

**OPTIMASI METODE STERILISASI EKSPLAN EX-VITRO
DALAM MIKRO PROPAGASI BUNGA MAWAR (*Rosa sp.*)**

S K R I P S I

Oleh:

**MUHAMMAD IQBAL TAMIMI
1504290175
AGROTEKNOLOGI**



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2020**

**OPTIMASI METODE STERILISASI EKSPLAN EX-VITRO
DALAM MIKRO PROPAGASI BUNGA MAWAR (*Rosa sp.*)**

S K R I P S I

Oleh:

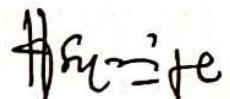
**MUHAMMAD IQBAL TAMIMI
1504290175
AGROTEKNOLOGI**

**Disusun Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Strata 1 (S1)
Pada Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara**

Komisi Pembimbing



Ir. Bambang SAS, M.Sc., Ph.D.
Ketua



Syaiful B. Panjaitan, S.P., M. Agric. Sc.
Anggota



Tanggal Lulus : 13-08-2020

PERNYATAAN

Dengan ini saya

Nama : Muhammad Iqbal Tamimi
Npm : 1504290175

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi dengan judul Optimasi Sterilisasi Eksplan Ex-Vitro dalam Mikropropagasi Bunga Mawar (*Rosa sp.*) adalah hasil dari penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri. Jika terdapat karya orang lain saya akan mencatatumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari ternyata di temukan adanya penjiplakan (plagiarisme), maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah di peroleh. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan paksaan dari pihak manapun.

Medan, Februari 2020
Yang menyatakan



Muhammad Iqbal Tamimi

RINGKASAN

Muhammad Iqbal Tamimi, penelitian berjudul “Optimasi Sterilisasi Eksplan Ex-Vitro Dalam Mikropropagasi Bunga Mawar (*Rosa sp.*).Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, dibimbing oleh Ir. Bambang SAS.M.sc., Ph.D selaku ketua komisi pembimbing dan Syaiful Bahri Panjaitan, S. P., M. Agric, Sc selaku anggota komisi pembimbing.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2019 di Laboratorium Kultur Jaringan. Alifa Agricultural Research Centre (AARC), Jl. Brigjen Katamso No. 454/ 51C. Medan Maimun, Medan 26159. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan metode sterilisasi eksplan ex-vitro yang sesuai untuk mikropropagasi bunga mawar (*Rosa sp.*).

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial, terdiri atas satu faktor yang diteliti, yaitu: M₁ (1% sodium hypocloride), M₂ (2,5% sodium hypocloride), M₃ (5% sodium hypocloride), M₄ (80% alkohol + 1% sodium hypocloride), M₅ (80% alkohol + 2,5 sodium hypocloride), M₆ (80% alkohol + 5% sodium hypocloride). Parameter pengamatan yang diukur adalah Persentase Eksplan Hidup, Persentase Eksplan Terkontaminasi Jamur, Persentase Eksplan Terkontaminasi Bakteri, Persentase Eksplan Membentuk Tunas, Jumlah Tunas per Eksplan.

Hasil penelitian menunjukkan, kematian planlet paling banyak terjadi pada penggunaan alkohol 80% sedangkan pada sterilisasi dengan sodium hypocloride 1%, 2,5% dan 5 % kultivar mawar dapat hidup 10 %. Kematian planlet yang cukup tinggi pada sterilisasi dengan penggunaan alkohol 80 %.Persentase eksplan terkontaminasi jamur terbesaryaitupada M₅ (80% alkohol selama 2 menit dan 2,5% sodium hypocloride selama 30 menit) sebesar 90% pada 6 minggu setelah tanam. Persentase eksplan terkontaminasi bakteri terbanyak pada penggunaan M₄ (80% alkohol selama 2 sodium hypocloride selama 30 menit)yaitu sebanyak 90 %.Persentase pertumbuhan tunas hanya dapat tumbuh pada penggunaan M₁ (1% sodium hypocloride 30 menit + bilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali) dan M₂ sterilisasi (2,5% sodium hypocloride 30 menit + bilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali).

SUMMARY

Muhammad Iqbal Tamimi, Optimization of Ex-Vitro Explant Sterilization in Rose Micropropagation (*Rosa* sp.). Faculty of Agriculture, University of Muhammadiyah North Sumatra, guided by Ir. Bambang SAS.M.sc., Ph.D as chairman of the supervisory commission and Syaiful Bahri Panjaitan, S. P., M. Agric, Sc as a member of the supervisory commission.

This research was carried out in this carried out in August-September 2019 in Tissue Culture Laboratory. Alifa Agricultural Research Center (AARC), Jl. Brigadier General Katamso No. 454 / 51C. Medan Maimun, Medan 26159. The research aims to obtain an ex-vitro explant sterilization method suitable for micropropagation of roses (*Rosa* sp.).

The study was conducted using a Non Factorial Complete Randomized Design (RAL), consisting of one factor studied, namely: M1 (1% sodium hypochloride), M2 (2.5% sodium hypochloride), M3 (5% sodium hypochloride), M4 (80% alcohol + 1% sodium hypochloride), M5 (80% alcohol + 2.5% sodium hypochloride), M6 (80% alcohol + 5% sodium hypochloride). Observed parameters measured were the percentage of live explants, the percentage of mushroom contaminated explants, the percentage of bacterial contaminated explants, the percentage of shoot-forming explants, the number of shoots per explant.

The results showed that most plantlet deaths occurred with 80% alcohol use while sterilization with sodium hypochloride 1%, 2.5% and 5% rose cultivars lived 10%. Plantlet mortality is quite high in sterilization with 80% alcohol use. The biggest percentage of explants contaminated with fungus is on M5 (80% alcohol for 2 minutes and 2.5% sodium hypochloride for 30 minutes) by 90% at 6 weeks after planting. The highest percentage of explants contaminated with bacteria on the use of M4 (80% alcohol for 2 sodium hypochloride for 30 minutes) is as much as 90%. The percentage of shoot growth can only grow on M1 usage (1% sodium hypochloride 30 minutes + rinse with distilled water 3 times repeated 2 times) and M2 sterilization (2.5% sodium hypochloride 30 minutes + rinse with distilled water 3 times repeated 2 times).

RIWAYAT HIDUP

Muhammad Iqbal Tamimi, lahir pada tanggal 02 April 1997 di Medan, anak kedua dari pasangan orang tua Ayahanda Munawar El-alasi dan Ibunda Mustika Hayati. Jenjang pendidikan penulis di mulai :

1. Sekolah Dasar (SD) Negeri 104313 Sarang Puah, kecamatan Dolok Masihul, kabupaten Serdang Bedagai, provinsi Sumatera Utara, tahun 2003 dan selesai 2009.
2. Madrasah Tsanawiyah Az-zahra, kecamatan Dolok Masihul, kabupaten Serdang Bedagai, provinsi Sumatera Utara, tahun 2009 dan selesai 2019.
3. Madrasah Aliyah Negeri (MAN), kecamatan Dolok Masihul, kabupaten Serdang Bedagai, provinsi Sumatera Utara, tahun 2012 dan selesai 2015.
4. Tahun 2015 kemudian melanjutkan perkuliahan untuk pendidikan strata 1 (S1) pada program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

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

1. Mengikuti Masa ta'aruf (Masta) PK IMM Faperta UMSU tahun 2015.
2. Mengikuti Pengkaderan Himpunan Mahasiswa Agroteknologi (HIMAGRO) tahun 2015.
3. Mengikuti Agenda Kegiatan Wilayah dan Nasional Forum Komunikasi dan Kerjasama Himpunan Mahasiswa Agronomi (FKK HIMAGRI).
4. Terpilih menjadi Dewan Pertambangan Organisasi Wilayah 1 FKK HIMAGRI.
5. Praktek Kerja Lapangan (PKL) di PT. Salim Ivomas Pratama pada tahun 2018.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiratan Allah SWT yang telah membeikan kesehatan dan kekuatan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini. Tidak lupa penulis haturkan shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini berjudul "**OPTIMASI METODE STERILISASI EKSPLAN EX-VITRO DALAM MIKRO PROPAGASI BUNGA MAWAR (*Rosa sp.*)**" merupakan salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Pertanian S-1 pada Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Ibu Ir. Hj. Asritanarni Munar, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Ibu Dr. Dafni Mawar Tarigan, S.P., M.Si., selaku Wakil Dekan I, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
3. Bapak Muhammad Thamrin,S.P., M.Si.,selaku Wakil Dekan III, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
4. Ibu Dr. Ir. Wan Arfiani Barus, M.P., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
5. Ibu Ir. Risnawati, M.M., selaku Sekretaris Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
6. Bapak Ir. Bambang SAS. M.Sc., Ph.D., selaku ketua komisi pembimbing yang telah meluangkan waktunya dalam membimbing skripsi.
7. Bapak Syaiful B. Panjaitan, S.P., M. Agric. Sc., selaku anggota komisi pembimbing yang telah meluangkan waktunya dalam membimbing skripsi.
8. Ibu Ir. Efrida Lubis M.P., selaku Pembimbing Akademik Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
9. Seluruh Dosen dan Biro Administrasi di Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
10. Seluruh rekan-rekan mahasiswa Agroteknologi-5 Angkatan tahun 2015.
11. Ayahanda Munawar El-alasi dan Ibunda Mustika Hayati yang telah memberikan dukungan moral maupun material.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun penulis harapkan demi sempurnanya skripsi ini.

Medan, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang.....	1
Tujuan Penelitian.....	1
Hipotesa Penelitian	2
Kegunaan Penelitian	2
TINJAUN PUSTAKA	3
Botani Tanaman.....	3
Morfologi Tanaman	3
Syarat Tumbuh	3
Iklim	3
Tanah	4
Penentuan dan Stabilitas Kultur Eksplan	5
Seleksi Sumber Eksplan.....	5
Jenis dan Fungsi Larutan Desinfektan	6
Faktor Keberhasilan Proses Pensterilan.....	6
Eksplan Ex-Vitro	6
BAHAN DAN METODE PENELITIAN	7
Tempat dan Waktu.....	7
Bahan dan Alat	7

Metode Penelitian.....	7
Pelaksanaan Penelitian	10
Pemilihan Ortet di Lapangan	10
Penanganan dan Pemotongan Ortet.....	10
Pembuatan Larutan Desinfektan dan Larutan Stok.....	11
Pensterilan Peralatan Inisiasi	14
Pembuatan Media Kultur.....	15
Kultur Inisiasi Pensterilan Eksplan	15
Inkubasi Eksplan	15
Pemeliharaan Kultur	16
Pengecekan eksplan	16
Pengecekan ruangan inkubasi	16
Parameter Pengukuran	16
Persentase Eksplan Hidup (%).....	16
Persentase Eksplan Terkontaminasi Jamur (%).....	16
Persentase Eksplan Terkontaminasi Bakteri (%).....	17
Persentase Eksplan Membentuk Tunas (%)	17
Jumlah Tunas per Eksplan (unit).....	17
HASIL DAN PEMBAHASAN	18
KESIMPULAN DAN SARAN	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Persentase Eksplan yang Hidup 1-5 MST	18
2.	Persentase Jumlah Eksplan yang Terkontaminasi Jamur.....	19
3.	Persentase Jumlah Eksplan yang Terkontaminasi Bakteri.....	21
4.	Persentase Jumlah Eksplan yang Membentuk Tunas	22
5.	Jumlah Tunas yang Muncul per Eksplan	24

DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
1.	Explan tanaman bunga mawar (A). Beberapa tanaman bunga mawar yang dapat hidup, (B). Perlakuan M1.....	19
2.	Explan tanaman bunga mawar (A). Perlakuan M5, (B). Perlakuan M3	20
3.	Persentase Kontam Jamur terhadap Berbagai Jenis Metode Sterilisasi	21
4.	Explan tanaman bunga mawar terkontaminasi bakteri (A). Perlakuan M6, (B). Perlakuan M5.....	23
5.	Persentase Kontam Bakteri terhadap Berbagai Jenis Metode Sterilisasi	24
6.	Persentase Jumlah Explan yang dapat Membentuk Tunas.....	25
7.	Jumlah Tunas Yang Muncul Per Eksplan	27

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Halaman
1.	Bagan penelitian.....	32
2.	Sampel tanaman	33
3.	Persentase Eksplan Hidup (%) 1 MST	34
4.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Hidup (%) 1 MST	
5.	Persentase Eksplan Hidup (%) 2 MST	34
6.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Hidup (%) 2 MST	
7.	Persentase Eksplan Hidup Mawar (<i>Rosa sp.</i>) 3 MST.	35
8.	Daftar Sidik Ragam . Persentase Eksplan Hidup (%) 3 MST	
9.	Persentase Eksplan Hidup (%) 4MST	35
10.	Daftar Sidik Ragam . Persentase Eksplan Hidup (%) 4 MST	
11.	Persentase Eksplan Hidup (%) 5 MST	36
12.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Hidup (%) 5 MST	36
13.	Persentase Eksplan Hidup (%) 6 MST	37
10.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Hidup (%) 6 MST	37
11.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST	38
12.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST	38
13.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 2 MST	39
14.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 2 MST	39
15.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 3 MST	40
16.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 3 MST	40
17.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 4 MST	41
18.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 4 MST	41
19.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 5 MST	42
20.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 5 MST	42
21.	Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 6 MST	43
22.	Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%)	

6 MST	43
23. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 1 MST	44
24. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST	44
25. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 2 MST	45
26. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 2 MST	45
27. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 3 MST	46
28. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 3 MST	46
29. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 1 MST	47
30. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST	47
31. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 5 MST	48
32. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 5 MST	48
33. Persentase Eksplan Kontam Bakteri (%) 6 MST	49
34. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Kontam Jamur (%) 6 MST	49
35. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 1 MST	50
36. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 1 MST	50
37. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 2 MST	51
38. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 2 MST	51
39. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 3 MST	52
40. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 3 MST	52
41. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 4 MST	53
42. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 4 MST	53
43. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 5 MST	54
44. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 5 MST	54
45. Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 6 MST	55
46. Daftar Sidik Ragam Persentase Eksplan Menghasilkan Tunas (%)	

6 MST	55
47. Jumlah Tunas per Eksplan 1 MST	56
48. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 1 MST.....	56
49. Jumlah Tunas per Eksplan 2 MST	57
50. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 2 MST.....	57
51. Jumlah Tunas per Eksplan 3 MST	58
52. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 3 MST	58
53. Jumlah Tunas per Eksplan 4 MST	59
54. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 4 MST.....	59
55. Jumlah Tunas per Eksplan 5 MST	60
56. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 5 MST	60
57. Jumlah Tunas per Eksplan 6 MST	61
58. Daftar Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan 6 MST	6

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pensterilan eksplan sangat penting dalam mengawali perbanyakan tanaman secara kultur jaringan (in vitro). Perbanyakan tanaman secara in vitro memerlukan keadaan yang aseptik sehingga terhindar dari kontaminasi bakteria dan fungi. Kedua mikroorganisme ini sangat banyak tersebar dipersekutaran sehingga menyebabkan kontaminasi kepada media kultur, maupun melalui angin atau terbawa melalui pekerja kultur (Razdan, 2005).

Untuk mendapatkan material eksplan yang steril perlu penanganan yang intensif terutama dalam proses sterilisasi bagian tanaman yang hidup dan tidak boleh menghilangkan aktivitas biologinya. Hanya bakteria dan fungi penyebab kontaminasi yang harus dieleminasi. Organ tanaman ataupun jaringan yang digunakan sebagai bahan eksplan harus disterilkan pada bagian permukaannya dengan perlakuan berupa konsentrasi larutan disinfektan dan waktu yang sesuai (Armiyanti, 2007).

Optimasi pensterilan perlu dilakukan secara hati-hati dan teliti dalam pemilihan jenis desinfektan yang dipakai dan diutamakan dari bahan yang ramah lingkungan terlebih dahulu. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa pensterilan bahan eksplan menggunakan larutan desinfektan seperti alkohol 70% dan air raksa 1% untuk eksplan kubis (Munshi *et.al.*, 2007). Begitu juga dengan hasil penelitian Panjaitan *et al.* (2007) menggunakan desinfektan seperti alcohol 80%, dan air raksa 0,1% dan diikuti sodium hipoklorida berperingkat 30% dan 20% untuk persiapan bahan eksplan papaya hermafrodit dari lapangan. Lebih lanjut hasil penelitian beliau lainnya menggunakan bahan untuk pensterilan seperti alkohol

80% dan sodium hipoklorida secara berperingkat 30% dan 20% pada pensterilan skutellum padi untuk proses somatik embriogenesis (Panjaitan *et.al.*, 2009).

Tingkat kesukaran proses sterilisasi eksplan dari lapangan (ex vitro) merupakan tingkat yang paling penting dalam mengendalikan sumber kontaminasi dalam kesuksesan perbanyak tanaman secara kultur jaringan. Oleh sebab itu optimasi metode sterilisasi eksplan ex-vitro yang sesuai dalam mikro propagasi bunga mawar (*Rosa sp.*) dilaksanakan dalam penelitian skripsi ini.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode sterilisasi eksplan ex-vitro yang sesuai dalam mikro propagasi bunga mawar (*Rosa sp.*).

Hipotesa Penelitian

Optimasi metode sterilisasi yang sesuai dari penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk proses pensterilan eksplan ex-vitro dalam mikro propagasi bunga mawar (*Rosa sp.*).

Kegunaan Penelitian

1. Sebagai bahan dan penyusunan skripsi yang merupakan salah satu syarat untuk menempuh ujian sarjana (S1) pada Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Sebagai sumber informasi kepada penggiat hortikultura bunga mawar terutama dalam penanganan metode pensterilan eksplan ex-vitro dalam mikro propagasi bunga mawar (*Rosasp.*).

TINJAUAN PUSTAKA

Botani Tanaman

Tanaman bunga mawar secara botani menurut Dwiyanti (2018) diklasifikasikan ke dalam:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spematophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Rosales
Famili : Rosaceae
Genus : Rosa
Spesies : *Rosa sp.*

Terdapat 120 species dalam genus Rosa yang terdapat di daerah sub tropis sehingga daerah yang beriklim temperate (Duys dan Schouten, 2001)

Morfologi Tanaman

Tanaman mawar umumnya merupakan tanaman berkayu berbentuk semak perdu, batangnya berduri dengan tinggi tanaman antara 0,3 sampai 0,5 meter. Berakar tunggang dengan banyak cabang akar sekunder dan tersier berupa akar rambut yang menyerupai benang. Daun mawar merupakan daun majemuk dengan 3 atau 5 berseling dan bersirip ganjil melingkar diujung batang tempat munculnya bunga. Bunga ada yang tunggal dan ada pula yang tersusun indah dalam bentuk payung dengan perhiasan bunga setiap lingkaran 4-5 helai (Duys dan Schouten, 2001)

Syarat Tumbuh

Iklim

Curah hujan bagi pertumbuhan bunga mawar yang baik adalah 1500-3000 mm/tahun. Memerlukan sinar matahari 5-6 jam per hari. Di daerah cukup sinar matahari, mawar akan selalu lebih cepat berbunga serta berbatang kokoh. Tanaman mawar mempunyai daya adaptasi sangat luas terhadap lingkungan tumbuh, dapat ditanam di daerah beriklim dingin/sub-tropis maupun di daerah panas/tropis. Suhu udara sejuk 18-26 derajat C dan kelembaban 70-80 %. Ketinggian tempat yang sesuai untuk tanaman mawar yaitu 560-1400 di atas permukaan laut (m dpl) dengan suhu 13-23° C, walaupun pada daerah (>15 m dpl) dan temperatur (>23 °C) masih dapat tumbuh terutama mawar dengan jenis dataran rendah/low land (Titiek, 2017).

Tanah

Secara ex-vitro, penanaman dilakukan secara langsung pada tanah secara permanen di kebun atau di dalam pot. Tanaman mawar cocok pada tanah liat berpasir (kandungan liat 20-30 %), subur, gembur, banyak bahan organik, aerasi dan drainase baik. Pada tanah latosol, andosol yang memiliki sifat fisik dan kesuburan tanah yang cukup baik. Derajat keasaman tanah yang ideal adalah PH=5,5-7,0. Pada tanah asam (pH 5,0) perlu pengapur dengan kapur pertanian (kaptan) atau dolomit, kalsit atupun zeagro dengan dosis 4-5 ton/hektar. Pemberian kapur bertujuan untuk menaikan pH tanah, menambah unsur-unsur Ca dan Mg, memperbaiki kehidupan mikroorganisme, memperbaiki bintil-bintil akar, mengurangi keracunan Fe, Mn, dan Al, serta menambah ketersediaan unsur-unsur P dan Mg. Tanah berpori-pori sangat dibutuhkan oleh akar mawar (Muthan *et al.*, 2006)

Dalam media tanam kultur jaringan menggunakan unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur hara makro sendiri meliputi unsur karbon, dan oksigen tersedia bagi tanaman melalui air dan udara. Sementara unsur hara makro yang lainnya seperti nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, dan belerang di penuhi dari media tumbuh. Sementara itu, unsur hara mikro yang dibutuhkan oleh tanaman yakni besi, mangan, seng, boron, tembaga, molibdat, natrium, dan klor (Tripathi *et, al.* 2017).

Penentuan dan Stabilitas Kultur Eksplan

Keberhasilan teknik kultur jaringan dipengaruhi antara lain oleh jenis eksplan, yaitu bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk inisiasi suatu kultur, dan komposisi media yang digunakan. Pada dasarnya, semua tanaman dapat diregenerasikan menjadi tanaman sempurn bila ditumbuhkan pada media yang sesuai. Salah satu komponen media yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah jenis eksplan, sterilisasi dan zat pengatur tumbuh (Marlina, 2009).

Tahap awal kultur *in vitro* yang memiliki peranan penting dalam keberhasilan kultur tersebut adalah sterilisasi bahan tanaman atau eksplan agar terbebas dari kontaminasi. Sterilisasi merupakan penghancuran atau pemusnahan terhadap semua kontaminan. Hal yang terpenting dalam sterilisasi adalah mengkombinasikan antara usaha untuk mendapatkan eksplan yang steril dan menjaga agar jaringan eksplan tidak rusak akibat tingginya konsentrasi (Angareni, 2016).

