ir. Lilik Harianie. A. R.
NIP. 150 290 059

Pembimbing II



Dita Agisimanto, SP. MP
NIP. 080 130 436

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Malang



Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si
NIP. 150 229 505

PERSEMBAHAN

Dalam penulisan karya ilmiah ini, kurangkai huruf demi huruf,
kata demi kata. Dan kurtuangkan pikiranku dalam skripsi ini
sebagai tanda puji syukurku pada Allah SWT,
Sholawat dan salam kupanjatkan pada Nabi Besar Muhammad SAW
karena berkat ajaran Beliau kuterima ajaran yang lurus dan benar.
Serta Ayahanda dan Ibunda, kepadanulah aku berbakti
dan engkaulah yang selalu aku hormati.
Kakak-Kakakku, Muarrifuddin Aziz, Nur Hasanah, Gugus Wahyono,
Nur Rohmah Ashariyati dan Adikku Lailif Miza
serta Keponakanku IIN dan MIDA,
Engkaulah yang selalu aku sayangi dan selalu ada dalam hatiku.
My Heart, Engkaulah pelita hatiku yang selalu memberikan semangat
dalam setiap langkah aktivitasku.
Sahabat-Sahabatku Up to7 (Azzara Hanie, Marieska, Dhera maniez,
Memej, Pipiet, Tria and Riesya)
kalian adalah sahabat sejatiku dalam mencari makna hidup yang
penuh dengan suka dan duka.
And Sahabat-Sahabatku di LP2B Malang

MOTTO

*Ilmu Yang Tidak Dimanfaatkan atau Dikembangkan Ibarat
"Wastra Lungset Ing Sampiran"*

(Peribahasa Jawa)

Yen Wedi Ing Kewuh, Sembarang Tan Ono Kang Dadi

(Peribahasa Jawa)

*Keberhasilan Hidup Seseorang Bukanlah Diukur Pada
Jumlahnya Uang Yang Telah Ditumpuknya, Melainkan Pada
Macam Keluarga Apakah Yang Telah Membesarkannya.*

(Jhon Kennedy)

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT. Karena hanya dengan rahmat, taufiq, inayah serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul : **"Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 Secara *In Vitro* Pada Beberapa Konsentrasi 6-Benzylaminopurine dan Thidiazuron"**.

Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa umatnya kejalan yang penuh rahmat dan ridlo Allah SWT.

Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini, tidak terlepas dari hambatan dan kesulitan-kesulitan yang timbul dari berbagai penjuru. Akan tetapi atas berkat bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak akhirnya dapat terlewati, sehingga tersusunlah skripsi ini walaupun masih jauh dari sempurna.

Dan dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan rasa terimakasih dan penghargaan kepada seluruh pihak terutama:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku Rektor UIN Malang.
2. Drs. H. Turmudi, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
3. drh. Bayyinatul Muhctaromah. M. Si, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang

4. Ir. Lilik Harianie A. R, selaku dosen pembimbing I yang dengan ikhlas dan penuh tanggung jawab memberikan bimbingan dan arahan serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Dita Agisimanto, SP. MP, selaku dosen pembimbing II yang dengan ikhlas dan penuh tanggung jawab memberikan bimbingan dan arahan serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Ayahanda dan Ibunda yang telah memberikan do'a dan motivasi serta bantuan baik moral maupun spiritual.
7. Para dosen yang telah memberikan bimbingan serta ilmunya kepada penulis.
8. Keluarga besar LP2B Malang.
9. Sahabat-Sahabat seperjuangan dan semua pihak yang telah memberikan dorongan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini.

Maka dengan iringan do'a, semoga Allah SWT membalas semua amal dengan balasan yang berlipat ganda baik di dunia maupun di akhirat.

Akhirnya, semoga skripsi ini ada guna dan manfaatnya baik bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya, Amien.

اَلْحَمْدُ لِلّٰهِ رَبِّ الْعٰلَمِيْنَ

Malang, 26 November 2005

Penulis

ABSTRAK

Amin, Suaidi Ghufron. 2005. **Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 Secara *In Vitro* Pada Beberapa Konsentrasi 6-Benzylaminopurine dan Thidiazuron**. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Malang.

Pembimbing I : Ir. Lilik Harianie A. R

Pembimbing II : Dita Agisimanto, SP, MP

Key word : *Proliferasi, Citrus reticulata, In Vitro, Tissue Culture, BAP: 6-Benzylaminopurine, TDZ: Thidiazuron.*

Jeruk (*Citrus* sp.) merupakan komoditas buah-buahan terpenting ketiga setelah pisang dan mangga. Jeruk merupakan komoditas buah yang paling ekonomis dibanding jenis buah lainnya yang diusahakan saat ini. Hampir setiap orang menyukai buah jeruk baik dikonsumsi langsung maupun dalam bentuk olahan, rasanya segar dan kandungan vitamin C dan gizinya cukup tinggi. Seiring dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia dan permintaan buah jeruk semakin meningkat, namun ketersediaannya masih belum mencukupi sehingga menyebabkan harga dipasar semakin tinggi. Oleh sebab itu, dalam upaya meningkatkan kualitas dan kuantitas produksi jeruk diperlukan penerapan teknologi budidaya, pengolahan hasil produksi yang baik serta mengurangi faktor-faktor yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas tanaman jeruk.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kapasitas regenerasi tunas eksplan satu ruas jeruk keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi hormon BAP yang terdiri dari 2.5 μM ; 5.0 μM ; 7.5 μM dan 10.0 μM . Faktor kedua adalah hormon TDZ terdiri dari 0.5 μM dan 1.0 μM . Dari kedua faktor tersebut diperoleh 8 kombinasi perlakuan, masing-masing diulang 6 kali. Subjek penelitian adalah tunas eksplan satu ruas jeruk keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura (Lolitjeruk) Tlekung Batu. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan menggunakan teknik Analisis Varian (Anava). Jika dari analisis tersebut diperoleh $F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{tabel}}$, maka dilanjutkan dengan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan mana yang paling baik dengan menggunakan uji DMRT 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tunas dan jumlah kalus dari masing-masing perlakuan. Jumlah tunas, jumlah daun, dan tinggi tunas tertinggi terdapat pada perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM masing-masing sebesar 8.44, 9.28 dan 11.71, sedangkan jumlah tunas, jumlah daun, dan tinggi tunas terendah terdapat pada perlakuan BAP 7.5 μM + TDZ 1.0 μM yaitu 5.85, 4.26 dan 5.94. Sementara untuk jumlah kalus tertinggi terdapat pada perlakuan perlakuan 2.5 μM BAP + 1.0 μM TDZ sebesar 48.10, sedangkan jumlah kalus terendah terdapat pada perlakuan perlakuan 5.0 μM BAP + 0.5 μM TDZ yaitu sebesar 2.90.

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Sistematika dan Morfologi Tanaman Jeruk.....	7
2.2 Pengertian Kultur Jaringan.....	10
2.3 Manfaat Kultur Jaringan.....	11
2.4 Tahapan Kultur Jaringan.....	12
2.4.1 Pemilihan dan Penyiapan Tanaman Induk Sebagai Sumber Eksplan.....	12
2.4.2 Inisiasi Kultur.....	13
2.4.3 Multiplikasi Propagul.....	13
2.4.4 Pemanjangan Tunas, Induksi dan Perkembangan Akar.....	14
2.4.5 Aklimatisasi Plantlet.....	15

2.5	Media Kultur Jaringan.....	15
2.5.1	Aquades.....	16
2.5.2	Hara Makro dan Mikro.....	16
2.5.3	Gula.....	17
2.5.4	Vitamin dan Bahan Organik Lainnya.....	17
2.5.5	Zat Pengatur Tumbuh.....	18
	A. Sitokinin dan Mekanisme Kerja Dalam Sel...	19
	B. Sitokinin Sintetik.....	20
2.5.6	Zat Antibiotik.....	23
2.5.7	Bahan Pekat Lainnya.....	23
2.6	Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman.....	25
2.6.1	Faktor Genotip.....	24
2.6.2	Ukuran Eksplan.....	24
2.6.3	Umur Ontogenetik.....	25
2.6.4	Metode Perbanyakan <i>In Vitro</i>	25
2.6.5	Lingkungan.....	26
	a. Cahaya.....	26
	b. Temperatur.....	27
	c. Keasaman.....	27
	d. Kelembaban.....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....		28
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
3.2	Alat dan Bahan.....	28
3.3	Rancangan Penelitian.....	29
3.4	Tahap Pelaksanaan.....	29
	3.4.1 Persiapan Alat.....	29
	3.4.2 Pembuatan Media.....	30
	3.4.3 Persiapan Bahan Tanam dan Penanaman.....	30
3.5	Pengumpulan Data.....	32
3.6	Analisis Data.....	33

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil.....	34
A. Jumlah Tunas Yang Terbentuk Per Eksplan Satu Ruas...	34
B. Jumlah Daun Yang Terbentuk Per Eksplan Satu Ruas...	37
C. Tinggi Tunas Yang Terbentuk Per Eksplan Satu Ruas...	40
D. Jumlah Kalus Yang Terbentuk Per Eksplan Satu Ruas...	41
4.2 Pembahasan.....	44
BAB V PENUTUP.....	54
A. Kesimpulan.....	54
B. Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

2.1	Deskripsi varietas <i>Citrus reticulata</i> L. Blanco Batu 55.....	10
4.1	Ringkasan Anava Ganda Pengaruh Hormon BAP dan TDZ dari Umur 2 – 12 minggu terhadap Jumlah Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	35
4.2	Ringkasan Uji Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari Umur 2-12 Minggu terhadap Jumlah Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	35
4.3	Ringkasan Uji Duncan 5% Interaksi Perlakuan Hormon BAP Dan TDZ terhadap Jumlah Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55	36
4.4	Ringkasan Anava Ganda Pengaruh Hormon BAP dan TDZ dari Umur 2 – 12 minggu terhadap Jumlah Daun Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	38
4.5	Ringkasan Uji Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari Umur 2-12 Minggu terhadap Jumlah Daun Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	39
4.6	Ringkasan Uji Duncan 5% Interaksi Perlakuan Hormon BAP dan TDZ terhadap Jumlah Daun Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	39
4.7	Ringkasan Anava Ganda Pengaruh Hormon BAP dan TDZ dari Umur Sub Kultur 1-3 terhadap Tinggi Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	40
4.8	Ringkasan Uji Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari Umur Umur Sub Kultur 1-3 terhadap Tinggi Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	40
4.9	Ringkasan Uji Duncan 5% Interaksi Perlakuan Hormon BAP dan TDZ terhadap Tinggi Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	41

5.1	Ringkasan Anava Ganda Pengaruh Hormon BAP dan TDZ dari Umur 2 – 12 minggu terhadap Jumlah Kalus Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	42
5.2	Ringkasan Uji Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon BAP dari Umur 2-12 Minggu terhadap Jumlah Kalus Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	43
5.3	Ringkasan Uji Duncan 5% Interaksi Perlakuan Hormon BAP dan TDZ terhadap Jumlah Kalus Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	43

DAFTAR GAMBAR

2.1	Struktur Kimia Zat Pengatur Tumbuh Kelompok Sitokinin.....	20
2.2	Struktur Kimia Zat Pengatur Tumbuh Kelompok Sitokinin Sintetik.....	22
3.1	Langkah-Langkah Sterilisasi Bahan Tanam.....	31
4.1	Tunas yang keluar dari mata tunas umur 6 HST.....	36
4.2	Tunas Eksplan Satu Ruas Umur 10 Minggu Setelah Tanam.....	37
4.3	Daun Eksplan Satu Ruas Umur 11 HST.....	38
4.4	Kalus Eksplan Satu Ruas Umur 10 HST.....	42
4.5	Grafik Laju Pertumbuhan Jumlah Tunas dan Daun Ekaplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 mulai minggu ke-2 sampai minggu ke-12....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Penelitian Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara <i>In vitro</i> pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ	58
Lampiran 2	Analisis of Variance Table.....	60
Lampiran 3	Perhitungan Uji lanjut dengan Menggunakan Uji Duncan 0.05.....	66
Lampiran 4	Ringkasan Uji Duncan 0.05 Perlakuan Hormon BAP dan TDZ Terhadap Rerata Jumlah Total Daun Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.....	74

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jeruk (*Citrus* sp.) termasuk famili Rutaceae ordo Rurales (Soelarso, 1996). Jeruk merupakan komoditas buah yang paling ekonomis dibanding jenis buah lainnya yang diusahakan saat ini. Hampir setiap orang menyukai buah jeruk baik dikonsumsi langsung maupun dalam bentuk olahan, rasanya segar dan kandungan vitamin C dan gizinya cukup tinggi. Permintaan buah jeruk semakin meningkat, seiring dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia, namun ketersediaannya masih belum mencukupi sehingga menyebabkan harga dipasar semakin tinggi (Anonymous, 2000).

Menurut Dirjen Bina Produksi Hortikultura tahun 2005, produksi jeruk Indonesia pada tahun 2002 sebesar 968.132 ton. Dengan jumlah penduduk 210 juta jiwa, maka untuk mencapai sasaran tingkat konsumsi sebesar 3.17 kg per kapita per tahun diperlukan buah jeruk sebanyak 1.354.632 ton dengan asumsi 30% buah rusak selama pasca panen. Data yang diperoleh pada tahun 2003, tercatat bahwa Indonesia telah mengimpor buah jeruk sebanyak 57.480 ton (Cahyono, 2005).

Di Indonesia, pengembangan produksi dan industri jeruk belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri terlebih terhadap permintaan ekspor yang meningkat. Oleh sebab itu, dalam upaya meningkatkan kualitas dan kuantitas produksi jeruk diperlukan penerapan teknologi budidaya, pengolahan hasil

produksi yang baik serta mengurangi faktor-faktor yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas tanaman jeruk. Penerapan teknik budidaya diharapkan mampu mengatasi masalah kurang optimumnya produksi tanaman jeruk mulai dari pembibitan, penyiapan media, penanaman dilapang, pemeliharaan, pemupukan, dan sebagainya sehingga mampu memproduksi jeruk yang bernilai ekonomis tinggi dan memenuhi standart gizi.

Dalam budidaya tanaman jeruk, pengadaan bibit unggul memegang peranan yang penting. Jeruk adalah salah satu tanaman yang membutuhkan waktu agak lama untuk mengecambahkan biji. Oleh karena itu perlu adanya teknologi yang dapat memproduksi bibit dalam jumlah banyak dan bermutu tinggi. Jika metode alternatif dengan cara perbanyakan *in vivo* gagal, maka perbanyakan *in vitro* adalah cara yang tepat untuk menggantikannya, bahkan seringkali perbanyakan klon dipercepat dengan sangat cepat melalui teknik ini (Suryowinoto, 1996).

Pelaksanaan budidaya dengan *cara in vitro* merupakan salah satu cara yang diterapkan untuk penyediaan bibit dengan cara cepat, efisien dan pelaksanaan tidak tergantung pada waktu. Kultur jaringan (secara *in vitro*) merupakan perbanyakan tanaman yang biasanya menggunakan jaringan muda seperti anther, tunas juvenil dan mata tunas pada tanaman yang akan dikultur dengan diperkaya zat pengatur tumbuh. [http://www. Citrus Indonesia. Com//Alternatif Pengadaan Bibit Unggul//. html](http://www.CitrusIndonesia.Com//AlternatifPengadaanBibitUnggul//.html). Pada penelitian ini, bahan tanam yang digunakan yaitu eksplan satu ruas yang tidak biasa digunakan untuk kegiatan kultur jaringan, dimana dengan menggunakan eksplan yang lebih tua diharapkan

bisa menjadi alternatif baru (terobosan) terhadap pengadaan bahan tanam yang suatu saat tidak tersedia karena keterbatasan bahan tanam dari jaringan muda seperti anther, tunas juvenil dan sebagainya tersebut ([http://www. Citrus indonesia. Com//Alternatif Pengadaan Bibit Unggul//. html](http://www.Citrusindonesia.Com//AlternatifPengadaanBibitUnggul//.html)).

Nazier *et al* (1997) menjelaskan bahwa sitokinin dan auksin merupakan dua jenis zat pengatur tumbuh yang harus diberikan pada media. Kombinasi jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang sesuai pada media akan menentukan arah perkembangan eksplan yang dikulturkan. BAP (Benzil Amino Purin) dan TDZ (Thidiazuron) merupakan hormon yang mempunyai peranan penting dalam proses pembelahan sel (*cell division*). Sehingga dengan adanya penambahan hormon tersebut diharapkan bisa mempercepat laju pertumbuhan dan perbanyakan tunas dari kultur eksplan itu sendiri (Wattimena, 1992).

Dalam beberapa penelitian antara lain Ghorbel, *et. al* menyatakan bahwa BA (Benzil adenin) dengan konsentrasi 4.4 μM mampu menghasilkan pertumbuhan morfogenesis dan embriogenesis *Citrus paradisi*, *C. aurantium*, dan *C. alemov* dengan maksimal, sedangkan hasil penelitian Bhansali (1978) menyatakan, BAP (Benzil Aminopurine) pada konsentrasi 1.0 mg/l dan Kinetin dengan konsentrasi 0.25 mg/l merupakan konsentrasi yang paling baik untuk organogenesis *Citrus limettioides* (Sweet lime). Kemudian Carimi *et. al* (1998) menyatakan bahwa *Citrus sinensis* L. mampu berembriogenesis dan berregenerasi dengan baik pada media kultur yang mengandung hormon BAP (Benzil Amino Purin) dengan konsentrasi 13.3 μM dan 500 mg l⁻¹ ME (Malt ekstrak) dan Pasquale *et. al* menyatakan *Citrus limon* L. berregenerasi dengan baik pada

konsentrasi 13.3 μM BAP dan 146 μM Sukrosa. Sementara Mithila *et al* (2002) melaporkan bahwa eksplan of African violet (*Sainntpaulia ionantha Wendl*) yang ditumbuhkan pada konsentrasi 0.5 μM TDZ mampu berorganogenesis dengan baik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ada perbedaan jumlah kalus dari eksplan satu ruas antar perlakuan?
2. Apakah ada perbedaan jumlah tunas tumbuh pada eksplan satu ruas antar perlakuan ?
3. Apakah ada perbedaan tinggi tunas setiap eksplan satu ruas antar perlakuan ?
4. Apakah ada perbedaan jumlah daun dari eksplan satu ruas antar perlakuan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui kapasitas regenerasi tunas eksplan satu ruas jeruk keprok (*Citrus reticulata* L Blanco) Batu 55. Adapun tujuan yang ingin dicapai secara rinci dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui jumlah kalus dari eksplan satu ruas antar perlakuan.
2. Untuk mengetahui perbedaan jumlah tunas tumbuh pada eksplan satu ruas antar perlakuan.
3. Untuk mengetahui perbedaan tinggi tunas setiap eksplan satu ruas antar perlakuan.
4. Untuk mengetahui jumlah daun dari eksplan satu ruas antar perlakuan.

