



**INDUKSI KALUS DARI EKSPLAN DAUN KARIKA DIENG DENGAN  
PEMBERIAN ZAT PENGATUR TUMBUH BA DAN NAA**

**skripsi**

**sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi**

Oleh

Umi Imtihanah Fikriati

4450404037

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

**2009**

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Induksi Kalus dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 21 Agustus 2009

Umi Imtihanah Fikriati  
4450404037

## ABSTRAK

**Fikriati, UI. 2009. Induksi Kalus dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Dr. Enni Suwarsi R, M.Si dan Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si.**

Karika Dieng (*Carica pubescens* Lenne & K.Koch) adalah tanaman yang buahnya dapat diolah menjadi manisan buah yang digemari sebagai oleh-oleh khas Wonosobo. Masyarakat sekitar melakukan perbanyakan dengan stek di mana teknik ini kurang efektif karena menghasilkan anakan sedikit dan pemotongan cabangnya mengurangi fungsi fotosintesis daun sehingga menurunkan hasil panen. Oleh karena itu perlu dicari upaya mengatasi masalah pembibitan karika, antara lain dengan kultur jaringan. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji pengaruh konsentrasi *Benzyl Adenine* (BA) dan *Naphthalene Acetid Acid* (NAA) terhadap induksi kalus dari daun karika, dan konsentrasi BA dan NAA yang dapat menginduksi kalus karika paling efektif.

Percobaan dilakukan dengan acak lengkap faktorial dengan perlakuan hormon BA dan NAA. Konsentrasi BA dan NAA yang diberikan adalah 2,5 mg/l, 5 mg/l, 7,5 mg/l, dan 10 mg/l. Efektivitas induksi kalus diukur berdasarkan parameter persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat dan diameter massa kalus.

Berdasar hasil Uji Jarak Berganda Duncan, diketahui ada perbedaan pengaruh yang signifikan antara perlakuan BA, NAA, dan interaksi keduanya. Persentase berkalus diperoleh hasil tertinggi pada pemberian BA 5 mg/l dan NAA 7,5 mg/l sebesar 35%, hasil yang rendah ini diduga karena eksplan berasal dari tanaman yang telah bereproduksi sehingga mempunyai kemampuan dediferensiasi yang rendah. Waktu mulai kalus tercepat diperoleh pada pemberian BA 5 mg/l dan NAA 5 mg/l dan pemberian BA 5 mg/l dan NAA 7,5 mg/l pada hari ke- 29 dan ke- 32, dimungkinkan pemberian pada konsentrasi tersebut menjadikan kadar auksin dan sitokinin dalam eksplan seimbang sehingga memicu eksplan mengalami berdediferensiasi lebih cepat. Berat dan diameter massa kalus tertinggi diperoleh pada pemberian BA 5 mg/l dan NAA 7,5 mg/l sebesar 9,59 g, dan 3,64 cm, hal ini dimungkinkan pasca dediferensiasi, BA berperan optimal dalam pembelahan dan NAA berperan optimal dalam pembentangan.

Pemberian BA dan NAA dengan kombinasi konsentrasi 5 mg/l dan 7,5 mg/l diketahui memberikan hasil paling efektif terhadap induksi kalus dari eksplan daun karika. Pengambilan eksplan dari alam sebaiknya dilakukan di musim kemarau agar eksplan tidak lembab dan mengandung banyak kontaminan. Di samping itu eksplan lebih baik diambil dari tanaman yang belum bereproduksi karena kemampuan dediferensiasinya lebih tinggi dibanding yang telah bereproduksi.

**Kata Kunci :** Karika Dieng, induksi kalus, *in vitro*, BA, NAA

**PENGESAHAN**

Skripsi dengan judul:

**“Induksi Kalus dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA”**

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 21 Agustus 2009.

Panitia Ujian

Ketua

Sekretaris

Dr. Kasmadi Imam S., M.S  
NIP. 195111151979031001

Dra. Aditya Marianti, M Si  
NIP. 196712171993032001

Penguji Utama

Drs. Sumadi, MS  
NIP. 19521291978031001

Anggota Penguji/  
Pembimbing I

Anggota Penguji/  
Pembimbing II

Dr. Enni Suwarsi R, M.Si  
NIP. 196009161986012001

Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si  
NIP. 197111071998022001

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Induksi Kalus dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA dan NAA”

Dalam menyusun skripsi penulis menyadari masih banyak kekurangan mengingat keterbatasan waktu dan pengetahuan penulis. Namun dengan segala upaya, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kemudian dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberi izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
2. Ketua Jurusan Biologi yang memudahkan jalan penulis dalam menyusun skripsi.
3. Ibu Dr. Enni Suwarsi R, M.Si, dosen pembimbing I atas bimbingan, pengarahan dan dorongannya selama ini.
4. Noor Aini Habibah, S.Si., M.Si, dosen wali dan pembimbing II untuk dukungan dan perhatiannya.
5. Bapak Drs. Sumadi, MS, dosen penguji untuk waktu dan kesabaran yang sangat berarti, tanpanya penulisan skripsi ini tidak menjadi lebih baik.
6. Mbak Tika, Mbak Fitri, Mas Solikhin dan segenap pengurus Laboratoium Biologi FMIPA UNNES atas bantuannya.
7. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang diberikan pada penulis.
8. Bapak, Ibu, untuk dengan kasih sayang, doa dan dukungannya, juga untuk adik-adikku tersayang Atul, Lala, dan Fida.
9. Teman-teman Bio '04, terima kasih untuk kebersamaan yang indah dan menyenangkan. Buat Desi, terimakasih untuk kebaikan dan kesabarannya mengajari penulis mengolah data.
10. Sumiati, Hadiyatun Nasiroh, Nur Rahmawan W. A, terimakasih untuk dukungan dan semangatnya pada penulis.
11. Teman-teman AlQuds, keluarga kecilku yang ku rindukan.
12. Teman-teman pengagum setia ruang kultur yang dingin, Aida, Dhinar, salut atas bantuan dan kerjasamanya. Tutul, Shela, Nika, tetap semangat.

13. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari akan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini, maka segala kritik maupun saran yang bersifat membangun akan penulis terima dengan senang hati.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, 21 Agustus 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
ABSTRAK .....	iii
PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Permasalahan.....	3
C. Penegasan Istilah .....	3
D. Tujuan Penelitian.....	4
E. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS</b>	
A. Tinjauan Pustaka.....	5
B. Kedudukan sistematis dan deskripsi karika .....	5
C. Kultur jaringan tumbuhan .....	5
a. Media tanam MS.....	6
b. Fisiologi auksin dan sitokinin .....	7
c. <i>Benzyl Adenine (BA)</i> dan <i>Naphtalene Acetic Acid</i> (NAA) .....	8
d. Fisiologi Pembentukan kalus.....	10
e. Hipotesis .....	11
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	12
B. Bahan dan Alat Penelitian.....	12
C. Variabel Penelitian.....	13
D. Rancangan Penelitian.....	13
E. Langkah Kerja .....	14

F. Metode Pengumpulan Data .....	16
G. Metode Analisa Data .....	17
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian.....	19
B. Pembahasan.....	25
<b>BAB V. SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Simpulan .....	32
B. Saran .....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Komposisi senyawa dari media MS 1962, konsentrasi dalam larutan stok dan volume larutan stok yang dibutuhkan .....	6
2. Kombinasi perlakuan konsentrasi BA dan NAA.....	13
3. Rekap pengambilan data hasil penelitian .....	16
4. Pengujian uji ANAVA 2 jalan .....	17
5. Respon eksplan daun <i>C. pubescens</i> terhadap konsentrasi BA dan NAA .....	19
6. Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel persen eksplan berkalus .....	20
7. Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel waktu mulai berkalus .....	20
8. Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel berat kalus .....	20
9. Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel diameter massa kalus .....	21
10. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada perlakuan BA.....	21
11. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada perlakuan NAA.....	21
12. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA .....	22
13. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada perlakuan BA .....	22
14. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada perlakuan NAA .....	22
15. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA .....	23
16. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel berat kalus pada perlakuan BA.....	23
17. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel berat kalus pada perlakuan NAA.....	23
18. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel berat kalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA.....	24

19. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus pada perlakuan BA.....	24
20. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus pada perlakuan NAA.....	24
21. Ringkasan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA ..	25
22. Kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA paling efektif dalam induksi kalus karika dengan eksplan daun.....	31

**DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
1. Mekanisme auksin dalam pembesaran dan pemanjangan kalus.....	7
2. Struktur Adenine (6-amino purine).....	8
3. Mekanisme auksin dalam pembesaran dan pemanjangan kalus.....	8
4. Rumus bangun BA .....	9
5. Rumus bangun NAA .....	9
6. Diagram alir kerangka berpikir .....	11
7. Eksplan yang berkalus dan yang tidak berkalus .....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Komposisi senyawa dari media MS 1962 .....	36
2. Hasil pengamatan parameter persentase pembentukan kalus .....	37
3. Hasil pengamatan parameter waktu mulai berkalus .....	38
4. Hasil pengamatan parameter berat kalus setelah empat bulan dari penanaman .....	39
5. Hasil pengamatan parameter diameter massa kalus setelah empat bulan penanaman .....	40
6. Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter persentase tumbuh kalus .....	41
7. Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter waktu mulai berkalus .....	44
8. Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter berat kalus .....	47
9. Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter diameter massa kalus .....	50
10. Perhitungan uji lanjut Duncan parameter persentase muncul kalus .....	53
11. Perhitungan uji lanjut Duncan parameter waktu mulai berkalus .....	57
12. Perhitungan uji lanjut Duncan parameter berat kalus .....	61
13. Perhitungan uji lanjut Duncan parameter diameter massa kalus .....	65
14. Wilayah nyata student pada taraf 5% dan 1% uji jarak berganda duncan .....	69
15. Gambar tahapan perkembangan eksplan menjadi kalus .....	71
16. Gambar hasil penelitian yang berhasil diinduksi membentuk kalus.....	72
17. Gambar hasil penelitian yang tidak berhasil diinduksi membentuk kalus .....	73

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Pepaya gunung atau karika (*Carica pubescens* Lenne & K.Koch) adalah kerabat pepaya (*Carica papaya*) yang hidup optimal di dataran tinggi basah dengan ketinggian 1.500-3.000 m di atas permukaan laut. Tanaman dan buahnya mirip dengan pepaya, tetapi berukuran lebih kecil. Karika berasal dari daerah dataran tinggi Andes, Amerika Selatan. Di Indonesia karika antara lain dapat dijumpai di daerah pegunungan tinggi Dieng Wonosobo dan Bali (Anonim 2004).

Buah karika dapat diolah menjadi manisan buah khas Wonosobo yang bernilai ekonomis tinggi dan mempunyai beberapa kelebihan, yaitu bertekstur kenyal, aroma harum dan tanpa bahan pengawet bisa bertahan lama sehingga berpotensi menjadi komoditas unggulan Kabupaten Wonosobo. Budidaya karika antara lain dilakukan kelompok tani Komunitas Agro Unggulan Daerah (KAUD) di desa Sikunang. Kelompok ini mengolah karika menjadi minuman buah komersial yang cukup diminati masyarakat sebagai oleh-oleh khas Wonosobo.

Sejauh ini perbanyakan karika dilakukan secara konvensional yakni dengan stek yang dari satu tanaman hanya bisa menghasilkan beberapa individu baru. Perbanyakan dengan teknik stek selain memerlukan lahan tanam yang luas, pemotongan cabang induknya otomatis mengurangi jumlah daun sehingga berpengaruh pada kemampuan metabolisme daun yang secara langsung dapat menurunkan produksi buahnya. Terbatasnya perbanyakan karika tersebut, berpengaruh pada jumlah bahan baku produksi pengolahan buah karika. Oleh karena itu perlu dicari cara perbanyakan karika yang efisien antara lain dengan teknik kultur jaringan. Mariska (2007) mengungkapkan bahwa teknologi kultur jaringan terbukti dapat digunakan sebagai teknologi pilihan yang sangat menjanjikan untuk pemenuhan kebutuhan bibit tanaman yang akan dieksploitasi secara luas.

Kultur jaringan adalah suatu teknik mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan, dan organ, yang kemudian menumbuhkannya dalam media buatan dengan kondisi aseptik dan terkendali (Gunawan 1995). Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah

yang besar, tidak membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, dan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional. Penyediaan bibit dengan teknik kultur jaringan terdiri dari beberapa tahap. Tahapan-tahapan tersebut meliputi persiapan media, sterilisasi eksplan, inisiasi, sub kultur, evaluasi kultur dan aklimatisasi (Gunawan 1995). Teknik kultur jaringan juga harus memperhatikan beberapa aspek penting yaitu eksplan, zat pengatur tumbuh, suhu dan cahaya.

Eksplan yang dipilih pada penelitian ini adalah daun karena umumnya untuk tujuan mendapatkan kalus, eksplan tersebut lebih menguntungkan dari pada penggunaan eksplan batang (Gunawan 1995). Daun muda merupakan organ tanaman yang mempunyai daya regenerasi yang tinggi, selain itu eksplan daun juga mudah didapat. Keberhasilan pemberian zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin dalam induksi kalus dari eksplan daun antara lain dilaporkan oleh Wulandari *et al.* (2004) yang berhasil menginduksi kalus dari daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dengan bobot kalus terbesar terjadi pada pemberian *Benzyl Adenine* (BA) dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) masing-masing 10 ppm. Keberhasilan induksi kalus dari eksplan daun jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) juga dilaporkan Ibrahim *et al.* (2004).

Langkah awal yang harus dilakukan dalam budidaya tanaman karika melalui kultur jaringan adalah induksi kalus. Induksi kalus harus dilakukan dengan sterilisasi eksplan yang tepat, media yang sesuai serta lingkungan inkubasi yang mendukung. Media yang sesuai untuk pertumbuhan kalus yang umum digunakan untuk tanaman budidaya adalah media MS (Murashige & Skoog) dengan tambahan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh sintetik perlu ditambahkan karena zat pengatur tumbuh yang terbentuk secara alami seringkali tidak mencukupi pertumbuhan jaringan eksplan (Wattimena 1992). Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan untuk induksi kalus adalah auksin dan sitokinin. Kadar auksin yang lebih tinggi dari sitokinin memacu pembentukan akar, kadar auksin yang lebih rendah dibanding sitokinin memacu pembentukan tunas, sementara kadar keduanya yang seimbang akan mengarahkan eksplan pada pembentukan kalus (George dan Sherington 1984).

Jordan dan Velozo (1996) melakukan penelitian terhadap *C. pubescens* dengan eksplan tunas aksilar, kepala sari dan daun dan berhasil diinduksi membentuk kalus pada media MS dengan penambahan BA dari golongan sitokinin

dan NAA dari golongan auksin dengan konsentrasi 2 mg/l – 10 mg/l. Sementara kombinasi zeatin dan kinetin memberikan hasil yang lebih rendah daripada kombinasi BA dan NAA. Wijono dalam Prahardini *et al.* (1992) membuktikan bahwa penambahan 3 mg/l NAA dan 2 mg/l BA efektif untuk induksi kalus pepaya. Utami *et al.* (2007) berhasil menginduksi kalus dari daun anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.) pada medium dengan penambahan NAA 2 mg/L dan BA 1 mg/L. Wulandari *et al.* (2004) meneliti respon daun jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) pada media MS dengan kombinasi BA dan NAA 0,1 – 10 mg/L, kalus berhasil diinduksi pada semua perlakuan dengan hasil berat kalus tertinggi dicapai pada pemberian 10 mg/l BA dan 0,1 mg/l NAA.

Spesies dan jenis eksplan yang berbeda mempunyai respon terhadap zat pengatur tumbuh yang berbeda pula. Oleh karena itu perlu dicari formula kombinasi BA dan NAA yang sesuai untuk induksi kalus dari eksplan daun karika.