Seleksi Sumber Eksplan

Untuk mendapatkan spesies tanaman yang baru dari hasil kultur jaringan diperlukan analisis sistemis yang diperlukan untuk menentukan potensi eksplan dari setiap kultur jaringan. Dan tiga aspek yang harus di perhatikan dalam seleksi sumber eksplan, yaitu genotip tanaman, umur tanaman serta kondisi fisiologis (Gunawan, 1987).

Keseluruhannya itu dilihat dari jenis tanamannya, bagian tanaman yang diperlukan,morfologi permukaan,lingkungan tumbuhnya,musim atau waktu pengambilan, umur pengangambilan,kondisi tanamannya (Hadiyono, 1991).

Jenis dan Fungsi Larutan Desinfektan

Natrium hipoklorit (NaOCl) merupakan disinfektan tingkat tinggi yang mekanisme kerjanya adalah membunuh mikroorganisme dengan mengoksidasi ikatan peptida pada membran sel dan mendenaturasi protein. Akan tetapi, menurut beberapa penelitian merendam *file* kedalam larutan NaOCl dengan konsentrasi 5,25% selama 5 menit dianggap paling efektif untuk disinfeksi *file* meskipun dapat menyebabkan korosi dan pelepasan unsur nikel dari *file* yang memperbesar risiko patahnya *file* NiTi putar saat digunakan. Disinfektan lain yang dapat digunakan selain NaOCl adalah glutaraldehid. Glutaraldehid merupakan disinfektan kuat, bersifat bakterisida, virusida, dan fungisida, serta bersifat non-korosif sehingga dapat menjadi alternatif bahan disinfektan untuk *file* NiTi. Glutaraldehid yang digunakan sebagai disinfektan adalah glutaraldehid alkali dengan konsentrasi 2% dan lama kontak antara 2 sampai 10 menit. Glutaraldehid memiliki mekanisme kerja berupa bakterisida melalui proses alkilasi protein membran dan inti sel. Selain glutaraldehid murni saat ini banyak juga dipasarkan berbagai macam disinfektan berbahan dasar glutaraldehid dengan berbagai konsentrasi yang dicampur dengan

disinfektan lain sehingga meningkatkan efektivitas serta memperpanjang masa simpan disinfektan tersebut (Utami, 2016).

Faktor Keberhasilan Proses Pensterilan Eksplan Ex Vitro

Dalam sterilisasi bahan tanam, hal yang harus menjadi perhatian adalah bahwa sel tanaman dan kontaminan adalah sama-sama benda hidup. Kontaminasi harus dihilangkan tanpa mematikan sel tanaman. Faktor keberhasilan proses pensterilan eksplan harus dilihat dari proses awal penyeleksian, yang dilihat dari jenis tanamannya, bagian tanaman yang diperlukan, morfologi permukaan, lingkungan tumbuhnya, musim atau waktu pengambilan, umur pengambilan, kondisi tanamannya (Appelgren, 1991).

Eksplan Ex-Vitro

Ex-vitro adalah sebuah teknik memperbanyak benih tanaman secara vegetative dengan menggunakan bagian tanaman (eksplan) yang mempunyai fase pertumbuhan cepat, diikuti dengan pemberian stimulasi pertumbuhan. Teknik ini ibarat mesin foto copy untuk mendapatkan bibit tanaman yang mempunyai sifat sama dengan induknya. Kelebihan teknologi ini adalah mudah, murah dan bisa dilakukan di lokasi dekat tempat budidaya (Novita, 2016).

Balai Bioteknologi, BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi) telah berhasil mengembangkan inovasi teknologi kultur ex vitro untuk percepatan penyediaan benih tanaman. Teknologi kultur ex vitro adalah satu metode perbanyakan benih tanaman dari bagian jaringan atau organ tertentu suatu tanaman secara higienis yang relatif sederhana, murah dan dapat menghasilkan bibit tanaman yang sempurna dalam jumlah banyak, relatif seragam dan mempunyai sifat-sifat unggul sama dengan tanaman induknya serta dapat diaplikasikan dekat pada lokasi

penanaman. Teknologi perbanyakan tanaman dengan kultur ex vitro telah berhasil dilakukan pada tanaman kehutanan, perkebunan dan hortikultura.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Alifa Agricultural Research Centre (AARC), Jl. Brigjen Katamso No. 454/51 C, Medan Maimun, Medan 26159 dengan ketinggian tempat ±25 meter di atas permukaan laut (m dpl). Penelitian ini dilaksanakan dari akhir Agustus sampai dengan akhir September 2019 selama 1 bulan.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah tunas meristem apikal bunga mawar, berbagai jenis desinfektan seperti sodium hipoklorida (clorox), tween 20, dettol, fungisida dengan bahan aktif mankozeb, bakterisida dengan bahan aktif streptomisin sulfat, air destilasi, gula, larutan stok makro media MS, larutan stok mikro media MS, larutan stok vitamin, agar, alkohol, tissu, sarung tangan, masker, label, spidol marker.

Alat yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah alat inisiasi (forcep), scaple, blade, cawan petri, beaker glass, gelas ukur, aluminium foil, blue cap bottle, botol selai (jam jar), timbangan, spatula, magnetic stirrer, laminar air flow (LAF) cabinet dan bunsen burner.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial (*single factor*) dengan metode sterilisasi eksplan sebagai perlakuan yang diteliti. Sejumlah 6 (enam) perlakuan metode sterilisasi eksplan tersebut adalah sebagai berikut:

M1 : 1% sodium hipoklorida 30 menit + bilas dengan air destilasi 3 kali

diulang 2 kali

M2 : 2,5% sodium hipoklorida 30 menit + bilas dengan air destilasi 3 kali

diulang 2 kali

M3 : 5% sodium hipoklorida 30 menit + bilas dengan air destilasi 3 kali

diulang 2 kali

M4 : 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi

steril 2 kali + 1% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas

dengan air destilasi 3 kali

M5 : 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi

steril 2 kali + 2,5% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas

dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali

M6 : 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi

steril 2 kali + 5% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas

dengan air destilasi 5 kali diulang 2 kali

Setiap perlakuan di atas diulang sebanyak 5 (lima) kali dengan total unit perlakuan sebanyak 30, dengan jumlah eksplan per perlakuan 4 (empat) dengan jumlah sample eksplan sebanyak 2 (dua) dan jumlah total eksplan adalah 120 eksplan.

Model linier analisis data Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \epsilon_{ij}$$

dimana:

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada blok ke- i akibat perlakuan pensterilan

μ = Nilai tengah

ρ_i = efek dari ulangan ke- i

α_j = efek perlakuan pensterilan

ϵ_{ij} = galat dari blok ke- i , perlakuan pensterilan

Pelaksanaan Penelitian

Pemilihan Ortet di Lapangan

Ortet adalah sumber tanaman yang akan di ambil sebagai sumber eksplan.

Pemilihan ortet harus dilakukan dengan kriteria tertentu yang mencerminkan sebagai tanaman yang benar-benar berproduksi tinggi, serta tidak terserang penyakit baik itu bakteri maupun jamur. Pemilihan pohon induk dilakukan sejak pembibitan hingga tanaman sudah menghasilkan. Pemilihan dilakukan baik secara populasi maupun individual dalam persilangan sehingga dapat diketahui karakternya.



Penanganan dan Pemotongan Ortet

Setelah ortet yang di pilih dilihat bahwa tidak terserang jamur dan bakteri maka di lakukan pemotonganortet. Setelah dipotong ortet langsung dipindahkan ke dalam wadah yang sudah steril.Ortet kemudian di bawa keruang transfer untuk disterilkan dan dipotong menjadi eksplan. Bekas luka dari pemotongan ortet di tutupi dengan kapas yang telah diberi fungisida dan diikat dengan kawat kasa selama proses pemulihan.

Eksplan diambil pada pagi hari dari tanaman mawar dengan panjang eksplan sekitar 1,5 cm. Eksplan dipotong dengan menggunakan skalpel yang terlebih dahulu disemprot menggunakan alkohol 80%. Potongan eksplan dimasukkan ke dalam botol yang berisikan air steril dan langsung ditutup.



Sterilisasi eksplan dilakukan dengan mengusap satu persatu eksplan dengan menggunakan alkohol 80% secara perlahan-lahan. Eksplan yang telah diusap dengan alkohol direndam dengan larutan detol+bakterisida+fungisida masing masing 1 gram dalam 100 ml air steril selama 30 menit. Selanjutnya, eksplan dibilas dengan menggunakan air kran dan dibersihkan kembali dengan kuas satu persatu di bawah air mengalir, kemudian eksplan dibilas dengan air sampai detol, bakterisida,

dan fungisida hilang dari eksplan. Setelah eksplan bersih, dilanjutkan dengan perendaman memakai aerator dalam larutan antibiotik streptomisin.

Pembuatan Larutan Desinfektan dan Larutan Stok



Larutan desinfektan dan larutan stok pembuatannya dilakukan dengan metode pegenceran, yang bertujuan mempermudah dalam pelarutannya. Desinfektan sendiri sebaiknya tidak bersifat racun bagi makhluk hidup, kemampuan menghilangkan bau yang kurang sedap dan lain lain. Pembuatan desinfektan sendiri dilihat dari berapa persen jumlah perlakuan dalam penelitian yang di larutkan bersama desinfektan sebanyak 250 ml.

Berikut rumus dalam mencari kebutuhan penyediaan larutan desinfektan dan juga larutan stok :

$$\mathbf{M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2}$$

Berikut cara pembuatan larutan alkohol 80 % dari 96 % stok alkohol maka : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$96 \% \ V_1 = 80 \% \times 250 \text{ ml}$$

$$V_1 = 20000 / 96$$

$$V_1 = 208 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan alkohol 80 % dari bahan dasar alkohol 96 %, yaitu 208 ml. Dicampur dengan aquades untuk memenuhi bikar 250 ml sebanyak 42 ml.

Untuk pembuatan sodium hipoclorida 1 % dari larutan stok 5,25 % ,

Maka : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$5,25\% \ V_1 = 1 \% \times 250 \text{ ml}$$

$$V_1 = 250 / 5,25$$

$$V_1 = 99 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan alkohol 1 % dari bahan dasar alkohol 5,25 %, yaitu 99 ml. Dicampur dengan aquades untuk memenuhi bikar 250 ml sebanyak 151 ml.

Pembuatan sodium hipoclorida 2,5 % dari larutan stok 5,25 % ,

Maka : $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$$5,25\% \times V_1 = 2,5 \% \times 250 \text{ ml}$$

$$V_1 = 625 / 5,25$$

$$V_1 = 119 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan sodium hipoclorida 2,5 % dari bahan dasar sodium hipoclorida 5,25 %, yaitu 119 ml. Dicampur dengan aquades untuk memenuhi bikar 250 ml sebanyak 131 ml.

Dalam pembuatan sodium hipoclorida 5 % dari larutan stok 5,25 % ,

$$\text{Maka : } M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$5,25\% \times V_1 = 5 \% \times 250 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1250 / 5,25$$

$$V_1 = 238 \text{ ml}$$

Untuk membuat larutan sodium hipoclorida 5 % dari bahan dasar sodium hipoclorida 5,25 %, yaitu 238 ml. Dicampur dengan aquades untuk memenuhi bikar 250 ml sebanyak 12 ml.