1.4 Hipotesis Penelitian

Sehubungan dengan rumusan masalah diatas, hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Ada perbedaan jumlah kalus dari eksplan satu ruas antar perlakuan.
2. Ada perbedaan jumlah tunas tumbuh pada eksplan satu ruas antar perlakuan.
3. Ada perbedaan tinggi tunas setiap eksplan satu ruas antar perlakuan.
4. Ada perbedaan jumlah daun dari eksplan satu ruas antar perlakuan.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan protokol perbanyakan jeruk keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 melalui teknik *in vitro* dan mendapatkan kondisi sitokinin alami dan sintetik yang optimal untuk multiplikasi tunas.

1.6 Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka batasan masalah pada penelitian adalah:

1. Pada penelitian ini jeruk (*Citrus. sp*) yang digunakan adalah *Citrus reticulata* L Blanco cv. Batu 55 yang berasal dari lahan percobaan Lolitjeruk Batu Malang.
2. Eksplan ruas jeruk keprok (*Citrus reticulata* L Blanco) Batu 55 diambil dari lahan percobaan Lolitjeruk Batu Malang, kemudian ditumbuhkan pada medium dasar Murashige and Skoog (MS).
3. Eksplan ditumbuhkan pada media MS dengan ditambahkan hormon BAP dan TDZ.
4. Dari eksplan yang akan diteliti akan diamati peubah-peubah seperti persentase pertumbuhan eksplan dan kalus, jumlah tunas tumbuh pada eksplan, tinggi tunas eksplan, dan jumlah daun yang muncul pada eksplan.
5. Proliferasi adalah perbanyakan suatu jaringan tumbuh dengan sangat cepat dan proses terbentuknya organ seperti tunas, daun atau akar, baik secara langsung dari permukaan eksplan atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus terlebih dahulu.
6. Eksplan adalah bagian kecil organ yang dipisahkan dari tanaman induknya kemudian dikulturkan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistematika dan Morfologi Tanaman Jeruk

Cahyono (2005) menyebutkan bahwa para ahli botani memberi nama ilmiah tanaman jeruk keprok (Mandarin) dengan nama *Citrus reticulata* dengan klasifikasi sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Rutales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Species	: <i>Citrus reticulata</i> L.
Varietas	: Batu 55

a. Akar

Tanaman jeruk mempunyai akar tunggang panjang dan akar serabut (bercabang pendek kecil) serta akar-akar rambut. Ujung akar selalu terdiri dari sel-sel muda yang senantiasa membelah dan merupakan titik tumbuh akar jeruk. Ujung akar terlindung oleh tudung akar (*calyptra*), yang bagian luarnya berlendir, sehingga ujung akarnya mudah menembus tanah. Epidermis terdiri dari susunan sel-sel dan diantara sel-sel terdapat celah-celah yang saling berhimpit. Kulit

pertama pada akar terdiri dari sel-sel ber dinding tipis, dan diantara sel-sel tersebut terdapat celah yang berfungsi sebagai pertukaran udara (AAK, 1994).

b. Batang

Bentuk fisik tanaman jeruk sangat dipengaruhi oleh keadaan batang jika dibiarkan tumbuh terus tanpa perlakuan pemangkasan. Tanaman jeruk yang tidak dipangkas akan dapat tumbuh lurus mencapai ketinggian 15 meter atau lebih. Warna kulit batang berbeda-beda, misalnya untuk jeruk besar berwarna hitam kecokelatan, tetapi ada pula percabangan dan ranting yang berwarna putih kehijauan. Permukaan kulit kasar, batang selalu ditumbuhi mata tunas, tajuk pohon tidak beraturan, rindang, cabang banyak dan letak dahan berpencar (Soelarso, 1996).

c. Daun

Daun jeruk berwarna hijau tua dan terkesan tebal. Jika daun diremas akan berbau aroma sesuai dengan jenis jeruknya. Tulang daun berbentuk menyirip beraturan, tetapi ada juga yang berselang seling seperti *Citrus sinensis* dan *Citrus paradisi*. Tepian daun ada yang bergerigi dan ada juga yang tidak. Bentuk fisik daun oval, meruncing, tetapi ada juga yang oval tumpul. Daun jeruk terdiri dari dua bagian, yaitu lembaran daun besar dan kecil. Lembaran daun kecil letaknya dekat dengan tangkai daun. Tetapi ada juga daun yang tidak memiliki lembaran kecil (Soelarso, 1996).

Permukaan daun sekilas kelihatan mengkilap, karena selalu dilapisi lilin yang padat dan mengandung sedikit pectin. Daun jeruk tumbuh pada tunas-tunas batang berselang seling. Pembentukan daun baru senantiasa muncul dari ujung ranting, dan pada tiap mata-mata tunasnya terdapat calon ranting yang masih lunak (AAK, 1994).

d. Bunga

Bunga jeruk berbentuk majemuk seperti anak payung, tandan atau malai, kebanyakan berkelamin dua, kelopak bunga berjumlah 4-5, ada yang menyatu ada yang tidak, mahkota bunga kebanyakan berjumlah 4-5 dan berdaun lepas. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk didalam benangsari (AAK, 1994).

Pada umumnya bunga jeruk berwarna putih. Bunga jeruk keluar dari ketiak daun atau pucuk ranting yang masih muda, berbau harum dan banyak mengandung nectar (madu) (AAK, 1994)

e. Buah

Bakal buah menumpang, bentuknya bulat, dan bulat-pendek atau ellips. Tangkai buah rata-rata besar dan pendek. Kulit buah ada yang tebal dan ada yang tipis. Dinding kulit buah jeruk berpori-pori, terdapat kelenjar-kelenjar yang berisi pectin. Kandungan pectin terbanyak ada pada lapisan dalam kulit jeruk yang sering disebut Albedo (AAK, 1994). Buah jeruk tergolong buah sejati, tunggal dan berdaging. Satu bunga menjadi satu bakal buah saja (Soelarso, 1996).

Tabel 2.1 Deskripsi varietas *Citrus reticulata* L. Blanco Batu 55

Keadaan Batang/Pohon	Keadaan Daun	Keadaan Buah	Keadaan Biji	Keadaan Bunga
<ul style="list-style-type: none"> • Berbatang bawah JC/RL • Tinggi JC : 175.2 cm RL : 367.5 cm • Lingkar Batang JC : 9 cm RL : 20.3 cm • Lebar Tajuk JC:75/62.5 cm RL: 187.5 cm 	<ul style="list-style-type: none"> • Panjang 6.7 cm • Lebar 3.4 cm • Tangkai 1.1 cm • Bentuk Ovalis • Panjang sayap 1 cm • Lebar sayap 0.3cm • Tulang daun menonjol • Jumlah 13 • Penyebaran ketepi 0.11 cm • Sudut 	<ul style="list-style-type: none"> • Ukuran 5.8 x 6.5 cm • Bentuk bulat pendek • Permukaan halus • Basal berleher pendek dan bertekuk • Puncak berlekuk • Panjang tangkai 4 mm • Diameter 3 mm • Puser tidak ada • Tebal kulit buah 2.1 mm • Tingkat kekerasan lunak • Rata-rata berat per buah 100 g 	<ul style="list-style-type: none"> • Jumlah biji per buah 19 • Ukuran 1x 0.5 cm • Bentuk ovoid • Permukaan berkerut, uratnya kuat • Warna krem 	<ul style="list-style-type: none"> • Diameter 2.4/2.4 cm • Tangkai 0.3 cm • Jumlah tangkai bunga 1-2 • Jumlah benangsari 18 • Panjang tangkai sari 0.7 cm • Jumlah daun bunga 10 • Panjang putik 0.8 cm • Tangkai putik 0.5 cm • Benang sari warna kuning, tangkai sari putih

Sumber: *Vademekum Jeruk, Direktorat Tanaman Buah, Ditjen BP Hortikultura, 2002.*

2.2 Pengertian Kultur Jaringan

Kultur jaringan adalah membudidayakan jaringan tanaman atau bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan, organ, yang dikembangkan dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh yaitu tanaman kecil yang sama dengan induknya (Suryowinoto, 1996; Wattimena, 1992; Gunawan, 1992 dan George & Sherrington, 1984). **Kultur jaringan tumbuhan** diartikan sebagai suatu kultur yang terdiri dari potongan jaringan (eksplan) yang dipisahkan dari lingkungan

alaminya yang ditanam pada medium buatan secara steril. Potongan jaringan tadi mampu mengadakan pembelahan sel dan penambahan plasma untuk kemudian berdiferensiasi membentuk organ menjadi tumbuhan baru yang utuh (Nurhadi, 1988).

Kultur jaringan tanaman berkembang dengan landasan teori sel yang mengatakan bahwa setiap sel merupakan unit yang mempunyai sifat totipotensi (*total genetic potential*) yang potensial dimana masing-masing sel yang hidup membawa informasi genetik yang diperlukan untuk menghasilkan tanaman normal (Katuuk, 1989). Menurut Bidwel (1979), *totipotensi* adalah suatu perkembangan dari sel-sel somatis membentuk tanaman baru pada kondisi yang sesuai.

Kultur jaringan pada tanaman merupakan teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro* (Yusnita, 2003). Sementara menurut Suryowinoto (1991) dalam Hendaryono dan Wijayani (1994) kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya.

2.3 Manfaat Kultur Jaringan

Teknologi kultur jaringan sangat bermanfaat dalam produksi tanaman pertanian dan pemuliaan tanaman. Kultur jaringan juga bermanfaat untuk menghasilkan tanaman baru dalam jumlah besar dalam waktu singkat, dengan kualitas dan sifat yang sama dengan induknya (Rahardja, 1989).

Keunggulan kultur jaringan adalah sebagai alat perbanyakan tanaman dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat, dapat membentuk tanaman yang bebas hama dan penyakit dan tidak tergantung pada waktu, iklim, dan musim. Sementara dalam bidang pemuliaan, kultur jaringan dapat dipergunakan untuk menghasilkan tanaman unggul, perbanyakan dalam mengoleksi tanaman langka untuk pelestariannya, memberi banyak kemudahan yang tidak memerlukan karantina dalam pertukaran tanaman didunia internasional, dapat menggandakan persilangan hibridasi somatik yang dikerjakan antar genus, antar spesies, antar varietas atau antar spesies varietas, dan dapat membantu varietas baru yang tahan penyakit atau toleransi terhadap tekanan lingkungan seperti tahan pada tanah asam, tanah basa, tanah kekeringan, dan pembentukan varietas baru dapat dikerjakan dalam waktu relatif pendek (Nurhadi, 1988; Boesono dan Sutji, 1987).

Teknik kultur jaringan dapat memfasilitasi proses manipulasi jumlah kromosom, membentuk tanaman haploid dan double haploid yang homogen, hibridasi somatis, variasi somaklonal dan pemindahan DNA atau organel untuk mendapatkan sifat tanaman baru (Gunawan, 1995). Oleh karena itu teknologi kultur jaringan bermanfaat untuk meningkatkan keragaman genetik dan juga dapat digunakan untuk pelestarian plasma nutfah *in vitro* (Wattimena, 1991)

2.4 Tahapan Kultur Jaringan

2.4.1 Pemilihan dan Penyiapan Tanaman Induk Sumber Eksplan

Eksplan merupakan bagian kecil jaringan atau organ yang dipisahkan dari tanaman induknya kemudian dikulturkan. Pengambilan eksplan dilakukan pada

bagian-bagian meristem yang masih aktif membelah yang secara fisiologis mempunyai daya regenerasi yang lebih tinggi dibanding eksplan yang berasal dari tanaman dewasa. Setelah ditentukan sumber eksplannya, langkah selanjutnya adalah *inisiiasi* eksplan yaitu mempersiapkan dan mengkondisikan tanaman induk sedemikian rupa agar eksplan yang digunakan tumbuh baik pada waktu dikulturkan secara *in vitro* (Yusnita, 2003).

2.4.2 Inisiiasi Kultur (*Culture Establishment*)

Tujuan utama dalam tahap ini adalah mengusahakan kultur yang aseptik atau aksenik. Aseptik berarti bebas dari mikroorganisme, sedangkan aksenik berarti bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. Untuk mendapatkan kultur yang bersih dari kontaminasi, eksplan harus disterilisasi. Sterilisasi merupakan upaya untuk menghilangkan kontaminan mikroorganisme yang menempel dipermukaan eksplan (Yusnita, 2003)

2.4.3 Multiplikasi Propagul

Tahap ini bertujuan untuk menggandakan propagul (bahan tanam) yang diperbanyak seperti tunas atau embrio. Pada tahap ini juga perbanyak tunas dirangsang dengan mendorong percabangan tunas lateral atau merangsang pembentukan tunas adventif. Cara penggunaannya, eksplan yang hidup dan tidak terkontaminasi (aseptik) diambil dari tahap induksi kemudian disubkulturkan ke media yang mengandung sitokinin. Propagul yang dihasilkan dalam jumlah berlipat disubkulturkan hingga mencapai jumlah propagul yang diharapkan.

Kemudian tunas mikro yang dihasilkan dapat diakarkan dan diaklimatisasi (Yusnita, 2003).

Menurut Yusnita (2003), dua hal penting yang harus diperhatikan pada tahap ini adalah rasio perbanyakan dan aberasi (penyimpangan) genetik. Rasio perbanyakan dapat dilihat dari jumlah tunas per eksplan. Rasio perbanyakan pada setiap periode kultur umumnya meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sitokinin. Namun, rasio perbanyakan yang terlalu tinggi akan beresiko tinggi untuk menghasilkan tanaman *off-type* dan terjadinya *vitrikasi*.

Vitrikasi adalah abnormalitas pada tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* yang ditandai dengan kandungan jaringan terlalu tinggi, sukulensi atau *translucency* (tembus cahaya). Vitrikasi ini sering disebabkan oleh terlalu tingginya sitokinin, rendahnya konsentrasi agar, dan tingginya konsentrasi amonium. Karena itu, pilihan terbaik bukan pada perlakuan yang menghasilkan tunas terbanyak, tetapi rasio perbanyakan yang cukup tinggi dengan kualitas tunas terbaik, dipandang dari segi kestabilan genetik dan vigor tunasnya (Yusnita, 2003).

2.4.4 Pemanjangan Tunas, Induksi dan Perkembangan Akar

Tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap multiplikasi dipindahkan ke media lain untuk pemanjangan tunas. Media untuk pemanjangan tunas mengandung sitokinin sangat rendah atau tanpa sitokinin. Setelah tunas tumbuh cukup panjang, maka langkah selanjutnya yaitu mengakarkan tunas. Keberhasilan

tahap ini tergantung pada tingginya mutu tunas yang dihasilkan pada tahap sebelumnya (Yusnita, 2003).

2.4.5 Aklimatisasi Planlet

Pada tahap ini, plantlet atau tunas mikro dipindahkan ke lingkungan diluar botol seperti rumah kaca, rumah plastik, atau *screenhouse* yang septik dengan media tanah sehingga planlet dapat bertahan dan terus tumbuh menjadi bibit yang siap ditanam dilapang. Tahap ini merupakan tahap kritis karena kondisi iklim mikro dirumah kaca, rumah bibit dan lapangan sangat jauh berbeda dengan kondisi iklim mikro di dalam botol. Aklimatisasi dilakukan dengan memindahkan plantlet atau tunas mikro ke media aklimatisasi dengan intensitas cahaya rendah dan kelembaban nisbi tinggi. Secara berangsur-angsur kelembabannya diturunkan dan intensitasnya dinaikkan (Yusnita, 2003).

2.5 Media Kultur Jaringan

Menurut Wheterel (1996) dalam Kusuma putri (1995), media kultur jaringan tanaman mempunyai dua fungsi utama yaitu untuk suplai nutrisi dan untuk mengarahkan pertumbuhan melalui zat pengatur tumbuh. Pertumbuhan eksplan dan jumlah pembentukan tunas selama mikropropagasi dapat juga dipengaruhi oleh keadaan fisik media.

Yusnita (2003) mengemukakan bahwa komponen media tanaman pada kultur jaringan merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan

untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Komponen media kultur jaringan tanaman yang lengkap adalah terdiri dari aquades, hara makro dan mikro, gula, vitamin dan bahan organik lainnya serta ZPT.

2.5.1 Aquades

Air yang digunakan untuk membentuk media harus benar-benar berkualitas tinggi, karena 95% lebih terdapat dalam media. Terhambatnya pertumbuhan tanaman dapat disebabkan oleh rendahnya kualitas air yang digunakan. Air sumur atau ledeng sebaiknya tidak digunakan untuk sterilisasi eksplan atau membuat media, karena mengandung terlalu banyak kontaminasi buatan organik dan mikroorganisme (Yusnita, 2003).

2.5.2 Hara Makro dan Mikro

Kebutuhan nutrisi mineral untuk tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* pada dasarnya sama dengan kebutuhan hara tanaman yang ditumbuhkan ditanah, meliputi hara makro dan mikro. Hara makro merupakan hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, sedangkan hara mikro dibutuhkan tanaman dalam jumlah sedikit tetapi harus tersedia (Yusnita, 2003).