## **B. Permasalahan**

Berdasarkan latar belakang di atas muncul beberapa permasalahan yang perlu diteliti yaitu:

1. Bagaimanakah pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap induksi kalus dari daun karika?
2. Konsentrasi BA dan NAA berapakah dapat menginduksi kalus karika paling efektif?

## **C. Penegasan Istilah**

### 1. Kalus

Kalus adalah sekumpulan sel yang aktif mengadakan pembelahan sel dan penambahan plasma sehingga dapat membesar dan membentuk massa sel yang tidak terdeterminasi (Farid 2003). Dalam penelitian ini pembentukan kalus ditunjukkan dengan tumbuhnya massa / gumpalan sel yang berwarna putih dan *friable*.

### 2. Eksplan daun

Daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun karika yang diambil dari daun ke- 3 sampai daun ke- 5 dari pucuk. Hal ini dikarenakan daun ke- 3 sampai daun ke- 5 merupakan daun yang masih muda sehingga sel-selnya lebih mudah membelah, tetapi perkembangan jaringannya sudah kompleks sehingga tidak mudah mati.

### 3. Zat pengatur tumbuh (ZPT)

ZPT yang digunakan adalah BA dari jenis sitokinin dan NAA dari jenis auksin yang ditambahkan pada media MS. Auksin secara molekuler berperan dalam pembesaran sel, sementara sitokinin berperan dalam pembelahan sel.

### **D. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji:

1. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap induksi kalus dari daun karika.
2. Konsentrasi BA dan NAA yang dapat menginduksi kalus karika paling efektif, yaitu konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan kalus secara maksimal berdasarkan indikator persentase berkalus, waktu berkalus, berat, dan diameter massa kalus.

### **E. Manfaat Penelitian**

Induksi kalus merupakan tahap penting dalam usaha mengembangkan teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan penelitian selanjutnya untuk mengarahkan kalus karika menjadi kalus embriogenik somatik sehingga dapat menghasilkan tunas guna memperoleh planlet tanaman karika sebagai upaya mengatasi masalah perkembangbiakan karika.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Kedudukan Sistematik dan Deskripsi Karika

Menurut USDA (2008) karika mempunyai kedudukan sistematik dalam klasifikasi ilmiah sebagai berikut.

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Violales

Famili : Caricaceae

Genus : *Carica*

Spesies : *Carica pubescens* Lenne & K.Koch

*Carica pubescens* merupakan tumbuhan tingkat tinggi yang tergolong satu genus dengan pepaya. Tumbuhan dan organ-organnya mirip pepaya, hanya saja ukuran buahnya lebih kecil dibanding buah pepaya. Panjang buah 6–15 cm dan diameter 3-8 cm. Percabangan karika sedikit dibanding pepaya dengan tinggi batang bisa mencapai 10 m. Buah karika mempunyai tekstur yang kenyal dan aroma yang khas (Observasi langsung 2008, Anonim 2008).

##### 2. Kultur jaringan tumbuhan

Kultur jaringan adalah suatu teknik mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, atau organ, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan aseptik yang kaya nutrisi serta zat pengatur tumbuh dengan tujuan bagian-bagian tersebut memperbanyak diri dan beregenerasi kembali menjadi tanaman yang lengkap (Gunawan 1995)

Keberhasilan perbanyakan melalui kultur jaringan erat kaitannya dengan sifat totipotensi yang dimiliki oleh setiap sel tanaman hidup. Sel tanaman hidup mempunyai rangkaian informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap yang dalam keadaan yang sesuai dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh dan lengkap (Nikmatullah 2006). Sel-sel daun yang telah terspesialisasi dapat mengalami dediferensiasi, yaitu berubahnya sel-sel yang sudah terdiferensiasi

menjadi meristematik kembali sehingga dapat membentuk kalus pada lingkungan, media dan ZPT yang sesuai.

a. Media tanam MS (Murasinge and Skoog) 1962

Pada dasarnya, media pertumbuhan eksplan merupakan media yang didalamnya terkandung nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan tanaman. Media MS merupakan media yang sering digunakan dalam kultur yang terdiri dari unsur-unsur yang dibutuhkan tanaman. Unsur-unsur tersebut adalah hara makro, hara mikro, *myoinositol*, vitamin, sukrosa, dan akuades. Selain itu juga diperlukan penambahan agar yang berfungsi sebagai pematat media. Melalui penelitian yang dilakukan oleh Murashige and Skoog, didapat media yang komposisi dasar nutrisinya mampu memenuhi unsur-unsur nutrisi bagi perkembangan eksplan tanaman yang kemudian disebut sebagai media MS. Adapun komposisi media MS dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1 Komposisi senyawa dari media MS 1962, konsentrasi dalam larutan stok dan volume larutan stok yang dibutuhkan

Senyawa	Konsentrasi dalam media (mg/l)	Konsentrasi dalam larutan stok (mg/l)	Nama stok	Volume larutan stok (ml/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	16500	Makro (10x)	100
KNO <sub>3</sub>	1900	19000		
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	440	4400		
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	3700		
	170	1700		
Na <sub>2</sub> EDTA	27,8	2780	Mikro A (100x)	10
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	37,3	3730		
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	22300	Mikro B (100x)	1
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6	8500		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6200		
KI	0,83	830		
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	25		
CoCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	0,025	25		
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,25	250		
Tiamin	0,5	500	Vitamin (1000x)	1
As. nikotinat	0,5	500		
Piridoksin	0,5	500		
Glisis	2	2000		
Myo-inositol	100	5000	Myo-inositol (50x)	20
Sukrosa	30000	Tidak dibuat stok	Sukrosa	-

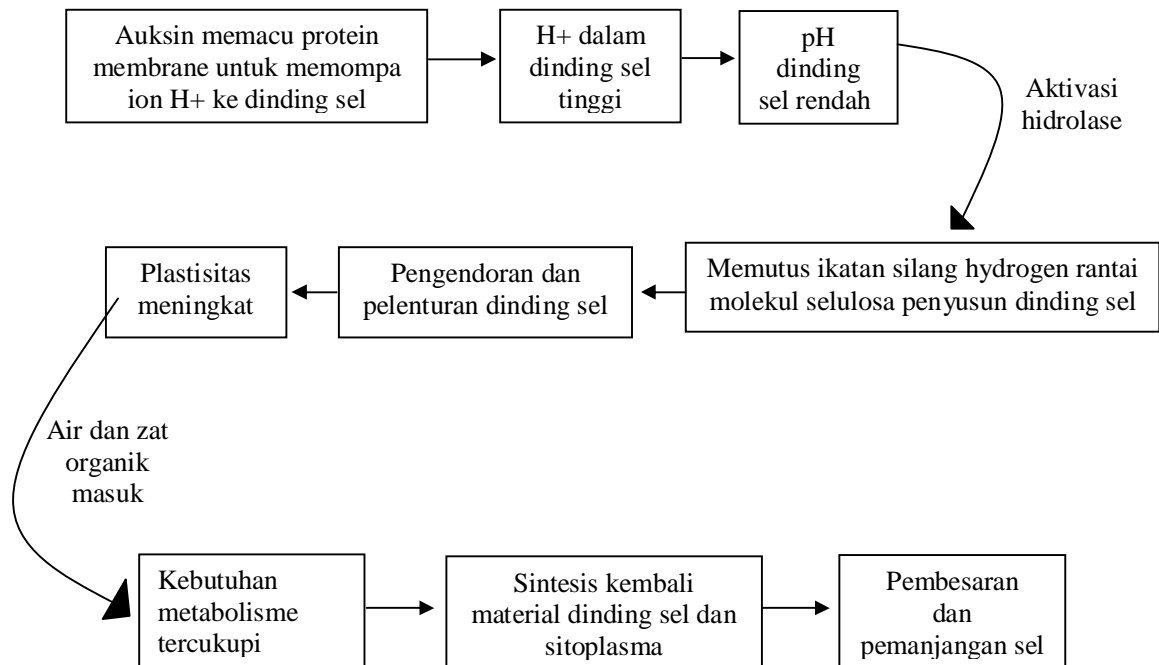
Sumber : Gunawan 1995

## b. Fisiologi auksin dan sitokinin

### 1) Auksin

ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah dari golongan auksin dan sitokinin. Auksin mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

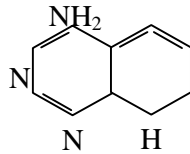
Secara fisiologis auksin diantaranya berperan terhadap pembentukan kalus dan pengembangan sel (Abidin 1994), dengan mempengaruhi pengenduran atau pelenturan dinding sel melalui peningkatan protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion  $H^+$  ke dinding sel. Ion  $H^+$  ini mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Peristiwa ini menyebabkan pengenduran dinding sel akibatnya air mudah masuk ke dalam sel sehingga terjadi pembesaran sel. Pembesaran sel tersebut diikuti dengan proses sintesis material dinding sel dan sitoplasma. Konsentrasi auksin yang dapat digunakan berkisar antara 0,01–10 ppm (Gunawan 1995). Mekanisme auksin dalam pengembangan kalus dapat terlihat pada gambar berikut.