Keterangan : M_1 = Larutan stok

V_1 = Volume yang akan di ambil

M_2 = Inisial konsentrasi

V_2 = Volume media yang akan di buat

Dalam perhitungan tersebut maka, tahapan yang ditemukan yaitu :

M1 = dimasukkan ortet tanaman kedalam larutan 1 % sodium hipolorida dengan larutan stok 5,25 % yang telah di konfersikan sebesar 99 ml,lalu dimasukkan air steril sebanyak 151 ml agar bikar terisi penuh hingga 250ml dan direndam selama 30 menit, selanjutnya dibilas dengan air destilasi 3 kali serta perlakuan tersebut di ulang sebanyak 2 kali.

M2 = masukkan ortet kedalam larutan 2,5 % sodium hipoclorida dengan larutan stok 5,25 % yang telah di konfesikan sebesar 119 ml, di lanjutkan dengan memasukkan air steril sebanyak 131ml agar bikar berisi 250 ml dan direndam

selama 30 menit, lalu bilas dengan air destilasi 3 kali serta perlakuan tersebut di ulang sebanyak 2 kali.

M3 = masukkan ortet kedalam larutan 5 % sodium hipoclorida dengan larutan stok 5,25 % yang telah di konfesikan sebesar 238 ml, di lanjutkan dengan memasukkan air steril sebanyak 12 ml agar bikar terisi penuh hingga 250 ml dan direndam selama 30 menit, lalu bilas dengan air destilasi 3 kali serta perlakuan tersebut di ulang sebanyak 2 kali.

M4 = masukkan ortet kedalam larutan 80 % alkohol dengan larutan stok 96 % yang telah di konfesikan sebesar 208 ml, di lanjutkan dengan memasukkan air steril sebanyak 42 ml agar memenuhi bikar 250 ml selama 2 menit dan di bilas 2 kali. Kemudian pindahkan ke dalam 1 % sodium hipclorida yang telah di konfersikan sebesar 99 ml tersebut lalu direndam selama 30 menit, dan di bilas dengan air destilasi 2 kali.

M5 = masukkan ortet kedalam larutan 80 % alkohol dengan larutan stok 96 % yang telah di konfesikan sebesar 208 ml, di lanjutkan dengan memasukkan air steril 42 ml agar memenuhi bikar 250 ml selama 2 menit dan di bilas 2 kali. Kemudian pindahkan ke dalam 2,5 % sodium hipclorida yang telah di konfersikan sebesar 119 ml tersebut lalu direndam selama 30 menit, dan di bilas dengan air destilasi 3 kali serta di ulang 2 kali.

M6 = masukkan ortet kedalam larutan 80 % alkohol dengan larutan stok 96 % yang telah di konfesikan sebesar 208 ml, di lanjutkan dengan memasukkan air steril 42 ml agar memenuhi bikar 250 ml selama 2 menit dan di bilas 2 kali. Kemudian pindahkan ke dalam 5 % sodium hipclorida yang telah di konfersikan

sebesar 238 ml tersebut lalu direndam selama 30 menit, dan di bilas dengan air destilasi 3 kali serta di ulang 2 kali.

Pensterilan Peralatan Inisiasi

Alat inisiasi (forcep), scaple, blade, cawan petri, beaker glass, gelas ukur, aluminium foil, blue cap bottle, botol selai (jamjar), timbangan, spatula, magnetic stirer, LAF (Laminar Air Flow), bunsen, dicuci dengan menggunakan sabun cuci, dibilas, kemudian dikeringkan. Alat-alat yang sudah kering dibungkus dengan kertas (kecuali botol kultur). Semua alat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 Psi (kg/cm²) selama 15 menit.



Pembuatan Media Kultur

Pembuatan media dibutuhkan kesterilan alat maupun orang yang melakukan pembuatan media agar media kultur tidak terkontaminasi dengan bakteri dan jamur sehingga dalam pembuatan media kultur tidak berhasil. Dalam pembuatan media hak yang harus dilakukan yakni dengan menyiapkan larutan stok unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin , zat besi, aquades, agar dan

bahan bahan organik ataupun zat pengatur tumbuh yang dibuat dalam bentuk cair ataupun semipadat.



Tahapan yang di lakukan dalam pembuatan media yakni dengan memasukkan aquades 100 ml ke erlenmeyer, lalu masukkan larutan stok yang di lanjutkan dengan memasukkan vitamin 5ml serta aquades 250 ml. Setelah itu, di ukur ph lautan yang di sesuaikan dengan ketentuan yakni sebesar 5,7. Selanjutnya masukkan agar, lalu rebus serta di aduk hingga merata, kemudian masukkan rebusan ke media dan ditutup dengan rapat.

Kultur Inisiasi Pensterilan Eksplan

Pada tahap pensterilan eksplan, harus mengupayakan agar eksplan terbebas dari mikroorganisme baik itu secara aseptik maupun aksenik. Sterilisasi juga bertujuan menghilangkan kontaminan mikroorganisme yang menempel di permukaan eksplan. Eksplan yang telah disterilisasi kemudian ditanam pada media yang telah dipersiapkan. Media yang sesuai merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kecepatan pertumbuhan pada tahap selanjutnya. Setelah penanaman selesai, botol-botol berisi eksplan kemudian disimpan di dalam ruangan tersendiri dimana suhu, kelembaban dan cahaya dapat diatur sesuai kebutuhan pertumbuhan eksplan.



Inkubasi Eksplan

Eksplan yang telah di lakukan inisisasi di simpan pada tempat inkubasi, dan dilakukan pengamatan terkait pertumbuhan tunas.



Pemeliharaan Kultur

Pengecekan Kultur Eksplan

Setelah inisisasi, kultur eksplan di cek 2 hari sekali dan suhu ruangan kultur jaringan di cek sesuai dengan ketentuan yang seharusnya. Pada proses pengecekan dilihat pula eksplan yang terkontaminasi jamur ataupun bakteri.

Pengecekan Ruang Inkubasi

Ruang kultur untuk inkubasi eksplan dijaga agar temperatur tetap stabil pada suhu 25-27°C dengan intensitas cahaya 100-200 lux selama 12 jam. Eksplan yang telah terkontaminasi oleh mikroorganisme segera dipisahkan dan dikeluarkan dari ruang kultur.

Parameter Pengamatan

Persentase Eksplan Hidup

Tanaman atau eksplan yang hidup dapat dilihat dari jumlah tunas dan akar yang tumbuh, serta di lakukannya pengamatan terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas dan akar. Kondisi kultur ideal yang di perlukan untuk menimbulkan respon pertumbuhan tertentu akan beragam tergantung pada keadaan fisiologis bahan eksplan.

Persentase Jumlah Eksplan Terkontaminasi Jamur

Kontaminasi yang di sebabkan oleh jamur akan terlihat jelas pada media, jamur dapat dilihat dari permukaan ataupun dinding dari media. Media dan eksplan akan tampak di selimuti oleh hifa berbentuk kapas berwarna putih dan spora berwarna hitam.

Persentase Eksplan Terkontaminasi Bakteri

Penentuan eksplan yang terkontaminasi bakteri dapat dilihat dari terserangnya tanaman di tandai dengan munculnya lendir berwarna putih hingga kuning di sekeliling eksplan yang menyebabkan tanaman basah. Hal ini dikarenakan bakteri menyerang langsung ke jaringan dari tumbuhan itu sendiri.

Persentase Eksplan Membentuk Tunas

Jumlah tunas dapat di lihat dari banyaknya jumlah tunas yang tumbuh dalam perubahan serta pengembangan di setiap pengamatan.

Jumlah Tunas Muncul Per-Eksplan

Dari setiap eksplan dilihat berapa banyak tunas yang tumbuh dari sample eksplan dan selanjutnya hingga akhir pengamatan tanpa adanya kontaminasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Hidup

Data hasil parameter pengukuran persentase eksplan hidup yang dikultur melalui proses prosedur pensterilan eksplan pada umur 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 minggu setelah kultur (MSK) serta hasil Sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 1 - 12.

Berdasarkan data hasil pengukuran dan hasil Sidik ragam pada parameter persentase eksplan hidup menunjukkan bahwa perlakuan berbagai jenis perlakuan prosedur sterilisasi eksplan memberikan hasil persentase keberhasilan eksplan hidup yang dikultur menunjukkan nilai yang berbeda, tetapi perbedaan nilai persentase eksplan hidup menunjukkan pengaruh berbeda tidak nyata pada parameter persentase kultur eksplan hidup yang diukur (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase Kultur Eksplan Hidup (%) Umur 1 sampai dengan 6 MSK

Perlakuan	Pengamatan (MSK)					
	1	2	3	4	5	6
.....%						
M1	95	75	75	55	50	10
M2	95	80	70	60	45	15
M3	95	80	70	65	45	15
M4	95	80	80	60	45	0
M5	95	80	55	40	30	0
M6	95	85	80	65	40	0

Berdasarkan Tabel 1, perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan penggunaan 2,5% sodium hipoklorida selama 30 menit dan diikuti dengan pembilasan eksplan dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M2) dan perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan penggunaan 5% sodium hipoklorida 30 menit dilanjutkan dengan membilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali (M3) memberikan persentase hasil tertinggi kultur eksplan yang hidup (15%)

diikuti oleh perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan perendaman menggunakan 1% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian dibilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M1) dengan persentase keberhasilan eksplan hidup 10% pada umur 6 minggu setelah kultur. Beberapa perlakuan metode sterilisasi eksplan lainnya dengan penambahan alkohol 80% dikombinasikan dengan sodium hipoklorida 1%, 2,5% dan 5 % (M4, M5 dan M6) menunjukkan penurunan keberhasilan eksplan hidup pada minggu ke 6 (enam) setelah kultur. Berdasarkan data hasil penelitian tersebut, Dwidjoseputro (1990) dalam laporan hasil penelitiannya menyatakan penggunaan alkohol dalam sterilisasi justeru didapati tumbuh mikro organisme penyebab kontaminasi pada media nutrient agar (NA) steril. Kondisi kultur eksplan bunga mawar baik yang hidup (survive) maupun kultur yang terkontaminasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (A) Kultur eksplan tunas bunga Mawar pada rak kultur dalam ruang inkubasi dengan variasi perlakuan metode sterilisasi eksplan. (B) Kultur bunga mawar yang hidup mengalami proliferasi tunas (segitiga putih)

Berdasarkan pengamatan visual kultur di ruang inkubasi, kontaminasi disebabkan bakteri lebih cepat menyebabkan eksplan mati berbanding kontaminasi

yang disebabkan oleh fungus, tetapi penyebaran kontaminasi fungus lebih cepat menutupi permukaan media, walaupun pada akhirnya sumber kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri dan fungus adalah mikro organisme yang tidak diinginkan tumbuh dalam kultur eksplan tunas bunga mawar yang akhirnya menyebabkan eksplan mati.

Persentase Kultur Eksplan Terkontaminasi Jamur

Data pengamatan Persentase kultur eksplan terkontaminasi oleh jamur pada umur 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 minggu setelah kultur (MSK) serta Sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 13 - 25.