Hara makro meliputi Nitrogen (N), Fosfor (P), Kalium (K), Sulfur (S), Kalsium (Ca), dan magnesium (Mg). Unsur makro ini diberikan dalam bentuk NH_3NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan KH_2PO_4 . Unsur mikro adalah Klor (Cl), Mangan (Mg), Besi (Fe), Tembaga (Cu), Seng (Zn), Bor (B), dan

Molibdenum (Mo). Unsur mikro ini diberikan dalam bentuk $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$, H_3BO_3 , KJ, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4$, dan $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (Indrianto, 1990 dalam Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

Yusnita (2003) menyatakan bahwa untuk melarutkan dalam air, unsur-unsur hara tersebut harus dalam bentuk garam. Khusus Fe, biasanya diberikan dalam bentuk $FeSO_4$, dibutuhkan agen pengelat berupa Na_2EDTA . Bentuk lain sumber besi adalah $NaFeEDTA$.

2.5.3 Gula

Gula digunakan sebagai sumber energi dalam media kultur, karena eksplan yang dikulturkan tidak autotrop dan mempunyai laju fotosintesis yang sangat rendah. Gula yang paling sering digunakan adalah sukrosa, untuk itu gula pasir juga dapat digunakan karena mengandung 99% sukrosa. Konsentrasi sukrosa yang digunakan berkisar 1-5% (10-50 gr/l). Namun untuk kebanyakan pengkulturkan 2-3% sukrosa merupakan konsentrasi yang optimum (Yusnita, 2003).

2.5.4 Vitamin dan Bahan Organik Lainnya.

Vitamin, asam amino dan bahan organik lainnya seperti Myo-inositol merupakan komponen media yang berpengaruh baik terhadap pertumbuhan kultur. Thiamin (Vitamin B1) merupakan satu-satunya vitamin yang penting sedangkan vitamin C, seperti asam sitrat, dan asam askorbat kadang-kadang digunakan sebagai anti oksidan untuk mencegah atau mengurangi browning pada eksplan (Yusnita, 2003).

2.5.5 Zat Pengatur Tumbuh

Salah satu komponen yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Zat pengatur tumbuh (*Plant Growth Regulator*) adalah senyawa organik bukan nutrisi, dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan merubah proses fisiologi tanaman (Abidin, 1989).

Zat pengatur tumbuh tanaman mencakup dua zat yaitu: zat pengatur tumbuh eksogen (*sintetik*) dan zat pengatur tumbuh endogen. Zat pengatur tumbuh (ZPT) endogen yang dihasilkan oleh tanaman disebut fitohormon, sedangkan yang sintetik disebut zat pengatur tumbuh tanaman sintetik. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Ada lima zat pengatur tumbuh yaitu auksin, sitokinin, giberellin, asam absisik dan etilen yang masing-masing mempunyai ciri khas serta pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi (Wattimena, 1988).

Dalam perkembangan teknik kultur jaringan penambahan auksin atau sitokinin eksogen mengubah tingkat kandungan hormon pada sel dan merupakan faktor pemicu atau penggerak proses-proses dalam pertumbuhan dan morfogenesis (Gunawan, 1988). Interaksi zat pengatur tumbuh endogen dan eksogen yang ditambahkan kedalam media membantu pembentukan organ secara lengkap. Efektivitas zat pengatur tumbuh atau kombinasinya tergantung unsur penyusun media yang lain (George & Therrington, 1984).

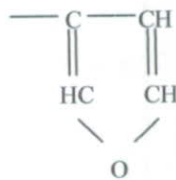
A. Sitokinin dan mekanisme kerja dalam sel

Abidin (1989) menyatakan bahwa adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan aktivitas sitokinin. Panjang rantai dan hadirnya suatu double band dalam rantai meningkatkan aktivitas pembelahan sel.

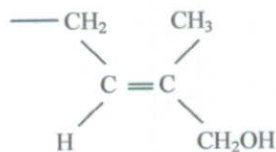
Sitokinin adalah suatu senyawa dalam tanaman yang bersama dengan auksin mendorong pembelahan sel dan dapat menentukan arah terjadinya diferensiasi sel membentuk bagian sel, dan diferensiasi tunas adventif dari hasil kalus dan organ (Moore, 1970; Kusumo, 1984), dan perkembangan embrio (Wattimena, 1988). Sitokinin merupakan cincin adenin, basa purin pada DNA dan RNA (Wattimena, 1988). Ada beberapa jenis sitokinin baik bersifat alami maupun sintetis (Wattimena, 1987) yakni:

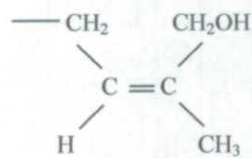
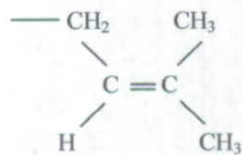
Kinetin adalah N⁶-furfuril adenin suatu turunan dari basa adenin. Senyawa sintetis yang mempunyai struktur yang serupa dengan kinetin akan mampu mendorong pembelahan sel. Beberapa struktur kimia sitokinin yang digunakan untuk menginduksi sel *in vitro*, yakni:

Furfuryl



Zeatin (trans)



Zeatin (cis)**Isopentil Adenosin**

**Gambar 2.2 Struktur Kimia Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin
(A. Carl Leopold and Paul E. Kriedermann, 1975).**

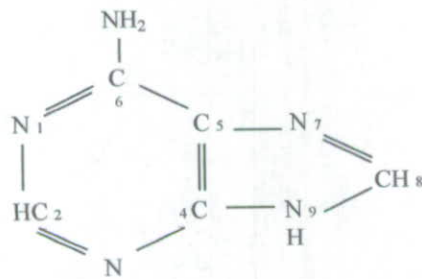
Sitokinin lainnya yang banyak terdapat dalam tanaman adalah isopentenil adenin beserta turunannya, isopentenil adenosine. Kedua bentuk isopentenil ini merupakan bagian dari tRNA. Dari gambar bagan dapat dilihat perbedaan antara isopentenil adenin dan zeatin yang hanya berbeda pada rantai samping yang terikat pada posisi N⁶ dari adenin. Sedangkan pada zeatin terdapat isopentenil adenine yang memiliki gugus hidroksil pada rantai samping isopentenil. Jadi, semua sitokinin endogen memiliki gugus isopentenil adenin sebagai struktur dasar. Modifikasi ikatan hanya terdapat pada rantai samping isopentenil atau penambahan gugusan pada posisi 9 dari cincin adenin.

B. Sitokinin Sintetik

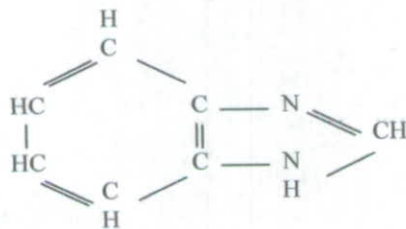
Sejumlah senyawa-senyawa substitusi adenin mempunyai aktivitas seperti sitokinin didalam sel tanaman, misalkan 6-Bensil adenin (BA) mempunyai struktur yang serupa dengan kinetin. BA berperan aktif dalam mendorong pertumbuhan sel kalus. Tetapi dijelaskan bahwa bentuk isomer BA adalah 1-

bensil adenin mempunyai aktivitas kimia yang rendah. Untuk dapat aktif, 1-bensil adenin harus dirubah menjadi 6-bensil adenin, selanjutnya adenin diubah menjadi isopentenil adenosine pada proses pembentukan tRNA.

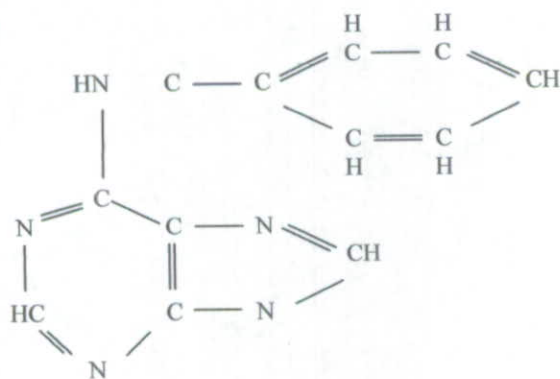
Adenin

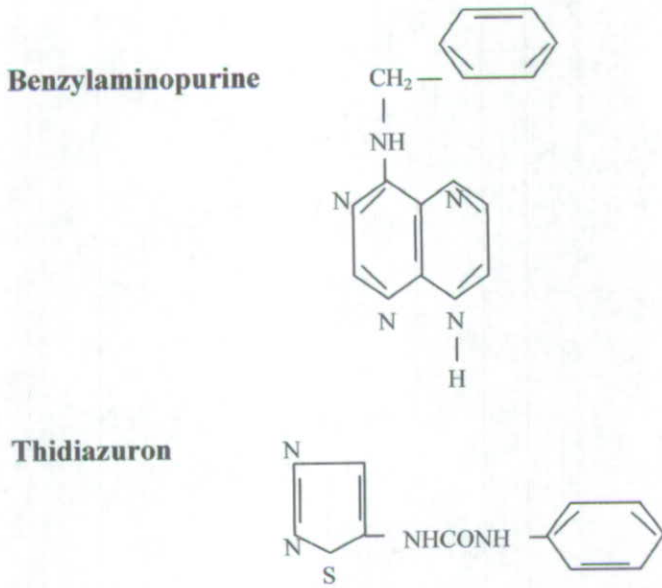


Bensimadasol



6-Bensil adenin





Gambar 2.3 Struktur Kimia Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin Sintetik (A. Carl Leopold and Paul E. Kriedermann, 1975).

Baik sitokinin endogen maupun sintetik mendorong diferensiasi pada pembentukan kotiledon, tunas pucuk dan akar (Ammirato, 1987). Sitokinin yang berupa sintetik maupun yang telah berada dalam tanaman (endogen) diaktifkan oleh beberapa enzim. Enzim tersebut diantaranya adalah AMP transferase atau yang disebut isopentenyl-pyrophosphate. Enzim ini diketahui adalah aktif pada pembelahan sel yang berlangsung saat transkripsi dan translasi. Ditemukan pula bahwa akumulasi proses sitokinin lebih banyak terdapat dalam biji dan zigot. Ternyata dalam hal ini, translokasi beberapa jenis sitokinin yang terdapat dalam jaringan tanaman adalah berbeda-beda. Hal ini disebabkan karena bentuk sitokinin dalam jaringan tanaman berbeda pula, sehingga ada beberapa bagian dan jenis tanaman yang memang harus ditambahkan sitokinin tertentu dalam media.

Didalam sintesis lainnya, peranan sitokinin pada pembentukan pigmen klorofil dan enzim fotosintesis.

Sitokinin yang banyak dipergunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah Kinetin, Zeatin, Ribosil, dan Benzil Aminopurin (BAP) (Daisy, 1994). Beberapa kenyataan menunjukkan bahwa sitokinin berperan dalam metabolisme asam nukleat dan sintesa protein.

2.5.6 Zat Antibiotik

Zat antibiotik secara umum dapat dikatakan sebagai suatu zat yang dihasilkan oleh makhluk hidup terutama bakteri atau jamur yang menghambat pertumbuhan makhluk hidup lain (khususnya bakteri). Antibiotik juga dapat diartikan sebagai sekelompok senyawa organik dengan berat molekul rendah yang cenderung menghalangi pertumbuhan pesaing potensial baik bersifat bolak balik atau searah.

2.5.7 Bahan Pekat Media

Media tanam dalam kultur jaringan adalah tempat untuk tumbuhnya eksplan. Media tanam dapat berupa larutan (cair) ataupun padat. Media cair berarti campuran komponen-komponen zat kimia dengan air suling. Penggunaannya adalah untuk suspensi sel, yaitu untuk memperbanyak kalus yang sudah terbentuk sebelumnya, untuk kepentingan isolasi dan untuk fusi protoplasma (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

2.6 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur jaringan Tanaman.

Keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor. Kultur jaringan menekankan pada tingkat keaseptikkan seperti alat yang digunakan, ruangan dan kondisi pelaksanaannya. Teknik perbanyakan tergantung pada kemudahan dan kemampuan reproduksi serta potensi perkembangbiakan tanaman yang tinggi (Vuylsteke, 1989).

Gati dan Mariska (1994), melaporkan produktivitas kultur jaringan selain ditentukan oleh komposisi medium sebagai faktor luar juga dipengaruhi oleh faktor dalam seperti karakteristik genetik, jenis dan umur jaringan yang dipergunakan. Gunawan (1988) memperkuat dengan pendapat mengenai berbagai faktor yang berinteraksi dalam menentukan arah pertumbuhan dan perkembangan antara lain bahan tanam (eksplan), nutrisi, hormon, zat pengatur tumbuh dan lingkungan fisik.

2.6.1 Faktor Genotip

Faktor genotip merupakan faktor endogen yang paling utama dalam mempengaruhi perkembangan jaringan eksplan. Eksplan dari tanaman yang berbeda mempunyai kemampuan berbeda untuk membentuk tunas, walaupun eksplan tersebut berasal dari tanaman-tanaman yang mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat. Pada tanaman pisang misalnya perbedaan kultivar ternyata menyebabkan kemampuan regenerasi tunas yang berbeda-beda

tergantungan pada genotipnya. Dalam suatu spesies tertentu perbedaan genotip juga dapat mempengaruhi kemampuan multiplikasi tunasnya (Yusnita, 2003)

2.6.2 Ukuran Eksplan

Kusumaputri (1995), mengemukakan bahwa ukuran eksplan sangat menentukan pada proses pengulturan. Bagian tanaman yang telah dipotong masih mengandung suplai makanan dan hormon untuk tanaman itu sendiri, sehingga semakin besar potongan eksplan semakin besar kemampuannya untuk tumbuh dan beregenerasi. Tetapi semakin besar eksplan, kemungkinan terkontaminasi juga semakin besar. Eksplan yang kecil mempunyai daya tahan yang kurang. Ukuran eksplan yang baik berkisar 0.5-1 cm.

2.6.3 Umur Ontogenetik

Umur *Ontogenik* adalah masa transisi dari fase pertumbuhan *juvenil* menuju fase dewasa. Fase *juvenil* adalah bagian tanaman yang masih muda (baru tumbuh) yang ditandai dengan pertumbuhan yang cepat. Fase dewasa tercapai jika suatu tanaman telah mempunyai kemampuan untuk berbunga. Umur *ontogenik* jaringan tanaman yang dijadikan eksplan berpengaruh terhadap potensi morfogenetiknya. Umumnya, eksplan yang berasal dari tanaman *juvenil* mempunyai kemampuan membentuk tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan yang berasal dari tanaman dewasa. Penggunaan eksplan dari jaringan yang sudah dewasa akan memperbesar kemungkinan tumbuhnya bunga atau buah (Yusnita, 2003).

2.6.4 Metode Perbanyakan *In Vitro*

Perbanyakan mikro yang dapat digunakan untuk kepentingan komersial adalah melalui pembentukan tunas secara langsung dengan menggunakan eksplan potongan batang muda yang memiliki calon tunas samping (Nurhaimi-Haris dan Toruan Mathius, 1995). Cara lain yang dapat dilakukan adalah dengan metode pembiakan jalur *organogenesis* dan *embriogenesis*. Pada kedua cara ini, eksplan dirangsang pertumbuhannya untuk membentuk tunas atau embrio secara adventif, baik secara langsung (tidak melalui pertumbuhan kalus) maupun tidak langsung (melalui pertumbuhan kalus) (Yusnita, 2003).

Menurut Kartha *dalam* Wetter dan Constable (1991) menyatakan bahwa *organogenesis* merujuk pada proses yang menginduksi pembentukan jaringan sel atau kalus menjadi tunas dan tanaman sempurna yang diawali oleh hormon pertumbuhan. Sedangkan *embriogenesis* pada regenererasi sel menjadi kalus yang merupakan bakal tanaman. Eksplan yang sebelumnya tidak mempunyai titik tumbuh (meristem) dikondisikan sedemikian rupa sehingga terbentuk organ atau embrio baru (Yusnita, 2003).

2.6.5 Lingkungan

Faktor-faktor yang berpengaruh pada perbanyakan kultur tanaman jeruk (*Citrus* sp.) yaitu cahaya, temperatur, keasaman (pH), dan kelembaban.

1. Cahaya

Media dalam botol yang berisi potongan jaringan ditempatkan dalam ruang dengan suhu dan kelembaban ruang nisbi yang terkontrol, dengan

pencahayaannya 12 jam sehari yang berasal dari lampu neon dengan intensitas cahaya 3000-10000 lux (Nurhaimi-Haris dan Toruan-Mathius, 1995). Cahaya ini dibutuhkan untuk mengatur proses *morfogenetik* tertentu, karena dalam kultur jaringan penambahan cahaya dinyatakan dengan dimensi lama penyinaran, intensitas, dan kualitasnya (Yusnita, 2003).

2. Temperatur

Temperatur yang dibutuhkan untuk dapat terjadi pertumbuhan yang optimum umumnya berkisar antara 20⁰-30⁰C (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Untuk kebanyakan tanaman, suhu yang terlalu rendah dapat menghambat pertumbuhan dan suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan tanaman tertekan (Yusnita, 2003).

