

**INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI EKSPLAN KOTILEDON
KUBIS (*Brassica oleracea*) DENGAN PEMBERIAN BERBAGAI
KONSENTRASI 2,4-D DAN BENZYL AMINO PURINE**

SKRIPSI

Oleh :

**AGUNG EKO KURNIAWAN
1504290092
AGROTEKNOLOGI**



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2022**

INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI EKSPLAN KOTILEDON
KUBIS (*Brassica oleracea*) DENGAN PEMBERIAN BERBAGAI
KONSENTRASI 2,4-D DAN BENZYL AMINO PURINE

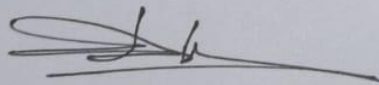
SKRIPSI

Oleh :

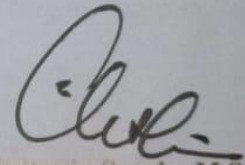
AGUNG EKO KURNIAWAN
1504290092
AGROTEKNOLOGI

Disetujui Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan Strata 1 (S1) pada
Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Komisi Pembimbing :

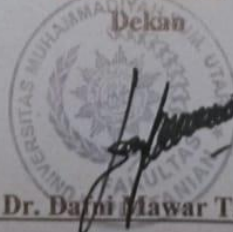


Assoc. Prof. Dr. Hartius, M.S.
Ketua



Dr. Siti Haniya Sagala, M.S.
Anggota

Disahkan Oleh :
Dekan



Assoc. Prof. Dr. Darni Mawar Tarigan, S.P., M.Si

Tanggal Lulus : 07-10-2022

PERNYATAAN

Dengan ini saya :

Nama : Agung Eko Kurniawan

Npm : 1504290092

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi dengan judul “Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Kotiledon Kubis (*Brassica oleracea*) dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan Benzyl Amino Purine” adalah hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri. Jika terdapat karya orang lain saya mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya penjiplakan (plagiarisme) maka saya bersedia menerima sanksi. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Medan, September 2022
Yang menyatakan,



Agung Eko Kurniawan
1504290092

RINGKASAN

Agung Eko Kurniawan. Penelitian berjudul : “Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Kotiledon Kubis (*Brassica oleracea*) dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi 2,4-D dan *Benzyl Amino Purine*” dibimbing oleh Assoc. Prof. Ir. Dartius, M.S., selaku ketua komisi pembimbing dan Ir. Aidi Daslin Sagala, M.S., selaku anggota komisi pembimbing. Penelitian bertujuan untuk menghasilkan perbanyak kalus embriogenik kubis dari eksplan kotiledon melalui teknik *in-vitro* dengan aplikasi berbagai konsentrasi 2,4-D dan BAP yang sesuai dalam media Murasige dan Skoog (MS). Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari faktor konsentrasi 2,4-D yaitu : $D_0 = 0$ mg/l (kontrol), $D_1 = 2$ mg/l, $D_2 = 4$ mg/l, $D_3 = 6$ mg/l dan faktor konsentrasi BAP yaitu : $B_0 = 0$ mg/l (kontrol), $B_1 = 0,01$ mg/l, $B_2 = 0,02$ mg/l, $B_3 = 0,03$ mg/l. Perlakuan diulang 3 kali dengan jumlah sampel eksplan 4splan perpetridish. Parameter yang diukur adalah persentase hidup, persentase kalus, persenta sekalus embriogenik, berat kalus dan volume kalus. Data dianalisa menggunakan analisis sidik ragam Rancangan Acak Lengkap dan diikuti dengan uji beda rataaan menurut metode Duncan. Hasil penelitian menunjukkan keberhasilan hidup eksplan sebesar 100% dengan pemberian konsentrasi 2,4-D dan BAP. Perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 2-4 mg/l memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase kalus, persentase kalus embriogenik, berat kalus dan volume kalus. Perlakuan BAP serta interaksi 2,4-D dan BAP berpengaruh tidak nyata terhadap semua variabel yang diamati.

SUMMARY

Agung Eko Kurniawan. The study entitled: "Induction of Embryogenic Callus from Cabbage Cotyledon Explants (*Brassica oleracea*) by Treatments of Various Concentrations of 2,4-D and *Benzyl Amino Purine*" was supervised by Assoc. Prof. Ir. Dartius, MS, as chairman of the supervisory commission and Ir. Aidi Daslin Sagala, MS, as a member of the supervisory committee. The objective of study was to reproduce the embryogenic callus of cabbage from cotyledonous explants through an *in vitro* with the application of various concentrations of 2,4-D and appropriate BAP in Murasige and Skoog (MS) media. The study used a factorial Completely Randomized Design (CRD) consisting of a concentration factor of 2,4-D, namely: $D_0 = 0$ mg/l (control), $D_1 = 2$ mg/l, $D_2 = 4$ mg/l, $D_3 = 6$ mg/l and BAP concentration factors are: $B_0 = 0$ mg/l (control), $B_1 = 0.01$ mg/l, $B_2 = 0.02$ mg/l, $B_3 = 0.03$. The treatment was three times with a total sample of 4 explants perpetridish. Parameters measured were percentage of survival, percentage of callus, percentage of embryogenic calus, callus weight and callus volume. Data were analyzed using analysis of variance in Completely Randomized Design and followed by a mean difference test according to Duncan's method. The results showed that the explants' survival success was 100% with the giving of 2,4-D and BAP concentrations. 2,4-D treatment with a concentration of 2-4 mg/l gave the best effect on callus percentage, embryogenic callus percentage, callus weight and callus volume. BAP treatment and the interaction of 2,4-D and BAP had no significant effect on all observed variables.

RIWAYAT HIDUP

Agung Eko Kurniawan, lahir pada tanggal 04 Maret 1997, di Medan, kecamatan Medan Timur, kelurahan Pulo Brayon Darat II, provinsi Sumatera Utara. Merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Ayahanda Saimin dan Ibunda Suparni. Jenjang pendidikan penulis dimulai dari:

1. Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) Melati Putih, kecamatan Medan Timur, kelurahan Pulo Brayon Darat I, provinsi Sumatera Utara, selesai tahun 2003.
2. Sekolah Dasar (SD) Negeri 060878, kecamatan Medan Timur, kelurahan Pulo Brayon Darat II, provinsi Sumatera Utara, tahun 2003 dan selesai 2009.
3. Sekolah Menengah Pertama (SMP) Swasta Laksamana Martadinata Kota Medan, kecamatan Medan Timur, kelurahan Pulo Brayon Darat II, provinsi Sumatera Utara, tahun 2009 dan selesai 2012.
4. Sekolah Menengah Atas (SMA) Swasta Laksamana Martadinata Kota Medan, kecamatan Medan Timur, kelurahan Pulo Brayon Darat II, provinsi Sumatera Utara, tahun 2012 dan selesai 2015.
5. Tahun 2015 kemudian melanjutkan perkuliahan untuk pendidikan Strata 1 (S1) pada program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera utara.

Kegiatan yang pernah diikuti selamamenjadi Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yaitu :

1. Tahun 2015, mengikuti masa Pengenalan Kehidupan Kampus bagi Mahasiswa/I baru (PKKMB) Badan Eksekutif Mahasiswa, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

2. Tahun 2015, mengikuti Kajian Intensif Al-Islam dan Kemuhammadiyah (KIAM) diselenggarakan oleh Pusat Studi Al-Islam Kemuhammadiyah (PSIM)
3. Tahun 2018, melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT. PD. PAYA PINANG GROUP, kecamatan Sei Suka kabupaten Batu Bara, provinsi Sumatera Utara.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahilahirabil'alamin, puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesehatan dan kekuatan sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian yang berjudul **“INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK DARI EKSPLAN KOTILEDON KUBIS (*Brassica oleraceae*) DENGAN PEMBERIAN BERBAGAI KONSENTRASI 2,4-D DAN BENZYL AMINO PURINE”**

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Dafni Mawar Tarigan, S.P., M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Ibu Assoc. Prof. Dr. Ir. Wan Arfiani Barus, M.P., selaku Wakil Dekan I, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. Bapak Akbar Habib, S.P., M.P., selaku Wakil Dekan III, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. Ibu Dr. Rini Sulistiani, S.P., M.P., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
5. Ibu Aisar Novita, S.P., M.P., selaku Sekertaris Prodi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
6. Bapak Assoc. Prof. Ir. Dartius, M.S., selaku Ketua Komisi Pembimbing yang telah membimbing penulisan skripsi penelitian ini.
7. Bapak Ir. Aidi Daslin Sagala, M.S., selaku Anggota Komisi Pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dalam penulisan skripsi penelitian ini.

8. Dosen-dosen Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
9. Seluruh rekan seperjuangan AGT 2 yang telah memberi semangat dan dukungan sehingga masa perkuliahan menjadi lebih berwarna.
10. Ayahanda Saimin dan Ibunda Suparni, yang telah memberikan dukungan moral, materil dan doanya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi penelitian ini masih ada kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi penelitian ini dan juga bagi pihak-pihak yang ingin melakukan penelitian yang sama.

Medan, September 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN.....	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	3
Hipotesis Penelitian	4
Kegunaan Penelitian	4
TINJAUAN PUSTAKA	5
Botani Tanaman	5
Teknik Perbanyakan Tanaman Secara <i>In-Vitro</i>	5
Manfaat dan Kegunaan Perbanyakan Secara Kultur <i>In-Vitro</i>	7
Zat Pengatur Tumbuh Tanaman	8
Fungsi dan Peranan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D).....	8
Fungsi dan Peranan Benzyl Amino Purine (BAP).....	9
Jenis Kalus	10
Kalus Embriogenik dan Manfaatnya.....	10
BAHAN DAN METODE	11
Tempat dan Waktu	11
Bahan dan Alat	11
Metode Penelitian	12
Metode Analisis Data	13

Pelaksanaan Penelitian	13
Pensterilan Peralatan Kultur	13
Sterilisasi Ruang Inkubasi dan Laminar Air Flow Cabinet	13
Pembuatan Media	14
Sterilisasi Biji Benih	16
Kultur Germinasi	16
Kultur Inisiasi	16
Parameter Pengamatan	17
Persentase Hidup	17
Persentase Kalus	17
Persentase Kalus Embriogenik	17
Berat Kalus	17
Volume Kalus	17
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
Hasil	18
Pembahasan	18
KESIMPULAN DAN SARAN	33
Kesimpulan	33
Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Persentase Kalus Kotiledon Kubis dengan pemberian 2,4-D dan BAP umur 2-8 MST	19
2.	Persentase Kalus Embriogenik Kotiledon Kubis dengan pemberian 2,4-D dan BAP umur 9-13 MST	24
3.	Berat Kalus Kotiledon Kubis dengan pemberian 2,4-D dan BAP umur 14 MST	29
4.	Volume Kalus Kotiledon Kubis dengan pemberian 2,4-D dan BAP umur 14 MST	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 2 MST.....	20
2.	Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 4 MST ...	21
3.	Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 6 MST ...	22
4.	Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 8 MST ...	22
5.	Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 9 MST	26
6.	Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 11 MST	26
7.	Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 13 MST	27
8.	Hubungan Berat Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 14 MST.....	29
9.	Hubungan Volume Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 14 MST	31

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Denah Penelitian	37
2.	Bagan Sample Penelitian	38
3.	Komposisi Media Murashige dan Skoog	39
4.	Deskripsi Tanaman Kubis (<i>Brassica oleracea</i>)	40
5.	Data Rataan Persentase Kalus Umur 2 MST	41
6.	Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	41
7.	Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 2 MST	42
8.	Data Rataan Persentase Kalus Umur 4 MST	42
9.	Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	43
10.	Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 4 MST	43
11.	Data Rataan Persentase Kalus Umur 6 MST	44
12.	Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	44
13.	Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 6 MST	45
14.	Data Rataan Persentase Kalus Umur 8 MST	45
15.	Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	46
16.	Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 8 MST	46
17.	Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 9 MST	47

18. Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	47
19. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 9 MST....	48
20. Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 11 MST	48
21. Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	49
22. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 11 MST..	49
23. Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 13 MST	50
24. Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	50
25. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 13 MST..	51
26. Data Rataan Berat Kalus (g) Umur 14 MST.....	51
27. Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	52
28. Daftar Sidik Ragam Berat Kalus Umur 14 MST	52
29. Data Rataan Volume Kalus (ml ³) Umur 14 MST	53
30. Data Setelah Di Transformasi Dengan Menggunakan Rumus $\sqrt{x + 0.5}$	53
31. Daftar Sidik Ragam Volume Kalus Umur 14 MST.....	54

PENDAHULUAN

Latar belakang

Kubis (*Brassica oleracea*) merupakan salah satu jenis sayuran yang banyak dikonsumsi karena berbagai bermanfaat sebagai sumber vitamin A, B, dan C, mineral, karbohidrat, dan protein yang berguna bagi kesehatan. Tanaman kubis, seperti beberapa jenis sayuran lainnya, memiliki sifat mudah rusak, produksi musiman, dan tidak tahan disimpan lama. Sifat mudah rusak ini dapat disebabkan oleh daun yang lunak dan kandungan air cukup tinggi, sehingga mudah rusak secara fisik, oleh gangguan hama atau penyakit tanaman.