Berdasarkan data hasil pengukuran dan hasil Sidik ragam (ANOVA) pada parameter persentase eksplan terkontaminasi jamur menunjukkan bahwa perlakuan berbagai prosedur sterilisasi eksplan memberikan perbedaan ketahanan terhadap kontaminasi yang disebabkan oleh jamur (*fungus*). Berbagai prosedur sterilisasi yang dicobakan menghasilkan perbedaan yang signifikan pada data hasil parameter pengukuran kultur eksplan terkontaminasi jamur pada minggu ke 5 dan 6 setelah kultur.

Tabel 2 menunjukkan pengaruh perlakuan berbagai metode sterilisasi eksplan terhadap keberhasilan kultur tunas bunga mawar pada parameter pengukuran persentase kultur eksplan yang terkontaminasi jamur.

Tabel 2. Persentase Kultur Eksplan Terkontaminasi Jamur (%) Umur 1 sampai dengan 6 MSK

Perlakuan	Pengamatan (MSK)					
	1	2	3	4	5	6
	(%)					
M1	0	15	15	15	15 c	15 c
M2	0	15	10	15	15 c	20 c
M3	0	15	15	30	40 b	45 b
M4	5	10	15	25	25 bc	50 b
M5	5	10	40	60	70 a	90 a
M6	5	10	20	35	45 b	85 a

Angka yang diikuti huruf yang sama dan/atau tidak diikuti huruf pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda tidak nyata berdasarkan uji beda rataan menurut Duncan's Multiple Range Test pada taraf 5% ($p \geq 0.05$)

Berdasarkan Tabel 2, perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan 1% sodium hipoklorida 30 menit dilanjutkan membilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali (M1) memberikan respon eksplan paling sedikit terkontaminasi jamur (15%) diikuti oleh perlakuan metode sterilisasi dengan 2,5% sodium hipoklorida 30 menit kemudian dibilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali (M2) dengan persentase eksplan terkontaminasi jamur sebesar (20%) dan memberikan perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar lainnya (M3, M4, M5 dan M6). Persentase kultur eksplan terkontaminasi oleh jamur paling tinggi diperoleh dari hasil perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi steril 2 kali dilanjutkan dengan direndam 2,5% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas dengan air destilasi 3 kali diulang 2 kali (M5) dimana 90% eksplan yang dikultur terkontaminasi oleh jamur.

Berdasarkan statistik terhadap data hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa kombinasi penggunaan bahan sterilisasi eksplan yang sesuai sangat menentukan dalam keberhasilan teknik kultur in vitro. Penggunaan sterilan

alkohol 80% justeru menstimulasi pertumbuhan kontaminan jamur. Ada beberapa kondisi dimana hal ini terjadi dimana sekitar 20% air untuk melarutkan alkohol pekat tidak dikeringkan sempurna ketika eksplan akan dikultur. Menurut Pelczar dan Chan (1988), etil alkohol yang telah diencerkan sehingga 70% tidak efektif dalam menekan mikroorganisme yang membentuk spora.

Kondisi kultur in vitro eksplan tunas bunga mawar yang terkontaminasi variasi jenis jamur dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. (A) Kultur eksplan bunga mawar terkontaminasi jamur dengan hifa yang banyak dari Perlakuan M5; (B) Kultur eksplan terkontaminasi jamur merah jambu dari Perlakuan M3.

Di dalam teknik perbanyakan secara kultur jaringan, proses sterilisasi eksplan merupakan hal penting dan merupakan titik awal keberhasilan. Fokus pengamatan yang dilakukan dari hari demi hari atau minimal 1(satu) minggu sangat diperlukan guna melihat sejauh mana tingkat kontaminasi. Pada umumnya setelah 1 (satu) minggu setelah kultur maka eksplan yang sehat dan hidup (segitiga putih Gambar 2 A&B) harus dipindahkan ke media baru sehingga eksplan yang

terkontaminasi dalam wadah yang sama tidak terinfeksi. Mitigasi seperti ini biasa dilakukan pada eksplan yang terbatas jumlahnya. Panjaitan et al (2007) melaporkan pentingnya sterilisasi dalam kultur eksplan tunas ujung (*shoot tip*) pohon pepaya dewasa yang diperoleh dari lapangan dalam menghasilkan bahan tanaman pepaya jenis hermafrodit yang sama dengan induknya (*field-grown hermaphrodite papaya true to type planting material*) dan diminati oleh konsumen. Penggunaan beberapa bahan sterilan dalam satu proses sterilisasi dengan kombinasi waktu pensterilan memungkinkan dalam proses sterilisasi eksplan yang risikan akan kontaminasi baik dari sumber bakteri maupun jamur (*fungus*). Setiani (2018) dalam penelitiannya menggunakan sodium hipoklorida 5,25% dengan perendaman 5 dan 10 menit menunjukkan tingkat kontaminasi eksplan yang berbeda. Perendaman lebih lama menunjukkan adanya kontaminasi yang rendah.

Dari aplikasi berbagai metode sterilisasi dapat dilihat bahwa aplikasi M5 dan M6 menunjukkan kontaminasi jamur yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Banyak faktor yang mempengaruhi hal ini sehingga berpengaruh terhadap tingkat kontaminasi. Lama perendaman dalam agen sterilisasi juga dapat menjadi salah satu faktor utama. Semakin singkat waktu perendaman dengan sodium hipoklorida maka eksplan semakin rentan terhadap patogen. Namun, apabila semakin lama perendaman dengan sodium hipoklorida maka perkembangan jaringan eksplan menjadi terhambat yang ditandai dengan browning (warna kecoklatan) pada eksplan (Rismayanti dan Hamzah, 2010).

Persentase Kultur Eksplan Terkontaminasi Bakteri

Data pengukuran dari penelitian dan hasil statistik dari pengukuran persentase kultur eksplan yang terkontaminasi bakteri pada umur 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 minggu setelah kultur (MSK) serta hasil Sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 26 - 38.

Berdasarkan hasil data Sidik ragam pada minggu ke 5 dan 6 setelah kultur menunjukkan bahwa perlakuan berbagai metode proses sterilisasi eksplan tunas bunga mawar memberikan pengaruh berbeda nyata pada parameter pengukuran persentase kultur eksplan yang terkontaminasi oleh bakteri. Uji beda rataan perlakuan berbagai metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar kemudian dilanjutkan untuk mengetahui lebih detail perlakuan dengan metode sterilisasi mana yang memberikan pengaruh perbedaan yang signifikan diantara perlakuan metode sterilisasi eksplan yang dilakukan sehingga akan menjadi acuan pada proses sterilisasi eksplan tunas bunga mawar selanjutnya.

Tabel 3 menyajikan uji beda rataan perlakuan metode sterilisasi terhadap parameter pengukuran persentase kultur eksplan terkontaminasi oleh bakteri menurut Duncan. Perbedaan signifikan terdapat pada hasil statistika parameter pengukuran persentase kultur eksplan terkontaminasi oleh bakteri pada umur 5 dan 6 minggu setelah kultur. Perlakuan metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar yang diperoleh dari lapangan (*ex vitro*) menunjukkan perlakuan metode sterilisasi eksplan dengan kombinasi agen pensterilan seperti alkohol dan sodium hipoklorida (M4, M5 dan M6) menunjukkan tingkat eksplan terkontaminasi bakteri yang terendah dibandingkan dengan hanya dengan agen penterilan sodium hipoklorida secara tunggal (Tabel 3).

Tabel 3. Persentase Kultur Eksplan Terkontaminasi Bakteri (%) Umur 1 sampai dengan 6 MSK

Perlakuan	Pengamatan (MST)					
	1	2	3	4	5	6
----- (%) -----						
M1	5	15	20	40	45 b	80 a
M2	5	15	25	30	45 b	70 ab
M3	5	15	30	35	55 a	60 ab
M4	0	10	15	25	45 b	45 b
M5	0	10	15	15	15 c	15 c
M6	0	10	15	15	15 c	15 c

Angka yang diikuti huruf yang sama dan/atau tidak diikuti huruf pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda tidak nyata berdasarkan uji beda rataan menurut Duncan's Multiple Range Test pada taraf 5% ($p \geq 0.05$)

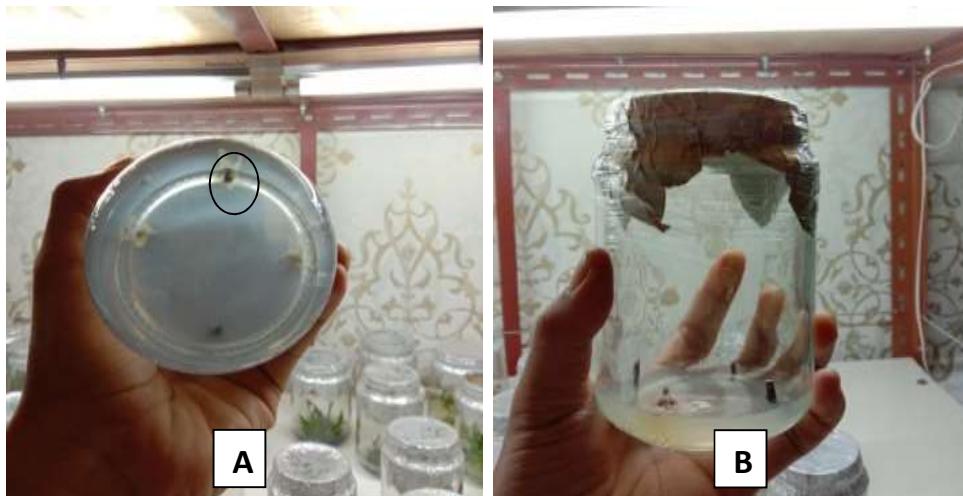
Berdasarkan Tabel (3), perlakuan metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar dengan penggunaan 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi steril 2 kali dilanjutkan dengan 2,5% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M5) dan perlakuan metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar dengan penggunaan 80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi steril 2 kali dilanjutkan dengan 5% sodium hipoklorida selama 30 menit kemudian bilas dengan air destilasi 5 kali dan diulang 2 kali (M6) memberikan hasil signifikan terhadap perlakuan lainnya (M1, M2, M3, M4 dan M5) dan mampu menghasilkan eksplan yang terkontaminasi bakteri terendah (15%). Penggunaan agen sterilisasi sodium hipoklorida dengan variasi konsentrasi yang diaplikasikan secara tunggal berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan persentase eksplan tunas bunga mawar yang terkontaminasi oleh bakteri relatif tinggi yaitu 80% (M1), 70% (M2) dan 60% (M3) diikuti oleh perlakuan M4 (80% alkohol selama 2 menit kemudian dibilas dengan air destilasi steril 2 kali + 1% sodium hipoklorida selama

30 menit kemudian bilas dengan air destilasi 3 kali) yaitu 45% eksplan tunas bunga mawar yang dikultur terkontaminasi bakteri.

Tingkat kontaminasi eksplan dipengaruhi oleh banyak faktor baik yang bersifat internal maupun eksternal. Rismana (2002) menyatakan kontaminasi eksplan dapat disebabkan dari media kultur, lingkungan kerja, alat inisiasi eksplan dan asal eksplan khususnya yang berasal dari lapangan (*ex vitro*) ditambahkan oleh Bangun *et al* (2020) terdapat bakteri pada tanah yang dapat menjadi pathogen pada tanaman. Pelaksana kultur juga sangat penting dalam menjalankan peranan dan fungsinya dalam monitoring eksplan setelah dikultur dalam wadah *in vitro*. Kontaminan fungus seyogianya memberikan dampak kematian eksplan rendah tetapi dominasi pertumbuhannya yang cepat menyebabkan eksplan tidak mampu bertahan lama apabila eksplan yang sehat dalam wadah kultur yang sama tidak cepat diberi tindakan penyelamatan (*re-sterilisation*).