3. Keasaman (pH)

Sel tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan mempunyai toleransi pH yang relatif sempit dengan titik optimal antara 5,0 dan 6,0. Jika eksplan sudah mulai tumbuh, pH dalam lingkungan kultur akan naik apabila nutrisi habis terpakai. Senyawa fosfat mempunyai peranan yang penting untuk menstabilkan pH (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

4. Kelembaban

Kelembaban relatif (RH) lingkungan biasanya mendekati 100%. RH sekeliling kultur mempengaruhi pola pengembangan sehingga pengaturan RH pada keadaan tertentu memerlukan suatu bentuk diferensiasi khusus (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian perbanyak tunas jeruk keprok (*Citrus reticula* L Blanco) Batu 55 secara *in vitro* melalui metode mata tunas jaringan dewasa ini dilaksanakan mulai bulan Mei-Oktober 2005 di Laboratorium Kultur Jaringan Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropik yang berlokasi di Jl. Raya Tlekung No. 1 Batu Malang Jawa Timur.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: autoklaf, freezer, microwave, laminar air flow, timbangan analitik, pH meter, stirer, petridish, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pinset, scalpel, pipet, botol tanam, aluminium foil, tabung reaksi, hand spayer, lampu bunsen, kertas label, kertas tissue, micropipet, gunting, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96%, clorok 15%, BAP, TDZ, antibiotik, malt ekstrak, media MS, sukrosa, casein hydrolisa dan agar.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL Faktorial) terdiri dari 2 faktor. Faktor 1 yaitu konsentrasi BAP terdiri dari 4 level (2,5 $\mu\text{M/l}$; 5 $\mu\text{M/l}$; 7,5 $\mu\text{M/l}$; 10 $\mu\text{M/l}$) dan faktor 2 yaitu konsentrasi TDZ terdiri dari 2 level (0,5 $\mu\text{M/l}$; 1 $\mu\text{M/l}$) sehingga ada 8 taraf perlakuan dan 1 kontrol. Setiap perlakuan diulang 6 kali dengan masing-masing botol terdiri dari 3 eksplan.

Media percobaan dalam penelitian ini adalah media dasar Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya dengan kombinasi antara BAP dan TDZ. Adapun kombinasi perlakuannya yaitu BAP 2,5 μM + TDZ 0,5 μM ; BAP 2,5 μM + TDZ 1,0 μM ; BAP 5 μM + TDZ 0,5 μM ; BAP 5 μM + TDZ 1,0 μM ; 7,5 μM + TDZ 0,5 μM ; 7,5 μM + TDZ 1,0 μM ; BAP 10 μM + TDZ 0,5 μM ; dan BAP 10 μM + TDZ 1,0 μM , Maltekstrak 500 mg/l dan sukrosa 50 mg/l serta agar 10 g/l. Sementara kultivar jeruk yang digunakan adalah Batu 55.

3.4 Tahap Pelaksanaan

3.4.1 Persiapan Alat

Tahap-tahap kegiatan untuk pembuatan media tumbuh dimulai dengan sterilisasi alat-alat laboratorium. Cara sterilisasi dengan mencuci bersih alat dengan detergen kemudian dibilas beberapa kali dengan air kran dan dikeringkan. Botol dan *erlenmeyer* yang telah bersih dan kering ditutup dengan aluminium foil, alat-alat dari logam seperti scalpel dan pinset serta *petridish* dan alat-alat yang terbuat dari gelas dibungkus kertas kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C, tekanan 20 Psi (1 atm) selama 20 menit. Sebelum dan

sesudah penanaman, *laminar air flow* disterilkan dengan lampu ultraviolet selama 60 menit dan disemprot dengan alkohol 96%.

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS) dengan menambahkan kombinasi BAP dan TDZ. Komponen tersebut dilarutkan dengan aquades sampai batas volume dua pertiganya, kemudian diaduk dengan menggunakan magnetik stirer hingga rata, lalu ditambahkan aquades hingga volumenya mencapai satu liter.

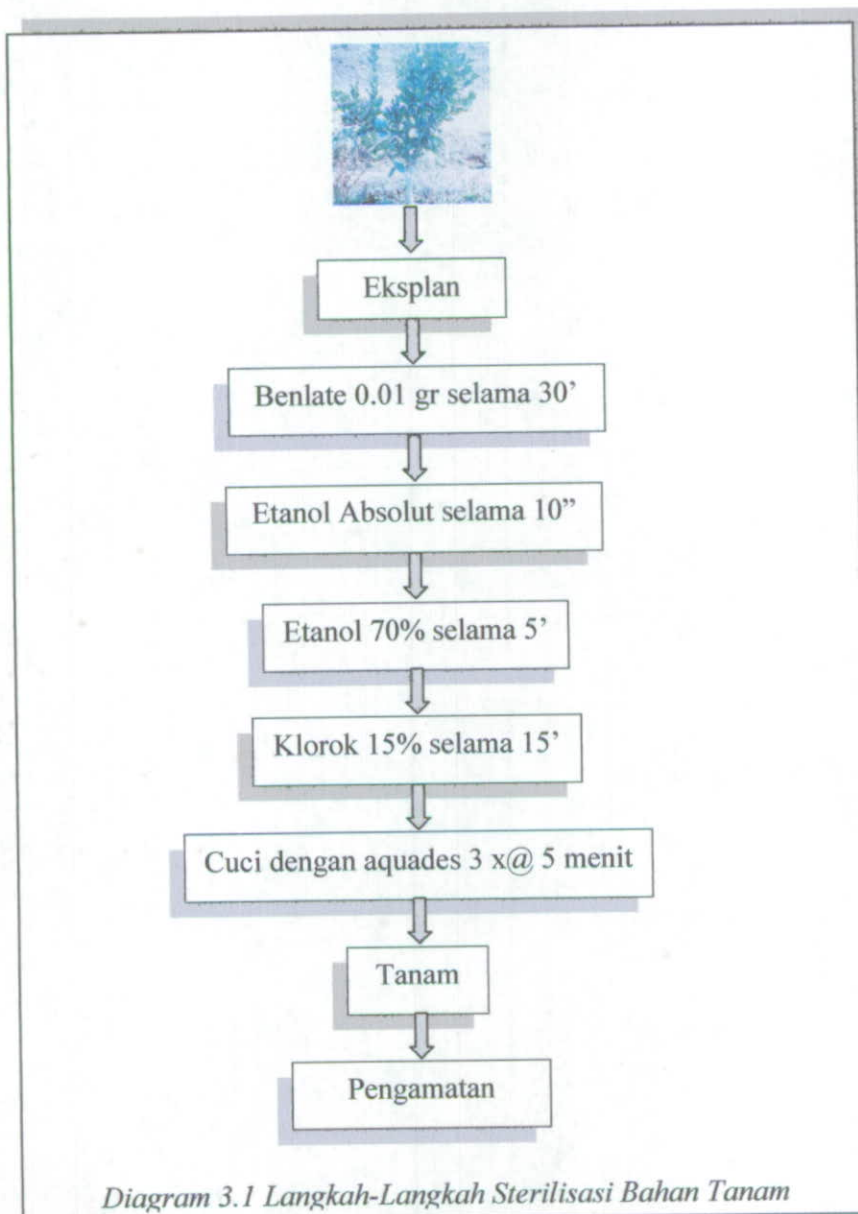
Untuk media padat ditambahkan 10 g/l agar, kemudian mengukur pH larutan menjadi 5,6-5,8 sehingga sesuai dengan pH yang dibutuhkan bagi pertumbuhan eksplan. Memanaskan media tersebut dalam *microwave* 25 menit dan disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekanan 20 Psi (1 atm) selama 20 menit. Kemudian media dituangkan kedalam kultur dengan volume 10-20 ml dan ditutup dengan aluminium foil atau plastik dengan rapat.

3.4.3 Persiapan Bahan Tanam dan Penanaman

Bahan eksplan berasal dari tanaman jeruk keprok sBatu 55, dengan batang tunas muda yang berukuran 15-20 cm yang diambil dari batang jeruk. Kemudian dibersihkan dibawah air mengalir dan disikat lembut sampai bersih. Eksplan kemudian dimasukan ke *laminar air flow* untuk disterilisasi. Eksplan yang sudah bersih kemudian disterilkan secara bertahap dalam larutan Benlate 0.01 gr/l selama 30 menit, kemudian dimasukkan kelarutan etanol absolut selama 10 detik, kemudian dimasukkan kelarutan alkohol 70% selama 5 menit, terus dimasukkan

kedalam larutan klorok 15% selama 15 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali masing-masing 5 menit.

Setiap botol kultur berisi 3 eksplan dan diulang 6 kali. Setiap botol kultur diberi label yang berisi keterangan berupa nama aksesori, tanggal penanaman, dan jenis media yang digunakan. Eksplan diletakkan dalam ruang inkubasi dengan suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ pada rak dengan intensitas cahaya berkisar 2000-3000 lux.



3.5 Pengumpulan Data

Pengumpulan data pengamatan kegiatan regenerasi tunas jeruk terhadap sifat-sifat agronomis dilakukan selama 3 bulan dan dilaporkan setiap 2 minggu sekali. Adapun variabel yang diamati adalah:

1. Jumlah tunas per eksplan

Pengamatan mulai dilakukan 1 minggu setelah inokulasi sampai dengan eksplan berumur 12 minggu setelah tanam. Interval pengamatan 2 minggu sekali, dengan menghitung jumlah tunas yang terbentuk per eksplan.

2. Tinggi Tunas

Pengukuran panjang tunas dilakukan dengan mengukur bagian permukaan plantlet yang muncul diatas media dengan titik tumbuh teratas plantlet dengan menggunakan jangka sorong. Pengamatan dilakukan setiap sub kultur.

3. Jumlah Daun

Pengamatan mulai dilakukan 1 minggu setelah inokulasi sampai dengan eksplan berumur 12 minggu setelah tanam. Interval pengamatan 2 minggu sekali, dengan menghitung jumlah daun yang muncul per eksplan.

4. Persentase eksplan yang menghasilkan kalus:

$$\frac{\text{Jumlah eksplan yang berkalus}}{\text{Jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam bentuk persen untuk jumlah kalus ditransformasi dengan rumus $\text{Arc } \sqrt{\text{Persentase}}$, sedangkan data untuk jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi tunas ditransformasi dengan rumus $\sqrt{x+0.5}$ untuk membuat ragam perlakuan menjadi homogen. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan program MSTAT.

Jika dari analisis tersebut diperoleh $F_{\text{hitung}} \geq F_{\text{tabel}}$, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan mana yang paling baik dengan menggunakan uji DMRT 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL

A. Jumlah Tunas Yang Terbentuk per Eksplan Satu Ruas.

Tunas dari eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 mulai muncul pada saat umur 6 HST (hari setelah tanam) dan yang pertama kali muncul tunas yaitu pada perlakuan A (2.50 μM BAP; 0.50 μM TDZ) dan perlakuan C (5.00 μM BAP; 0.50 μM TDZ) masing-masing 8 tunas dan 5 tunas. Dari perlakuan D (5.00 μM BAP; 1.00 μM TDZ) dan perlakuan E (7.50 μM BAP; 0.50 μM TDZ) tunas muncul pada umur 7 HST masing-masing sebanyak 4 tunas dan 3 tunas, diikuti oleh kontrol 2.5 μM BAP pada umur 9 HST. Adapun perlakuan B (2.50 μM BAP; 1.0 μM TDZ) tunas muncul pada umur 11 HST sebanyak 2 tunas, dan perlakuan F (7.50 μM BAP; 1.0 μM TDZ), G (10 μM BAP; 0.50 μM TDZ) dan H (10 μM BAP; 1.0 μM TDZ) tunas muncul pada umur 15 HST masing-masing sebanyak 3, 2 dan 1 tunas. Tunas dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Tunas yang keluar dari mata tunas umur 6 HST

Hasil uji Duncan 5% pengaruh BAP dan TDZ terhadap multiplikasi tunas eksplan Batu 55 satu ruas umur 2-12 minggu dapat dilihat pada Tabel 4.1. Pada

Tabel 4.1 Ringkasan ANAVA ganda Pengaruh Hormon BAP dan TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap Jumlah Tunas pada Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.

Hormon	Umur Pengamatan Minggu Ke						F _{hitung}	
	2	4	6	8	10	12	5%	1%
BAP	1.21	0.72	1.15	1.37	2.32	2.33	2.84	4.31
TDZ	7.18**	6.76*	10.09**	7.53**	4.76*	4.10*	4.08	7.31
Interaksi	0.62	2.47	6.67**	5.35**	7.90**	7.12**	2.84	4.31

Ket : * Nyata
** Sangat Nyata

Pada umur 2-4 minggu setelah tanam, hasil analisa interaksi penggunaan hormon BAP dan TDZ belum menunjukkan perbedaan nyata, namun perbedaan itu baru nampak pada umur 6-12 minggu setelah tanam. Dari tabel 4.3 terlihat bahwa penambahan jumlah tunas tidak sejalan dengan meningkatnya konsentrasi hormon. Sementara pengaruh tunggal hormon TDZ nampak dari awal pengamatan yaitu umur 2 minggu sampai 12 minggu, akan tetapi pengaruh TDZ bekerja secara efektif hanya sampai pada umur 6 MSI. Jumlah tunas akibat pengaruh tunggal hormon TDZ dapat dilihat pada Tabel 4.2. Hasil optimal TDZ pada percobaan ini terdapat pada konsentrasi 0.5 μ M.

Tabel 4.2 Ringkasan Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap Jumlah Tunas pada Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.

Hormon TDZ	Umur Pengamatan Minggu Ke					
	2	4	6	8	10	12
0.5 μ M	4.4 a	4.5 a	5.0 a	5.0 a	5.0 a	5.0 a
1.0 μ M	3.0 b	4.0 b	4.3 b	4.3 b	4.3 b	4.3 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05

Pada akhir pengamatan 12 MSI (minggu setelah inokulasi), perlakuan menggunakan hormon BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM menunjukkan hasil yang paling baik daripada perlakuan yang lain dengan jumlah tunas sebanyak 8.44 (tabel 4.3) dibandingkan dengan pemberian BAP dan TDZ pada konsentrasi yang lain, kecuali dengan BAP 5.0 μM + TDZ 1.0; BAP 5.0 μM + TDZ 0.5; BAP 7.5 μM + TDZ 0.5; BAP 10 μM + TDZ 0.5; dan BAP 10 μM + TDZ 1.0 μM berbeda tidak nyata. Jumlah tunas paling sedikit terdapat pada perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 1.0 μM dan BAP 7.5 μM + TDZ 1.0 μM dengan jumlah tunas masing-masing sebanyak 5.74 dan 5.85. Gambar tunas eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 dapat dilihat pada gambar 4.2.

Tabel 4.3 Ringkasan uji Duncan $_{0.05}$ interaksi perlakuan hormon BAP dan TDZ terhadap jumlah tunas eksplan satu ruas jeruk keprok batu 55.

Hormon	6 MSI	8 MSI	10 MSI	12 MSI
BAP 2.5 μM , TDZ 0.5 μM	8.31 a	8.44 a	8.44 a	8.44 a
BAP 2.5 μM , TDZ 1.0 μM	4.97 b	5.57 b	5.57 b	5.74 b
BAP 5.0 μM , TDZ 0.5 μM	6.36 abc	6.69 ab	6.69 ab	6.69 ab
BAP 5.0 μM , TDZ 1.0 μM	7.26 ab	7.26 ab	7.82 a	7.82 a
BAP 7.5 μM , TDZ 0.5 μM	6.76 abc	6.76 ab	6.76 ab	6.76 ab
BAP 7.5 μM , TDZ 1.0 μM	5.34 bc	5.68 b	5.85 b	5.85 b
BAP 10 μM , TDZ 0.5 μM	6.41 abc	7.01 ab	7.29 ab	7.29 ab
BAP 10 μM , TDZ 1.0 μM	5.90 bc	6.86 ab	7.31 ab	7.31 ab

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05



Gambar 4.2 Tunas eksplan satu ruas umur 10 MSI pada media MS dengan BAP $2.5 \mu\text{M}$ + $0.5 \mu\text{M}$ TDZ.

B. Jumlah Daun Yang Terbentuk per Eksplan Satu Ruas.

Daun dari eksplan satu ruas mulai muncul pada saat umur 11 HST (hari setelah tanam) dan yang pertama kali muncul tunas yaitu pada perlakuan A ($2.5 \mu\text{M}$ BAP, $0.5 \mu\text{M}$ TDZ) dan perlakuan E ($7.5 \mu\text{M}$ BAP, $0.5 \mu\text{M}$ TDZ) masing-masing 4 daun dan 1 daun, diikuti oleh perlakuan D ($5.0 \mu\text{M}$ BAP, $1.0 \mu\text{M}$ TDZ) sebanyak 1 daun pada umur 17 HST. Dari perlakuan C ($5.0 \mu\text{M}$ BAP, $0.5 \mu\text{M}$ TDZ) dan perlakuan G ($1.0 \mu\text{M}$ BAP, $0.5 \mu\text{M}$ TDZ) daun muncul pada umur 24 HST masing-masing sebanyak 5 daun dan 1 daun, diikuti oleh kontrol $2.5 \mu\text{M}$ BAP pada umur 26 HST sebanyak 3 daun. Perlakuan B ($2.5 \mu\text{M}$ BAP, $1.0 \mu\text{M}$ TDZ), F ($7.5 \mu\text{M}$ BAP, $1.0 \mu\text{M}$ TDZ) dan H ($10.0 \mu\text{M}$ BAP, $1.0 \mu\text{M}$ TDZ) dari awal sampai akhir penelitian tidak muncul daun. Daun disajikan pada gambar 4.3

Hasil uji Duncan 5% pengaruh BAP dan TDZ terhadap multiplikasi tunas eksplan satu ruas umur 2-12 minggu terhadap jumlah daun eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 dapat dilihat pada Tabel 4.4.



Gambar 4.3 Daun eksplan ruas umur 11 HST
Pada media 2.5 µM BAP, 0.5 µM TDZ

Tabel 4.4 Ringkasan ANAVA ganda pengaruh hormon BAP dan TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap jumlah daun pada eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Hormon	Umur Pengamatan Minggu Ke						F _{hitung}	
	2	4	6	8	10	12	5%	1%
BAP	0.06	2.89*	1.47	0.83	0.86	0.68	2.84	4.31
TDZ	0.14	6.97*	9.05*	8.38*	8.70*	9.08*	4.08	7.31
Interaksi	0.06	3.49*	2.11	1.41	1.12	0.96	2.84	4.31

Ket : * Nyata

Penggunaan hormon BAP dan TDZ pada minggu ke 2 tidak berpengaruh nyata, sementara mulai minggu ke 4 baik pengaruh tunggal hormon TDZ berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan jumlah daun. Pada pengamatan minggu ke 6 sampai 12, pengaruh tunggal hormon TDZ mendominasi perkembangan jumlah daun eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55. Hasil analisis pengaruh tunggal hormon TDZ terhadap jumlah daun eksplan satu ruas dapat dilihat pada tabel 4.5. Di akhir penelitian, pengaruh tunggal hormon TDZ dengan konsentrasi 0.5 µM menghasilkan jumlah daun sebanyak 15.2, sementara itu hasil

analisis ragam pengaruh BAP dan TDZ terhadap penambahan jumlah daun dengan uji Duncan $_{0.05}$ dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.5 Ringkasan Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap jumlah daun pada Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.