Salah satu strategi untuk memenuhi permintaan pasar, baik dalam negeri maupun luar negeri adalah peningkatan kualitas dan kuantitas produksi kubis. Pengembangan budidaya kubis memiliki prospek yang cerah, yaitu dapat menunjang perbaikan gizi, meningkatkan ekspor nonmigas, memperluas kesempatan kerja, mengembangkan agribisnis, melestarikan serta meningkatkan kualitas lingkungan. Meskipun demikian, fakta di lapangan menunjukkan bahwa pengembangan masih terbatas disebabkan, antara lain karena masih terbatasnya informasi mengenai aspek budidaya dan sosial ekonomi (Erida *dkk.*, 2010).

Perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan telah banyak dilakukan terutama pada tanaman yang bernilai ekonomi tinggi, seperti tanaman hias, tanaman pangan, maupun tanaman hortikultura. Teknik kultur jaringan juga merupakan pemecahan masalah terhadap tanaman yang sulit berbiji, daya

kecambah yang rendah ataupun tanaman hibrida. Kultur jaringan ini memberikan bibit tanaman yang memiliki kualitas sangat baik dan bebas dari penyakit sehingga tanaman tersebut bias tahan lama. Selain itu ingin mendapatkan bibit tanaman yang hasilnya banyak tetapi hanya membutuhkan waktu yang relatif singkat. Atau jika kita memiliki induk tanaman yang berkualitas, kita bisa melakukan kultur jaringan pada tanaman ini, mulai dari rasa buahnya yang sama, ukuran buahnya yang sama bahkan warnanya juga sama (Rubatzky, 2001).

Dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan merupakan suatu metode perbanyakan tanaman yang dilakukan secara vegetatif, yakni membudidayakan jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang memiliki sifat yang identik dengan induknya. Kalus adalah sel yang terdeferensiasi yang belum diketahui apakah dapat berkembang menjadi organ berupa tunas atau akar. Inisiasi dari pembentukan kalus disebut induksi kalus kemungkinan besar banyak jenis spesies tanaman yang berbeda dapat menghasilkan kalus dan kemudian tumbuh pada fase pertumbuhan selanjutnya. Kalus yang tumbuh dan berkembang pada fase regenerasi disebut kalus embriogenik (Pierik, 1989).

Untuk pengembangan kalus embriogenik dapat dengan berbagai bahan kimia antara lain hormon pertumbuhan endogen, auksin dan sitokinin. 2,4-D adalah salah satu auksin (hormon pertumbuhan) yang berperan dalam pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman. Sedangkan pembentukan tunas lebih dipengaruhi oleh hormon sitokinin. Benzyl Amino Purine (BAP) termasuk hormon sintetik dari jenis sitokinin yang memiliki sifat lebih stabil dan kuat dibandingkan jenis hormon sitokinin lainnya seperti kinetin dan zeatin. Secara umum, BAP memiliki pengaruh utama pembentukan tunas, multiplikasi tunas dan mamacu pembelahan sel dalam metabolisme

tanaman untuk membentuk bagian/organ yang diperlukan. Kelompok auksin yang biasa digunakan untuk pengakaran dan induksi kalus selain 2,4-D pada kultur jaringan adalah NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan IBA (Indole-3- Butyric Acid) (Akbar *dkk.*, 2017).

Berdasarkan senyawa 2,4-D dengan konsentrasi 4 mg/l dalam modifikasi media MS telah berhasil menginduksi kalus embriogenik sebesar 80% dari total eksplan sekutelum yang dikultur. Kalus embriogenik ditandai dengan warna kalus kekuningan, struktur friable dengan bentuk nodular pada bagian permukaannya. Penelitian Munshi *dkk.*, (2007) telah berhasil menginduksi kalus dari eksplan hipokotil dan kotiledon pada media MS mengandung 1 mg/l 2,4-D dan 0,5/l NAA. Regenerasi tunas kemudian berhasil diinduksi dari kalus embriogenik tersebut dengan memindahkan kedalam media MS yang mengandung 2 mg/l BA dan 0,1 mg/l NAA.

Regenerasi plantlet secara kultur jaringan diharapkan dapat menjadi alternatif dalam penyediaan bahan tanaman yang mempunyai karakter superior. Keterbatasan bahan tanaman hibrida (F1) yang sama dengan tetuanya menjadi latar belakang penelitian untuk mencari alternatif penyediaan bahan tanaman yang sama dengan induknya melalui teknik kultur jaringan, yaitu induksi tunas dari eksplan hipoktil kubis F1 hibrida (Panjaitan *dkk.*, 2009).

Tujuan Penelitian

Menginduksi kalus embriogenik dari eksplan kotiledon melalui pemberian berbagai konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan Benzyl Amino Purine (BAP).

Hipotesis

1. Perlakuan konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) berpengaruh pada induksi kalus embriogenik dari eksplan kotiledon kubis
2. Perlakuan konsentrasi Benzyl Amino Purine (BAP) berpengaruh pada induksi kalus embriogenik dari eksplan kotiledon kubis
3. Perlakuan interaksi konsentrasi 2,4-D dengan BAP berpengaruh pada induksi kalus embriogenik dari eksplan kotiledon kubis

Kegunaan Penelitian

1. Sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan S1 Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Sebagai bahan informasi untuk pengguna dalam pengembangan induksi kalus embriogenik dari eksplan kotiledon tanaman kubis.

TINJAUAN PUSTAKA

Botani Kubis

Berdasarkan tata nama (sistematika) botani, tanaman kubis diklasifikasikan ke dalam :

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Rhoadales

Famili : Cruciferae

Genus : Brassica

Spesies : *Brassica oleraceae* (Harder dkk, 1965).

Kubis merupakan salah satu anggota dari keluarga tanaman kubis-kubisan (Cruciferae). Bagian yang dikonsumsi dari sayuran ini adalah massa bunganya atau disebut dengan “Curd”. Massa bunga kubis bunga umumnya berwarna putih bersih atau putih kekuning – kuningan.

Akar

Tanaman memiliki akar tunggang dan akar serabut. Akar tunggang tumbuh ke pusat bumi (kearah dalam), sedangkan akar serabut tumbuh ke arah samping (horizontal), menyebar dan dangkal (20-30 cm). Dengan perakaran yang dangkal tersebut, tanaman akan tumbuh cukup baik apabila ditanam pada tanah yang gembur dan porous.

Batang

Batang tanaman tumbuh tegak dan pendek (sekitar 30 cm). Batang tersebut berwarna hijau, tebal, dan lunak namun cukup kuat dan batang tanaman ini tidak bercabang.

Daun

Daun tanaman kubis berbentuk bulat telur (oval) dengan bagian tepi daun bergerigi, agak panjang. Daun tersebut berwarna hijau dan tumbuh berselang-seling pada batang tanaman.

Bunga

Massa bunga (curd) terdiri dari bakal bunga yang belum mekar, tersusun atas lebih dari 5000 kuntum bunga dengan tangkai pendek, sehingga tampak membulat padat dan tebal berwarna putih bersih atau putih kekuning - kuningan. Diameter massa bunga kubis bunga dapat mencapai lebih dari 20 cm dan memiliki berat antara 0,5 kg – 1,3 kg, tergantung varietas dan kecocokan tempat tanam.

Buah dan Biji

Bunga-bunga kubis tersusun dalam suatu tandan (inflorescentia) dan mekarnya bunga-bunga tersebut terjadi secara berurutan dari yang tertua ke yang muda. Pada tandan ini buah-buah yang terletak paling bawah lebih tua daripada buah di atasnya. Panjang tandan bunga dapat mencapai 1 – 2 m, tetapi panjang tangkai bunganya hanya 1 – 2 cm. Rata-rata setiap hari dua bunga mekar dan mahkota bunga layu setelah mekar dua hari.

Teknik Perbanyakan Tanaman Secara In-Vitro

Teknik perbanyakan mikro yang merupakan suatu bentuk aplikasi teknik kultur jaringan dan bertujuan untuk perbanyakan tanaman telah terbukti sesuai untuk perbanyakan kubis. Untuk memanfaatkan teknik ini secara optimal diperlukan penguasaan kondisi yang tepat untuk pertumbuhan dan perkembangan kubis secara in vitro. Salah satunya adalah pemakaian media kultur dengan kandungan komponen-komponennya yang tepat dan mampu merangsang perbanyakan tunas (Tuhuteru *dkk.*, 2012).

Manfaat dan Kegunaan Perbanyakan Kultur In-Vitro

Kultur jaringan (tissue culture) adalah suatu teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman (sekelompok sel, jaringan, organ, protoplasma, tepung sari, ovarium dan sebagainya), ditumbuhkan secara tersendiri, dipacu untuk memperbanyak diri, akhirnya diregenerasikan kembali menjadi tanaman lengkap yang mempunyai sifat sama seperti induknya dalam suatu lingkungan yang aseptik (bebas hama dan penyakit). Selanjutnya teknik ini juga disebut kultur in-vitro (in vitro culture) yang artinya kultur di dalam wadah gelas. Dasar pengembangan kultur jaringan adalah totipotensi. Totipotensi merupakan potensi suatu sel untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang lengkap. Setiap sel akan beregenerasi menjadi tanaman yang lengkap dan utuh apabila ditempatkan pada kondisi yang sesuai.

Manfaat Kultur Jaringan Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) yang bisa didapatkan dari kultur jaringan adalah sebagai berikut :

- a. Bibit dapat diperbanyak dalam jumlah besar dan relatif cepat.
- b. Bibit unggul, cepat berbuah serta tahan hama dan penyakit.
- c. Seragam atau sama dengan induknya, tetapi dapat juga menimbulkan keberagaman.
- d. Efisiensi tempat dan waktu.
- e. Tidak tergantung musim, dapat diperbanyak secara kontinyu.
- f. Untuk skala besar biaya lebih murah.
- g. Cocok untuk tanaman yang sulit beregenerasi.
- h. Menghasilkan tanaman bebas virus.
- i. Menghasilkan bahan bioaktif/metabolit sekunder tanpa menanam di luar atau di lapang.
- j. Kultur jaringan sesuai dengan program pemuliaan konvensional seperti penyelamatan embrio.
- k. Produksi bahan-bahan sekunder dapat melalui kultur sel, jaringan, dan organ.
- l. Proses tukar-menukar plasma nutfah menjadi lebih mudah.
- m. Plasma nutfah bisa disimpan dalam bentuk sel-sel yang kompeten dalam regenerasi selanjutnya (Giarsiana, 2016).

Zat Pengatur Tumbuh Tanaman

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman sangatlah penting yaitu untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar serta pembentukan kalus. Ada dua golongan zat pengatur tumbuh tanaman yang sering digunakan dalam kultur jaringan, yaitu sitokinin dan auksin. Yang termasuk golongan sitokinin antara lain BA (benzil adenin), kinetin (furfuril amino purin), 2-IP (dimethyl allyl amino purin), dan zeatin. Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas pada umumnya digunakan sitokinin, sedangkan untuk pembentukan akar atau pembentukan kalus digunakan auksin. Sitokinin merupakan senyawa derivat adenin yang dicirikan oleh kemampuannya menginduksi pembelahan sel (cell division) pada jaringan. Bentuk dasar dari sitokinin adalah adenin (6-amino purine). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktifitas sitokinin. Sitokinin alami (endogen) adalah zeatin dan dihidrozatin, sedangkan sitokinin sintetik yaitu zeatin, BA, BAP, 2-iP, IPA, PA dan Kinetin (Haris *dkk.*, 2015).

Fungsi dan Peranan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

Induksi kalus embriogenik pada kebanyakan spesies memerlukan konsentrasi auksin yang tinggi. Auksin 2,4-D biasanya digunakan didalam media kultur secara bersendirian maupun dikombinasi dengan sitokinin (BAP, BA, kinetin). Konsentrasi auksin yang tinggi untuk induksi kalus bagaimanapun dapat menghambat pengembangan terbentuknya somatik embrio pada tahap yang tinggi

media tanpa hormon biasanya digunakan untuk pengembangan lanjutan dari kalus embriogenik menjadi somatik embrio (Phillips *dkk.*, 1995).

Fungsi dan Peranan Benzyl Amino Purine (BAP)

Benzyl Amino Purine (BAP) adalah generasi pertama sintetik sitokinin yang merangsang pembelahan sel. Sitokinin (BAP) berfungsi sebagai perangsang pertumbuhan tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, pembelahan sel, merangsang sel, mendorong pembentukan buah dan biji, mengurangi dormansi apikal, serta mendorong inisiasi tunas lateral. Sitokinin diproduksi dalam jaringan yang sedang tumbuh aktif, khususnya pada akar, embrio, dan buah. Sitokinin yang diproduksi di dalam akar, akan sampai ke jaringan yang dituju, dengan bergerak ke bagian atas tumbuhan di dalam cairan xylem. Bekerja bersama-sama dengan auksin; sitokinin menstimulasi pembelahan sel dan mempengaruhi lintasan diferensiasi. Efek sitokinin terhadap pertumbuhan sel didalam kultur jaringan, memberikan petunjuk tentang bagaimana jenis hormon ini berfungsi di dalam tumbuhan yang lengkap. Ketika satu potongan jaringan parenkhim batang dikulturkan tanpa memakai sitokinin, maka selnya itu tumbuh menjadi besar tetapi tidak membelah. Sitokinin secara mandiri tidak mempunyai efek. Akan tetapi, apabila sitokinin itu ditambahkan bersama-sama dengan auksin, maka sel itu dapat membelah. Sitokinin, auksin, dan faktor lainnya berinteraksi dalam mengontrol dominasi apikal, yaitu suatu kemampuan dari tunas terminal untuk menekan perkembangan tunas aksilar (Endang, 2010).