Berdasarkan Tabel 2 dan 3 dapat dilihat tingkat kontaminasi eksplan yang disebabkan oleh bakteria dan fungus sebenarnya rendah pada pengamatan minggu 1 (satu) dan minggu 2 (dua). Hanya saja pada fase ini tidak dilakukan penyelamatan terhadap eksplan yang selamat dari kontaminasi (*survive*). Hal terbaik seyogianya melakukan transfer (sub kultur) eksplan yang tidak terinfeksi kontaminan ke wadah media *in vitro* yang baru demi menyelamatkan kultur, sebab dalam penelitian ini wadah kultur yang digunakan tidak individu per eksplan, melainkan satu wadah media kultur berisi 4 eksplan tunas bunga mawar. Masih berdasarkan Tabel (1 dan 2) pengamatan dari minggu ke minggu dapat menunjukkan bahwa perlakuan dengan kombinasi agen sterilisasi antara alkohol dan sodium hipoklorida (M4, M5 dan M6) menghasilkan banyak kultur eksplan terkontaminasi fungus tetapi

menghasilkan kultur eksplan yang sedikit terinfeksi bakteri walaupun pada akhirnya seluruh eksplan mengalami kematian. Hal sebaliknya terjadi dari perlakuan metode sterilisasi dengan penggunaan sodium dengan variasi konsentrasi hipoklorida secara tunggal (M1, M2 dan M3), dimana menghasilkan lebih sedikit kultur eksplan terkontaminasi fungus namun kultur eksplan banyak terkontaminasi oleh bakteri. Melalui perlakuan (M1, M2 dan M3) ini akhirnya diperoleh eksplan yang selamat dan akhirnya bertunas. Sinkron dengan hasil penelitian ini, Gavilani *et al* (2018) melaporkan Penggunaan konsentrasi 0.001 sampai dengan 0.005 % sodium hipoklorida atau setara dengan 10 sampai 30 % Clorox^(R) berhasil mengontrol masalah kontaminasi dalam kultur multiplikasi tunas kapas kuning (*Cochlospermum regium*) sekitar 30 sampai 50%. Kondisi kultur eksplan tunas bunga mawar terkontaminasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kondisi kultur hasil sterilisasi dari perlakuan 5 dan 6 dimana (A) Kultur eksplan tunas bunga Mawar terkontaminasi bakteri yang ditandai dengan adanya bercak keruh disekitar eksplan (bulatan hitam); (B) Kultur eksplan tunas bunga Mawar dalam satu wadah berisi 4 eksplan

Berbagai pendapat dari peneliti tentang agen sterilisasi alkohol dan sodium hipoklorida mempunya pandangan yang beragam. Ada yang menyatakan kurang

lamanya perendaman alkohol menyebabkan bakteri yang terdapat pada planlet tidak dapat mati seutuhnya dan kadangkala tingkat konsentrasi sodium hipoklorida yang terlalu rendah bisa menjadi faktor penyebab kontaminasi bakteri yang tinggi sehingga konsentrasi penggunaan sodium hipoklorida perlu dioptimasi sehingga efektif membunuh bakteri. Sodium hipoklorida bekerja dengan cara merusak membran sel bakteri. Sodium hipoklorida mampu membersihkan mikroorganisme yang ikut dalam bahan tanaman, menghilangkan pertikel-partikel tanah, debu dan lain-lain. (Rismayanti dan Hamzah, 2010; Farooq dan Rao, 2002).

Persentase Eksplan Membentuk Tunas

Data hasil parameter pengukuran persentase jumlah eksplan yang membentuk tunas pada umur 1, 2, 3, 4 dan 5 minggu setelah kultur (MSK) serta hasil Sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 39 - 48.

Berdasarkan hasil Sidik ragam pada parameter pengukuran persentase jumlah eksplan yang membentuk tunas menunjukkan bahwa perlakuan berbagai metode sterilisasi eksplan memberikan pengaruh berbeda tidak nyata pada perlakuan yang diuji (Tabel 4).

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa perlakuan berbagai metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar yang dilaksanakan menunjukkan adanya perbedaan diantara perlakuan metode sterilisasi eksplan yang diuji walaupun pengaruhnya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan secara statistik terhadap persentase jumlah eksplan yang menghasilkan tunas. Dari berbagai metode sterilisasi yang dilakukan, perlakuan metode sterilisasi dengan penggunaan 1% sodium hipoklorida 30 menit kemudian eksplan dibilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M1) memberikan persentase eksplan menghasilkan tunas

tertinggi sebesar 10% diikuti oleh perlakuan M2 dan M3 masing-masing dengan persentase eksplan menghasilkan tunas sebesar 5% pada 6 (enam) minggu setelah kultur.

Tabel 4. Persentase jumlah eksplan yang membentuk tunas (%) Umur 1 sampai dengan 6 MSK

Perlakuan	Pengamatan (MSK)					
	1	2	3	4	5	6
----- (%) -----						
M1	5	15	10	10	10	10
M2	5	15	10	5	5	5
M3	5	15	10	5	5	5
M4	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0

Angka yang tidak diikuti huruf pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda tidak nyata berdasarkan uji beda rataan menurut Duncan's Multiple Range Test pada taraf 5% ($p \geq 0.05$)

Masih berdasarkan Tabel 4, perlakuan M4, M5 dan M6 tidak menghasilkan tunas akibat eksplan terkontaminasi dan mati. Sanitasi dan eradikasi sangat penting dalam proses mikropropagasi yang melibatkan eksplan ex vitro. Diduga fase adaptasi dari eksplan di ruang incubator yang menyebabkan eksplan tidak dapat bertahan. Tahapan mikropropagasi dari proses inokulasi eksplan, multiplikasi propagul, pengakaran dan akhirnya proses aklimatisasi memerlukan pengamatan yang intensif (Bhojwani dan Razdan, 1983; Hu dan Wang, 1983; Dodd, 1993).

Eksplan tunas bunga mawar yang hidup (*survive*) yang berhasil membentuk tunas dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kondisi eksplan hidup dan menghasilkan tunas diantara eksplan yang mati

Rerata Jumlah Tunas Per-Eksplan

Data hasil pengukuran parameter rerata jumlah tunas yang diproduksi per eksplan dan hasil Sidik ragam pada umur 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 minggu setelah kultur (MSK) disajikan pada Lampiran 49 - 60.

Hasil Sidik ragam parameter rerata jumlah tunas dihasilkan per eksplan menunjukkan adanya perbedaan rerata jumlah tunas yang dihasilkan per eksplan dari berbagai metode sterilisasi eksplan tunas bunga mawar, tetapi secara statistik belum menunjukkan perbedaan yang signifikan (Tabel 5).

Berdasarkan Tabel 5 dan visual pengamatan, eksplan tunas bunga mawar mulai muncul tunas pada 2 (dua) minggu setelah kultur (MSK) dan secara bertahap meningkat secara linear sehingga pengukuran parameter jumlah tunas yang dihasilkan per eksplan. Rerata jumlah tunas tertinggi yang dihasilkan per eksplan (3,4 tunas) diperoleh dari perlakuan eksplan tunas bunga mawar yang disterilisasi menggunakan metode perendaman dengan 1% sodium hipoklorida selama 30 menit dan dibilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M1) dan diikuti oleh

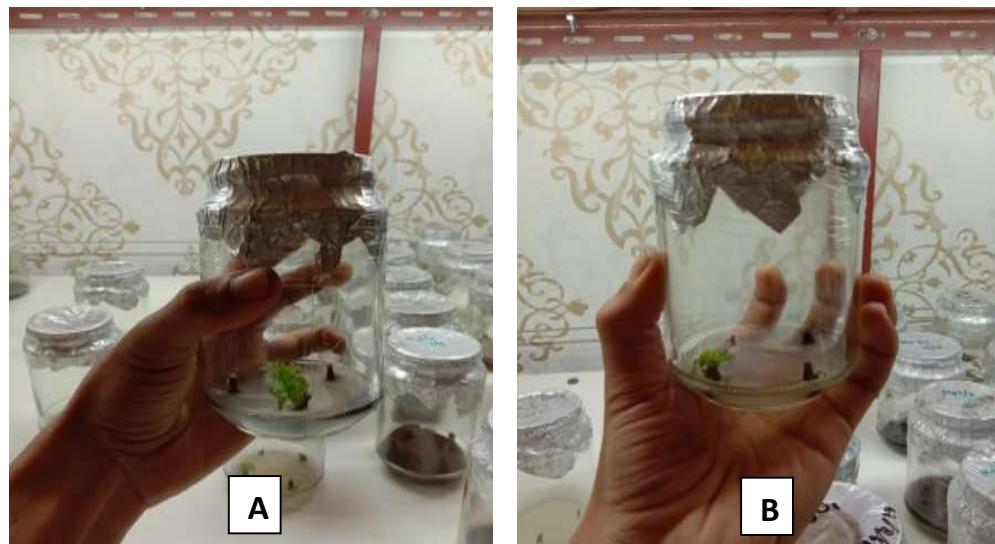
perlakuan M2 dengan rerata tunas terbentuk per eksplan (2,2 tunas) dan perlakuan M3 dengan rerata tunas terbentuk per eksplan (2 tunas).

Tabel 5. Rerata Jumlah Tunas Per Eksplan (unit tunas) Umur 1 sampai dengan 6 MSK

Perlakuan	Pengamatan (MSK)					
	1	2	3	4	5	6
----- (unit tunas) -----						
M1	0	1	1,4	2,4	3	3,4
M2	0	0,6	1,2	1,6	1,8	2,2
M3	0	0,6	1,2	1,6	1,8	2,0
M4	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0

Angka yang tidak diikuti huruf pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda tidak nyata berdasarkan uji beda rataan menurut Duncan's Multiple Range Test pada taraf 5% ($p \geq 0.05$)

Perlakuan metode sterilisasi M4, M5 dan M6 pada parameter rerata jumlah tunas terbentuk per eksplan tidak dapat diukur karena eksplan terkontaminasi dan akhirnya mati. Kondisi eksplan menghasilkan tunas dari berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. (A) Rerata jumlah tunas yang muncul per eksplan dari perlakuan M1; (B) Rerata jumlah tunas yang muncul per eksplan dari perlakuan M2

Pembentukan rerata tunas terhasil dari eksplan hasil perlakuan metode sterilisasi dengan perendaman dengan 1% sodium hipoklorida selama 30 menit dan dibilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M1) lebih tinggi berbanding dengan peningkatan kandungan sodium hipoklorida 2,5% (M2) dan sodium hipoklorida 5% (M3). Hal ini disebabkan karena konsentrasi sodium hipoklorida yang lebih tinggi menyebabkan kerusakan jaringan eksplan. Farooq dan Rao (2002) menyatakan aplikasi sodium hipoklorida sehingga 5,25% akan menyebabkan kerusakan pada eksplan yang tidak dapat balik (*irreversible*). Paparan eksplan dengan bahan sterilan dalam periode waktu yang panjang dan dengan konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan eksplan mengalami pengeringan (*browning*) dan bahkan dapat menyebabkan kematian eksplan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari data hasil penelitian dan statistik yang dilakukan dapat disimpulkan sementara sebagai berikut:

1. Perlakuan metode sterilisasi eksplan tunas dengan penggunaan sterilan 1% sodium hipoklorida 30 menit kemudian eksplan dibilas dengan air destilasi 3 kali dan diulang 2 kali (M1) menghasilkan persentase eksplan menghasilkan tunas tertinggi (10%) dengan rerata jumlah tunas dihasilkan per eksplan (3,4 tunas). Perlakuan ini juga dapat menghasilkan persentase eksplan hidup relatif baik (10%) dan kontaminasi fungus terendah (15%)
2. Persentase eksplan terkontaminasi jamur terbesar yaitu pada M5 (80% alkohol selama 2 menit dan 2,5% sodium hypoclorida selama 30 menit) sebesar 90% pada 6 minggu setelah tanam. Persentase eksplan terkontaminasi bakteri terbanyak pada penggunaan M4 (80% alkohol selama 2 sodium hypocalorida selama 30 menit) yaitu sebanyak 90 %.
3. Perlakuan kombinasi antara sodium hipoklorida dan alkohol relatif baik menekan kontaminasi bakteri.