Hormon TDZ	Umur Pengamatan Minggu Ke				
	4	6	8	10	12
0.5 μM	4.0 a	9.3 a	10.5 a	13.3 a	15.2 a
1.0 μM	0.0 b	2.5 b	2.6 b	3.6 b	3.6 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $_{0.05}$

Tabel 4.6 Ringkasan uji Duncan $_{0.05}$ perlakuan hormon BAP dan TDZ terhadap rerata jumlah total daun eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Hormon	4 MSI
BAP 2.5 μM , TDZ 0.5 μM	6.55 a
BAP 2.5 μM , TDZ 1.0 μM	4.26 b
BAP 5.0 μM , TDZ 0.5 μM	4.26 b
BAP 5.0 μM , TDZ 1.0 μM	4.46 b
BAP 7.5 μM , TDZ 0.5 μM	5.43 ab
BAP 7.5 μM , TDZ 1.0 μM	4.26 b
BAP 10 μM , TDZ 0.5 μM	4.26 b
BAP 10 μM , TDZ 1.0 μM	4.26 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's $_{0.05}$

Rata-rata jumlah daun per eksplan satu ruas (tabel 4.6) menunjukkan perbedaan nyata pada umur 4 minggu setelah inokulasi. Pada akhir pengamatan, perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM menunjukkan jumlah yang paling tinggi dengan jumlah daun sebanyak 9.28 buah dibandingkan dengan pemberian BAP dan TDZ pada level yang lain, sedangkan jumlah daun terendah terdapat pada

perlakuan dengan konsentrasi BAP 7.5 μM + TDZ 1.0 μM dan BAP 10 μM + TDZ 1.0 μM masing-masing sebanyak 4.26 buah (lampiran 4).

D. Tinggi Tunas Yang Terbentuk per Eksplan Satu Ruas.

Data hasil penelitian pengaruh hormon BAP dan hormon TDZ terhadap tinggi tunas pada eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55, disajikan pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Ringkasan ANAVA ganda pengaruh hormon BAP dan TDZ dari sub kultur ke-1 sampai subkultur ke-3 terhadap tinggi tunas pada eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Hormon	Umur Pengamatan Sub Kultur Minggu Ke			F _{hitung}	
	4	8	12	5%	1%
BAP	0.42	2.12	1.63	2.84	4.31
TDZ	5.98*	11.58**	9.99**	4.08	7.31
Interaksi	0.79	4.59*	3.67*	2.84	4.31

Ket : * Nyata

** Sangat Nyata

Dari tabel 4.7 hormon TDZ mempunyai pengaruh tunggal terhadap tinggi tunas mulai subkultur ke-1 sampai subkultur ke-3, sementara interaksi baru terjadi pada subkultur ke-2 dan ke-3. Di akhir penelitian, pengaruh tunggal hormon TDZ tertinggi terdapat pada konsentrasi 0.5 μM yaitu sebanyak 10.3 mm dapat dilihat pada tabel 4.8 berikut.

Tabel 4.8 Ringkasan Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ mulai sub kultur ke-1 sampai subkultur ke-3 terhadap tinggi tunas pada Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.

Hormon TDZ	Umur Pengamatan Sub Kultur Ke		
	1	2	3
0.5 μM	5.74 a	7.73 a	10.3 a
1.0 μM	3.00 b	4.98 b	5.96 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05

Tabel 4.9 Ringkasan Uji Duncan $_{0.05}$ Rerata Tinggi Tunas Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55 dalam mm

Hormon	Sub Kultur 2	Sub Kultur 3
BAP 2.5 μ M,TDZ 0.5 μ M	10.22 a	11.71 a
BAP 2.5 μ M,TDZ 1.0 μ M	5.24 b	6.36 b
BAP 5.0 μ M,TDZ 0.5 μ M	6.70 b	8.28 b
BAP 5.0 μ M,TDZ 1.0 μ M	7.09 b	7.70 b
BAP 7.5 μ M,TDZ 0.5 μ M	6.85 b	8.18 b
BAP 7.5 μ M,TDZ 1.0 μ M	5.07 b	5.94 b
BAP 10 μ M,TDZ 0.5 μ M	6.84 b	8.16 b
BAP 10 μ M,TDZ 1.0 μ M	5.94 b	8.29 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05

Berdasarkan tabel 5.9 diatas, diakhir penelitian diperoleh data bahwa perlakuan dengan hormon BAP 2.5 μ M,TDZ 0.5 μ M menunjukkan hasil yang terbaik untuk tinggi tunas dari pada perlakuan yang lain dengan tinggi tunas rata-rata 11.71 mm, sementara tinggi tunas terendah terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 7.5 μ M + TDZ 1.0 μ M dan BAP 2.5 μ M + TDZ 1.0 μ M masing-masing sebanyak 5.94 mm dan 6.36 mm.

E. Jumlah Kalus Yang Terbentuk per Eksplan Satu Ruas.

Kalus dari eksplan satu ruas mulai muncul pada saat umur 10 HST (hari setelah tanam) dan yang pertama kali muncul tunas yaitu pada perlakuan B (2.5 μ M BAP, 1.0 μ M TDZ) dan perlakuan E (7.5 μ M BAP, 0.5 μ M TDZ), F (7.5 μ M BAP, 1.0 μ M TDZ) masing-masing pada umur 14 HST dan 16 HST. Diikuti oleh perlakuan C (5.0 μ M BAP, 0.5 μ M TDZ), G (1.0 μ M BAP, 0.5 μ M TDZ) dan

H (10.0 μM BAP, 1.0 μM TDZ) pada umur 20 HST. Perlakuan D (5.0 μM BAP, 1.0 μM TDZ) dan A (2.5 μM BAP, 0.5 μM TDZ) mulai muncul kalus saat berumur 35 HST dan ikuti kontrol 2.5 μM BAP pada umur 42 HST. Kalus yang muncul pada eksplan satu ruas berwarna putih dan bergerombol secara teratur. Kalus dapat dilihat pada gambar 4.4.



**Gambar 4.3 Kalus eksplan ruas umur 10 HST
Pada media 2.5 μM BAP, 1.0 μM TDZ**

Tabel 5.1 Ringkasan ANAVA ganda pengaruh hormon BAP dan TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap jumlah kalus pada eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Hormon	Umur Pengamatan Minggu Ke						F _{hitung}	
	2	4	6	8	10	12	5%	1%
BAP	0.99	1.35	3.21*	3.83*	5.04**	5.62**	2.84	4.31
TDZ	0.02	1.01	0.31	0.10	0.34	0.56	4.08	7.31
Interaksi	2.19	2.84*	1.17	1.26	0.16	0.16	2.84	4.31

Ket : * Nyata

** Sangat Nyata

Berdasarkan Tabel 5.1 nampak bahwa interaksi penggunaan hormon BAP dan TDZ terjadi pada umur 4 minggu setelah pengamatan, namun interaksi tersebut tidak terjadi pada pengamatan-pengamatan selanjutnya. Sementara pengaruh tunggal hormon BAP mulai nampak pada umur 6 minggu - 12 minggu.

Hasil tertinggi pengaruh tunggal hormon BAP terhadap jumlah kalus di akhir penelitian terdapat pada konsentrasi 2.5 μM yaitu sebesar 70.67 tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 7.5 μM yaitu sebesar 57,53. Jumlah kalus akibat pengaruh tunggal hormon BAP dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut:

Tabel 5.2 Ringkasan Uji Lanjut Duncan 5% Pengaruh Tunggal Hormon TDZ dari umur 2-12 minggu terhadap jumlah kalus pada Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55.

Hormon BAP	Umur Pengamatan Minggu Ke			
	6	8	10	12
2.5 μM	38.69 ab	51.59 ab	67.73 a	70.67 a
5.0 μM	15.54 b	20.93 c	29.02 b	29.02 b
7.5 μM	48.65 a	57.53 a	57.53 ab	57.53 ab
10.0 μM	20.69 b	26.87 bc	29.57 b	29.57 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05

Tabel 5.3 Ringkasan Uji Duncan 0.05 perlakuan hormon BAP dan TDZ terhadap jumlah kalus Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55

Hormon	4 MSI
BAP 2.5 μM , TDZ 0.5 μM	2.90 b
BAP 2.5 μM , TDZ 1.0 μM	48.10 a
BAP 5.0 μM , TDZ 0.5 μM	17.41 ab
BAP 5.0 μM , TDZ 1.0 μM	8.29 b
BAP 7.5 μM , TDZ 0.5 μM	34.68 ab
BAP 7.5 μM , TDZ 1.0 μM	30.94 ab
BAP 10 μM , TDZ 0.5 μM	19.07 ab
BAP 10 μM , TDZ 1.0 μM	16.92 ab

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.01

Hasil analisis ragam interaksi pengaruh BAP dan TDZ terhadap jumlah kalus daro eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 (tabel 5.3) menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi BAP 2.5 μM , TDZ 1.0 μM menghasilkan jumlah

kalus terbanyak dibandingkan dengan pemberian BAP dan TDZ pada konsentrasi yang lain, kecuali dengan BAP 5.0 μM + TDZ 0.5 μM ; BAP 7.5 μM + TDZ 0.5 μM ; BAP 7.5 μM + TDZ 1.0 μM ; BAP 10 μM + TDZ 0.5 μM dan BAP 10 μM + TDZ 1.0 μM . Jumlah kalus paling sedikit terdapat pada perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM dan BAP 5.0 μM , TDZ 1.0 μM tidak berbeda nyata pada uji Duncan 5%.

4.2 PEMBAHASAN

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Zat pengatur tumbuh pada tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilen dan inhibitor dengan ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologis (Abidin, 1982).

Jumlah tunas merupakan indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter mengukur pengaruh lingkungan. Parameter jumlah tunas eksplan mulai diamati pada umur 7 HSI (hari setelah inokulasi) sampai umur 70 HSI (hari setelah inokulasi) dan dilakukan setiap interval 2 minggu sekali sehingga diperoleh 6 kali pengamatan.

Pemberian hormon BAP dan hormon TDZ cenderung meningkatkan jumlah tunas eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian hormon BAP dan TDZ tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 umur 2 MSI (minggu setelah inokulasi) (tabel 4.2) akan tetapi berpengaruh nyata pada

pengamatan selanjutnya. Hal ini diduga karena unsur hormon yang terdapat dalam media kultur pada umur 2 MSI masih belum memberi respon induksi secara sempurna sehingga belum dapat dimanfaatkan oleh eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Seluruh Konsentrasi BAP dan TDZ yang diperlakukan terhadap eksplan mampu menginduksi tunas adventif dari eksplan yang dikulturkan. Eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 menunjukkan respon pertumbuhan setelah diinkubasi pada media kultur *in vitro*. Pada permulaannya, pangkal eksplan tampak membesar dan berwarna hijau menjadi lebih tua. Tunas tercepat muncul pada umur 6 hari setelah inokulasi. Berdasarkan data penelitian, konsentrasi BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM cenderung memberi pengaruh lebih baik dari pada perlakuan yang lain terhadap jumlah tunas eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55.

Berdasarkan hasil uji Duncan 5% diketahui bahwa perlakuan konsentrasi BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM memberi pengaruh berbeda nyata pada minggu ke-6 terhadap keberhasilan penggandaan tunas eksplan ruas jeruk keprok Batu 55 terutama pada variabel jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi tunas, tetapi memberi pengaruh tidak nyata untuk parameter jumlah kalus. Perlakuan BAP dan TDZ pada konsentrasi 2.5 μM + 0.5 μM pada akhir penelitian memberikan hasil terbaik pada jumlah tunas yang terbentuk yaitu mempunyai rerata sebanyak 8.44 tunas (tabel 4.3), jumlah daun sebanyak 9.28 (tabel 4.6) dan tinggi tunas mencapai 11.71 mm (tabel 4.9). Akan tetapi hasil tersebut, untuk jumlah tunas berbeda tidak nyata dengan konsentrasi BAP 5.0 μM + TDZ 0.5; BAP 5.0 μM + TDZ 1.0 μM ; BAP 7.5 μM + TDZ 0.5 μM dan BAP 10 μM + TDZ 0.5 μM . Sementara

perlakuan dengan konsentrasi BAP 2.5 μM + TDZ 1.0 μM menghasilkan jumlah tunas dan jumlah daun terendah masing-masing sebesar 5.74 (tabel 4.3) dan 4.26 (tabel 4), sedangkan tinggi tunas terendah terdapat pada konsentrasi BAP 7.5 μM + TDZ 1.0 μM yaitu sebesar 5.94 (tabel 4.9) dan perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Pertumbuhan dan perkembangan tunas aksilar eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 lebih seragam, lebih banyak dan berukuran lebih besar, pada perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM . Hal ini sesuai dengan efek BAP yang mendorong pembelahan sel (Wattimena, 1988). Disamping itu, hal ini sesuai dengan pemberian sitokinin yang menggeser perimbangan auksin/sitokinin sehingga pertumbuhan diarahkan membentuk tunas (Wattimena, 1992).

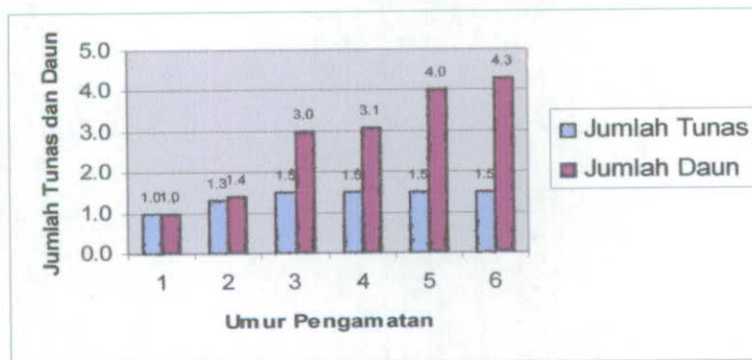
Hasil analisis sidik ragam memperlihatkan bahwa zat pengatur tumbuh berpengaruh secara nyata terhadap jumlah daun. Perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM pada pengamatan minggu ke 4 mempunyai rerata paling tinggi yaitu sebesar 6.55 dibandingkan dengan perlakuan yang lain, tetapi tidak nyata dengan perlakuan BAP 7.5 μM + TDZ 0.5 μM (tabel 4.6). Sedangkan pada pengamatan 6 minggu setelah perlakuan, peningkatan jumlah daun yang diakibatkan oleh pengaruh BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM berbeda sangat nyata bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain (Lampiran 4). Di akhir penelitian untuk jumlah daun terbanyak dihasilkan oleh perlakuan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM yang rerata daunnya mencapai 9.28 dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Hal ini sesuai dengan cara kerja sitokinin dalam hal ini BAP dan TDZ sendiri terhadap jaringan yang mempunyai peran utama dalam proses pembelahan sel (Cell

devisi) (Salisbury dan Ross, 1995). Dengan meningkatnya aktivitas didalam sel, maka suatu tanaman akan semakin terdiferensiasi menjadi organ yang lebih spesifik atau organ yang utuh (Salisbury dan Ross, 1995).

Konsentrasi sitokinin rendah dalam media mampu menginduksi kegiatan sintesis protein pada aktivitas transkripsi dan translasi sel. Apabila kegiatan keduanya aktif maka proses diferensiasi sel juga meningkat. Jenis sitokinin yang ditambahkan dalam media untuk mensuplai energi juga sangat berpengaruh terhadap aktivitas sel. Jenis sitokinin dari bahan bukan sintetik lebih aktif dalam memacu kegiatan transkripsi dan translasi DNA. Pada tahap selanjutnya proses ini akan mengakibatkan bagian sel terdiferensiasi membentuk organ tanaman yang jelas.

Daun yang terbentuk pada eksplan satu ruas jeruk keprok batu 55, merupakan perkembangan lebih lanjut dari tunas yang sudah muncul dari perlakuan. Dengan munculnya daun pada tunas berarti proses perkembangan dan pertumbuhan tunas dalam kegiatan kultur *in vitro* mengalami peningkatan jumlah sel atau jaringan pada tanaman tersebut. Pertumbuhan dan perkembangan bukan hanya disebabkan bertambahnya jumlah daun dalam suatu tanaman, tetapi juga ada banyak hal yang dapat dijadikan sebagai parameter kalau tunas itu tumbuh dan berkembang secara baik dan sempurna. Variabel lain yang dapat menunjukkan perkembangan tersebut adalah dengan bertambahnya tinggi tunas pada tanaman tersebut (dalam hal ini tunas yang muncul dalam eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55). Dengan bertambahnya tinggi tunas suatu tanaman, merupakan indikator bahwa penambahan hormon dalam media kultur jaringan

mampu merespon dengan baik pertumbuhan tunas yang dihasilkan dari eksplan itu sendiri. Grafik Laju pertumbuhan jumlah tunas dan daun eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 dapat dilihat pada gambar 4.4 berikut:



Gambar 4.4 Grafik Laju pertumbuhan jumlah tunas dan daun eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 umur 2MSI, 4 MSI, 6 MSI, 8 MSI, 10 MSI dan 12 MSI akibat hormon BAP dan TDZ.