Jenis Kalus

Pertumbuhan dan morfogenesis dari jaringan tanaman didalam teknik In Vitro sangat dipengaruhi oleh komposisi media kultur meskipun keperluan dasar

dari jaringan tanaman yang dikultur adalah sama pada jenis semua tanaman tetapi dalam prakteknya komposisi nutrisi yang merangsang pertumbuhan jaringan berbeda antara satu formula dengan formula lainnya bergantung kepada jenis spesies yang dikultur (Razdan, 2005).

Kalus adalah satu atau lebih sel atau jaringan yang terdiferensiasi yang biasanya muncul dari pelukaan jaringan ataupun organ tanaman. Inisiasi pembentukan kalus sering disebut induksi kalus. Pada eksplan yang diisolasi dari beberapa spesies tanaman banyak yang berhasil diinduksi menjadi kalus. Kemudian kalus tersebut tumbuh dan berkembang. Tidak semua kalus mampu beregenerasi membentuk organ tanaman baik tunas maupun akar. Hanya kalus embriogenik yang mampu beregenerasi menjadi organ tanaman baik tunas maupun akar termasuk terbentuknya somatik embrio (Kirti, 1990).

Kalus Embriogenik dan Manfaatnya

Kalus embriogenik adalah kalus yang mampu beregenerasi menjadi organ maupun plantlet. Organogenesis secara tidak langsung biasanya melalui peringkat induksi kalus embriogenik. Organogenesis secara tidak langsung memerlukan dua signal hormonal yang berbeda dimana pertama adalah menginduksi organ tunas dan kemudian organ akar dalam dua media kultur yang berbeda konsentrasi hormon rendah pada perkembangan sel embriogenik menjadi anak pokok (plantlet) perlu mendapat perhatian didalam mengatur ritme perkembangan sel (Bhojwani, 1983).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2019 di laboratorium kultur jaringan Alifa Agricultural Research Centre (AARC), Jl. Brigjen Katamso No. 454/ 51C. Medan dengan ketinggian tempat \pm 25 meter diatas permukaan laut.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah eksplan kotiledon tanaman kubis (*Brassica oleraceae*) hibrida F1 varietas Red Globe, media MS (Murashige & Skoog, 1962), phytagel agar, sakarosa, zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan Benzyl Amino Purine (BAP), NaOH 0,1N dan HCl 0,1N.

Alat yang digunakan adalah gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, botol tutup biru (blue cup bottle), alat-alat diseksi (forcep, scalpel, blade), kabinet LAF (Laminar Air Flow), lampu bunsen, penyemprot alkohol (sprayer), pH meter (indikator pH), tabung reaksi (test tube), rak kultur, AC (Air Conditioner), lampu, tisu, aluminium foil, kertas label, karet, plastik, microwave, autoclave dan alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan dua faktor yang diteliti, yaitu :

1. Faktor perlakuan konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (D) terdiri dari :

D₀ : 0 mg/l (kontrol)

D₁ : 2 mg/l

D₂ : 4 mg/l

D₃ : 6 mg/l

2. Faktor perlakuan konsentrasi Benzyl Amino Purine (B) terdiri dari :

B₀ : 0 mg/l (kontrol)

B₁ : 0,01 mg/l

B₂ : 0,02 mg/l

B₃ : 0,03 mg/l

Jumlah kombinasi perlakuan $4 \times 4 = 16$ kombinasi, yaitu :

D₀B₀ D₁B₀ D₂B₀ D₃B₀

D₀B₁ D₁B₁ D₂B₁ D₃B₁

D₀B₂ D₁B₂ D₂B₂ D₃B₂

D₀B₃ D₁B₃ D₂B₃ D₃B₃

Jumlah perlakuan : 16 perlakuan

Jumlah ulangan : 3 ulangan

Jumlah eksplan per perlakuan : 2 eksplan

Jumlah sampel per perlakuan : 2 sampel

Jumlah eksplan keseluruhan : 240 sampel

Metode Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam mengikuti prosedur Rancangan Acak Lengkap dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menurut Duncan, mengikuti model matematik linier sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + D_j + B_k + (DB)_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana :

Y_{ijk} : Hasil parameter pengukuran dari faktor D pada taraf ke- j dan faktor B pada taraf ke- k dalam ulangan ke- i

μ : Efek nilai tengah

D_j : Pengaruh faktor perlakuan D pada taraf ke- j

B_k : Pengaruh faktor perlakuan B pada taraf ke- k

DB_{jk} : Pengaruh interaksi perlakuan dari faktor D pada taraf ke- j dan faktor B pada taraf ke- k

ϵ_{ijk} : Pengaruh galat pada ulangan ke- i, factor D pada taraf ke- j dan factor B pada taraf ke- k

Pelaksanaan Penelitian

Pensterilan Peralatan Kultur

Alat-alat kultur yang akan digunakan seperti gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk dan alat alat diseksi, (forcep, scalple dan blade) terlebih dahulu dicuci bersih, dikeringkan kemudian diseterilisasi dengan autoclave pada suhu 121⁰ C dengan tekanan 1,2 kg/cm selama 1 jam. Setelah di sterilisasi alat-alat tersebut kemudian disusun dalam rak pada ruang kultur yang sudah seteril. Tujuan dari pensterilan perlatan inisiasi ini agar alat-alat yang akan digunakan untuk proses inisiasi tetap dalam kondisi aseptik dan bebas dari sumber kontaminasi.

Sterilisasi Ruang Inkubasi Kultur dan Laminar Air Flow Cabinet

Sterilisasi ruang inkubasi kultur dilakukan dengan menyemprotkan alcohol 70 % keseluruh permukaan rak inkubasi kultur kemudian menghidupkan lampu ultra violet (UV). Untuk pensterilan laminar air flow cabinet, lampu UV dihidupkan selama 30 menit dengan menutup laminar air flow kabinet. Setelah itu lampu UV dimatikan dan blower laminar air flow cabinet di hidupkan. Laminar air flow cabinet dapat digunakan setelah blower di hidupkan selama 15 menit dan bagian lantai laminar air flow kabinet disemprot dengan alkohol dan mengusapnya seraya membersihkan lantai laminar air flow cabinet.

Pembuatan Media

Terdapat dua jenis media dalam penelitian ini yaitu media germinasi biji benih dan media untuk induksi kalus. Media germinasi biji benih kubis hibrida F1 dimaskudkan untuk menyiapkan sumber eksplan dari biji benih hibrida F1 yang digerminasikan. Adapun media germinasi yang digunakan adalah setengah media MS (MS half-strength). Sedangkan media yang digunakan untuk induksi kalus adalah media MS penuh yang mengandung berbagai variasi konsentrasi 2,4-D dengan BAP sesuai dengan perlakuan uji.

Untuk membuat media MS diperlukan larutan stok makro (100 X), larutan stok mikro (1000 X), larutan stok vitamin (100 X) dan larutan stok zat besi (100X). Untuk membuat media MS penuh maka dilakukan pengambilan dari masing-masing dengan menggunakan formula sebagai berikut:

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

Dimana:

M1 = Konsentrasi larutan stok

V1 = Volume larutan stok yang diambil

M2 = Konsentrasi (persi) media yang di inginkan

V2 = Volume larutan media yang akan di buat

Contoh pembuatan 1 liter media MS penuh, maka cara pembuatannya adalah sebagai berikut:

Dimasukan 1/3 volume air kedalam beacker glass 1liter (300 ml), kemudian dimasukan larutan stok dengan kalkulasi sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok makro} &= M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2 \\ &= 100X \cdot V1 = 1X \cdot 1000 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$V1 = 1000X \text{ ml} : 100X$$

$$V1 = 10 \text{ ml}$$

Larutan stok mikro = 1 ml

Larutan stok vitamin = 10 ml

Larutan zat besi = 10 ml

Kemudian ditimbang 30 gram sukrosa dan dimasukan kedalam beacker glass yang telah berisi larutan stok. Tambahkan air destilasi kedalam beacker glass tersebut sehingga 950 ml dan diukur pH nya menjadi 5,8. Jika pH terlalu tinggi maka diturunkan dengan menggunakan larutan 1% HCl, sebaliknya untuk meningkatkan pH larutan digunakan larutan 1% NaOH. Setelah pH larutan media yang diinginkan (5,8) tercapai kemudian ditambahkan phytagel agar 3,5 gram kemudian sempurnakan volume larutan media MS tersebut menjadi 1000 ml dengan menambahkan air destilasi. Larutan media tersebut dimasak dalam microwave sehingga mendidih dan kemudian didistribusikan kedalam tabung reaksi (vessel) dengan volume 12,5 ml. Vessel kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diautoclave dengan suhu 121°C, 1,5 atm selama 30 menit.

Sterilisasi Biji Benih

1. Biji di persiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian dengan tambahan tambahan 10 % sebagai cadangan,
2. Letakkan dalam silinder ukur dan di tutup dengan kertas jaring supaya biji tidak keluar,
3. Gelas ukur yang berisi biji tersebut diletakkan di bawah keran air yang mengalir selama 1 jam,
4. Tiriskan air dan di bawa ke dalam Laminar Air Flow,
5. Bilas dengan air destilasi steril 1 kali,
6. Kemudian biji direndam dengan larutan cloroks 2,5 %,
7. Biji di bilas dengan air destilasi steril sebanyak 5 kali,
8. Biji di cuci dengan cloroks kembali 2 % selama 10 menit,
9. Kemudian bilas dengan air destilasi steril sebanyak 3 kali.
10. Setelah semuanya sudah dilakukan, biji tanaman kubis sudah dapat di germinasikan.

Kultur Germinasi

Biji benih yang telah disterilisasi kemudian digerminasi ke dalam test tube yang berisi $\frac{1}{2}$ MS0 selama 10 hari.

Kultur Inisiasi

Setelah biji berkecambah kemudian diambil kotiledonnya dan dikultur ke dalam petridish yang berisi media MS yang didalamnya terdapat zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP sesuai dengan perlakuan kultur induksi kalus. Eksplan yang kotiledon yang telah diinisiasi diletakkan didalam ruang inkubasi dengan temperatur $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan cahaya lampu TL 12 jam terang dan 12 gelap.

Parameter Pengamatan

Persentase Hidup

Persentase eksplan hidup dihitung 2 minggu sekali berdasarkan jumlah eksplan yang hidup pada setiap perlakuan dibagi dengan total eksplan yang di kultur

Persentase Kalus

Persentase kalus dihitung berdasarkan kotiledon yang membentuk formasi kalus

Persentase Kalus Embriogenik

Persentase kalus embriogenik dilihat berdasarkan jumlah eksplan kotiledon yang membentuk formasi kalus embriogenik yang ditandai dengan ciri-ciri berbentuk nodular dan dengan warna kuning cerah kehijauan dan friable

Berat Kalus (mg)

Berat kalus dihitung berdasarkan eksplan yang membentuk formasi kalus yang dihitung diakhir pengamatan

Volume Kalus (ml)

Volume kalus dihitung berdasarkan eksplan yang membentuk formasi kalus yang dihitung diakhir pengamatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Kalus Hidup

Berdasarkan persentase kalus hidup kotiledon kubis dengan pemberian 2,4-D dan BAP umur 2 sampai dengan 14 minggu setelah kultur menunjukkan keberhasilan dalam pertumbuhan eksplan yang ditandai dengan 100% eksplan yang dikultur keseluruhannya tidak terkontaminasi. Hal ini dikarenakan kondisi aseptik lingkungan kultur dan laboratorium yang terjaga kebersihannya disamping unsur hara makro dan mikro yang terkandung dalam media MS sesuai untuk memenuhi kebutuhan tumbuh eksplan. Faktor lingkungan kultur juga berperan dimana pengaturan suhu 25 ± 2 °C dengan cahaya lampu 12 jam terang dan 12 jam gelap mengindikasikan lingkungan yang sesungguhnya di lapangan sesuai dengan keperluan pertumbuhan tanaman kubis. Menurut Hartman *dkk.* (1997) bahwasanya eksplan yang sukses dikultur (*survive*) berkorelasi dengan kesesuaian media dan zat pengatur tumbuh yang digunakan sehingga eksplan akan tumbuh dengan baik pada keadaan dan lingkungan yang dikehendakinya. Lebih lanjut Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa faktor lingkungan yang sesuai bagi tanaman akan membuat tanaman tumbuh dengan baik.