Saran

Berdasarkan evaluasi data hasil pengukuran parameter uji yang dilakukan dan juga pengalaman selama penelitian ini, ada beberapa saran yang penulis ingin sampaikan yaitu perlu adanya penelitian lanjutan dengan perlakuan yang sama ataupun modifikasi dari perlakuan yang telah dilakukan terutama perlu adanya penyelamatan eksplan yang tidak terkontaminasi pada 2 minggu setelah kultur

sebagai tindakan penyelamatan eksplan dari kontaminasi terutama dari eksplan yang berasal dari luar (*ex vitro*).

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, A. 2016. Optimasi Teknik Sterilisasi dan Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh untuk Meningkatkan Perkecambahan Biji Kenikir (*Cosmos Caudatus*) Secara In Vitro. Jurnal Biologi Vol. 5. No. 5:
- Anonim. 2017. Standar Operasional Prosedur Perbanyakan Bibit Talas Satoimo secara Kultur Ex Vitro. Tim Ex Vitro Balai Bioteknologi. Balai Bioteknologi, BPPT. Tangerang Selatan.
- Applegren, M. 1991. Effects of Light Quality on Stem Elongation of Pelargonium *In Vitro*. *Scientia Horticulturae*. Pp. 45.
- Armiyanti. 2007. Sterilisation technique in plant micropropagation. Special topic, Faculty of Agriculture, Universiti Putra Malaysia. Pp. 21.
- Bangun, I. H., Hamidah, H., Tengku, S. 2020. Exploration and effectiveness test of the potassium solvent bacteria originating from limestone mountain of Bahorok Langkat. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 454 012143
- Bhojwani, S.S., Razdan, M.K. 1983. Plant Tissue Culture. Theory and Practice. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. Pp. 502.
- Dodd, B. 1993. Plant tissue culture for horticulture. Queensland University of Technology. Pp. 80.
- Duys, D. and J. Schouten, 2001. Handbook for Modern Greenhouse Rose Cultivation. Applied Plant Research. Pp. 229.
- Dwidjoseputro, D., 1990. Dasar-Casar Mikrobiologi. IKAPI. Penerbit Djambatan
- Dwiyanti, A. 2018. Efek Ekstrak Bunga Mawar (*Rosa domascena Mill*) terhadap Penyembuhan Angular Cheilitis yang Diinduksi Staphylococcus aureus dan Candida albicans pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). Skripsi. Bagian Ilmu Penyakit Mulut. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Farooq, SA., Farooq, TT., and TV. Rao, 2002. Micropropagation of *Annona squamosa* L. using nodal explants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5(1): 43-46.
- Gamborg, OL., and GC. Phillips, 1995. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Fundamental Methods. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York. Pp 358.
- Gavilani NH, Furian FC and Zorz AZ. 2018. Chemical sterilisation of culture medium for in vitro multiplication of *Cochlospermum regium*. *Cienc. Rural* Vol. 48 (9): 78-81

- George, EF., 1993. Plant Propagation By Tissue Culture, Part 1. The Technology, 2nd Edition, Exegetics Ltd, Edington, Wilts. England. Pp. 574
- Gunawan, LW., 1987. Teknik Kultur Jaringan. Bogor. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Hadiyono dan Zulkarnain. 1991. Perbanyakan Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.) Melalui Teknik Kultur Jaringan. Jambi. Laporan Penelitian Fakultas Pertanian Universitas Jambi.
- Hu, CY., and PJ. Wang, 1983. Meristem, Shoot Tip and Bud Cultures. In Hand Book of Plant Cell Culture. Vol. 1. Macmillan Publishing Co. New York and Collier Macmillan Publisher, London. Pp177-227.
- Marlina, N dan E. Rohayati, 2009. Teknik Perbanyakan Mawar dengan Kultur Jaringan. Buletin Teknik Pertanian. Vol 14, (2): 63-67.
- Munshi, M.K., Roy P.K., Kabir, M.H., and Ahmed, G. 2017. In vitro Regeneration of Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. Capitata) through Hypocotyl and Cotyledon Culture. Plant Tissue Culture and Biotechnology. Vol. 17, (2): 131-136.
- Muthan, B., Rathore, T. S., & Rai, V. R. (2006). Micropropagation of an endangered Indian sandalwood (*Santalum album* L.). Journal of Forest Research, 11(3), 203–209.
- Novita, L., Y.S. Fauzan, Minaldi, Erwinda, Rusmanto. 2016. Optimasi Konsentrasi Sitokinin dan Waktu Perendaman terhadap Induksi Tunas dan Akar Talas Satoimo (*C. Esculenta* Var. *Antiquorum*) melalui Teknik Kultur Ex Vitro. Prosiding Seminar Nasional dan Kongres 2016 Perhimpunan Agronomi Indonesia (PERAGI). IICC. Bogor. 27 April 2016. Hal. 972-978.
- Panjaitan SB, Aziz MA, Rashid AA and Norihan MS. 2007. In-Vitro Plantlet Regeneration from Shoot Tip of Field-grown Hermaphrodite Papaya (*Carica papaya* L cv. Eksotika). International Journal of Agriculture & Biology, 09: (6) 827-832
- Panjaitan, SB., MA. Aziz, AA. Rashid, and NM. Saleh, 2007. In-Vitro Plantlet Regeneration from Shoot Tip of Field-Grown hermaphrodite Papaya Cultivar Eksotika. International Journal of Agriculture and Biology. Vol. 9. (6): 827-832.
- Panjaitan, SB., SNA. Abdullah, MA. Aziz, S. Meon, and O. Omar, 2009. Somatic Embriogenesis from scutellar embryo of *Oryza Sativa* L. var. MR. 219. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. Vol. 32 (2): 185-194.
- Pelczar, MJ. dan ECS. Chan, 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Penerbit Universitas Indonesia. Press, Jakarta. hal. 461-467.

- Razdan, MK. 2005. Aseptic Manipulation in Introduction to Plant Tissue Culture. Science Publishers, Inc. USA. Pp. 375.
- Rismayanti dan Hamzah F (2010) Pengaruh pemberian chlorox (NaOCl) pada sterilisasi permukaan untuk perkembangan bibit Aglaonema (*Donna carmen*) secara in vitro. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XX Komisariat Daerah Sulawesi Selatan.
- Setiani, NA., N. Fitri, A. Dewi, 2018. Pengaruh Desinfektan dan Lama Perendaman pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus altilis* Parkinson ex. F.A Zorn Fosberg. Bandung. Journal of Tropical Biology. Vol. 6. (3):-....
- Titiek, W. 2017. Teknologi Budidaya Tanaman Hias Agribisnis. Cv Mine. Yogyakarta. 224 hal.
- Tripathi, M. K., Bele, D., Tiwari, G., Patel, R. P., & Ahuja, A. (2017). High frequency in vitro regeneration of sandalwood (*Santalum album* Linn.). Medicinal Plants, 9(3), 154–166. <https://doi.org/10.5958/0975-6892.2017.00024.7>
- Utami, S., PE. Mulyawati dan DH. Soebandi. 2016. Perbandingan Daya Antibakteri Disinfektan Instrumen Preparasi Saluran Akar Natrium Hipoklorit 5,25%, Glutaraldehid 2%, dan Disinfektan Berbahan Dasar Glutaraldehid terhadap *Bacillus subtilis*. J Ked Gi, Vol. 7, (2) 151-156.
- William, C.F. 1958. Food Microbiology. McGraw Book Company Inc. New York. Pp. 15.

LAMPIRAN

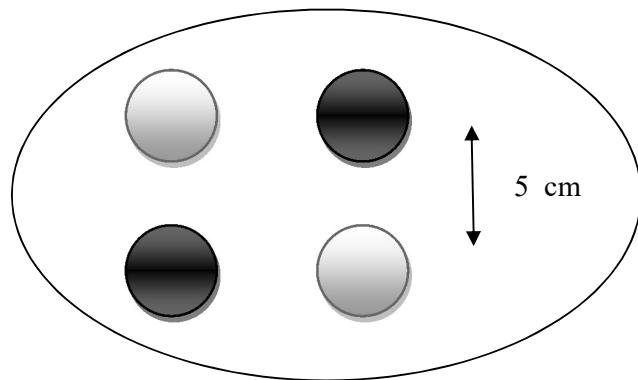
Lampiran 1. Bagan Penelitian

M1U2	M1U2	M2U4	M1U5	M3U5
M2U1	M4U3	M1U2	M5U4	M4U2
M3U5	M5U4	M3U1	M6U1	M1U1
M4U4	M2U1	M5U5	M4U3	M1U3
M5U3	M3U5	M4U5	M2U2	M6U3
M6U1	M6U2	M6U3	M3U4	M5U4

Keterangan :

MxUn : Metode sterilisasi ke x ulangan ke n

Lampiran 2. Bagan Unit Perlakuan



Keterangan :



: Eksplan non Sampel



: Sampel Eksplan

Lampiran 1. Perenstase Eksplan Hidup (%) 1 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	100	100	75	100	100	475	95
M2	100	100	75	100	100	475	95
M3	100	75	100	75	75	425	85
M4	100	75	75	75	100	425	85
M5	100	100	75	100	100	475	95
M6	100	100	100	100	75	475	95
Total	600	550	500	550	550	2750	550

Lampiran 2. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%)1 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,07	0,01	0,88 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,35	0,02			
Total	29	0,42				

Lampiran 3. Perenstase Eksplan Hidup (%)2 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	100	50	100	75	375	75
M2	100	100	75	75	50	400	80
M3	100	75	100	100	100	475	95
M4	100	75	100	100	100	475	95
M5	100	100	0	100	100	400	80
M6	100	75	100	75	75	425	85
Total	550	525	425	550	500	2550	550

Lampiran 4. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%)2 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,44	0,09	1,13 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	1,80	0,08			
Total	29	2,24				