Gambar 1 Mekanisme auksin dalam pembesaran dan pemanjangan kalus

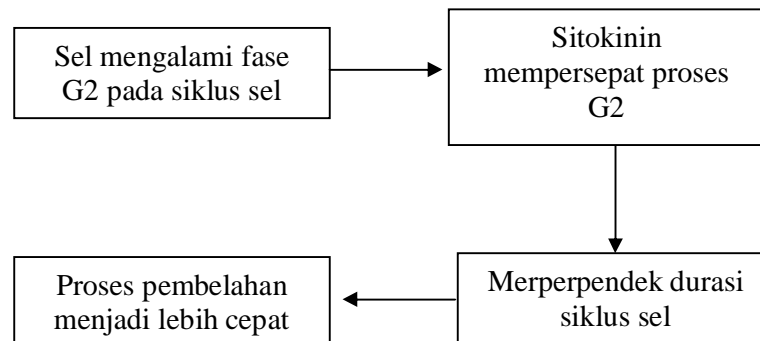
## 2) Sitokinin

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam proses pembelahan sel. Bentuk dasarnya adalah adenin (6-amino purin).



Gambar 2 Struktur Adenine (6-amino purine) (Wattimena 1992)

Sifat karakteristik sitokinin adalah merangsang pembelahan sel pada kultur jaringan tanaman (Wilkins 1989). Mekanisme auksin dalam sel adalah dengan mempercepat durasi siklus sel, yaitu pada fase G2 ke mitosis dengan mempercepat proses persiapan untuk kebutuhan pemisahan kromosom pada G2 yang kemudian diikuti oleh proses pembelahan atau mitosis (Salisbury dan Ross 1995). Aplikasi auksin dan sitokinin dengan berbagai perbandingan menghasilkan respon yang berbeda terhadap pertumbuhan. Pada konsentrasi yang seimbang antara auksin dan sitokinin keduanya dapat merangsang induksi kalus. Keberhasilan induksi kalus dengan ekplan daun antara lain dilaporkan oleh Wulandari *et al.* (2004) dengan konsentrasi auksin dan sitokinin 0,1 mg/l – 10 mg/l. Mekanisme auksin dalam pengembangan kalus dapat terlihat pada diagram berikut:

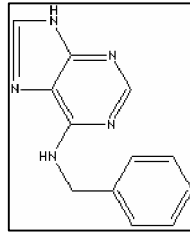


Gambar 3 Mekanisme auksin dalam pembesaran dan pemanjangan kalus

### c. *Benzyl Adenine* (BA) dan *Naphtalene Acetic Acid* (NAA)

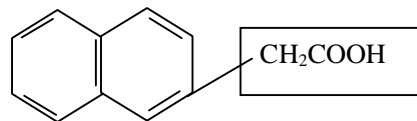
Golongan sitokinin yang aktif adalah BA dan thidiazuron. BA mempunyai sifat yang sulit didegradasi oleh enzim sehingga mempunyai daya rangsang yang lebih lama, tidak mudah dirombak oleh sistem enzim dalam tanaman, dan lebih mudah didapatkan serta lebih ekonomis dibanding thidiazuron. Ibrahim *et al.* (2004) berhasil menginduksi kalus dari daun *Echinaceae purpurea* dengan pemberian MS

dengan penambahan BA 0,2 mg/l dan 2,4-D 1 mg/l. Rumus bangun NAA dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4 Rumus bangun BA (Wattimena 1992)

Selain BA dari golongan sitokinin, digunakan NAA dari golongan auksin. NAA adalah salah satu auksin sintetik yang sering ditambahkan dalam media tanam karena mempunyai sifat lebih stabil daripada *Indol Acetic Acid* (IAA) dan tidak mudah terurai baik oleh enzim yang dikeluarkan sel, cahaya maupun pemanasan pada proses sterilisasi. Nugroho dan Sugito (1996) dalam Rodinah dan Nisa (2005) medium terbaik untuk pembentukan kalus melon adalah MS dengan NAA 3 mg l. Rumus bangun NAA dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 5 Rumus bangun NAA (Wattimena 1992)

Ratio sitokinin dan auksin dalam medium menentukan tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam (Murasinge and Skoog 1962). Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan merangsang pembentukan akar sebaliknya jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dari auksin akan merangsang pembentukan tunas, sementara konsentrasi yang seimbang dapat memacu induksi kalus (George and Sherrington 1984).

Jordan dan Velozo (1996) melakukan penelitian terhadap *Carica pubescens* dengan eksplan tunas aksilar, kepala sari dan daun dan berhasil diinduksi membentuk kalus pada media MS dengan penambahan BA dan NAA dari golongan auksin dengan konsentrasi 2 mg/l – 10 mg/l. Wijono dalam Prahardini *et al.* (1992) membuktikan bahwa penambahan 3 mg/l NAA dan 2 mg/l BA efektif untuk induksi kalus pepaya.

Nurwahyuni dan Tjondronegoro (1994) berhasil menginduksi kalus dari eksplan biji *Dioscorea composita* Hemsl pada media MS dengan pemberian BA 0,1 mg/l dengan kombinasi NAA 0,1 – 5,0 mg/l. Utami *et al.* (2007) juga berhasil

menginduksi kalus dari daun anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.) pada medium dengan penambahan ZPT NAA 2 mg/L dan BA 1 mg/L.

#### d. Fisiologi Pembentukan kalus

Prinsip kerja kultur jaringan didasarkan pada teori totipotensi yang menyatakan bahwa bagian tanaman yang hidup mempunyai totipotensi yang jika dibudidayakan di dalam media yang sesuai, akan dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang sempurna, artinya dapat bereproduksi, berkembang biak secara normal melalui biji atau spora (Schleiden dan Schwann dalam Suryowinoto dan Suryowinoto 1996).