Menurut pendapat Putri *dkk.* (2013) penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada media dasar MS semua perlakuan konsentrasi mampu mempengaruhi perkembangan eksplan terutama pada variabel pelengkungan dengan kisaran waktu 2 - 4 hari setelah tanam.

Persentase Kalus

Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D memberikan pengaruh nyata pada umur 2, 4, 6 dan 8 MST, perlakuan BAP dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata pada persentase kalus kotiledon kubis. Data pengamatan dan sidik ragamnya dapat dilihat pada lampiran 5-8.

Tabel 1. Persentase Kalus Kotiledon Kubis dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP umur 2, 4, 6 dan 8 MST.

Perlakuan	Minggu Setelah Tanam (MST)			
	2	4	6	8
2.4 D				
(%).....			
D ₀	0.71 b	0.71 b	0.71 b	0.71 b
D ₁	2.75 ab	7.17 a	9.07 a	10.00 a
D ₂	3.24 a	6.97 ab	8.50 ab	8.99 ab
D ₃	2.88 ab	6.03 ab	7.38 ab	7.84 ab
BAP				
B ₀	2.32	4.81	6.08	6.54
B ₁	2.54	5.71	7.07	7.52
B ₂	2.33	5.32	6.41	6.94
B ₃	2.39	5.04	6.10	6.54
Interaksi (2.4-D x BAP)				
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	0.71
D ₁ B ₀	3.23	6.97	9.33	10.02
D ₁ B ₁	2.19	6.73	8.70	9.98

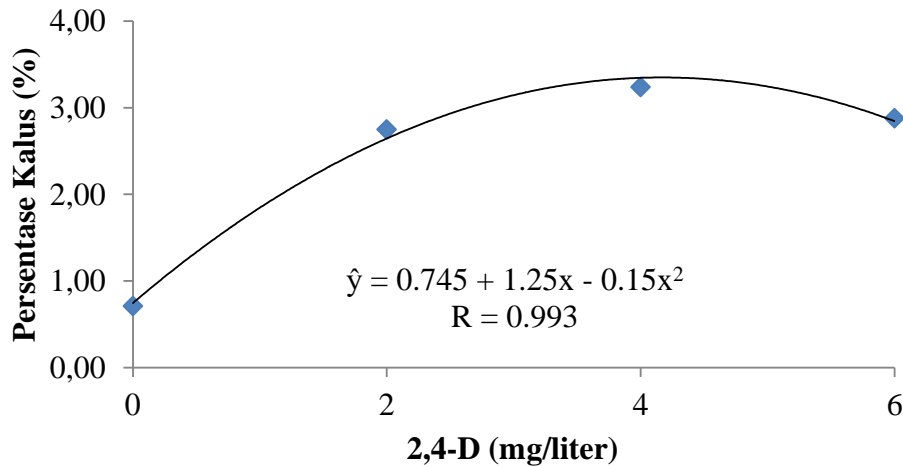
D ₁ B ₂	2.52	6.95	8.67	9.98
D ₁ B ₃	3.06	8.04	9.59	10.02
D ₂ B ₀	2.39	5.53	7.55	8.19
D ₂ B ₁	4.42	8.42	9.79	10.02
D ₂ B ₂	2.86	6.53	7.48	7.94
D ₂ B ₃	3.29	7.41	9.20	9.81
D ₃ B ₀	2.94	6.02	6.73	7.22
D ₃ B ₁	2.82	7.00	9.10	9.36
D ₃ B ₂	3.24	7.10	8.80	9.13
D ₃ B ₃	2.51	4.01	4.90	5.62

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada kolom yang sama berbeda nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 1. Pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap parameter persentase kalus kotiledon kubis pada umur 8 MST. Data tertinggi terdapat pada perlakuan D₁ (10.00 %) berbeda tidak nyata dengan D₂ (8.99 %) dan D₃ (7.84%), namun perlakuan D₁ berbeda nyata dengan perlakuan D₀ yang memiliki persentase kalus terendah yaitu (0.71 %). Hal ini dikarenakan auksin 2,4-D berfungsi dalam pembentukan kalus dari eksplan. Widiastoety, 2014 menyatakan bahwa penggunaan ZPT auksin dapat merangsang pertumbuhan kalus. Zat pengatur tumbuh 2,4-D termasuk golongan auksin dimana auksin ini berfungsi dalam meningkatkan tekanan osmotik, mengurangi tekanan pada dinding sel, meningkatkan plastisitas dan mengembangkan dinding sel, serta meningkatkan sintesis protein. Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksi. Auksin mempunyai peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspense dan akar.

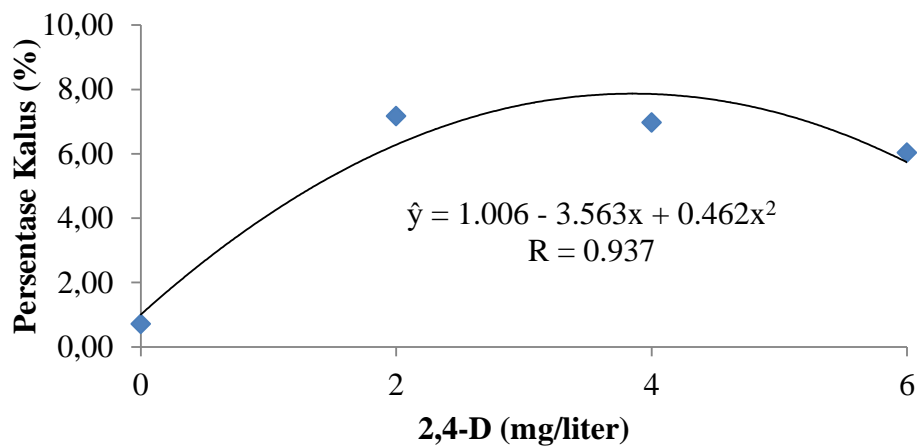
Hasil tertinggi pada perlakuan BAP umur 2 MST adalah B₁ (2.54 %) dan terendah B₀ (2.32 %), pada umur 4 MST adalah B₁ (5.71) dan terendah B₀ (4.81), pada umur 6 MST adalah B₁ (7.07) dan terendah B₀ (6.08), pada umur 8 MST adalah B₁ (7.52) dan terendah B₀ (6.54).

Hubungan jumlah persentase kalus dengan perlakuan 2,4-D dapat dilihat pada Gambar 1. Sampai 4.



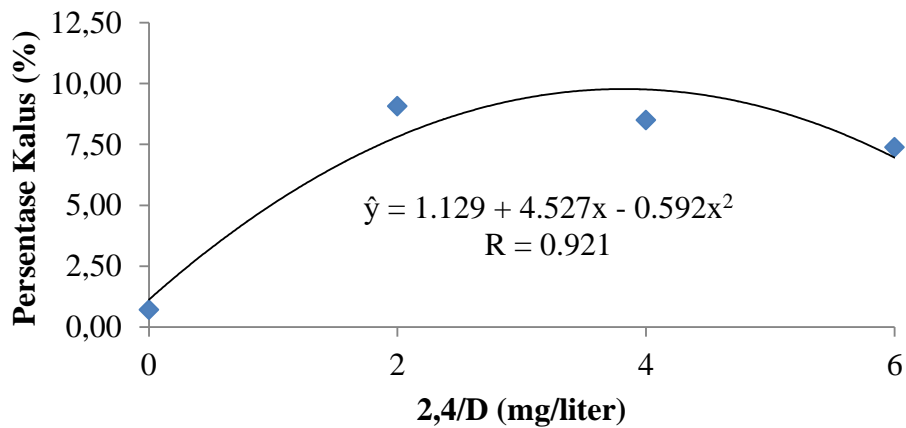
Gambar 1. Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 2 MST.

Pada Gambar 1. Persentase kalus tanaman kubis umur 2 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 0.745 + 1.25x - 0.15x^2$ dengan nilai $R = 0.993$ serta nilai x maksimum = 4.1 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 4,1 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus optimum 3.35 %.



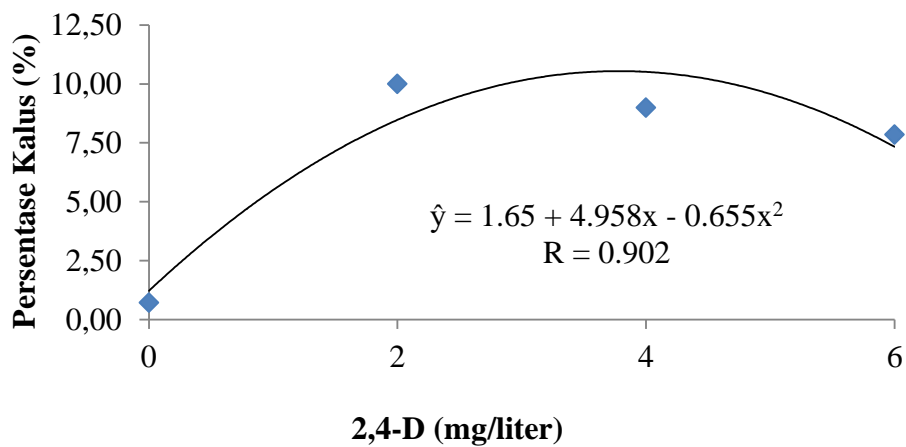
Gambar 2. Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 4 MST.

Pada Gambar 2. Persentase kalus tanaman kubis umur 4 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 1.006 + 3.563x - 0.462x^2$ dengan nilai $R = 0.937$ serta nilai x maksimum = 3.85 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 3.85 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus optimum 7.87 %.



Gambar 3. Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 6 MST.

Pada Gambar 3. Persentase kalus tanaman kubis umur 6 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 1.129 - 4.527x + 0.592x^2$ dengan nilai $R = 0.921$ serta nilai x maksimum = 4.81 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 4.81 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus optimum 8 %.



Gambar 4. Hubungan Persentase Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 8 MST.

Pada Gambar 4. Persentase kalus tanaman kubis umur 8 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 1.65 + 4.958x - 0.655x^2$ dengan nilai $R = 0.902$ serta nilai $x = 3.8$ yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 4.81 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus optimum 11 %.

Hal ini disebabkan karena adanya perlakuan 2,4-D yang mampu memenuhi kebutuhan unsur hara bagi eksplan kotiledon kubis dalam pembentukan kalus. Menurut Li *dkk.*, (2017) bahwa induksi kalus merupakan langkah pertama perbanyakan secara *in vitro*, dan faktor pengaruh utama pembentukan kalus adalah genotipe eksplan, medium dasar, hormon, serta jenis eksplan yang digunakan.

Menurut Sitanggang *dkk.*, (2015) pengaruh yang tidak nyata dari aplikasi BAP disebabkan proses fisiologis tanaman telah berjalan dengan baik sehingga BAP tidak memberikan pengaruh yang berarti. Hal ini dikarenakan sifat BAP hanya sebagai biostimulan dalam proses fisiologis tanaman.

Persentase Kalus Embriogenik

Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D memberikan pengaruh nyata pada umur 9, 11 dan 13 MST, perlakuan BAP dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata pada persentase kalus embriogenik kotiledon kubis. Data pengamatan dan sidik ragamnya dapat dilihat pada lampiran 9-11.