Lampiran 5. Perenstase Eksplan Hidup (%) 3 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	1	2	3	4	5		
M1	50	100	50	100	75	375	75
M2	75	100	50	75	50	350	70
M3	100	75	75	25	75	350	70
M4	100	25	100	75	100	400	80
M5	100	100	0	0	75	275	55
M6	75	75	100	75	75	400	80
Total	400	375	325	275	350	2150	550

Lampiran 6. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%)3 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	821,71	164,34	0,11 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	33006,38	1435,06			
Total	29	33828,09				

Lampiran 7. Perenstase Eksplan Hidup (%) 4 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	75	50	75	50	275	55
M2	75	75	50	50	50	300	60
M3	75	75	75	25	75	325	65
M4	75	25	75	50	75	300	60
M5	75	75	0	0	50	200	40
M6	75	50	75	75	50	325	65
Total	400	375	325	275	350	1725	345

Lampiran 8. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%) 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,22	0,04	0,77 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	1,30	0,06			
Total	29	1,52				

Lampiran 9. Persenstase Eksplan Hidup (%) 5 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	75	50	50	50	250	50
M2	75	50	50	25	25	225	45
M3	50	75	25	25	50	225	45
M4	75	25	50	0	75	225	45
M5	50	50	0	0	50	150	30
M6	75	25	75	25	0	200	40
Total	350	300	250	125	250	1275	550

Lampiran 10. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%)5 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,12	0,02	0,33 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	1,65	0,07			
Total	29	1,77				

Lampiran 11. Persenstase Eksplan Hidup (%) 6 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	0	0	0	0	50	10
M2	0	0	0	0,25	0,5	0,75	0,15
M3	0	0	0	15	0	15	3
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	15,25	0,5	65,75	550

Lampiran 12. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Hidup (%) 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,11	0,02	1,27 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,40	0,02			
Total	29	0,51				

Lampiran 13. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	0	0	0	0	0	0
M2	0	0	0	0	0	0	0
M3	0	0	0	0	0	0	0
M4	0	10	10	5	0	25	5
M5	0	0	0	25	0	25	5
M6	0	0	0	0	25	25	5
Total	0	10	10	30	25	75	550

Lampiran 14. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 1 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,04	0,01	1,10 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,18	0,01			
Total	29	0,22				

Lampiran 15. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 2 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	20	10	30	15	0	75	15
M2	0	0	0	25	0	25	5
M3	0	25	0	0	25	50	10
M4	0	50	0	0	0	50	10
M5	0	0	0	25	25	50	10
M6	0	0	0	0	25	25	5
Total	20	85	30	65	75	275	550

Lampiran 16. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 2 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,04	0,01	0,43 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,45	0,02			
Total	29	0,49				

Lampiran 17. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 3 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	10	45	20	0	75	15
M2	0	25	0	25	0	50	10
M3	25	25	0	0	25	75	15
M4	0	50	0	0	0	50	10
M5	25	25	0	25	50	125	25
M6	0	25	0	25	50	100	20
Total	50	160	45	95	125	475	550

Lampiran 18. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 3 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,19	0,04	1,36 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,65	0,03			
Total	29	0,84				

Lampiran 19. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 4 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	15	30	20	10	75	15
M2	0	25	0	25	0	50	10
M3	25	25	0	0	50	100	20
M4	0	50	0	0	0	50	10
M5	50	50	50	75	75	300	60
M6	0	50	0	25	100	175	35
Total	75	215	80	145	235	750	550

Lampiran 20. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,86	0,17	3,10 *	2,64	3,94
Galat	24	1,28	0,06			
Total	29	2,14				

Lampiran 21. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 5 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	35	20	20	0	75	15
M2	0	25	0	25	25	75	15
M3	25	50	0	0	75	150	30
M4	0	50	0	25	0	75	15
M5	75	100	25	75	75	350	70
M6	0	50	0	75	100	225	45
Total	100	310	45	220	275	950	550

Lampiran 22. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 5 MST

SK	DB	JK	KT	F.	F. Tabel	
				Hitung	0,05	0,01
Perlakuan	5	1,74	0,35	4,46 **	2,64	3,94
Galat	24	1,80	0,08			
Total	29	3,54				

Lampiran 23. Persenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 6 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	1	2	3	4	5		
M1	25	0	25	0	25	75	15
M2	0	50	0	25	25	100	20
M3	25	100	0	0	100	225	45
M4	50	50	50	50	50	250	50
M5	100	100	50	100	100	450	90
M6	25	100	100	100	100	425	85
Total	225	400	225	275	400	1525	550

Lampiran 24. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Jamur (%) 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	2,82	0,56	4,47 **	2,64	3,94
Galat	24	2,90	0,13			
Total	29	5,72				

Lampiran 25. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 1 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	0	25	0	0	25	5
M2	25	0	0	0	0	25	5
M3	25	0	0	0	0	25	5
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	25	0	0	75	550

Lampiran 26. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 1 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,06	0,01	1,01 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,28	0,01			
Total	29	0,34				

Lampiran 27. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri(%) 2 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	0	25	25	0	75	15
M2	25	0	25	25	0	75	15
M3	0	0	0	50	25	75	15
M4	0	0	50	0	0	50	10
M5	25	0	25	0	0	50	10
M6	20	0	30	0	0	50	10
Total	95	0	155	100	25	375	550

Lampiran 28.Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 2 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,16	0,03	1,09 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,68	0,03			
Total	29	0,84				

Lampiran 29. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri(%) 3 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	25	25	50	25	150	30
M2	25	25	25	25	25	125	25
M3	75	0	75	75	0	225	45
M4	25	25	50	100	25	225	45
M5	0	0	50	0	0	50	10
M6	25	0	50	0	0	75	15
Total	175	75	275	250	75	850	550

Lampiran 30. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 3 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,30	0,06	1,78 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,78	0,03			
Total	29	1,08				

Lampiran 31. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 4 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	25	25	50	50	175	35
M2	25	25	25	25	50	150	30
M3	25	0	75	75	0	175	35
M4	25	25	25	50	0	125	25
M5	0	0	50	25	0	75	15
M6	25	0	50	0	0	75	15
Total	125	75	250	225	100	775	550

Lampiran 32. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	6	0,54	0,11	1,61 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	23	1,55	0,07			
Total	29	2,09				

Lampiran 33. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 5 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	75	50	25	50	25	225	45
M2	75	0	75	75	0	225	45
M3	75	25	50	100	50	300	60
M4	25	75	50	50	15	215	43
M5	0	0	75	0	0	75	15
M6	0	25	0	25	25	75	15
Total	250	175	275	300	115	1115	550

Lampiran 34. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 5 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	1,28	0,26	3,09 *	2,64	3,94
Galat	24	1,90	0,08			
Total	29	3,18				

Lampiran 35. Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 6 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	100	75	100	75	400	80
M2	100	50	50	25	25	250	50
M3	100	0	100	100	0	300	60
M4	50	25	25	25	50	175	35
M5	0	0	75	0	0	75	15
M6	50	0	25	0	0	75	15
Total	350	175	350	250	150	1275	550

Lampiran 36. Sidik Ragam Perenstase Eksplan Kontam Bakteri (%) 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	2,07	0,41	2,99	2,64	3,94
Galat	24	3,18	0,14			
Total	29	5,24				

Lampiran 37. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 1 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	25	0	0	0	0	25	5
M2	0	0	25	0	0	25	5
M3	0	25	0	0	0	25	5
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	25	25	25	0	0	75	550

Lampiran 38. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 1 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,01	0,00	0,96 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,05	0,00			
Total	29	0,06				

Lampiran 39. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 2 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	0	25	0	0	75	15
M2	0	25	0	25	25	75	15
M3	0	0	0	75	0	75	15
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	25	25	100	25	225	550

Lampiran 40. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 2 MST

SK	DB	JK	KT	F.	F. Tabel	
				Hitung	0,05	0,01
Perlakuan	5	0,10	0,02	1,42 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,33	0,01			
Total	29	0,43				

Lampiran 41. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 3 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	0	0	0	0	50	10
M2	0	0	0	0	50	50	10
M3	0	0	0	50	0	50	10
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	50	50	150	550

Lampiran 42. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 3 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,11	0,02	1,27 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,40	0,02			
Total	29	0,51				

Lampiran 43. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 4 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	1	2	3	4	5		
M1	50	0	0	0	0	50	10
M2	0	0	0	25	0	25	5
M3	0	0	0	0	25	25	5
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	25	25	100	550

Lampiran 44. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,11	0,02	1,27 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,40	0,02			
Total	29	0,51				

Lampiran 45. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 5 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	0	0	0	0	50	10
M2	0	0	0	0	25	25	5
M3	0	0	0	25	0	25	5
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	25	25	100	550

Lampiran 46. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 5 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,04	0,01	0,64 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,30	0,01			
Total	29	0,34				

Lampiran 47. Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 6 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	50	0	0	0	0	50	10
M2	0	0	0	0	25	25	5
M3	0	0	0	25	0	25	5
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	0	0	25	25	100	550

Lampiran 48. Sidik Ragam Persenstase Eksplan Menghasilkan Tunas (%) 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0,04	0,01	0,64 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0,30	0,01			
Total	29	0,34				

Lampiran 49. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 1 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	0	0	0	0	0	0	0
M2	0	0	0	0	0	0	0
M3	0	0	0	0	0	0	0
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran 50. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 1 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	0	0	0 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	0	0			
Total	29	0				

Lampiran 51. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 2 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	3	0	0	0	2	5	1
M2	0	0	0	1	2	3	0,6
M3	0	1	2	0	0	3	0,6
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	3	1	2	1	4	11	2,2

Lampiran 52. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 2 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	4,67	0,93	1,92 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	11,20	0,49			
Total	29	15,87				

Lampiran 53. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 3 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	4	0	0	0	3	7	1,4
M2	0	0	0	2	4	6	1,2
M3	0	0	0	2	4	6	1,2
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	4	0	0	4	11	18	3,6

Lampiran 54. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 3 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	11,37	2,27	1,87 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	28,00	1,22			
Total	29	39,37				

Lampiran 55. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 4 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	7	0	0	0	5	12	2,4
M2	0	0	0	2	6	8	1,6
M3	0	0	0	2	6	8	1,6
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	7	0	0	4	17	28	5,6

Lampiran 56. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 4 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	8,27	1,65	0,53 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	72,40	3,15			
Total	29	80,67				

Lampiran 57. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 5 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	9	0	0	0	6	15	3
M2	0	0	0	3	6	9	1,8
M3	0	0	0	3	6	9	1,8
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	6	18	33	6,6

Lampiran 58. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 5 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	53,70	10,74	2,45 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	100,80	4,38			
Total	29	154,50				

Lampiran 59. Jumlah Tunas per Eksplan (%) 6 MST

Perlakuan	Ulangan					Total	Rataan
	I	II	III	IV	V		
M1	11	0	0	0	6	17	3,4
M2	0	0	0	4	7	11	2,2
M3	0	0	0	2	8	10	2,0
M4	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0	0
Total	11	0	0	6	21	38	7,6

Lampiran 60. Sidik Ragam Jumlah Tunas per Eksplan (%) 6 MST

SK	DB	JK	KT	F. Hitung	F. Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	72,37	14,47	2,38 ^{tn}	2,64	3,94
Galat	24	140,00	6,09			
Total	29	212,37				