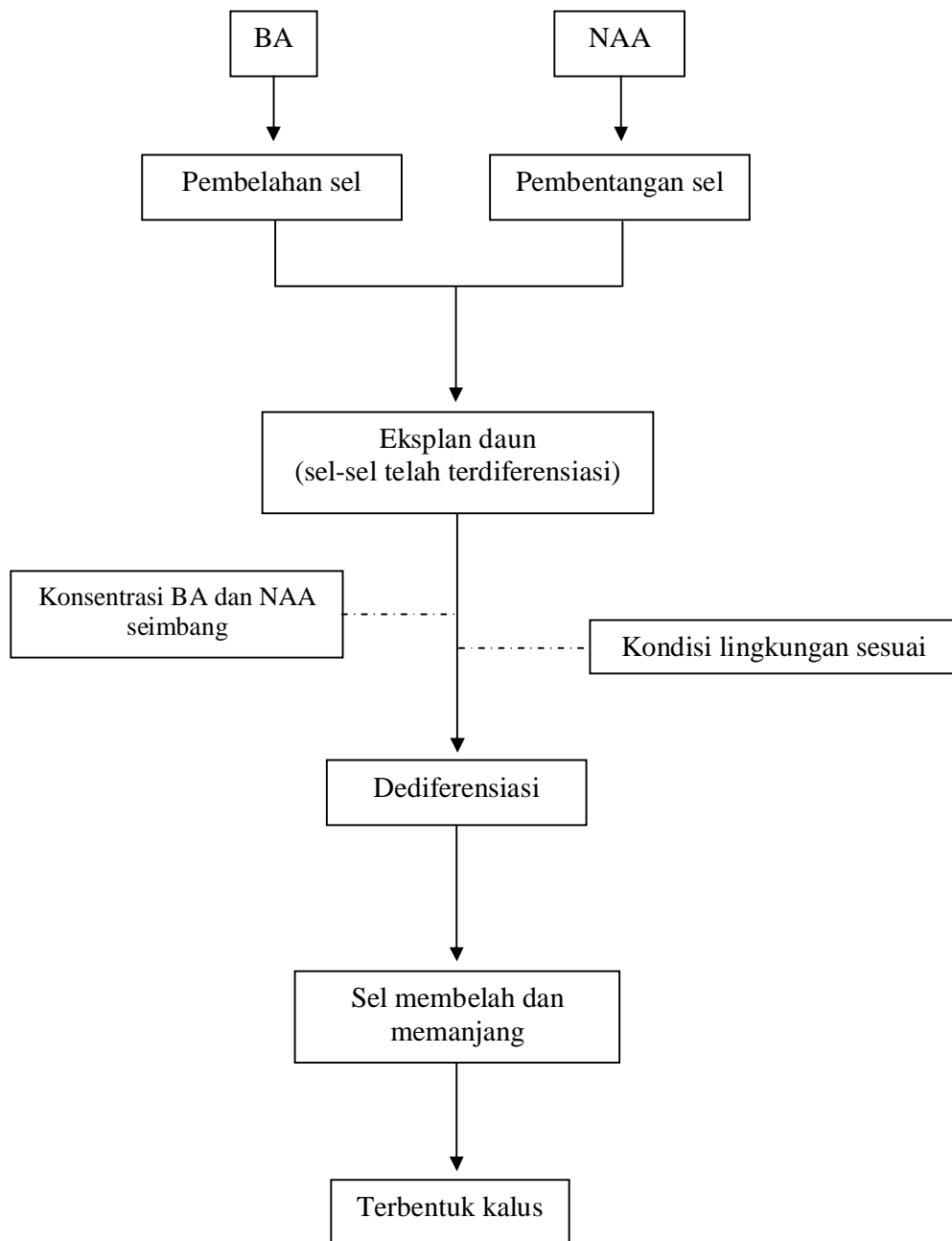
Pada induksi kalus terjadi proses dediferensiasi, yakni jaringan dewasa yang masih hidup, yang telah mempunyai fungsi tertentu menjadi meristematik kembali. Sel-sel yang meristematik menjadi lebih cepat membelah dan membesar bila berada pada lingkungan yang sesuai dan kebutuhan nutrisi yang tercukupi. Sel-sel pada eksplan daun dimungkinkan dapat mengalami pembelahan dan pembentangan jika ditanam pada media MS dengan penambahan auksin dan sitokinin yang tepat. Pemberian kombinasi konsentrasi auksin dan sitokinin yang tepat menjadikan konsentrasi eksogen dan endogen dalam eksplan seimbang. Nisbah yang seimbang antara auksin dan sitokinin dapat merangsang induksi kalus (Wattimena 1992).

Pada pembentukan kalus, auksin dan sitokinin mempunyai peran berbeda. Auksin berperan memudahkan pengembangan sel dengan cara pelenturan dinding sel yang memudahkan air dan nutrisi masuk ke dalam sel. Dengan demikian kebutuhan sel untuk membentangi dapat tercukupi.

Sementara sitokinin berperan dalam proses sitokinesis atau pembelahan sel. Pada siklus sel, sitokinin bekerja dengan mempercepat durasi salah satu fase pembelahan yaitu fase G2. Pada fase tersebut terjadi persiapan material untuk sintesis, sehingga dengan durasi G2 yang lebih pendek menjadikan sel lebih cepat mengalami pembelahan. Pembentangan dan pembelahan tersebut yang menentukan ukuran maupun laju pertumbuhan kalus.

Kombinasi yang tepat dan seimbang antara auksin dan sitokinin pada eksplan dapat menyebabkan terjadinya induksi kalus. Dalam hal ini auksin bekerja dalam pembentangan/pembesaran sel sementara sitokinin berperan dalam pembelahan sel. Dengan demikian, pada kombinasi auksin dan sitokinin yang tepat sel-sel eksplan dapat berdediferensiasi menjadi sel yang meristematik yang selanjutnya melakukan pembelahan dan pembentangan sehingga terjadi penambahan berat dan ukuran kalus.

Kerangka berfikir



Gambar 6 Diagram alir kerangka berpikir

## B. Hipotesis

1. Konsentrasi BA dan NAA pada media MS berpengaruh dalam induksi kalus dari eksplan daun karika secara *in vitro*.
2. Pemberian kombinasi BA dan NAA dengan konsentrasi tertentu pada media MS dapat menginduksi kalus dari eksplan daun karika secara efektif.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### 1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi FMIPA Unnes.

##### 2. Waktu

Penelitian ini dilakukan selama delapan bulan, dari bulan Juli 2008 hingga Maret 2009.

#### **B. Bahan dan Alat Penelitian**

##### 1. Bahan

- a. Daun karika nodus ke- tiga sampai ke- lima dari pucuk yang diperoleh dari dataran tinggi desa Sikunang Dieng Wonosobo
- b. Akuades
- c. Bahan kimia penyusun media MS
- d. Zat pengatur tumbuh BA dan NAA
- e. Asam askorbat non komersial
- f. Bahan sterilan (larutan NaOCl 1% dalam pemutih pakaian, tween-20, alkohol 70%, alkohol 96%).
- e. Kertas pH
- f. Plastik bening tahan panas
- g. Karet pentil sebagai pengikat tutup botol

##### 2. Alat

- a. *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai meja kerja steril yang dilengkapi dengan UV, *blower* dan Neon
- b. *Autoclave*
- c. Timbangan analitik
- d. Alat gelas, terdiri dari erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, pipet dan spatula.
- e. Alat diseksi yang terdiri dari pinset, *scalpel*, mata pisau, dan gunting
- f. Lampu spirtus
- g. Indikator pH
- h. Botol kultur



### C. Variabel Penelitian

#### 1. Variabel bebas

- a. Konsentrasi BA
- b. Konsentrasi NAA

#### 2. Variabel tergantung

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah pembentukan kalus dengan parameter persentase eksplan yang membentuk kalus, kecepatan pembentukan kalus, diameter massa kalus, dan berat kalus.

#### 3. Variabel terkontrol

- a. Umur fisiologis daun
- b. Media tanam yakni media MS padat
- c. Suhu ruang inkubasi 23-25°C
- d. Cahaya 1000 lux atau setara dengan 1 lampu TL 40 watt.