Tabel 2. Persentase Kalus Embriogenik dengan Pemberian 2,4 D dan BAP pada Umur 9, 11 dan 13 MST

Perlakuan	Minggu Setelah Tanam (MST)		
	9	11	13
2.4 D			
(%).....		
D0	0.71 c	0.71 c	0.71 c
D1	5.99 a	7.80 a	8.74 a
D2	5.28 ab	7.47 ab	7.75 ab
D3	3.54 b	5.09 b	4.94 b
BAP			
B0	3.56	4.69	5.29
B1	4.91	6.22	6.66
B2	3.50	4.99	4.92
B3	3.54	5.17	5.27
Interaksi (2.4-D x BAP)			
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	30.00	45.00	61.67
D ₁ B ₁	41.67	63.33	90.00
D ₁ B ₂	41.67	78.33	81.67
D ₁ B ₃	32.50	68.33	75.00
D ₂ B ₀	25.00	51.67	58.33
D ₂ B ₁	57.50	90.00	93.33
D ₂ B ₂	10.00	25.00	30.00
D ₂ B ₃	36.67	71.67	71.67
D ₃ B ₀	13.33	26.67	30.00
D ₃ B ₁	31.67	51.67	51.67
D ₃ B ₂	16.67	30.00	23.33
D ₃ B ₃	5.00	11.67	11.67

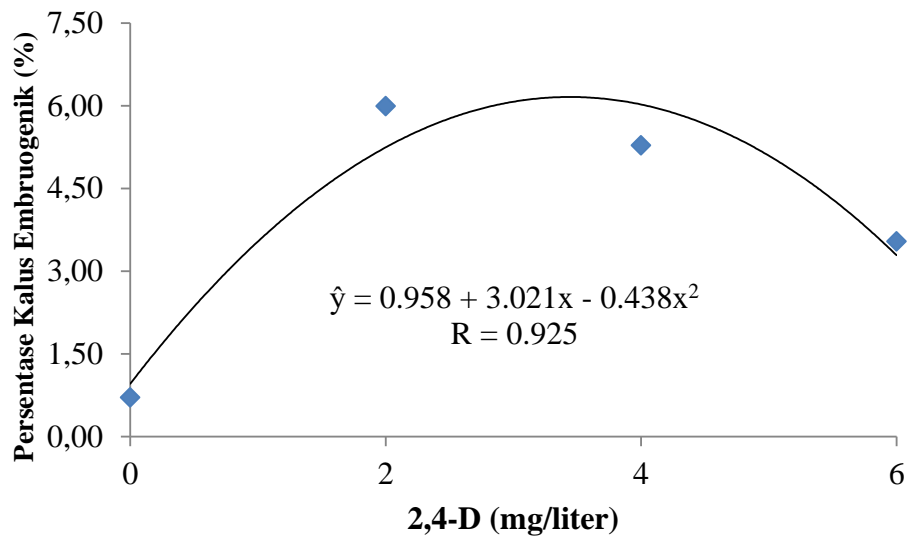
Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada kolom yang sama berbeda nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 2. Pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap parameter persentase kalus embriogenik pada umur 13 MST. Data tertinggi terdapat pada perlakuan D₁ (8.74 %) berbeda tidak nyata dengan D₂ (7.75 %) dan D₃ (4.94 %), namun perlakuan D₁ berbeda nyata dengan perlakuan D₀ yang

memiliki persentase kalus terendah yaitu (0.71 %). Hal ini dikarenakan kurang baiknya pertumbuhan dari eksplan yang diambil dan dosis 2,4-D dan BAP yang kurang optimal untuk pertumbuhan. Menurut Yuniastuti *dkk.* (2010) auksin berpengaruh inisiasi kalus embriogenik. Jenis auksin yang paling sering dipakai adalah 2,4-D karena efektifitasnya tinggi. 2,4-D merupakan golongan auksin yang berfungsi dalam pembelahan sel, peranannya yang terpenting yaitu menginduksi kalus dan memecah dormansi sel, pada meristem apikal tanaman.

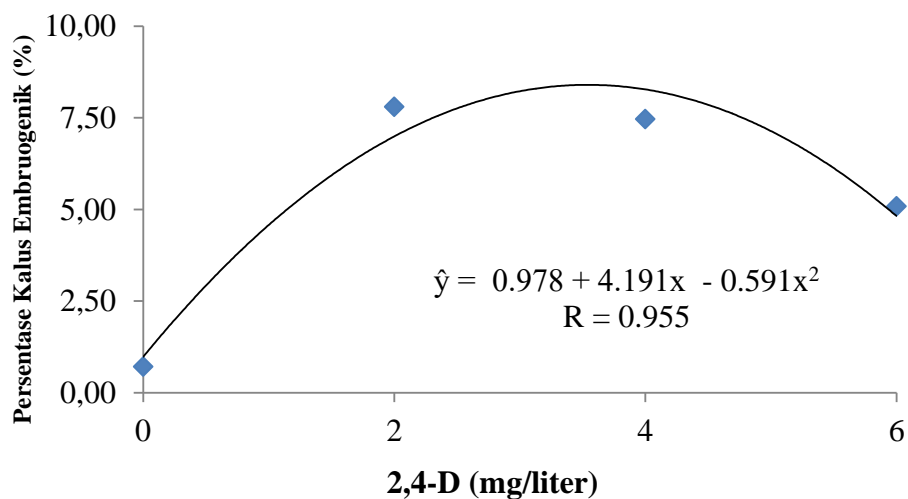
Menurut Zimmerman (1993), Suatu jaringan tanaman dapat diregenerasikan secara *in vitro* melalui dua cara yaitu organogenesis atau morfogenesis tunas dan embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik merupakan proses dimana sel somatik dalam kondisi terinduksi akan menghasilkan sel-sel embriogenik, yang akan mengalami serangkaian perubahan morfologi dan biokimia dan akhirnya terbentuk embrio somatik. Morfogenesis adalah proses pertumbuhan dan diferensial sel-sel individu menjadi jaringan kemudian menjadi organ dan akhirnya menjadi organisme yang dapat dikenali, jaringan embrio permanen menghasilkan morfogenetik potensial yang bervariasi dengan lingkungan dan terus menghasilkan organ baru sepanjang kehidupan tanaman tersebut. Kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam memperbanyak tanaman secara klonal untuk memperbanyak masal. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam.

Hubungan persentase kalus embriogenik dengan perlakuan 2,4-D dapat dilihat pada Gambar 5. Sampai 7.



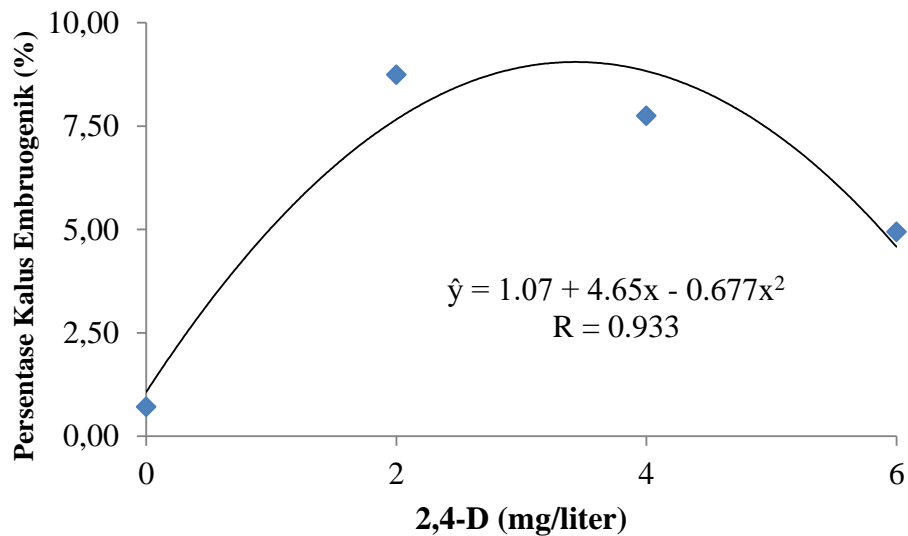
Gambar 5. Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 9 MST.

Pada Gambar 5. Persentase kalus embriogenik tanaman kubis umur 9 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 0.958 + 3.021x - 0.438x^2$ dengan nilai $R = 0.925$ serta nilai x maksimum = 3.44 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 3.44 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus embriogenik optimum 6.16 %.



Gambar 6. Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 11 MST.

Pada Gambar 6. Persentase kalus embriogenik tanaman kubis umur 11 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 0.978 + 4.191x - 0.591x^2$ dengan nilai $R = 0.955$ serta nilai x maksimum = 4.03 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 4.03 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus embriogenik optimum 9.43 %.



Gambar 7. Hubungan Persentase Kalus Embriogenik dengan Perlakuan 2,4-D umur 13 MST.

Pada Gambar 7. Persentase kalus embriogenik tanaman kubis umur 13 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 1.07 + 4.65x - 0.677x^2$ dengan nilai $R = 0.933$ serta nilai x maksimum = 3.44 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 3.44 mg/liter akan menghasilkan persentase kalus embriogenik optimum 9.05 %.

Hasil tertinggi pada perlakuan BAP pada umur 13 MST adalah B_1 (6,66) dan terendah B_2 (4,92). Hal ini mengidentifikasi bahwa hormon 2,4-D yang digunakan untuk merangsang terjadinya proses kalogenesis dan embryogenesis baik secara langsung maupun tidak langsung. Hasil tersebut senada dengan

penelitian Hofmann *dkk.* (2004), yang menunjukkan bahwa frekuensi embryogenesis secara nyata dipengaruhi oleh genotipe, kandungan sukrosadan jenis auksin yang digunakan dalam induksi embrio somatik hormon 2,4-D cenderung menginduksi embrio somatik secara tidak langsung melalui fase kalus sehingga jumlah embrio yang dihasilkan cukup banyak. Pembentukan kalus embriogenik tidak terlalu dipengaruhi oleh kadar sitokinin (BAP) yang ditambahkan pada media sesuai dengan pernyataan George (1993), untuk menginduksi kalus peranan sitokinin tidak terlalu penting.

Berat Kalus (g)

Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D memberikan pengaruh nyata pada berat kalus umur 14 MST, perlakuan BAP dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata pada berat kalus kotiledon kubis. Data pengamatan dan sidik ragamnya dapat dilihat pada lampiran 12.

Tabel 3. Berat Kalus Kotiledon Kubis dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP umur 14 MST

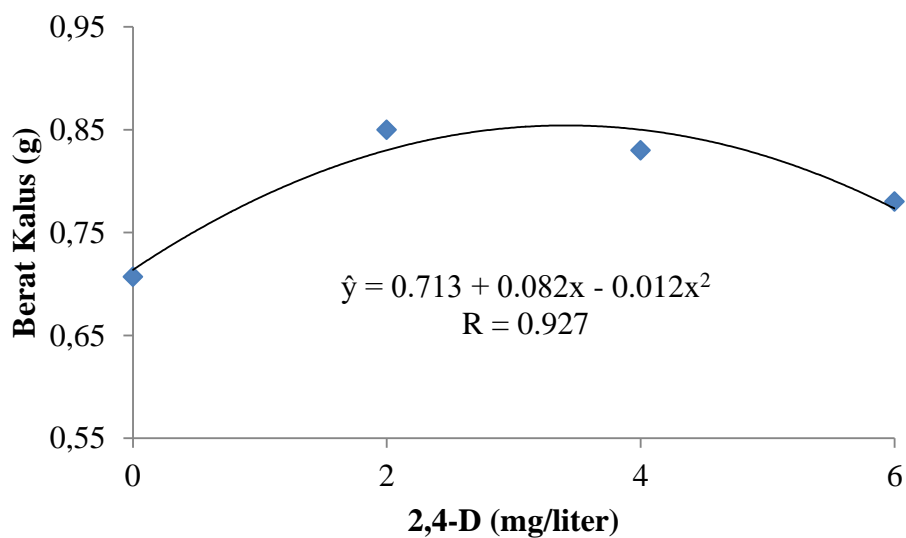
Perlakuan BAP	2,4-D				Rataan
	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	
B ₀	0.71	0.87	0.81	0.76	0.79
B ₁	0.71	0.86	0.86	0.82	0.81
B ₂	0.71	0.81	0.80	0.77	0.77
B ₃	0.71	0.85	0.84	0.77	0.79
Rataan	0.71 b	0.85 a	0.83 ab	0.78 ab	0.79

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada kolom yang sama berbeda nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 3. Pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap parameter berat kalus pada umur 14 MST. Data tertinggi terdapat pada perlakuan D₁ (0.85 g) berbeda tidak nyata dengan D₂ (0.83 g) dan D₃ (0.78 g), namun perlakuan D₁ berbeda nyata dengan perlakuan D₀ yang memiliki berat kalus

terendah yaitu (0.71 g). Hal ini terjadi karena tipe morfogenesis pada kultur jaringan sangat tergantung pada rasio antara auksin dan sitokinin yang diberikan. Kalus akan terbentuk jika terdapat rasio auksin dan sitokinin yang lebih tinggi. Konsentrasi auksin dan sitokinin yang berbeda mengakibatkan arah pertumbuhan yang berbeda sekalipun rasionya dalam jumlah yang sama. Untuk meningkatkan jumlah embrio dalam proses embriogenesis somatik, selain memperhatikan keseimbangan zat pengatur tumbuh, perlu mengatur keseimbangan ammonium (N) dari N tereduksi dan N teroksidasi, mengatur konsentrasi sumber energi, dan asam amino.

Hubungan berat kalus dengan perlakuan 2,4-D dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hubungan Berat Kalus dengan Perlakuan 2,4-D umur 14 MST.

Pada Gambar 8. Berat kalus tanaman kubis umur 14 MST menunjukkan hasil kuadratik positif dengan persamaan $\hat{y} = 0.713 + 0.082x - 0.012x^2$ $R = 0.927$ serta nilai x maksimum = 3.41 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 3.41 mg/liter akan menghasilkan berat kalus optimum 0.86 gram.

Hasil tertinggi pada perlakuan BAP B₁ (0,81 g) dan terendah B₂ (0,77 g). Dari hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan BAP tidak berpengaruh nyata pada tabel 3. Hal ini dipengaruhi hormon 2,4-D yang mampu diserap eksplan dalam pembentukan berat kalus. Menurut Rusdianto. (2012) Berat kalus secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Berat kalus yang dihasilkan tergantung pada kecepatan sel membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan pembesaran kalus. Perbedaan berat kalus pada eksplan disebabkan oleh kandungan air yang berbeda-beda pada setiap eksplan. Selain itu semua jaringan atau eksplan memiliki kemampuan menyimpan air yang tidak sama.