Berdasarkan analisis sidik ragam, untuk tinggi tunas pada kegiatan kultur *in vitro* eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 diperoleh perlakuan dengan BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM merupakan hormon yang paling efektif untuk pertumbuhan tinggi tunas bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Tinggi tunas di awal sub kultur mencapai 6.51 mm dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan yang lainsementara pada sub kultur kedua dan ketiga, berdasarkan hasil penelitian tinggi tunas eksplan memperlihatkan peningkatan secara signifikan yaitu sebesar 11.71 mm pada akhir penelitian, sedangkan tinggi tunas terendah terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi 7.5 μM + 1.0 μM yaitu 5.94 mm. Dari hasil pengamatan diperoleh bahwa pertumbuhan organ pada tiap-tiap bagian tanaman memiliki titik tumbuh (meristem apikal) seperti pada tunas, akar, daun, bunga yang masih muda, buah yang masih muda, maka jika ditransfer

pada proses kultur *in vitro*, akan melanjutkan pertumbuhannya menjadi struktur organ utuh. Proses inilah yang biasa disebut dengan organogenesis atau morfogenesis (George dan Sherington, 1984). Dengan demikian, dari hasil analisis sidik ragam (tabel 4.7, 5.5 dan 5.9) pada eksplan satu ruas, penambahan BAP dan TDZ menunjukkan pengaruh yang signifikan dan taraf BAP 2.5 μM + TDZ 0.5 μM memiliki jumlah tunas, jumlah daun dan tinggi tunas yang paling tinggi dibandingkan dengan semua taraf perlakuan yang lain. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan jumlah tunas pada setiap perlakuan berkorelasi dengan jumlah daun dan tinggi tunas.

Ekplan satu ruas mempunyai titik vegetatif yang meristematik (mata tunas) untuk terus menerus membentuk sel-sel baru. Dibawah titik vegetatif terdapat titik meristematik dan dibawah daerah ini terdapat daerah pemanjangan. Daerah meristematik membentuk bakal daun dan calon-calon tunas secara *eksogen* (Tjitrosomo, 1983), sehingga tunas tidak selalu muncul pada ketiak daun, tetapi bisa muncul dibagian lain eksplan yang mengandung jaringan meristematik.

Duran Villa dan Navarro (1989), melaporkan bahwa ketika bagian *ruas batang* dikulturkan pada media dengan penambahan BA, maka akan dihasilkan multiplikasi tunas walaupun hanya tunas utama yang berkembang secara cepat (mencapai ukuran 0.5-1 cm). Hormon tumbuh terdapat pada beberapa organ tumbuhan tetapi pada dasarnya dihasilkan oleh jaringan yang tumbuh dengan aktif seperti ujung pucuk dan daun serta buah muda. Hormon tumbuh pada umumnya mendorong pertumbuhan, tetapi pada keadaan tertentu dapat menghambat perkembangan. Penghambatan pertumbuhan diperkirakan terjadi pada dominansi

apikal, pengendalian oleh kuncup apikal terhadap pertumbuhan kuncup lateral, yaitu menghambat atau mencegah pertumbuhan kuncup-kuncup tersebut (Tjitrosomo, 1983). Bila ujung kuncup dirusak atau dipotong, maka tidak saja kuncup lateral yang paling atas akan tumbuh lebih kuat daripada sebelumnya dan membentuk ranting lateral yang lebih panjang tetapi kuncup basal yang dormanpun akan tumbuh, oleh karena itu kuncup apikal dikatakan melakukan pengaruh terhadap pertumbuhan.

Keberhasilan kultur *in vitro* sangat ditentukan dan tergantung pada macam media yang digunakan. Media kultur jaringan mengandung bahan-bahan esensial dan komponen-komponen pengoptimalan. Bahan-bahan esensial terdiri dari atas garam-garam organik, sumber karbon dan energi, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Komponen lain yang berperan untuk optimalisasi dalam kegiatan kultur *in vitro* adalah N-organik, asam organik, substrat kompleks, arang aktif dan lain sebagainya (Santosa, dkk. 1998).

Eksplan yang sangat peka terhadap pemberian hormon zat pengatur tumbuh, dimana dalam penelitian ini yaitu BAP dan TDZ disebut dengan eksplan responsif. Respon ini ditunjukkan dengan munculnya tunas atau kalus pada eksplan yang dikulturkan. Sedangkan eskplan yang tidak responsif terhadap pemberian hormon tumbuh akan mengalami pencokelatan dan akhirnya mati atau eksplan tetap hijau akan tetapi tunas tidak muncul. Eksplan hidup ditandai dengan adanya perubahan ukuran, pertumbuhan kalus, munculnya tunas dan kondisi eksplan masih segar berwarna hijau. Adapun gejala kematian dimulai dengan tidak tumbuhnya eskplan terhadap tunas, daun dan kalus. Kemudian eksplan akan

berubah dari warna hijau berubah menjadi kuning akhirnya cokelat dan mati (Wattimena, dkk. 1986).

Media yang mengandung zat pengatur tumbuh BAP dan TDZ mampu mengakibatkan hormon yang ada lebih aktif dalam proses pembelahan sel sehingga pembelahan sel berlangsung dengan cepat, akibatnya pembesaran ukuran kalus lebih cepat diikuti dengan penambahan berat kalus lebih cepat. Hal ini didukung oleh pernyataan Moore (1979), bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh dapat merangsang pembelahan sel secara terus menerus sehingga pertumbuhan kalus semakin besar.

Pertumbuhan dan perkembangan kalus dengan diameter lebih besar akan semakin cepat. Hal ini erat hubungannya dengan pertumbuhan yang terus berlangsung selama senyawa makro, mikro, vitamin, asam amino terutama sukrosa dan zat pengatur tumbuh masih tersedia pada medium yang digunakan, sehingga kalus yang terbentuk mengalami perubahan pertumbuhan dan ukuran kalus semakin bertambah besar. Didukung oleh Gerungan dan Sumardi (1995), bahwa selama pertumbuhan dan perkembangan ukuran kalus bertambah besar dan terjadi variasi. Jadi diameter kalus erat hubungannya dengan bobot kalus. Kalus dalam kondisi baik mencerminkan adanya pertumbuhan dan perkembangan yang lebih baik dibanding kalus yang kurang baik. Semakin besar diameter kalus kan semakin berat bobot kalus, sebaliknya semakin kecil akan semakin ringan.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, eksplan satu ruas jeruk keprok batu 55 mulai muncul kalus pada umur 10 HSI (hari setelah inokulasi) yaitu pada perlakuan 2.5 μM BAP + 1.0 μM TDZ diikuti dengan perlakuan 7.5 μM BAP +

0.5 μM TDZ dan 7.5 μM BAP + 1.0 μM TDZ masing masing pada umur 14 HSI dan 16 HSI. Sementara itu, eksplan satu ruas jeruk keprok batu 55 yang mempunyai respon paling tinggi adalah perlakuan 2.5 μM BAP + 1.0 μM TDZ sedangkan respon yang terendah ditemukan pada perlakuan 5.0 μM BAP + 0.5 μM TDZ dan pada perlakuan 10.0 μM BAP + 0.5 μM . Artinya BAP dan TDZ optimal untuk menambah jumlah sitokinin alami yang ada pada tanaman. Hal ini bisa terjadi karena kandungan hormon tumbuh auksin endogen belum mencukupi untuk melakukan pembelahan dengan cepat sehingga perlu meningkatkan konsentrasinya.

Pada beberapa penelitian perbanyak tunas jeruk secara *in vitro*, eksplan yang ditanam pada media MS tanpa ditambahkan BA/BAP dan TDZ. Penambahan BAP dan TDZ pada konsentrasi yang rendah diperlakukan untuk meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk. Sementara pemberian BAP dan TDZ pada konsentrasi tinggi dilakukan untuk menginduksi kalus dan embrio somatik. Bensil adenin/Bensil Amino purin dengan konsentrasi relatif tinggi menghasilkan kalus yang cenderung berstruktur kompak. Hal ini mencerminkan bahwa pada kalus tersebut kandungan hormon endogen untuk sitokinin telah mencukupi. Diduga pula, pada setiap eksplan kandungan hormonnya tidak sama dan berakibat pada struktur kalus yang dihasilkan berbeda. Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa induksi tunas pada media yang mengandung 2.5 μM BAP + 1.0 μM TDZ (Tabel 6.6.1) dapat menumbuhkan kalus secara konsisten dan serempak pada bagian dasar eksplan. Menurut Dwew (1980) dalam Katuuk (1989) menyatakan bahwa eksplan yang ditanam dalam media yang diperkaya dengan BAP dapat

membentuk kalus kompleks dan selanjutnya akan membentuk tunas adventif dan tumbuh menjadi tanaman lengkap.

Dalam kegiatan kultur jaringan, sitokinin dapat menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung dan menghambat pembentukan akar serta mendorong pembentukan kloroplas pada kalus (Santosa, 1998). Kalus juga dihasilkan pada penambahan sitokinin jenis BAP pada media dan tidak dihasilkan akar (Sim *et. al.* 1989). Ada beberapa indikasi eksplan tidak respon terhadap penambahan hormon BAP dan TDZ antara lain yaitu: terjadi kontaminasi yang menyebabkan eksplan mati atau mati karena eksplan mengalami pencokelatan, eksplan tetap hidup berwarna hijau tapi tidak muncul tunas.

Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri ditandai dengan munculnya eksudat dari bakteri tersebut yaitu berupa cairan berwarna putih keruh agak kekuningan. Awalnya eksudat ini berjumlah sedikit namun lama-kelamaan mengalami perkembangan bahkan ada sebagian eksplan yang semuanya tertutup oleh bakteri. Eksplan yang mengalami kontaminasi akibat jamur ditandai dengan munculnya bintik hitam dan kuning kecokelatan, biasanya berbentuk seperti benang hifa, selanjutnya jamur ini mengalami pertumbuhan yang cepat dan mampu menutupi seluruh permukaan eksplan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Proses pencokelatan eksplan terjadi karena proses oksidasi senyawa fenol pada jaringan tanaman yang mengalami perlukaan, proses ini memerlukan adanya enzim fenoloksidase dan oksigen bebas yang berhubungan langsung dengan substrat. Enzim yang dapat mengkatalis oksidasi pada proses pencokelatan meliputi fenol oksidase, polifenol oksidase, fenolase atau polifenolase, dimana masing-masing enzim tersebut spesifik pada substrat tertentu (Husen, 2001).

BAB V

PENUTUP

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang proliferasi eksplan ruas jeruk keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jumlah tunas dipengaruhi oleh konsentrasi BAP dan TDZ. Konsentrasi yang paling efektif adalah pada perlakuan dengan konsentrasi BAP 2.5 μM + 0.5 μM yang menghasilkan 8.31 buah tunas pada kisaran waktu 2-6 minggu.
2. Tinggi tunas dan jumlah daun berkorelasi positif dengan penambahan jumlah tunas.
3. Pertumbuhan kalus pada eksplan satu ruas jeruk keprok Batu 55 menyebabkan pertumbuhan tunas, daun dan tinggi tunas tidak maksimal.

B. SARAN

1. Penelitian lanjutan mengenai keterkaitan antara jenis dan konsentrasi sitokinin dengan *exsplant* yang berasal dari satu ruas masih diperlukan untuk menghasilkan proliferasi yang lebih baik.
2. Komposisi media dengan penambahan jenis dan konsentrasi sitokinin yang tepat masih harus diteliti untuk mendapatkan regenerasi kalus/plantlet yang lebih baik.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jenis sitokinin yang berbeda dan berbagai eksplan yang berasal dari berbagai varietas jeruk keprok.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1994. *Budidaya Tanaman Jeruk*. Yogyakarta: Kanisius.
- Abdulah, A. 1991. Kegunaan Kultur Jaringan Dalam Pelesatarian Plasma Nutfah. *Buletin Penelitian Tanaman Industri*, (2): 35-39.
- Abidin, Z. 1989. *Zat Pengatur Tumbuh*. Laboratorium Kultur Jaringan. PAU. Bioteknologi: IPB Bogor.
- Agustina, L. 2004. *Dasar Nutrisi Tanaman*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Arikunto, S. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Bruck, D. K., d. Walker. 1985. *Cell Determinatio During Embryogenesis in Citrus jambhiri L. Ontogeny of the Epidermis*. Los Angeles: Bot. Gaz. Departement of Biology, University of California.
- Cahyono, B. 2005. *Budi Daya Jeruk Mandarin (Keprok, Siam, dan Jepun)*. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusantara.
- Carimi, F. F. De Pasquale, F. G. Crescimanno. 1995. *Somatic Embryogenesis in Citrus from Styles Culture*. *Plant Science* 105:81-86
- Carimi, F. F. De Pasquale, F. G. Crescimanno. 1999. *Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Pistil thin Cell Layers of Citrus*. *Plant Cell Reports* 18: 935-940
- Conger, B. V. 1987. *Cloning Agricultural Plants Via In Vitro Techniques*. CRC Press, Inc: Boca Raton Florida.
- Departemen Pertanian. 2003. *Pengelolaan Terpadu Kebun Jeruk Sehat Strategi Pengendalian Penyakit CVPD*. Loka Penelitian tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropik. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Dwidjoseputro, D. 1989. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Gramedia.
- Gamborg, O. L. And Shyluk. 1981. *Nutrition, Media and Charateristic of Plant Cell and Tissue Culture, in Trope, trevor, A (ed). Plant Tissue Culture Methods and Aplication in Agriculture*. Academi Press: San Fransisco.

- Ghorbel, et al. 1998. *Morphogenesis and regenerations of whole plants of grapefruit (Citrus paradisi), sour orange (Citrus aurantium) and alemov (C. Macrophylla)*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73: 323-327
- Gill, M. I. S. Z. Singh. B. S. Dhillon, S. S. Gosal. 1995. *Somatic Embryogenesis and Plantlet Regeneration in Mandarin (Citrus reticulata Blanco)*. Scientia Horticulturae 82: 159-169
- Gunawan. L. W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. IPB Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan PAU. Bioteknologi.
- , L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. IPB Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan PAU. Bioteknologi.
- Hanifah, Kemas Ali. 2004. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi, Edisi 3*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Hendaryono, D.P.S dan Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ling, J. T. M. Iwamasa. 1997. Plant Regeneration from Embryonic Calli of Six Citrus Related Genera. *Plant Tissue and Organ Culture* 49: 145-148
- Moega, J. P. 1991. *Dasar-dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Jakarta: Erlangga.
- Moeleong, L. J. 2000. *Metode Penelitian Kualitatif*. Bandung: Rosdakarya.
- Nasir, M. 2002. *Bioteknologi Potensi dan Keberhasilannya dalam Bidang Pertanian*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Novita, Trias dan Budyanto Lestyana. 2001. *Pengaruh BAP (6-Benzil Amino Purin) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tipe Eksplan Biji Manggis (Garicha mangostana, L.) dalam Kultur In Vitro*. Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi, Vol 2 No. 2 September 2001.
- Nurhadi, E. 1988. *Potensi dan Prospek Kultur Jaringan di Bidang Pertanian*. Disampaikan dalam Seminar Sehari Kultur Jaringan Se-Jawa Timur. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya: Malang.
- Pracaya. 2004. *Jeruk Manis Varietas, Budi Daya & Pascapanen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahardja, P. C. 1989. *Kultur Jaringan, Teknik Perbanyak Tanaman Secara Modern*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Rukmana, R. 2005. *Jeruk Besar Potensi dan Prospeknya*. Yogyakarta: Kanisius.
- , 2005. *Jeruk Manis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury, Frank B & Cleon W Ross. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Bandung: ITB.
- Santosa, PB dan Ashari. 2005. *Analisis Statistik dengan Microsoft Excel dan SPSS*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Santoso, U dan Fatimah N. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. UMM Press.
- Saptowo J, Pardal dkk. 2004. *Regenerasi Tanaman dan Transformasi Genetik Salak Pondoh Untuk Rekayasa Buah Partenokarpi*. Jurnal Teknologi Pertanian, Vol. 9, No.2 : 49-55
- Sastrosupadi, A. 1999. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Yogyakarta: Kanisius.
- Soelarso, B. 1996. *Budidaya Jeruk Bebas Penyakit*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suryowinoto, M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. PAU. Bioteknologi UGM. Yogyakarta: Kanisius.
- Torres, K. C. 1989. *Tissue Culture Technique for Horticultural Crops*. Van Nostrand. Reinhold: New York.
- Wattimena, G. A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: IPB Press.
- Wetherell, D. F. 1982. *Intoduction to In Vitro Propagation*. Avery Publishing Group Inc: Wayne, New Jersey.
- Wilms, H. J., J. L. Van Went, M. Cresti, F. Ciampolini. 1983. *Adventive Embryogenesis in Citrus*. Departement of Botany, Agricultural University. University in Siena: Italia.
- Yustina, 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia.