### D. Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan rancangan acak lengkap faktorial yang terdiri dari dua jenis hormon, masing-masing dengan empat taraf sebagai berikut:

1. Konsentrasi BA 2,5 ppm (B1), 5 ppm (B2), 7,5 ppm (B3), dan 10 ppm (B4)
2. Konsentrasi NAA 2,5 ppm (N1), 5 ppm (N2), 7,5 ppm (N3), dan 10 ppm (N4)

Tabel 2 Kombinasi perlakuan konsentrasi BA dan NAA

Perlakuan	Kadar BA (ppm)	Kadar NAA (ppm)
B1N1	2,5	2,5
B1N2	2,5	5
B1N3	2,5	7,5
B1N4	2,5	10
B2N1	5	2,5
B2N2	5	5
B2N3	5	7,5
B2N4	5	10
B3N1	7,5	2,5
B3N2	7,5	5
B3N3	7,5	7,5
B3N4	7,5	10
B4N1	10	2,5
B4N2	10	5
B4N3	10	7,5
B4N4	10	10

Dalam penelitian ini, satu unit perlakuan berupa satu potong eksplan dengan ulangan sebanyak 20 yang ditanam pada lima botol kultur di mana satu botol terdiri dari lima eksplan

## **E. Langkah Kerja**

### 1. Persiapan media

#### a. Pembuatan Media

- 1) Alat dan bahan untuk media yang berupa gelas ukur, gelas beker, spatula, pH meter, kertas pH, dan larutan stok media MS disiapkan terlebih dahulu sebelum membuat media.
- 2) Akuades dituang sebanyak 100 ml ke dalam gelas beker 1 liter
- 3) Larutan stok diambil sesuai ketentuan pembuatan media MS (Tabel 1) dan dimasukkan ke dalam gelas beker yang telah berisi akuades.
- 4) Sukrosa sebanyak 30 g dimasukkan dalam gelas beker yang telah berisi larutan MS.
- 5) BA dan NAA dimasukkan sesuai perlakuan kemudian menambahkan akuades hingga volume mencapai 1 liter dan mengaduknya hingga homogen. Sambil diaduk, dilakukan pengukuran pH dengan kertas pH. Bila larutan terlalu asam maka ditambahi larutan NaOH 1 N dan bila terlalu basa ditambahkan larutan HCl 1 N hingga pH nya 5,8.
- 6) Agar sebanyak 7 g dimasukkan ke dalam media, dan dipanaskan hingga larutan mendidih. Sambil dipanaskan larutan terus diaduk agar homogen.
- 7) Setelah mendidih, media dituang ke dalam botol-botol steril yang telah diberi label perlakuan, ditutup dengan plastik tahan panas dan diikat dengan karet pentil. Label berisi keterangan jenis media, jenis perlakuan dan tanggal pembuatan media.

#### b. Sterilisasi media

Media yang akan disterilkan dimasukkan dalam *autoclave* kemudian disterilisasi pada suhu 121° C dengan tekanan 17,5 lb selama 15 menit.

### 2. Isolasi bahan tanam (eksplan)

Eksplan yang berupa daun karika diambil dari tanaman karika di Desa Sikunang daerah dataran tinggi Dieng Wonosobo. Daun diambil dari nodus ke- tiga sampai ke- lima dari pucuk. Hal ini dengan pertimbangan daun ketiga sampai ke

lima adalah daun yang masih muda, meristematik dan bagian-bagiannya sudah sempurna. Daun dimasukkan dalam plastik dan dimasukkan dalam termos berisi es, daun kemudian dibawa ke laboratorium Biologi Unnes.

### 3. Sterilisasi eksplan

Sterilisasi dilakukan dengan modifikasi metode Yusnita (2003) sebagai berikut:

- a. Daun dibersihkan, dicuci dengan larutan detergen 5 g dalam 1 liter kemudian dibilas dengan air mengalir.
- b. Eksplan dimasukkan dalam LAF yang sudah disterilkan dengan penyinaran UV selama 45 menit dan dibersihkan dengan alkohol 70%.
- c. Daun direndam dalam larutan asam askorbat 150 mg/liter sebagai antioksidan.
- d. Eksplan direndam sambil dikocok dalam larutan NaOCl 1% dalam pemutih pakaian komersial yang telah diberi dua tetes Tween-20 per 100 ml selama 10 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali masing-masing 5 menit.

### 4. Penanaman eksplan.

Setelah disterilisasi, eksplan diletakkan di cawan petri kemudian dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm. Setelah dipotong eksplan kemudian dimasukkan dalam media yang telah disiapkan.

### 5. Inkubasi

Inkubasi eksplan dilakukan di ruangan steril dengan suhu dan cahaya yang terkontrol. Dalam tahap ini eksplan yang sudah ditanam di media disimpan di rak penyimpanan yang kondisinya sudah disterilkan. Suhu ruang inkubasi harus dijaga agar mendukung perkembangan eksplan. Suhu yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah 23-25°C.

### 6. Sub kultur.

Sub kultur dilakukan tiap satu bulan sekali, karena dalam jangka waktu tersebut diperkirakan media mulai kehabisan nutrisi. Sub kultur juga dilakukan bila:

- a. botol sudah terlalu penuh dengan eksplan.
- b. eksplan mengalami *browning* (pencoklatan).
- c. eksplan terancam kontaminasi oleh kontaminan yang berada di sekitarnya (dalam satu botol).

## F. Metode Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan menghitung persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat, dan diameter massa kalus pada berbagai konsentrasi BA dan NAA. Hasil data yang diperoleh ditabulasikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Rekap pengambilan data hasil penelitian

Kombinasi taraf perlakuan	Ulangan					Rerata*
	I	II	III	IV	V	
B1N1						
B1N2						
B1N3						
B1N4						
B2N1						
B2N2						
B2N3						
B2N4						
B3N1						
B3N2						
B3N3						
B3N4						
B4N1						
B4N2						
B4N3						
B4N4						

Keterangan:

\* = Persentase eksplan yang berkalus, waktu mulai berkalus, berat dan diameter massa kalus

Persentase berkalus ditentukan dengan menghitung ratio jumlah eksplan yang menumbuhkan kalus dengan seluruh eksplan yang ditanam. Waktu mulai berkalus ditentukan berdasarkan jarak waktu (hari) sejak penanaman hingga mulainya muncul kalus dari tiap perlakuan. Kemunculan kalus diindikasikan dengan adanya kumpulan sel dari eksplan daun dengan ciri berwarna putih atau bening dengan lebar minimal 2 mm. Berat segar kalus dihitung dengan menimbang botol yang berisi media dan kalus setelah eksplan ditanam selama empat bulan dikurangi berat awal botol media dan eksplan dengan rumus sebagai berikut.

$$BK = M_1 - M_0$$

Keterangan:

BK = Berat kalus

$M_0$  = Berat botol yang berisi media dan eksplan saat penanaman

$M_1$  = Berat botol yang berisi media dan kalus setelah empat bulan dari penanaman

Diameter massa kalus dihitung dengan mengukur diameter terpanjang kalus dengan satuan yang digunakan centimeter (cm). Pengukuran dilakukan dengan menempelkan penggaris pada luar botol dan menghitung diameter terpanjang kalus.

### G. Metode Analisis Data

Data yang sudah diperoleh yakni berupa persentase berkalus (%), waktu mulai berkalus (hari), berat kalus (g), dan diameter massa kalus (cm) dianalisis menggunakan uji ANAVA dua jalan untuk melihat pengaruh tiap kelompok perlakuan. Jika hasil uji Anava signifikan, dilakukan uji jarak ganda duncan dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menganalisis perbedaan pengaruh antar kombinasi taraf perlakuan.

Tabel 4 Pengujian uji ANAVA 2 jalan

Sumber Variasi	db	JK	KT	Fh	F <sub>tab</sub> (α = 5%)	F <sub>tab</sub> (α = 1%)
BA						
NAA						
Interaksi BA x NAA						
Total						

db : derajat bebas                      JK : jumlah kuadrat  
JK : kuadrat tengah                      Fh : Faktorial hitung

Adapun rumus uji ANAVA sebagai berikut:

#### 1. Menghitung JK Total

$$JK_{tot} = \sum X_{tot}^2 - \left( \frac{\sum X_{tot}}{N} \right)^2$$

#### 2. Menghitung JK kolom

$$JK_{kol} = \sum X_{kol}^2 - \left( \frac{\sum X_{tot}}{N} \right)^2$$

#### 3. Menghitung JK baris

$$JK_{bar} = \sum X_{bar}^2 - \left( \frac{\sum X_{tot}}{N} \right)^2$$

#### 4. Menghitung JK interaksi

$$Jk_{inter} = JK_{bag} - (JK_{kolom} + JK_{baris})$$

$$Jk_{bagian} = \sum \frac{(\sum X_{bag1})}{n_{bag1}} - \frac{(\sum X_{bag2})}{n_{bag2}} + \dots + \frac{(\sum X_{bag n})}{n_{bag n}} - \frac{(\sum X_{tot}^2)}{N}$$