Volume Kalus (ml³)

Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D berpengaruh nyata pada parameter volume kalus, namun BAP dan interaksi antara kedua perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata pada volume kalus umur 14 MST, Data pengamatan dan sidik ragamnya dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 4. Volume Kalus Kotiledon Kubis dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP umur 13 MST

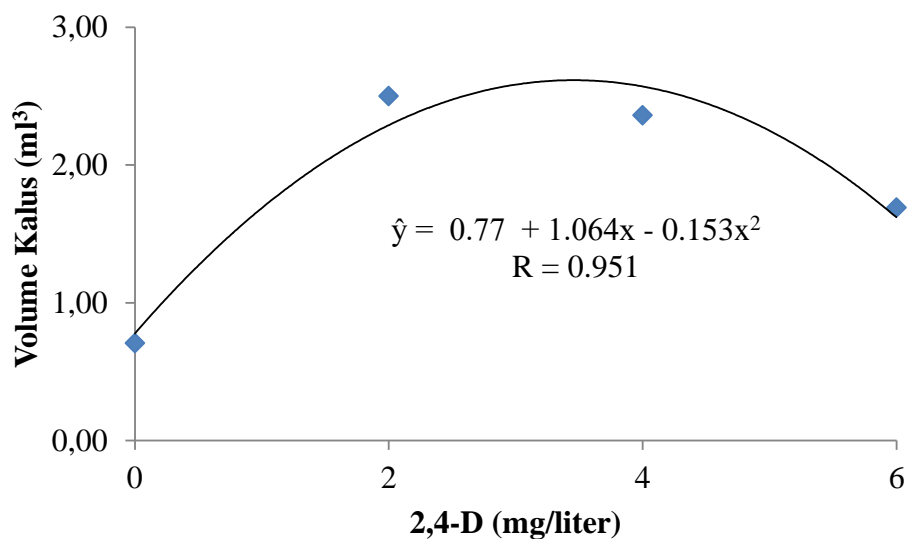
Perlakuan BAP	2,4-D				Rataan
	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	
(ml ³).....				
B ₀	0.71	2.35	2.00	1.39	1.61
B ₁	0.71	2.52	2.75	2.28	2.06
B ₂	0.71	2.67	1.91	1.74	1.76
B ₃	0.71	2.44	2.79	1.35	1.82
Rataan	0.71 b	2.50 a	2.36 ab	1.69 ab	1.81

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang tidak sama pada kolom yang sama berbeda nyata menurut uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 4. Pemberian 2,4-D berpengaruh nyata terhadap parameter volume kalus pada umur 14 MST. Data tertinggi terdapat pada

perlakuan D₁ (2.50 ml³) berbeda tidak nyata dengan D₂ (2.36 ml³) dan D₃ (1.69 ml³), namun perlakuan D₁ berbeda nyata dengan perlakuan D₀ yang memiliki volume kalus terendah yaitu (0.71 ml³). Hal ini dikarenakan kurang baiknya pertumbuhan dari eksplan kalus yang kurang optimal dalam penyerapan dosis yang diberikan. Terbentuknya kalus yang dihasilkan karena pertumbuhan eksplan pada kultur jaringan dipengaruhi oleh media yang digunakan pada konsentrasi zat pengatur tumbuh. Pemilihan konsentrasi dan jenis auksin ditentukan antara lain oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikehendaki. Menurut Sellars *dkk.* (1990) penggunaan auksin dengan daya aktivitas kuat (antara lain 2,4-D, NAA atau dikombinasikan dengan sitokinin dengan konsentrasi rendah) umumnya digunakan untuk induksi kalus embriogenik. Selain itu, jenis dan konsentrasi hormon, jenis asam amino serta rasio auksin dan sitokinin sangat menentukan dalam menginduksi pembentukan kalus.

Hubungan volume kalus dengan perlakuan 2,4-D yang dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan Volume Kalus dengan perlakuan 2,4-D umur 14 MST.

Pada Gambar 9. Volume kalus tanaman kubis umur 14 MST menunjukkan hasil kuadrat positif dengan persamaan $\hat{y} = 0.77 + 1.064x - 0.153x^2$ $R = 0.951$ serta nilai x maksimum = 3.47 yang berarti dengan perlakuan 2,4-D 3.47 mg/liter akan menghasilkan volume kalus optimum 2.62 ml³.

Volume tertinggi adalah D₂ (2,4-D), hal ini disebabkan karena pemberian konsentrasi yang tepat akan membuat volume kalus meningkat dikarenakan cocoknya pemberian konsentrasi pada dosis tersebut. Kemungkinan hal tersebut berhubungan dengan kemampuan masing-masing varietas dalam membentuk kalus serta formulasi media yang digunakan dalam menginduksi pembentukan volume kalus. Varietas yang lebih responsif menghasilkan ukuran kalus yang lebih besar, demikian pula dengan perlakuan formulasi media yang digunakan. Menurut Yoshida (1995). Kalus yang berukuran 1-2 mm merupakan kalus yang terbaik untuk dipindahkan ke medium regenerasi, sedangkan kalus yang berukuran kurang dari 1 mm akan sulit beregenerasi atau mati. Menurut Wattimena (1992), sitokinin berperan dalam memperlambat proses pembentukan volume kalus dengan menghambat perombakan butir-butir klorofil dan protein dalam sel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Keberhasilan hidup eksplan sebesar 100% dengan pemberian konsentrasi 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*).
2. Perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 2-4 mg/l memberikan pengaruh terbaik terhadap persentase kalus (85-99%), persentase kalus embriogenik (63-77%), berat kalus (0,18-0,22 mg) dan volume kalus (5,82-5,84 ml).
3. Perlakuan BAP serta interaksi 2,4-D dan BAP tidak berpengaruh terhadap semua variabel yang diamati.

Saran

1. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pada penggunaan BAP dengan kisaran konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan kalus dari kotiledon kubis.
2. Penelitian perlakuan BAP dengan jenis auksin lainnya perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap induksi kalus kotiledon tanaman kubis.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A.M., E. Faridah., S. Indrioko., dan T. Herawan. 2017. Induksi Tunas, Multiplikasi dan Perakaran *Gyrinops Versteegii* (Gilg.) Domke secara In Vitro. Jurnal Pemuliaan Tanaman Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Bhojwani, S.S., dan M.K. Razdan. 1983. Clonal Propagation in Plant Tissue Culture Theory and Practice. Elsevier Publisher. New York.
- Endang, G.L. 2010. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Erida, N, H.A.R. Hasinah., dan S. Mulyani. 2010. Pertumbuhan dan Hasil Kubis Bunga Akibat Pemberian Pupuk Organik Cair Nasa dan Zat Pengatur Tumbuh Hormonik. Jurnal Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- George, F.F., dan Sherrington. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetic Ltd. England.
- Giarsiana, H. 2016. Ketahanan Kultur Kencur Agroteknologi Secara In Vitro Pada Konsentrasi Sterilan dan Jenis Eksplan Yang Berbeda. Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto.
- Harder, R., W. Schumacher., dan F. Firbas. 2010. Strasburger's Textbook of Botany. Longman Group Limited. London.
- Haris, P.S., B. Asil., dan Irsal. 2015. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh dan Sumber Bud Chips Terhadap Pertumbuhan Bibit Tebu (*Saccharum officinarum*) di Pottray. Jurnal Online Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan
- Hartman, B.N., D.E. Kester., F.T.J. Davies., dan R.L. Geneve. 1997. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall International Inc. London.

- Hendaryono, S.P.D., dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hofmann, N., R.L. Nelson., dan S.S. Korban. 2004. Influence of Media Components and pH on Somatic Embryo Induction in Three Genotypes of Soybean. Journal Agricultural Research Service Department of Agriculture. USA.
- Kirti, P.B., dan V.L. Chopra. 1990. Rapid Plant Regeneration Through Organogenesis and Somatic Embryogenesis from Cultured Protoplasts of *Brassica juncea*. Journal Biotechnology Centre Indian Agricultural Research Institute New Delhi. India.
- Li, G., L. Wang., Y. Liu., Y. Li., X. Yang., Q. Zhan., J. Zheng., dan J. Li. 2017. Construction of an Efficient Tissue Culture System for Sorghum Using Mature Embryos. Journal Anhui Science and Technology University Fengyang. China.
- Munshi, M.K., P.K. Roy., M.H. Kabir, dan G. Ahmed. 2007. In Vitro Regeneration of Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. Capitata) through Hypocotyl and Cotyledon Culture. Journal Institute of Food and Radiation Biology Atomic Energy Research. Bangladesh.
- Panjaitan, S.B., S.N.A. Abdullah., M.A. Aziz., S. Meon., dan O. Omar. 2009. Somatic Embryogenesis from Scutellar Embryo of *Oryza sativa* L. var. MR219. Pertanika Jurnal Tropikal Agricultural Sciences Selangor. Malaysia
- Phillips, G.C., J.F. Hubstenberger., dan E.E. Hansen. 1995. Plant Regeneration from Callus and Cell Suspension Cultures by Somatic Embryogenesis in Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Fundamental Methods. Springer-Verlag Berlin Heidenlberg. Germany.
- Pierik, R.L.M. 1989. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publisher. Netherland.
- Putri, I.A.D., R. Dwiyani., dan H. Yuswanti. 2013. Induksi Kalus dengan 2,4-D pada Mikropropagasi Tanaman Stroberi. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Bali.
- Razdan, M.K. 2005. Media in Introduction to Plant Tissue Culture. 2nd Edition Science Publishers, Inc. USA.
- Rubatzky, V.E., dan M. Yamaguchi. 2001. Sayuran Dunia. Jilid II. Prinsip, Produksi dan Gizi. Edisi II Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Rusdianto dan A. Indrianto. 2012. Induksi Kalus Embriogenik Pada Wortel (*Daucus carota*) Menggunakan 2,4 D. Jurnal Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Sellars, R.M., G.M. Southward., dan G.C. Philips. 1990. Adventitious Somatic Embryogenesis from Culture Immaturezygotic Embryos of Peanut and Soybean. Journal University Nebraska-Lincoln. USA.
- Sitanggang, A., Islan dan S.I. Saputra. 2015. Pengaruh Pemberian Pupuk Kandang Ayam dan Zat Pengatur Tumbuh BAP Terhadap Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.). Jurnal Online Mahasiswa Universitas Riau. Pekanbaru.
- Tuhuteru, S.M.L., S.H.T. Hehanussa., dan Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur In Vitro Dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. Jurnal Jurusan Budidaya Fakultas Pertanian Universitas Pattimura. Ambon.
- Wattimena. 1992. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Widiastoety, D. 2014. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Mokara. Balai Penelitian Tanaman Hias Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Cianjur.
- Yoshida, T. 1995. Relationship Between Callus Size and Plant Regeneration in Rice (*Oryza sativa* L.) Anther Culture. Journal Department of Crop Breeding National Agriculture Research Centre Tsukuba. Japan
- Yuniastuti, E., Praswanto dan I. Harminingsih. 2010. Pengaruh Konsentrasi BAP Terhadap Multiplikasi Tunas (*Anthurium andraeanum* Linden) Pada Beberapa Media Dasar Secara In Vitro. Jurnal Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Zimmerman, J.L. 1993. Somatic embryogenesis: A Model for Early Development in Higher Plants. Journal Department of Biological University Maryland Baltimore. Maryland.
- Zulkarnain, H. 2009. Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. PT. Bumi Aksara. Jakarta.

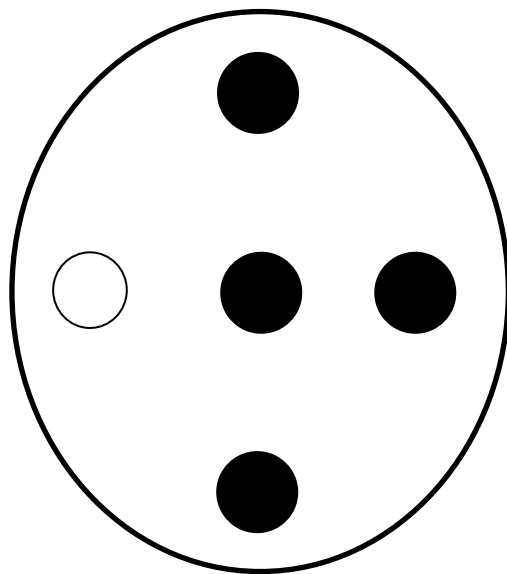
LAMPIRAN

Lampiran 1. Denah Penelitian



Keterangan : Gambar denah penelitian

Lampiran 2. Bagan Letak Tanaman Sampel



Keterangan:

● = Tanaman sampel



= Bukan tanaman sampel



= Bagan botol eksplan

Lampiran 3. Komposisi Media Murashige dan Skoog

No.	Element	1 X (mgL ⁻¹)	gL ⁻¹	Note
1	Macro elements		10X	Stock solution kept in freezer at 4°C
	Calcium Chloride <i>CaCl₂</i>	332.02	3.3202	
	Potassium Dihydrogen Phosphate <i>KH₂PO₄</i>	170.00	1.7	
	Potassium Nitrate <i>KNO₃</i>	1900.00	19	
	Magnesium Sulfate <i>MgSO₄</i>	180.00	1.8	
	Ammonium Nitrate <i>NH₄NO₃</i>	1650.00	16.5	
2	Micro elements		1000X	Stock solution kept in freezer at 4°C
	Cobalt Chloride <i>CoCl₂ 6H₂O</i>	0.025	0.025	
	Cuprum Sulfate <i>CuSO₄ 5H₂O</i>	0.025	0.025	
	Boric Acid H₃BO₃	6.20	6.2	
	Potassium Iodide KI	0.83	0.83	
	Manganese Sulfate <i>MnSO₄ 4H₂O</i>	16.90	16.9	
	Sodium Molybdate <i>Na₂MoO₄ 2H₂O</i>	0.25	0.25	
	Zinc Sulfate <i>ZnSO₄ 7H₂O</i>	8.60	8.6	
3	Vitamins		100X	Kept in freezer at 4°C and stock solution placed in dark bottle
	Glycine <i>C₂H₅NO₂</i>	2.00	0.2	
	Nicotinic Acid <i>C₆H₅NO₂</i>	0.50	0.05	
	Pyridoxine <i>C₈H₁₁NO₃</i>	0.50	0.05	
	Thiamine <i>C₁₂H₁₇CIN₄O₅</i>	0.10	0.01	
4	Iron		100X	

	Disodium ethylenediaminetetraacetic acid Na_2EDTA	37.25	3.725	Stock solution kept in freezer at 4°C
	Ferrous Sulfate $FeSO_4 7H_2O$	27.85	2.785	
5	Other			Added each time when making medium
	Myo-inositol	100	0.1	
	Sucrose	30,000	30	

Sumber : Murashige dan Skoog 1962

Lampiran 4. Deskripsi Tanaman Kubis (*Brassica oleracea*)

Varietas : Red Globe

Nama latin : *Brassica oleracea*

Jenis Tanaman : Semusim

Warna : Hijau Cerah

Daun : Bulat telur (oval) , jumlah daun 10-13 helai dan panjang daun 18,5 cm, lebar daun 15 cm, dan tinggi tanaman kubis 23-26 cm.