Lampiran 1

Hasil Penelitian Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara *In vitro* pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Data file : Suaidi Ghufron Amin
Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara *In vitro* pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 48

List Of Variables

Var Type Name / Description

- 1 NUMERIC Ulangan
- 2 NUMERIC Perlakuan BAP
- 3 NUMERIC Perlakuan TDZ
- 4 NUMERIC Jumlah tunas minggu 2
- 5 NUMERIC Jumlah tunas minggu 4
- 6 NUMERIC Jumlah tunas minggu 6
- 7 NUMERIC Jumlah tunas minggu 8
- 8 NUMERIC Jumlah tunas minggu 10
- 9 NUMERIC Jumlah tunas minggu 12
- 10 NUMERIC Jumlah daun minggu 2
- 11 NUMERIC Jumlah daun minggu 4
- 12 NUMERIC Jumlah daun minggu 6
- 13 NUMERIC Jumlah daun minggu 8
- 14 NUMERIC Jumlah daun minggu 10
- 15 NUMERIC Jumlah daun minggu 12
- 16 NUMERIC Tinggi tunas sub kultur 1
- 17 NUMERIC Tinggi tunas sub kultur 2
- 18 NUMERIC Tinggi tunas sub kultur 3
- 19 NUMERIC Jumlah kalus minggu 2
- 20 NUMERIC Jumlah kalus minggu 4
- 21 NUMERIC Jumlah kalus minggu 6
- 22 NUMERIC Jumlah kalus minggu 8
- 23 NUMERIC jumlah kalus minggu 10
- 24 NUMERIC Jumlah kalus minggu 12

Data file : Suaidi Ghufron Amin
Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprak Batu 55 secara In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

CASE

NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	1	1	1	1.22	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	0.22	1.47	2.35	2.41	2.61	2.74	2.00	2.61	2.93	2.90	2.90	90.00	90.00	90.00	90.00
1	1	2	0.91	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.29	1.53	2.90	35.24	54.70	90.00	90.00	90.00
3	1	2	0.71	0.71	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	2.90	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00
4	1	2	0.91	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.29	1.56	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
5	1	3	1	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.88	1.00	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
6	1	3	2	0.71	1.08	1.08	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.15	1.41	35.24	54.70	90.00	90.00	90.00	90.00
7	1	4	1	1.22	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.22	1.22	1.22	1.47	1.29	1.68	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
8	1	4	2	0.91	0.91	0.91	1.08	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.35	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
9	2	1	0.71	1.22	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.47	1.78	2.90	2.90	35.24	54.70	90.00	90.00
10	2	1	2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	35.24	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00
11	2	1	1.08	1.22	1.22	1.35	1.35	1.35	1.35	0.71	0.71	1.22	1.68	2.19	2.35	1.22	1.73	1.94	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
12	2	2	0.91	1.35	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	0.91	1.47	1.68	1.95	1.95	0.91	1.40	1.56	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
13	2	3	1	0.91	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.15	1.39	2.90	2.90	54.70	54.70	54.70	54.70
14	2	3	2	0.71	0.71	0.71	0.91	1.08	1.08	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.08	2.90	54.70	90.00	90.00	90.00	90.00
15	2	4	1	1.08	1.08	1.08	1.08	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.00	1.06	1.17	35.24	35.24	35.24	54.70	54.70	54.70
16	2	4	2	0.91	0.91	0.91	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.22	1.63	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
17	3	1	0.71	0.91	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.26	1.47	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
18	3	1	2	0.71	0.71	0.71	0.91	1.08	1.08	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.22	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
19	3	2	0.71	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.91	0.91	1.08	1.08	1.08	1.47	1.82	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
20	3	2	0.71	0.91	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.08	1.08	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
21	3	3	1	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.08	1.29	1.51	2.90	2.90	35.24	35.24	35.24
22	3	3	2	0.71	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
23	3	4	2	0.71	0.91	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	0.71	1.35	1.47	2.04	2.04	1.22	1.58	1.92	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
24	3	4	2	0.71	0.91	0.91	1.08	1.08	1.08	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.41	2.90	54.70	54.70	90.00	90.00	90.00
25	4	1	0.71	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	1.22	1.58	1.47	1.78	1.78	0.71	1.63	1.78	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
26	4	1	2	0.71	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	2.90	35.24	54.70	90.00	90.00	90.00
27	4	2	0.71	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	1.08	1.08	1.22	1.22	0.71	1.00	1.35	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
28	4	2	0.71	0.71	0.91	0.91	1.47	1.47	1.47	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	2.90	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24
29	4	3	1	1.08	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	0.91	1.68	1.78	2.04	2.04	2.27	1.08	1.41	1.84	2.90	54.70	54.70	54.70	54.70	54.70
30	4	3	2	0.71	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.08	1.29	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
31	4	4	1	0.71	0.71	1.08	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.00	1.17	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
32	4	4	2	0.71	0.71	0.91	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.29	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
33	5	1	0.91	1.22	1.22	1.35	1.35	1.35	1.35	1.08	1.22	1.35	1.35	1.47	1.47	0.91	1.41	1.66	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
34	5	1	2	0.71	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	54.70	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00
35	5	2	0.71	1.08	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
36	5	2	0.71	1.47	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.91	0.91	0.91	0.71	1.32	1.46	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
37	5	3	1	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	35.24	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00
38	5	3	2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
39	5	4	1	0.71	0.71	0.91	1.08	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.00	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
40	5	4	2	0.71	0.71	0.91	0.91	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.22	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
41	6	1	0.91	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	0.91	1.22	1.47	1.58	1.78	1.87	1.47	1.84	2.09	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
42	6	1	2	0.71	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.08	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
43	6	2	0.71	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.08	1.35	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
44	6	2	0.71	0.91	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.29	1.33	2.90	35.24	35.24	35.24	35.24	35.24
45	6	3	1	1.22	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	0.71	0.91	1.22	1.22	1.35	1.12	1.41	1.73	35.24	54.70	90.00	90.00	90.00	90.00	90.00
46	6	3	2	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
47	6	4	1	0.91	0.91	0.91	1.08	1.08	1.08	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.91	1.00	1.22	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
48	6	4	2	1.22	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	1.22	1.28	1.39	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90

Lampiran 2

Analysis of variance Table

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title: Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara *In vitro*
 pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Variable 4: Jumlah tunas minggu 2

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.106	0.035	1.2067	0.3197
4	Factor B	1	0.211	0.211	7.1829	0.0106
6	AB	3	0.055	0.018	0.6230	
-7	Error	40	1.172	0.029		
Total		47	1.544			

Coefficient of Variation: 20.40%

Variable 5: Jumlah tunas minggu 4

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.110	0.037	0.7261	
4	Factor B	1	0.340	0.340	6.7632	0.0130
6	AB	3	0.374	0.125	2.4799	0.0749
-7	Error	40	2.011	0.050		
Total		47	2.835			

Coefficient of Variation: 22.50%

Variable 6: Jumlah tunas minggu 6

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.136	0.045	1.1491	0.3411
4	Factor B	1	0.398	0.398	10.0979	0.0029
6	AB	3	0.789	0.263	6.6751	0.0009
-7	Error	40	1.576	0.039		
Total		47	2.899			

Coefficient of Variation: 18.57%

Variable 7: Jumlah tunas minggu 8

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.142	0.047	1.3750	0.2643
4	Factor B	1	0.260	0.260	7.5375	0.0090
6	AB	3	0.553	0.184	5.3517	0.0034
-7	Error	40	1.378	0.034		
Total		47	2.332			

Coefficient of Variation: 16.41%

Variable 8: Jumlah tunas minggu 10

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.211	0.070	2.3254	0.0893
4	Factor B	1	0.144	0.144	4.7605	0.0351
6	AB	3	0.718	0.239	7.9038	0.0003
-7	Error	40	1.211	0.030		
Total		47	2.284			

Coefficient of Variation: 14.99%

Variable 9: Jumlah tunas minggu 12

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.215	0.072	2.3351	0.0883
4	Factor B	1	0.126	0.126	4.1044	0.0495
6	AB	3	0.657	0.219	7.1283	0.0006
-7	Error	40	1.229	0.031		
Total		47	2.227			

Coefficient of Variation: 15.05%

Variable 10: Jumlah daun minggu 2

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.002	0.001	0.0663	
4	Factor B	1	0.002	0.002	0.1454	
6	AB	3	0.002	0.001	0.0663	
-7	Error	40	0.449	0.011		
Total		47	0.455			

Coefficient of Variation: 14.81%

Variable 11: Jumlah daun minggu 4

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.275	0.092	2.8908	0.0472
4	Factor B	1	0.221	0.221	6.9737	0.0117
6	AB	3	0.333	0.111	3.4962	0.0241
-7	Error	40	1.270	0.032		
Total		47	2.100			

Coefficient of Variation: 22.66%

Variable 12: Jumlah daun minggu 6

		Grand Mean = 0.877	Grand Sum = 42.110	Total Count = 48		
K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.432	0.144	1.4768	0.2354
4	Factor B	1	0.883	0.883	9.0505	0.0045
6	AB	3	0.619	0.206	2.1152	0.1135
-7	Error	40	3.902	0.098		
Total		47	5.836			

Variable 13: Jumlah daun minggu 8

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.345	0.115	0.8344	
4	Factor B	1	1.156	1.156	8.3848	0.0061
6	AB	3	0.585	0.195	1.4142	0.2528
-7	Error	40	5.516	0.138		
Total		47	7.603			

Variable 14: Jumlah daun minggu 10

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.546	0.182	0.8607	
4	Factor B	1	1.841	1.841	8.7058	0.0053
6	AB	3	0.714	0.238	1.1255	0.3502
-7	Error	40	8.458	0.211		
Total		47	11.559			

Variable 15: Jumlah daun minggu 12

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.506	0.169	0.6806	
4	Factor B	1	2.249	2.249	9.0831	0.0045
6	AB	3	0.716	0.239	0.9633	
-7	Error	40	9.904	0.248		
Total		47	13.374			

Variable 16: Tinggi tunas sub kultur 1

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.076	0.025	0.4190	
4	Factor B	1	0.362	0.362	5.9822	0.0189
6	AB	3	0.144	0.048	0.7909	
-7	Error	40	2.422	0.061		
Total		47	3.004			

Variable 17: Tinggi tunas sub kultur 2

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.578	0.193	2.0289	0.1252
4	Factor B	1	1.101	1.101	11.5890	0.0015
6	AB	3	1.310	0.437	4.5952	0.0074
-7	Error	40	3.801	0.095		
Total		47	6.790			

Variable 18: Tinggi tunas sub kultur 3

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	0.661	0.220	1.6344	0.1966
4	Factor B	1	1.347	1.347	9.9973	0.0030
6	AB	3	1.486	0.495	3.6774	0.0198
-7	Error	40	5.388	0.135		
Total		47	8.882			

Variable 19: Jumlah kalus minggu 2

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	463.875	154.625	0.9960	
4	Factor B	1	3.457	3.457	0.0223	
6	AB	3	1022.318	340.773	2.1951	0.1036
-7	Error	40	6209.671	155.242		
Total		47	7699.322			

Variable 20: Jumlah kalus minggu 4

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	2742.886	914.295	1.3549	0.2704
4	Factor B	1	683.728	683.728	1.0132	0.3202
6	AB	3	5751.897	1917.299	2.8413	0.0499
-7	Error	40	26992.323	674.808		
Total		47	36170.833			

Variable 21: Jumlah kalus minggu 6

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	8589.833	2863.278	3.1025	0.0372
4	Factor B	1	282.658	282.658	0.3063	
6	AB	3	3244.494	1081.498	1.1719	0.3325
-7	Error	40	36915.722	922.893		
Total		47	49032.707			

Variable 22: Jumlah kalus minggu 8

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	11699.914	3899.971	3.8367	0.0166
4	Factor B	1	103.841	103.841	0.1022	
6	AB	3	3852.771	1284.257	1.2634	0.2999
-7	Error	40	40659.195	1016.480		
Total		47	56315.720			

Variable 23: Jumlah kalus minggu 10

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	13960.044	4653.348	5.0404	0.0047
4	Factor B	1	315.495	315.495	0.3417	
6	AB	3	458.019	152.673	0.1654	
-7	Error	40	36928.195	923.205		
Total		47	51661.753			

Variable 24: Jumlah kalus minggu 12

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	15574.680	5191.560	5.6202	0.0026
4	Factor B	1	522.456	522.456	0.5656	
6	AB	3	451.974	150.658	0.1631	
-7	Error	40	36949.493	923.737		
Total		47	53498.603			

Lampiran 3

Perhitungan Uji Lanjut dengan Menggunakan Uji Duncan

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 5 : Jumlah tunas minggu 2

Function : RANGE

Error Mean Square = 0.05000

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.2609

$s_x = 0.09129$ at alpha = 0.050

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	1.232	A	Mean	1 =	1.232 A
Mean	2 =	0.8283	B	Mean	5 =	1.103 AB
Mean	3 =	1.037	AB	Mean	4 =	1.072 AB
Mean	4 =	1.072	AB	Mean	3 =	1.037 AB
Mean	5 =	1.103	AB	Mean	7 =	0.9517 AB
Mean	6 =	0.8333	B	Mean	8 =	0.9167 B
Mean	7 =	0.9517	AB	Mean	6 =	0.8333 B
Mean	8 =	0.9167	B	Mean	2 =	0.8283 B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 6 : Jumlah tunas minggu 3

Function : RANGE

Error Mean Square = 0.03900

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.3084

$s_x = 0.08062$ at alpha = 0.010

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	1.385	A	Mean	1 =	1.385 A
Mean	2 =	0.8283	C	Mean	4 =	1.210 AB
Mean	3 =	1.060	ABC	Mean	5 =	1.127 ABC
Mean	4 =	1.210	AB	Mean	7 =	1.068 ABC
Mean	5 =	1.127	ABC	Mean	3 =	1.060 ABC
Mean	6 =	0.8900	BC	Mean	8 =	0.9833 BC
Mean	7 =	1.068	ABC	Mean	6 =	0.8900 BC
Mean	8 =	0.9833	BC	Mean	2 =	0.8283 C

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ
 Case Range : 59 - 66

Variable 7 : Jumlah tunas minggu 4

Function : RANGE
 Error Mean Square = 0.03400
 Error Degrees of Freedom = 40
 No. of observations to calculate a mean = 6
 Duncan's Multiple Range Test
 LSD value = 0.2879
 $s_x = 0.07528$ at $\alpha = 0.010$

Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	1.407 A	Mean	1 =	1.407 A
Mean	2 =	0.9283 B	Mean	4 =	1.210 AB
Mean	3 =	1.115 AB	Mean	7 =	1.168 AB
Mean	4 =	1.210 AB	Mean	8 =	1.143 AB
Mean	5 =	1.127 AB	Mean	5 =	1.127 AB
Mean	6 =	0.9467 B	Mean	3 =	1.115 AB
Mean	7 =	1.168 AB	Mean	6 =	0.9467 B
Mean	8 =	1.143 AB	Mean	2 =	0.9283 B

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 8 : Jumlah tunas minggu 5

Function : RANGE
 Error Mean Square = 0.03000
 Error Degrees of Freedom = 40
 No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test
 LSD value = 0.2704
 $s_x = 0.07071$ at $\alpha = 0.010$

Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	1.407 A	Mean	1 =	1.407 A
Mean	2 =	0.9283 B	Mean	4 =	1.303 A
Mean	3 =	1.115 AB	Mean	8 =	1.218 AB
Mean	4 =	1.303 A	Mean	7 =	1.215 AB
Mean	5 =	1.127 AB	Mean	5 =	1.127 AB
Mean	6 =	0.9750 B	Mean	3 =	1.115 AB
Mean	7 =	1.215 AB	Mean	6 =	0.9750 B
Mean	8 =	1.218 AB	Mean	2 =	0.9283 B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 9 : Jumlah tunas minggu 6

Function : RANGE \bar{y}

Error Mean Square = 0.03100

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.2749

$s_x = 0.07188$ at alpha = 0.010

Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	1.407 A	Mean	1 =	1.407 A
Mean	2 =	0.9567 B	Mean	4 =	1.303 A
Mean	3 =	1.115 AB	Mean	8 =	1.218 AB
Mean	4 =	1.303 A	Mean	7 =	1.215 AB
Mean	5 =	1.127 AB	Mean	5 =	1.127 AB
Mean	6 =	0.9750 B	Mean	3 =	1.115 AB
Mean	7 =	1.215 AB	Mean	6 =	0.9750 B
Mean	8 =	1.218 AB	Mean	2 =	0.9567 B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 11 : Jumlah daun minggu 2

Function : RANGE \bar{y}

Error Mean Square = 0.03200

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.1476

$s_x = 0.05164$ at alpha = 0.050

Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	0.9008 A	Mean	1 =	0.9008 A
Mean	2 =	0.7267 B	Mean	3 =	0.8075 AB
Mean	3 =	0.8075 AB	Mean	2 =	0.7267 B
Mean	4 =	0.7100 B	Mean	4 =	0.7100 B

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 11 : Jumlah daun minggu 2

Function : RANGE¶

Error Mean Square = 0.03200

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.2087

$s_{\bar{x}} = 0.07303$ at $\alpha = 0.050$

x

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	1.092	A	Mean	1 =	1.092	A
Mean	2 =	0.7100	B	Mean	5 =	0.9050	AB
Mean	3 =	0.7100	B	Mean	4 =	0.7433	B
Mean	4 =	0.7433	B	Mean	2 =	0.7100	B
Mean	5 =	0.9050	AB	Mean	3 =	0.7100	B
Mean	6 =	0.7100	B	Mean	6 =	0.7100	B
Mean	7 =	0.7100	B	Mean	7 =	0.7100	B
Mean	8 =	0.7100	B	Mean	8 =	0.7100	B

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 17 : Tinggi tunas kultur 2

Function : RANGE¶

Error Mean Square = 0.09500

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.4813

$s_{\bar{x}} = 0.1258$ at $\alpha = 0.010$

x

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	1.703	A	Mean	1 =	1.703	A
Mean	2 =	0.8733	B	Mean	4 =	1.182	B
Mean	3 =	1.117	B	Mean	5 =	1.142	B
Mean	4 =	1.182	B	Mean	7 =	1.140	B
Mean	5 =	1.142	B	Mean	3 =	1.117	B
Mean	6 =	0.8450	B	Mean	8 =	0.9900	B
Mean	7 =	1.140	B	Mean	2 =	0.8733	B
Mean	8 =	0.9900	B	Mean	6 =	0.8450	B

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 18 : Tinggi tunas kultur 3

Function : RANGE

Error Mean Square = 0.1350

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 0.5737

$s_x = 0.1500$ at $\alpha = 0.010$

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	1.952	A	Mean	1 =	1.952	A
Mean	2 =	1.060	B	Mean	8 =	1.382	AB
Mean	3 =	1.380	AB	Mean	3 =	1.380	AB
Mean	4 =	1.283	B	Mean	5 =	1.363	AB
Mean	5 =	1.363	AB	Mean	7 =	1.360	AB
Mean	6 =	0.9900	B	Mean	4 =	1.283	B
Mean	7 =	1.360	AB	Mean	2 =	1.060	B
Mean	8 =	1.382	AB	Mean	6 =	0.9900	B

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro ada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 59 - 66

Variable 20 : Jumlah kalus minggu 2

Function : RANGE

Error Mean Square = 674.8

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 6

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 30.31

$s_x = 10.61$ at $\alpha = 0.050$

Original Order				Ranked Order			
Mean	1 =	2.900	B	Mean	2 =	48.10	A
Mean	2 =	48.10	A	Mean	5 =	34.68	AB
Mean	3 =	17.42	AB	Mean	6 =	30.95	AB
Mean	4 =	8.290	B	Mean	7 =	19.07	AB
Mean	5 =	34.68	AB	Mean	3 =	17.42	AB
Mean	6 =	30.95	AB	Mean	8 =	16.92	AB
Mean	7 =	19.07	AB	Mean	4 =	8.290	B
Mean	8 =	16.92	AB	Mean	1 =	2.900	B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 21 : Jumlah kalus minggu 3

Function : RANGE

Error Mean Square = 922.9

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 25.07

$s_x = 8.770$ at alpha = 0.050

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	38.70	AB	Mean	3 =	48.65 A
Mean	2 =	15.55	B	Mean	1 =	38.70 AB
Mean	3 =	48.65	A	Mean	4 =	20.69 B
Mean	4 =	20.69	B	Mean	2 =	15.55 B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 22 : Jumlah kalus minggu 4

Function : RANGE

Error Mean Square = 1016.