#### 5. Menghitung JK dalam

$$Jk_{dalam} = JK_{tot} (JK_{kolom} + JK_{baris} + JK_{interaksi})$$

## 6. Menghitung dk untuk

$$\text{dk kolom} = k-1$$

$$\text{dk baris} = b-1$$

$$\text{dk interaksi} = \text{dkk} \times \text{dkb}$$

$$\text{dk dalam} = (N-k.b)$$

$$\text{dk tot} = N-1$$

## 7. Menghitung Mean Kuadrat (MK) = masing-masing JK dibagi dengan dk.

## 8. Menghitung harga Fh kolom, Fh baris, Fh interaksi dengan cara membagi tiap MK dengan MK dalam.

## 9. Untuk mengetahui bahwa harga F tersebut signifikan tidak maka perlu dibandingkan dengan F tabel.

Indikasinya jika nilai F hitung lebih besar dari F tabel maka hasilnya signifikan, sebaliknya jika nilai F hitung lebih kecil dari F tabel maka hasil tidak signifikan. Bila hasilnya signifikan, diteruskan dengan Uji Jarak Ganda Duncan dengan tingkat kepercayaan 95% (Gomez dan Gomez 1984), untuk mengetahui perbedaan antar kombinasi taraf perlakuan.

Adapun rumus uji jarak berganda duncan (UJGD) dalam sebagai berikut:

1. Menghitung  $s_d$ 

$$s_d = \sqrt{\frac{2s^2}{r}}$$

Keterangan:

$s^2$  = KT galat

r = Banyaknya ulangan

## 2. Menghitung Nilai wilayah jarak ganda Duncan

$$R_p = \frac{(r_p)(s_d)}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

$r_p$  = diperoleh pada tabel uji duncan 5%

Selisih < rerata = tidak berbeda, notasi sama

Selisih > rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Hasil penelitian induksi kalus dari eksplan daun *C. pubescens* dengan pemberian zat pengatur tumbuh BA dan NAA dengan berbagai taraf perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Respon eksplan daun *C. pubescens* terhadap konsentrasi zat pengatur tumbuh BA dan NAA

Kombinasi taraf perlakuan	Persentase Tumbuh kalus (%)	Waktu mulai berkalus (hari)	Berat kalus (gram)	Diameter massa kalus (cm)
B1N1	0	-	0,000	0,00
B1N2	0	-	0,000	0,00
B1N3	0	-	0,000	0,00
B1N4	5	39	0,726	0,60
B2N1	5	42	0,316	0,52
B2N2	20	29	3,722	2,06
B2N3	35	32	9,590	3,64
B2N4	0	-	0,000	0,00
B3N1	0	-	0,000	0,00
B3N2	0	-	0,000	0,00
B3N3	10	40	3,126	1,42
B3N4	0	-	0,000	0,00
B4N1	0	-	0,000	0,00
B4N2	0	-	0,000	0,00
B4N3	5	64	0,380	0,40
B4N4	0	-	0,000	0,00

Keterangan :

- = kalus tidak tumbuh

B1 = 2,5 ppm

N1 = 2,5 ppm

B2 = 5,0 ppm

N2 = 5,0 ppm

B3 = 7,5 ppm

N3 = 7,5 ppm

B4 = 10 ppm

N4 = 10 ppm

Dari Tabel 5 diketahui bahwa terdapat variasi rerata pada parameter persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat, dan diameter massa kalus. Untuk mengetahui pengaruh taraf perlakuan terhadap persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat, dan diameter massa kalus, maka data diuji dengan analisis varian (anava) dua jalan. Hasil perhitungan anava untuk masing-masing variabel dapat dilihat pada Tabel 6, 7, 8, dan 9.

Tabel 6 Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk parameter persentase eksplan berkalus\*)

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 5\%$ )	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 1\%$ )
BA	3	2687,5	895,833	17,506**	2,75	4,10
NAA	3	1687,5	562,500	10,992**	2,75	4,10
BA X NAA	9	2625,0	291,667	5,700**	2,03	2,70
Galat	64	3275,0	51,172			
Total	79	10275,0	130,063			

Keterangan :

\*) Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 6 Halaman 41

\*\*) Sangat signifikan

Dari Tabel 6 dapat diketahui konsentrasi BA, NAA dan kombinasi keduanya mempunyai pengaruh sangat signifikan terhadap persentase berkalus eksplan daun karika. Indikasi sangat signifikan ditunjukkan dengan F<sub>h</sub> (F<sub>hitung</sub>) yang lebih besar dari F<sub>tabel</sub> pada derajat kesalahan 5% dan 1%.

Tabel 7 Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel waktu mulai berkalus\*)

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 5\%$ )	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 1\%$ )
BA	3	3196,45	1065,483	28,632**	2,75	4,10
NAA	3	2394,25	798,083	21,447**	2,75	4,10
BA X NAA	9	3185,25	353,917	9,511**	2,03	2,70
Galat	64	2381,60	37,212			
Total	79	11157,55	141,235			

Keterangan :

\*) Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 7 Halaman 44

\*\*) Sangat signifikan

Dari Tabel 7 dapat diketahui konsentrasi BA, NAA dan kombinasi keduanya mempunyai pengaruh sangat signifikan terhadap persentase berkalus eksplan daun karika. Indikasi sangat signifikan ditunjukkan dengan F<sub>h</sub> (F<sub>hitung</sub>) yang lebih besar dari F<sub>tabel</sub> pada derajat kesalahan 5% dan 1%.

Tabel 8 Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel berat kalus\*)

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 5\%$ )	F <sub>tabel</sub> ( $\alpha = 1\%$ )
BA	3	145,526	48,509	11,723**	2,75	4,10
NAA	3	132,801	44,267	10,698**	2,75	4,10
BA X NAA	9	203,815	22,647	5,4730**	2,03	2,70
Galat	64	264,829	4,138			
Total	79	746,971	9,455			

Keterangan :

\*) Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 8 Halaman 47

\*\*) Sangat signifikan



Dari Tabel 8 dapat diketahui konsentrasi BA, NAA dan kombinasi keduanya mempunyai pengaruh sangat signifikan terhadap persentase berkalus eksplan daun karika. Indikasi sangat signifikan ditunjukkan dengan  $F_h$  ( $F_{hitung}$ ) yang lebih besar dari  $F_{tabel}$  pada derajat kesalahan 5% dan 1%.

Tabel 9 Ringkasan hasil Anava dua jalan untuk variabel diameter massa kalus\*)

Sumber variasi	db	JK	KT	$F_h$	$F_{tabel}$ ( $\alpha = 5\%$ )	$F_{tabel}$ ( $\alpha = 1\%$ )
BA	3	28,203	9,401	12,477**	2,75	4,10
NAA	3	20,029	6,676	8,861**	2,75	4,10
BA X NAA	9	29,940	3,327	4,415**	2,03	2,70
Galat	64	48,220	0,753			
Total	79	126,392	1,600			

Keterangan :

\*) Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 9 Halaman 50

\*\* Sangat signifikan

Dari Tabel 9 dapat diketahui konsentrasi BA, NAA dan kombinasi keduanya mempunyai pengaruh sangat signifikan terhadap persentase berkalus eksplan daun karika. Indikasi sangat signifikan ditunjukkan dengan  $F_h$  ( $F_{hitung}$ ) yang lebih besar dari  $F_{tabel}$  pada derajat kesalahan 5% dan 1%.