Permukaan daun : Halus dan lemas

Bulu : Tidak berbulu

Panjang : Panjang tegap

Alat produksi : Biji

Panen : 28 hari setelah tanam

Potensi budidaya : Dataran rendah dan dataran tinggi

Produksi : 667.473 ton/tahun

Lampiran 5. Data Rataan Persentase Kalus Umur 2 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	7.50	11.25	11.25	30.00	10.00
D ₁ B ₁	1.25	15.00	1.25	17.50	5.83
D ₁ B ₂	0.00	17.50	6.25	23.75	7.92
D ₁ B ₃	0.00	17.50	17.50	35.00	11.67
D ₂ B ₀	0.00	11.25	8.75	20.00	6.67
D ₂ B ₁	15.00	20.00	22.50	57.50	19.17
D ₂ B ₂	15.00	0.00	15.00	30.00	10.00
D ₂ B ₃	12.50	11.25	7.50	31.25	10.42
D ₃ B ₀	11.25	5.00	8.75	25.00	8.33
D ₃ B ₁	8.75	7.50	6.25	22.50	7.50
D ₃ B ₂	15.00	5.00	11.25	31.25	10.42
D ₃ B ₃	5.00	5.00	7.50	17.50	5.83
Total	91.25	126.25	123.75	341.25	
Rataan	5.70	7.89	7.73		7.11

Lampiran 6. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71

D ₁ B ₀	2.83	3.43	3.43	9.68	3.23
D ₁ B ₁	1.32	3.94	1.32	6.58	2.19
D ₁ B ₂	0.71	4.24	2.60	7.55	2.52
D ₁ B ₃	0.71	4.24	4.24	9.19	3.06
D ₂ B ₀	0.71	3.43	3.04	7.18	2.39
D ₂ B ₁	3.94	4.53	4.80	13.26	4.42
D ₂ B ₂	3.94	0.71	3.94	8.58	2.86
D ₂ B ₃	3.61	3.43	2.83	9.86	3.29
D ₃ B ₀	3.43	2.35	3.04	8.81	2.94
D ₃ B ₁	3.04	2.83	2.60	8.47	2.82
D ₃ B ₂	3.94	2.35	3.43	9.71	3.24
D ₃ B ₃	2.35	2.35	2.83	7.52	2.51
Total	33.33	40.63	40.92	114.88	
Rataan	2.08	2.54	2.56		2.39

Lampiran 7. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 2 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	2.31	1.16	1.11 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	56.72	3.78	3.63 ^{**}	2.01	2.70
D	3	47.05	15.68	15.05 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	176.19	176.19	169.08 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	208.66	208.66	200.24 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	1.77	1.77	1.70 ^{tn}	4.17	7.56
Galat	30	31.26	1.04			
Total	47	90.29				

Keterangan

tn : Tidak Nyata

** : Sangat Nyata

KK : 6.57 %

Linear : 0.901

Kuadratik: 0.993

Kubik : 0.923

Lampiran 8. Data Rataan Persentase Kalus Umur 4 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	50.00	62.50	33.75	146.25	48.75
D ₁ B ₁	33.75	81.25	27.50	142.50	47.50
D ₁ B ₂	27.50	87.50	37.50	152.50	50.83
D ₁ B ₃	50.00	75.00	68.75	193.75	64.58

D ₂ B ₀	25.00	62.50	12.50	100.00	33.33
D ₂ B ₁	75.00	56.25	81.25	212.50	70.83
D ₂ B ₂	75.00	8.75	61.25	145.00	48.33
D ₂ B ₃	62.50	45.00	56.25	163.75	54.58
D ₃ B ₀	11.25	56.25	50.00	117.50	39.17
D ₃ B ₁	40.00	56.25	50.00	146.25	48.75
D ₃ B ₂	56.25	43.75	50.00	150.00	50.00
D ₃ B ₃	43.75	5.00	8.75	57.50	19.17
Total	550.00	640.00	537.50	1727.50	
Rataan	34.38	40.00	33.59		35.99

Lampiran 9. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	7.11	7.94	5.85	20.90	6.97
D ₁ B ₁	5.85	9.04	5.29	20.19	6.73
D ₁ B ₂	5.29	9.38	6.16	20.84	6.95
D ₁ B ₃	7.11	8.69	8.32	24.12	8.04
D ₂ B ₀	5.05	7.94	3.61	16.59	5.53
D ₂ B ₁	8.69	7.53	9.04	25.26	8.42
D ₂ B ₂	8.69	3.04	7.86	19.59	6.53
D ₂ B ₃	7.94	6.75	7.53	22.22	7.41
D ₃ B ₀	3.43	7.53	7.11	18.07	6.02
D ₃ B ₁	6.36	7.53	7.11	21.00	7.00
D ₃ B ₂	7.53	6.65	7.11	21.29	7.10
D ₃ B ₃	6.65	2.35	3.04	12.04	4.01
Total	82.53	87.20	80.86	250.58	
Rataan	5.16	5.45	5.05		5.22

Lampiran 10. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	1.35	0.68	0.28	3.32	5.39
Perlakuan	15	370.03	24.67	10.28	2.01	2.70
D	3	334.77	111.59	46.52	2.92	4.51
Linier	1	896.56	896.56	373.79	4.17	7.56

Kuadratik	1	1971.78	1971.78	822.06	4.17	7.56
Kubik	1	126.16	126.16	52.60	4.17	7.56
Galat	30	71.96	2.40			
Total	47	443.34				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.49 %				
	Linear	: 0.913				
	Kuadratik	: 0.937				
	Kubik	: 0.905				

Lampiran 11. Data Rataan Persentase Kalus Umur 6 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	85.00	92.50	82.50	260.00	86.67
D ₁ B ₁	66.25	97.50	63.75	227.50	75.83
D ₁ B ₂	60.00	97.50	68.75	226.25	75.42
D ₁ B ₃	82.50	100.00	92.50	275.00	91.67
D ₂ B ₀	75.00	100.00	15.00	190.00	63.33
D ₂ B ₁	100.00	86.25	100.00	286.25	95.42
D ₂ B ₂	90.00	8.75	97.50	196.25	65.42
D ₂ B ₃	92.50	81.25	78.75	252.50	84.17
D ₃ B ₀	6.25	75.00	78.75	160.00	53.33
D ₃ B ₁	90.00	75.00	82.50	247.50	82.50
D ₃ B ₂	95.00	62.50	75.00	232.50	77.50
D ₃ B ₃	82.50	5.00	10.00	97.50	32.50
Total	925.00	881.25	845.00	2651.25	
Rataan	57.81	55.08	52.81		55.23

Lampiran 12. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71

D ₁ B ₀	9.25	9.64	9.11	28.00	9.33
D ₁ B ₁	8.17	9.90	8.02	26.09	8.70
D ₁ B ₂	7.78	9.90	8.32	26.00	8.67
D ₁ B ₃	9.11	10.02	9.64	28.78	9.59
D ₂ B ₀	8.69	10.02	3.94	22.65	7.55
D ₂ B ₁	10.02	9.31	10.02	29.36	9.79
D ₂ B ₂	9.51	3.04	9.90	22.45	7.48
D ₂ B ₃	9.64	9.04	8.90	27.59	9.20
D ₃ B ₀	2.60	8.69	8.90	20.19	6.73
D ₃ B ₁	9.51	8.69	9.11	27.31	9.10
D ₃ B ₂	9.77	7.94	8.69	26.40	8.80
D ₃ B ₃	9.11	2.35	3.24	14.70	4.90
Total	106.00	101.38	100.63	308.00	
Rataan	6.62	6.34	6.29		6.42

Lampiran 13. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	1.06	0.53	0.14 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	588.20	39.21	10.73 ^{**}	2.01	2.70
D	3	539.33	179.78	49.20 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	1363.37	1363.37	373.09 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	3239.81	3239.81	886.59 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	252.68	252.68	69.15 ^{**}	4.17	7.56
Galat	30	109.63	3.65			
Total	47	698.88				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.50 %				
	Linear	: 0.919				
	Kuadratik	: 0.921				
	Kubik	: 0.910				

Lampiran 14. Data Rataan Persentase Kalus Umur 8 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	100.00	100.00	100.00	300.00	100.00
D ₁ B ₁	97.50	100.00	100.00	297.50	99.17

D ₁ B ₂	97.50	100.00	100.00	297.50	99.17
D ₁ B ₃	100.00	100.00	100.00	300.00	100.00
D ₂ B ₀	100.00	100.00	20.00	220.00	73.33
D ₂ B ₁	100.00	100.00	100.00	300.00	100.00
D ₂ B ₂	100.00	13.75	100.00	213.75	71.25
D ₂ B ₃	100.00	100.00	87.50	287.50	95.83
D ₃ B ₀	15.00	75.00	81.25	171.25	57.08
D ₃ B ₁	100.00	75.00	87.50	262.50	87.50
D ₃ B ₂	100.00	75.00	75.00	250.00	83.33
D ₃ B ₃	100.00	10.00	12.50	122.50	40.83
Total	1110.00	948.75	963.75	3022.50	
Rataan	69.38	59.30	60.23		62.97

Lampiran 15. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	10.02	10.02	10.02	30.07	10.02
D ₁ B ₁	9.90	10.02	10.02	29.95	9.98
D ₁ B ₂	9.90	10.02	10.02	29.95	9.98
D ₁ B ₃	10.02	10.02	10.02	30.07	10.02
D ₂ B ₀	10.02	10.02	4.53	24.58	8.19
D ₂ B ₁	10.02	10.02	10.02	30.07	10.02
D ₂ B ₂	10.02	3.77	10.02	23.82	7.94
D ₂ B ₃	10.02	10.02	9.38	29.43	9.81
D ₃ B ₀	3.94	8.69	9.04	21.67	7.22
D ₃ B ₁	10.02	8.69	9.38	28.09	9.36
D ₃ B ₂	10.02	8.69	8.69	27.40	9.13
D ₃ B ₃	10.02	3.24	3.61	16.87	5.62
Total	116.79	106.09	107.60	330.48	
Rataan	7.30	6.63	6.73		6.88

Lampiran 16. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Umur 8 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	4.19	2.10	0.70 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	677.22	45.15	15.09 ^{**}	2.01	2.70

D	3	638.89	212.96	71.18 **	2.92	4.51
Linier	1	1494.67	1494.67	499.58 **	4.17	7.56
Kuadratik	1	3933.49	3933.49	1314.74 **	4.17	7.56
Kubik	1	371.93	371.93	124.32 **	4.17	7.56
Galat	30	89.76	2.99			
Total	47	771.16				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.09 %				
	Linear	: 0.901				
	Kuadratik	: 0.902				
	Kubik	: 0.899				

Lampiran 17. Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 9 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	10.00	55.00	25.00	90.00	30.00
D ₁ B ₁	45.00	35.00	45.00	125.00	41.67
D ₁ B ₂	50.00	40.00	35.00	125.00	41.67
D ₁ B ₃	36.25	31.25	30.00	97.50	32.50
D ₂ B ₀	25.00	40.00	10.00	75.00	25.00
D ₂ B ₁	67.50	55.00	50.00	172.50	57.50
D ₂ B ₂	0.00	5.00	25.00	30.00	10.00
D ₂ B ₃	60.00	20.00	30.00	110.00	36.67
D ₃ B ₀	5.00	5.00	30.00	40.00	13.33
D ₃ B ₁	45.00	0.00	50.00	95.00	31.67
D ₃ B ₂	20.00	15.00	15.00	50.00	16.67
D ₃ B ₃	15.00	0.00	0.00	15.00	5.00
Total	378.75	301.25	345.00	1025.00	
Rataan	23.67	18.83	21.56		21.35