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 35.20

$s_x = 9.204$ at alpha = 0.010

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	51.59	A	Mean	3 =	57.53 A
Mean	2 =	20.94	A	Mean	1 =	51.59 A
Mean	3 =	57.53	A	Mean	4 =	26.88 A
Mean	4 =	26.88	A	Mean	2 =	20.94 A

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 22 : Jumlah kalus minggu 4

Function : RANGE

Error Mean Square = 1016.

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 26.31

$s_{\bar{x}} = 9.204$ at alpha = 0.050

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	51.59	AB	Mean	3 =	57.53 A
Mean	2 =	20.94	C	Mean	1 =	51.59 AB
Mean	3 =	57.53	A	Mean	4 =	26.88 BC
Mean	4 =	26.88	BC	Mean	2 =	20.94 C

Data file : Suaidi Ghuftron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 23 : jumlah kalus minggu 5

Function : RANGE

Error Mean Square = 923.2

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 33.55

$s_{\bar{x}} = 8.771$ at alpha = 0.010

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	67.73	A	Mean	1 =	67.73 A
Mean	2 =	29.02	B	Mean	3 =	57.53 AB
Mean	3 =	57.53	AB	Mean	4 =	29.57 B
Mean	4 =	29.57	B	Mean	2 =	29.02 B

Data file : Suaidi Ghufron Amin
 Title : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok Batu 55 secara
In vitro pada beberapa konsentrasi BAP dan TDZ

Case Range : 49 - 52

Variable 24 : Jumlah kalus minggu 6

Function : RANGE

Error Mean Square = 923.7

Error Degrees of Freedom = 40

No. of observations to calculate a mean = 12

Duncan's Multiple Range Test

LSD value = 33.56

$s_x = 8.774$ at alpha = 0.010

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	70.67	A	Mean	1 =	70.67 A
Mean	2 =	29.02	B	Mean	3 =	57.53 AB
Mean	3 =	57.53	AB	Mean	4 =	29.57 B
Mean	4 =	29.57	B	Mean	2 =	29.02 B

Lampiran 4

Ringkasan uji Duncan $_{0.05}$ perlakuan hormon BAP dan TDZ terhadap rerata jumlah total daun ekpslan satu ruas jeruk keprok Batu 55 minggu ke 2-12.

Hormon	2 MSI	4 MSI	6 MSI	8 MSI	10 MSI	12 MSI
BAP 2.5 μ M,TDZ 0.5 μ M	4.34 a	6.55 a	8.17 a	8.23 a	9.06 a	9.28 a
BAP 2.5 μ M,TDZ 1.0 μ M	4.26 a	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b
BAP 5.0 μ M,TDZ 0.5 μ M	4.26 a	4.26 b	5.34 b	5.80 b	6.62 b	6.78 b
BAP 5.0 μ M,TDZ 1.0 μ M	4.26 a	4.46 b	5.02 b	5.43 b	5.70 b	5.70 b
BAP 7.5 μ M,TDZ 0.5 μ M	4.26 a	5.43 ab	5.53 b	6.10 b	6.10 b	6.46 b
BAP 7.5 μ M,TDZ 1.0 μ M	4.26 a	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b
BAP 10 μ M,TDZ 0.5 μ M	4.26 a	4.26 b	5.27 b	5.53 b	6.10 b	6.35 b
BAP 10 μ M,TDZ 1.0 μ M	4.26 a	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b	4.26 b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's 0.05

Lampiran 5

Foto-Foto Dalam Penelitian Kultur In Vitro Eksplan Satu Ruas Batu 55



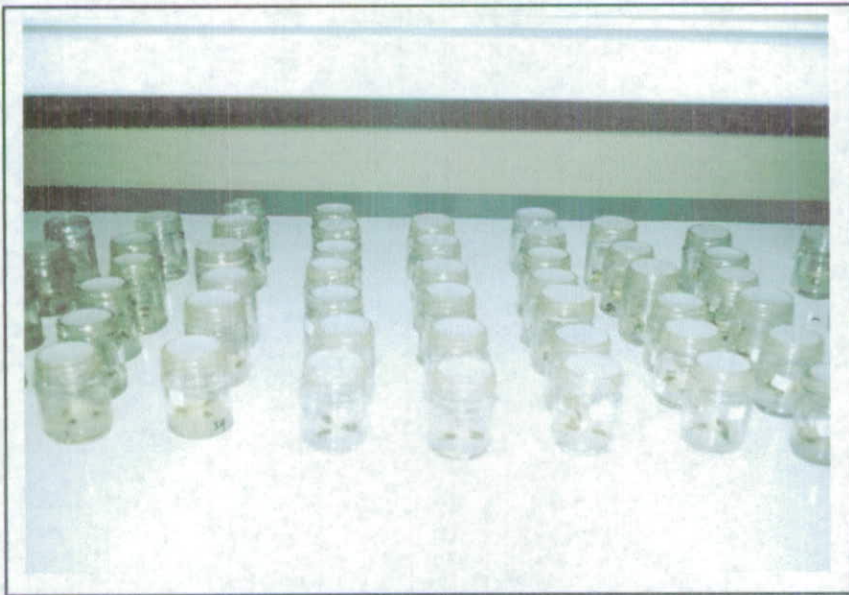
Gambar 1. Bahan Ekaplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55



Gambar 2. Alat-Alat

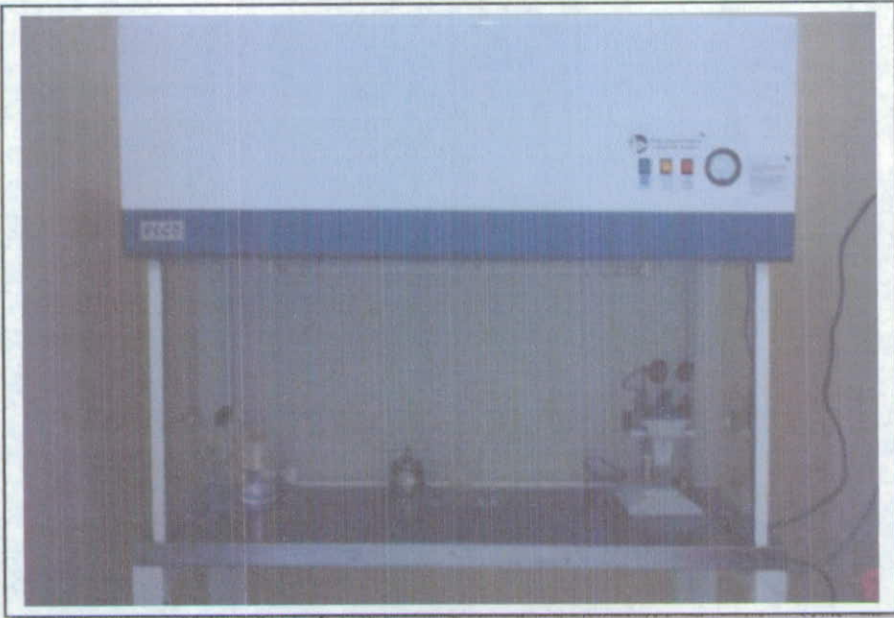


Gambar 3. Hasil Kultur In Vitro Eksplan Satu Ruas Jeruk Keprok Batu 55



Gambar 4. Rancangan Penelitian Kultur In Vitro

Handwritten signature or mark.



Gambar 5. Laminar Air Flow Cabinet



Gambar 6. Autoclaf



Gambar 7. Tempat Penelitian



Gambar 8. Tempat Penelitian



DEPARTEMEN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang Telp. (0341) 551354 Faks. (0341) 572533

Nomor : Urk.3.6 / TL.00/722/ 2005
Lampiran : -
Hal : Ijin Penelitian

Malang, 03 Mei 2005

Kepada
Yth. Kepala Laboratorium Kultur jaringan Lolitjeruk
Tlekung - Batu

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

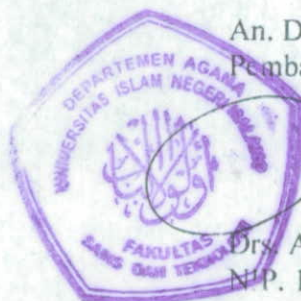
Dengan hormat, sehubungan dengan penelitian mahasiswa kami:

Nama : Suaidi Ghufron Amin
N I M : 01520013
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Lilik Hariani AR, Ir
Pembimbing Lapang : Dita Agisimanto, S.P., M.P.
Waktu Penelitian : 09 Mei s/d 03 Oktober 2005
Judul Skripsi : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 Secara *In Vitro* pada Beberapa Konsentrasi BAP dan TDZ

Maka dengan ini kami mohon ijin agar mahasiswa tersebut di atas diperkenankan untuk melakukan penelitian di Laboratorium Kultur jaringan Lolitjeruk Tlekung - Batu

Demikian permohonan ini, atas kesediaan dan kerjasamanya diucapkan terimakasih.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb



An. Dekan
Pembantu Dekan I

Dr. Abdul Basid, M.Si
N.P. 131918439

DEPARTEMEN PERTANIAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN HORTIKULTURA

LOKA PENELITIAN TANAMAN JERUK DAN HORTIKULTURA SUBTROPIS

Jl. Raya Tlekung - Junrejo - Kota Batu
Kotak Pos 22 Batu (65301)
Jawa Timur

Telepon : (0341) 592683
Fax. : (0341) 593047
E-mail : lolit-jeruk@indo.net.id
Website : www.citrusindo.org

SURAT KETERANGAN

Nomor : 722/LB.240/J.3.4/10/05

Yang bertanda tangan di bawah ini :

N a m a : Ir. Arry Supriyanto, M.S., APU
Jabatan : Kepala Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropis

dengan ini menerangkan, bahwa :

N a m a : Suaidi Ghufon Amin
NIM : 01520013
Fakultas : Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang

telah melaksanakan penelitian di Loka Penelitian Tanaman Jeruk dan Hortikultura Subtropis, terhitung mulai **9 Mei s.d. 3 Oktober 2005**, dengan :

Judul : "Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 Secara *In Vitro* pada Beberapa Konsentrasi BAP dan TDZ"
Pembimbing lapang : Dita Agisimanto, S.P., M.P.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 18 Oktober 2005

KEPALA LOKA,



DEPARTEMEN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang Telp. (0341) 551354 Faks. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI

NAMA : SUAIDI GHUFRON AMIN
NIM : 01520013
JUDUL SKRIPSI : Proliferasi Eksplan Ruas Jeruk Keprok (*Citrus reticulata* L. Blanco) Batu 55 Secara *In Vitro* Pada Beberapa Konsentrasi 6-Benzyl Aminopurine dan Thidiazuron
PEMBIMBING I : Ir. Lilik Harianie A. R
PEMBIMBING II : Dita Agisimanto, SP. MP

No	Tanggal	Materi Konsultasi	TTD
1.	03 Mei 2005	Pengajuan Judul	1. H
2.	13 Mei 2005	Pengajuan Bab I, II, dan III	2. H
3.	19 Mei 2005	Revisi Bab I, II dan III	3. H
4.	25 Mei 2005	Acc Bab I, II dan III	4. H
5.	13 Oktober 2005	Pengajuan Bab IV	5. H
6.	21 Oktober 2005	Revisi Bab IV	6. H
7.	25 Oktober 2005	Acc Bab IV	7. H
8.	27 Oktober 2005	Acc Bab V	8. H
9.	28 Oktober 2005	Acc Bab I, II, III, IV, V	9. H

Malang, 09 November 2005

Mengetahui
Dosen Pembimbing



Ir. Lilik Harianie A. R
NIP. 150 290 059

DAFTAR ISTILAH

- Aberasi** : Mutasi, terjadi perubahan pada struktur dan susunan kromosom
- Adventif** : Sifat bagian (organ) tumbuhan yang tumbuh pada tempat semestinya, misalnya pada tunas atau kuncup yang timbul pada akar/daun (akar yang timbul pada batang atau daun).
- Aklimatisasi** : Penyesuaian diri tumbuhan terhadap iklim setempat yang berbeda dengan iklim daerah asalnya.
- Autotop** : Organisme yang mampu membuat (mensintesis) makanan sendiri dari zat-zat an-organik
- Diferensiasi Sel** : Perkembangan sel menjadi terspesialisasi atau mempunyai fungsi tertentu, misalnya: berubahnya fungsi sel dari sel-sel meristematik menjadi sel-sel daun atau sel-sel akar.
- Diferensiasi** : Berubah kembalinya fungsi sel-sel yang tadinya sudah terdeferensiasi menjadi tak terdeferensiasi.
- Eksplan** : Bagian kecil organ yang dipisahkan dari tanaman induknya kemudian dikulturkan.
- Ex Vitro** : Di luar tabung atau diluar botol kultur dalam kondisi eksternal (dirumah kaca).
- In vitro** : Di dalam tabung atau botol kultur
- Fase Junvenil** : Bagian tumbuhan yang masih muda (baru tumbuh), ditandai dengan pertumbuhan yang sangat cepat, misalnya tunas ujung tumbuhan.
- Hara Makro** : Unsur-unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah relatif banyak.
- Hara Mikro** : Unsur-unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah relatif banyak.
- Kalus** : Jaringan perenkim yang dangkal, terbentuk dari kambium yang aktif membelah sebagai reaksi adanya luka pada tumbuhan, biasanya tumbuh membentuk gumpalan-gumpalan yang menutupi luka.
- Mutasi** : Perubahan genetik pada kromosom yang menyebabkan perubahan sifat, bentuk atau ciri-ciri lain suatu individu atau organisme.
- Morfogenesis** : Asal usul terbentuknya suatu struktur tanaman, jika yang terbentuk adalah organ (akar/tunas) disebut *organogenesis*, sedangkan yang terbentuk adalah embrio disebut *embriogenesis*.

- Organogenesis** : Proses terbentuknya organ seperti tunas/akar, baik secara langsung dari permukaan eksplan atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus terlebih dahulu.
- Off-Type** : Bersifat tidak sama dengan tanaman induk sumber eksplan.
- Proliferasi** : Perbanyakkan, jika suatu jaringan (kalus) tumbuh dengan sangat cepat.
- Protocorm** : Biji yang sedang bekecambah, biasanya tidak dapat ditunjuk dengan bagian mana yang akan menjadi tunas/akar.
- Plantlet** : Bibit tanaman kecil
- Pulp** : Bahan yang berasal dari tumbuhan yang banyak mengandung selulosa yang digunakan untuk pembuatan kertas.
- Pertumbuhan** : Bertambahnya volume tanaman atau tumbuhan sebagai akibat dari pembelahan sel, penambahan plasma, pemanjangan sel, dan diferensiasi sel.
- Perkembangan** : Terbentuknya spesialisasi alat-alat pada tumbuhan, misalnya akar, tunas.
- Ratio** : Suatu angka atau nilai yang menyatakan perbandingan.
- True-to-Type** : Bersifat sama dengan induk
- Tunas Lateral** : Tunas yang tumbuh dari sisi-sisi batang (cabang), merupakan perkembangan dari mata tunas samping (*laterbud*)
- Vitrikasi** : Ketidaknormalan yang terjadi pada tanaman yang dikulturkan, dengan gejala sukulensi, tembus cahaya (*translucency*), , lemas dan banyak mengandung air.
- Vegetatif** : Berkenaan dengan bagian tumbuhan selain biji atau organ seksual.

BIOGRAFI PENULIS

Penulis dilahirkan di Kota Pacitan Jawa Timur, pada tanggal 03 Mei 1982 dengan nama lengkap "SUAI DI GHUFRON AMIN" sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari Ayahanda Muhjidin dan Ibunda Suprihatin.

Pendidikan formal yang ditempuh yaitu SD lulus tahun 1995, MTs tahun 1998 dan MA lulus tahun 2001. Pendidikan S1 ditempuh di Universitas Islam Negeri (UIN) Malang pada Fakultas Sains dan Teknologi di Jurusan Biologi sejak tahun 2001 sampai tahun 2005.

Pengalaman organisasi penulis selama ini antara lain wakil Ketua Divisi Unit Kreativitas Mahasiswa Biologi masa bhakti 2002-2003, Ketua Redaksi Majalah Dinding Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi masa bhakti 2002-2003, Direktur Program Lembaga Penelitian dan Pengembangan Biologi (LP2B) Malang masa bhakti 2003-2004. Sedangkan prestasi yang pernah diraih yaitu juara II Lomba Inovasi Contest tahun 2003.

Selama kuliah penulis pernah menjadi Assisten Praktikum pada Mata Kuliah Biologi Umum sejak tahun 2003-2005, Assisten Praktikum Mata Kuliah Vertebrata tahun 2003-2005, Assiten Praktikum Mata Kuliah Invertebrata tahun 2004, Assisten Praktikum Struktur Perkembangan Hewan II tahun 2004, Assisten Praktikum Mikrobiologi Umum tahun 2004, dan Assisten Praktikum Genetika tahun 2005.