Lampiran 18. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71

D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	3.24	7.45	5.05	15.74	5.25
D ₁ B ₁	6.75	5.96	6.75	19.45	6.48
D ₁ B ₂	7.11	6.36	5.96	19.43	6.48
D ₁ B ₃	6.06	5.63	5.52	17.22	5.74
D ₂ B ₀	5.05	6.36	3.24	14.65	4.88
D ₂ B ₁	8.25	7.45	7.11	22.80	7.60
D ₂ B ₂	0.71	2.35	5.05	8.10	2.70
D ₂ B ₃	7.78	4.53	5.52	17.83	5.94
D ₃ B ₀	2.35	2.35	5.52	10.21	3.40
D ₃ B ₁	6.75	0.71	7.11	14.56	4.85
D ₃ B ₂	4.53	3.94	3.94	12.40	4.13
D ₃ B ₃	3.94	0.71	0.71	5.35	1.78
Total	65.32	56.62	64.30	186.23	
Rataan	4.08	3.54	4.02		3.88

Lampiran 19. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 9 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	2.83	1.41	0.62 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	255.73	17.05	7.53 ^{**}	2.01	2.70
D	3	199.00	66.33	29.32 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	219.35	219.35	96.94 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	1773.00	1773.00	783.60 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	88.18	88.18	38.97 ^{**}	4.17	7.56
Galat	30	67.88	2.26			
Total	47	326.43				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 6.26 %				
	Linear	: 0.911				
	Kuadratik	: 0.925				
	Kubik	: 0.921				

Lampiran 20. Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 11 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	25.00	100.00	10.00	135.00	45.00
D ₁ B ₁	80.00	65.00	45.00	190.00	63.33

D ₁ B ₂	75.00	80.00	80.00	235.00	78.33
D ₁ B ₃	75.00	65.00	65.00	205.00	68.33
D ₂ B ₀	60.00	70.00	25.00	155.00	51.67
D ₂ B ₁	100.00	85.00	85.00	270.00	90.00
D ₂ B ₂	15.00	15.00	45.00	75.00	25.00
D ₂ B ₃	95.00	50.00	70.00	215.00	71.67
D ₃ B ₀	15.00	10.00	55.00	80.00	26.67
D ₃ B ₁	55.00	10.00	90.00	155.00	51.67
D ₃ B ₂	35.00	25.00	30.00	90.00	30.00
D ₃ B ₃	25.00	5.00	5.00	35.00	11.67
Total	655.00	580.00	605.00	1840.00	
Rataan	40.94	36.25	37.81		38.33

Lampiran 21. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	5.05	10.02	3.24	18.32	6.11
D ₁ B ₁	8.97	8.09	6.75	23.81	7.94
D ₁ B ₂	8.69	8.97	8.97	26.63	8.88
D ₁ B ₃	8.69	8.09	8.09	24.88	8.29
D ₂ B ₀	7.78	8.40	5.05	21.22	7.07
D ₂ B ₁	10.02	9.25	9.25	28.52	9.51
D ₂ B ₂	3.94	3.94	6.75	14.62	4.87
D ₂ B ₃	9.77	7.11	8.40	25.28	8.43
D ₃ B ₀	3.94	3.24	7.45	14.63	4.88
D ₃ B ₁	7.45	3.24	9.51	20.20	6.73
D ₃ B ₂	5.96	5.05	5.52	16.53	5.51
D ₃ B ₃	5.05	2.35	2.35	9.74	3.25
Total	88.14	80.57	84.15	252.86	
Rataan	5.51	5.04	5.26		5.27

Lampiran 22. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 11 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	1.79	0.89	0.35 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	453.01	30.20	11.74 ^{**}	2.01	2.70

D	3	385.28	128.43	49.92 **	2.92	4.51
Linier	1	591.75	591.75	230.03 **	4.17	7.56
Kuadratik	1	3231.08	3231.08	1256.01 **	4.17	7.56
Kubik	1	104.36	104.36	40.57 **	4.17	7.56
Galat	30	77.17	2.57			
Total	47	531.97				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.56 %				
	Linear	: 0.923				
	Kuadratik	: 0.955				
	Kubik	: 0.934				

Lampiran 23. Data Rataan Persentase Kalus Embriogenik Umur 13 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	35.00	100.00	50.00	185.00	61.67
D ₁ B ₁	90.00	85.00	95.00	270.00	90.00
D ₁ B ₂	85.00	80.00	80.00	245.00	81.67
D ₁ B ₃	75.00	70.00	80.00	225.00	75.00
D ₂ B ₀	65.00	75.00	35.00	175.00	58.33
D ₂ B ₁	100.00	90.00	90.00	280.00	93.33
D ₂ B ₂	15.00	20.00	55.00	90.00	30.00
D ₂ B ₃	95.00	50.00	70.00	215.00	71.67
D ₃ B ₀	20.00	10.00	60.00	90.00	30.00
D ₃ B ₁	55.00	10.00	90.00	155.00	51.67
D ₃ B ₂	35.00	5.00	30.00	70.00	23.33
D ₃ B ₃	25.00	5.00	5.00	35.00	11.67
Total	695.00	600.00	740.00	2035.00	
Rataan	43.44	37.50	46.25		42.40

Lampiran 24. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71

D ₁ B ₀	5.96	10.02	7.11	23.09	7.70
D ₁ B ₁	9.51	9.25	9.77	28.53	9.51
D ₁ B ₂	9.25	8.97	8.97	27.19	9.06
D ₁ B ₃	8.69	8.40	8.97	26.06	8.69
D ₂ B ₀	8.09	8.69	5.96	22.74	7.58
D ₂ B ₁	10.02	9.51	9.51	29.05	9.68
D ₂ B ₂	3.94	4.53	7.45	15.91	5.30
D ₂ B ₃	9.77	7.11	8.40	25.28	8.43
D ₃ B ₀	4.53	3.24	7.78	15.55	5.18
D ₃ B ₁	7.45	3.24	9.51	20.20	6.73
D ₃ B ₂	5.96	2.35	5.52	13.83	4.61
D ₃ B ₃	5.05	2.35	2.35	9.74	3.25
Total	91.05	80.48	94.13	265.65	
Rataan	5.69	5.03	5.88		5.53

Lampiran 25. Daftar Sidik Ragam Persentase Kalus Embriogenik Umur 13 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	6.41	3.20	1.56 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	520.65	34.71	16.88 ^{**}	2.01	2.70
D	3	465.90	155.30	75.51 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	494.23	494.23	240.30 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	4228.29	4228.29	2055.83 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	187.04	187.04	90.94 ^{**}	4.17	7.56
Galat	30	61.70	2.06			
Total	47	588.76				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.13 %				
	Linear	: 0.915				
	Kuadratik	: 0.933				
	Kubik	: 0.909				

Lampiran 26. Data Rataan Berat Kalus (g) Umur 14 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	0.09	0.33	0.35	0.77	0.26

D ₁ B ₁	0.30	0.25	0.18	0.72	0.24
D ₁ B ₂	0.13	0.17	0.15	0.45	0.15
D ₁ B ₃	0.20	0.34	0.15	0.70	0.23
D ₂ B ₀	0.12	0.15	0.19	0.46	0.15
D ₂ B ₁	0.33	0.19	0.19	0.71	0.24
D ₂ B ₂	0.07	0.05	0.29	0.41	0.14
D ₂ B ₃	0.28	0.20	0.13	0.61	0.20
D ₃ B ₀	0.05	0.07	0.10	0.22	0.07
D ₃ B ₁	0.20	0.09	0.21	0.50	0.17
D ₃ B ₂	0.10	0.08	0.08	0.26	0.09
D ₃ B ₃	0.09	0.13	0.04	0.26	0.09
Total	1.96	2.07	2.05	6.09	
Rataan	0.12	0.13	0.13		0.13

Lampiran 27. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	0.77	0.91	0.92	2.60	0.87
D ₁ B ₁	0.89	0.87	0.82	2.58	0.86
D ₁ B ₂	0.79	0.82	0.81	2.42	0.81
D ₁ B ₃	0.84	0.92	0.81	2.56	0.85
D ₂ B ₀	0.79	0.81	0.83	2.43	0.81
D ₂ B ₁	0.91	0.83	0.83	2.57	0.86
D ₂ B ₂	0.76	0.74	0.89	2.39	0.80
D ₂ B ₃	0.88	0.84	0.80	2.52	0.84
D ₃ B ₀	0.74	0.76	0.77	2.27	0.76
D ₃ B ₁	0.84	0.77	0.84	2.45	0.82
D ₃ B ₂	0.77	0.76	0.76	2.30	0.77
D ₃ B ₃	0.77	0.79	0.73	2.30	0.77
Total	12.58	12.65	12.64	37.87	
Rataan	0.79	0.79	0.79		0.79

Lampiran 28. Daftar Sidik Ragam Berat Kalus Umur 14 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel
----	----	----	----	-----------	----------

					0.05	0.01
Ulangan	2	0.00	0.00	0.04 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	0.16	0.01	6.14 ^{**}	2.01	2.70
D	3	0.14	0.05	26.80 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	0.12	0.12	72.03 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	1.28	1.28	743.57 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	0.07	0.07	38.51 ^{**}	4.17	7.56
Galat	30	0.05	0.00			
Total	47	0.21				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 5.26 %				
	Linear	: 0.918				
	Kuadratik	: 0.927				
	Kubik	: 0.907				

Lampiran 29. Data Rataan Volume Kalus (ml³) Umur 14 MST

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₂	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₀ B ₃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D ₁ B ₀	4.31	7.77	3.45	15.53	5.18
D ₁ B ₁	6.04	3.45	8.63	18.12	6.04
D ₁ B ₂	6.90	6.91	6.04	19.85	6.62
D ₁ B ₃	6.04	5.18	5.18	16.39	5.46
D ₂ B ₀	2.93	4.31	3.28	10.52	3.51
D ₂ B ₁	7.50	6.40	7.30	21.20	7.07
D ₂ B ₂	3.45	1.90	4.31	9.66	3.22
D ₂ B ₃	13.81	6.91	2.93	23.65	7.88
D ₃ B ₀	1.38	1.90	1.04	4.31	1.44
D ₃ B ₁	5.50	4.31	4.31	14.13	4.71
D ₃ B ₂	2.07	2.59	2.93	7.59	2.53
D ₃ B ₃	1.90	0.52	1.73	4.14	1.38
Total	61.84	52.13	51.12	165.09	
Rataan	3.86	3.26	3.20		3.44

Lampiran 30. Data Setelah ditransformasi dengan menggunakan rumus $\sqrt{x + 0.5}$

Perlakuan	Ulangan	Total	Rataan
-----------	---------	-------	--------

	1	2	3		
D ₀ B ₀	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₁	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₂	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₀ B ₃	0.71	0.71	0.71	2.12	0.71
D ₁ B ₀	2.19	2.88	1.99	7.06	2.35
D ₁ B ₁	2.56	1.99	3.02	7.57	2.52
D ₁ B ₂	2.72	2.72	2.56	8.00	2.67
D ₁ B ₃	2.56	2.38	2.38	7.32	2.44
D ₂ B ₀	1.85	2.19	1.94	5.99	2.00
D ₂ B ₁	2.83	2.63	2.79	8.25	2.75
D ₂ B ₂	1.99	1.55	2.19	5.73	1.91
D ₂ B ₃	3.78	2.72	1.85	8.36	2.79
D ₃ B ₀	1.37	1.55	1.24	4.16	1.39
D ₃ B ₁	2.45	2.19	2.19	6.84	2.28
D ₃ B ₂	1.60	1.76	1.85	5.21	1.74
D ₃ B ₃	1.55	1.01	1.49	4.05	1.35
Total	30.28	28.39	28.34	87.01	
Rataan	1.89	1.77	1.77		1.81

Lampiran 31. Daftar Sidik Ragam Volume Kalus Umur 14 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0.05	0.01
Ulangan	2	0.15	0.08	0.69 ^{tn}	3.32	5.39
Perlakuan	15	27.88	1.86	16.76 ^{**}	2.01	2.70
D	3	24.05	8.02	72.28 ^{**}	2.92	4.51
Linier	1	28.38	28.38	255.98 ^{**}	4.17	7.56
Kuadratik	1	217.94	217.94	1965.47 ^{**}	4.17	7.56
Kubik	1	6.92	6.92	62.37 ^{**}	4.17	7.56
Galat	30	3.33	0.11			
Total	47	31.36				
Keterangan	tn	: Tidak Nyata				
	**	: Sangat Nyata				
	KK	: 4.34 %				
	Linear	: 0.943				
	Kuadratik	: 0.951				
	Kubik	: 0.913				