Tabel 10 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada perlakuan BA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_{p(0,05)}$
B2	15,0a	-	-
B3	2,50b	12,5	4,503
B1	1,25b	1,25	4,743
B4	1,25b	0,00	4,903

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 11 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada perlakuan NAA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_{p(0,05)}$
N3	12,5a	-	-
N2	5,00b	7,50	4,503
N1	1,25b	3,75	4,743
N4	1,25b	0,00	4,903

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 12 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel persentase berkalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA\*

Kombinasi taraf perlakuan	Rerata persentase berkalus (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B2N3	35a	-	-
B2N2	20b	15	4,503
B3N3	10c	10	4,743
B1N4	5d	5	4,903
B2N1	5d	0	5,007
B4N3	5d	0	5,103
B1N1	0e	5	5,167
B1N2	0e	0	5,167
B1N3	0e	0	5,167
B2N4	0e	0	5,167
B3N1	0e	0	5,167
B3N2	0e	0	5,167
B3N4	0e	0	5,167
B4N1	0e	0	5,167
B4N2	0e	0	5,167
B4N4	0e	0	5,167

Keterangan:

\* Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 10 Halaman 53

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$ 

Tabel 13 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada perlakuan BA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B2	21,938a	-	-
B3	4,706b	17,232	3,840
B4	4,000b	0,706	4,044
B1	2,438b	1,563	4,181

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$ 

Tabel 14 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada perlakuan NAA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
N3	15,4a	-	-
N2	7,25b	8,15	3,840
N1	2,10c	5,15	4,044
N4	1,95c	0,15	4,181

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 15 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel waktu mulai berkalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA\*

Kombinasi taraf perlakuan	Waktu mulai berkalus	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B4N3	64,0a	-	-
B2N1	42,0b	22	3,840
B3N3	40,0c	2	4,044
B1N4	39,0c	1	4,181
B2N3	32,6d	6,4	4,270
B2N2	29,0d	3,6	4,351
B1N1	0,00e	29	4,406
B1N2	0,00e	0	4,406
B1N3	0,00e	0	4,406
B2N4	0,00e	0	4,406
B3N1	0,00e	0	4,406
B3N2	0,00e	0	4,406
B3N4	0,00e	0	4,406
B4N1	0,00e	0	4,406
B4N2	0,00e	0	4,406
B4N4	0,00e	0	4,406

Keterangan:

\* Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 11 Halaman 57

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 16 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel berat kalus pada perlakuan BA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B2	3,407a	-	-
B3	0,782b	2,626	1,280
B1	0,182b	0,600	1,349
B4	0,095b	0,087	1,394

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 17 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel berat kalus pada perlakuan NAA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
N3	3,274a	-	-
N2	0,931b	2,344	1,280
N4	0,182b	0,749	1,349
N1	0,079b	0,103	1,394

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 18 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel berat kalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA

Kombinasi taraf perlakuan	Berat kalus (g)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B2N3	9,590a	-	-
B2N2	3,722b	5,868	1,280
B3N3	3,126b	0,596	1,349
B1N4	0,726c	2,400	1,394
B2N1	0,380c	0,364	1,424
B4N3	0,316c	0,064	1,451
B1N1	0,000d	0,316	1,469
B1N2	0,000d	0,000	1,469
B1N3	0,000d	0,000	1,469
B2N4	0,000d	0,000	1,469
B3N1	0,000d	0,000	1,469
B3N2	0,000d	0,000	1,469
B3N4	0,000d	0,000	1,469
B4N1	0,000d	0,000	1,469
B4N2	0,000d	0,000	1,469
B4N4	0,000d	0,000	1,469

Keterangan:

\* Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 12 Halaman 61

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$ 

Tabel 19 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus pada perlakuan BA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
B2	1,555a	-	-
B3	0,355b	1,200	0,546
B1	0,150b	0,205	0,576
B4	0,100b	0,050	0,595

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$ 

Tabel 20 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus pada perlakuan NAA

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>
N3	1,365a	-	-
N2	0,515b	0,850	0,546
N4	0,150b	0,365	0,576
N1	0,130b	0,020	0,595

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Tabel 21 Ringkasan hasil uji jarak berganda duncan (UJBD) variabel diameter massa kalus dan struktur kalus pada kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA\*

Kombinasi taraf perlakuan	Diameter massa Kalus (cm)	Selisih rerata	Rp <sub>(0,05)</sub>	Warna / jenis kalus
B2N3	3,64a	-	-	Bening / remah
B2N2	2,06b	1,58	0,546	Bening / remah
B3N3	1,42b	0,64	0,576	Bening / remah
B1N4	0,60c	0,82	0,595	Coklat / kompak
B2N1	0,52c	0,08	0,608	Putih / kompak
B4N3	0,40c	0,12	0,619	Coklat / kompak
B1N1	0,00d	0,40	0,627	-
B1N2	0,00d	0,00	0,627	-
B1N3	0,00d	0,00	0,627	-
B2N4	0,00d	0,00	0,627	-
B3N1	0,00d	0,00	0,627	-
B3N2	0,00d	0,00	0,627	-
B3N4	0,00d	0,00	0,627	-
B4N1	0,00d	0,00	0,627	-
B4N2	0,00d	0,00	0,627	-
B4N4	0,00d	0,00	0,627	-

Keterangan:

\* Data hasil perhitungan dapat dilihat pada halaman Lampiran 13 Halaman 65

- Kalus tidak tumbuh

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berarti berbeda signifikan pada uji jarak berganda Duncan  $\alpha = 0,05$

Gambar eksplan yang berkalus dan tidak berkalus dapat dilihat pada Gambar 7.



a. Eksplan berkalus



b. Eksplan tidak berkalus

Gambar 7 Eksplan yang berkalus dan yang tidak berkalus

## B. Pembahasan

Hasil Anava pada semua parameter menunjukkan konsentrasi BA, NAA dan interaksi antara keduanya berpengaruh signifikan terhadap induksi kalus karika. Hal ini dikarenakan BA dan NAA pada umumnya dapat merangsang dediferensiasi. Saat dediferensiasi sel-sel yang pada awalnya sudah terdiferensiasi kembali menjadi sel

yang meristematik. Sel-sel meristematik tersebut bila berada pada lingkungan yang sesuai, mempunyai dapat tumbuh dan berkembang menjadi suatu individu baru. Oleh karena itu, sel eksplan daun karika dapat melakukan pembelahan dan pembentangan pada media MS dengan penambahan BA dan NAA dengan konsentrasi yang seimbang. Pembelahan dan pembentangan sel tersebut yang akhirnya menjadi kalus.

Berdasarkan hasil uji Duncan diketahui bahwa hasil paling optimal untuk parameter persentase eksplan yang berkalus, berat, dan diameter massa kalus, diperoleh pada kombinasi taraf perlakuan B2N3 (MS + BA 5 ppm + NAA 7,5 ppm) sebesar 35%, berat 9,59 gram, dan diameter massa kalus 3,64 cm. Sementara parameter waktu mulai berkalus paling cepat diperoleh pada kombinasi taraf perlakuan B2N3 dan B2N2 (MS + BA 5 ppm + NAA 5 ppm) yakni pada hari ke- 32 dan ke- 29. Eksplan daun karika berhasil diinduksi pada media B2N3 (MS + BA 5 ppm + NAA 7,5 ppm), B2N2 (MS + BA 5 ppm + NAA 5 ppm), B3N3 (MS + BA 7,5 ppm + NAA 7,5 ppm), B1N4 (MS + BA 2,5 ppm + NAA 10 ppm), B4N3 (MS + BA 10 ppm + NAA 7,5 ppm), dan B2N1 (MS + BA 5 ppm + NAA 2,5 ppm). Sedangkan pada media yang lainnya kalus tidak berhasil diinduksi.

Keberhasilan induksi kalus pada beberapa perlakuan di atas mengindikasikan bahwa kombinasi BA dan NAA pada konsentrasi tersebut mampu mendorong terjadinya pembelahan dan pembentangan sel sehingga mampu menginduksi kalus. Sesuai dengan Wattimena *et al* (1988) dan Wilkins (1989) yang menyatakan bahwa dalam pembentukan kalus, auksin berperan dalam pembentangan sel, sementara sitokinin berperan dalam pembelahan sel (Wilkins 1989). Kombinasi yang seimbang antara sitokinin dan auksin umumnya dapat merangsang eksplan untuk menginduksi kalus (George dan Sherington 1984). Wulandari *et al.* (2004) berhasil menginduksi kalus dari eksplan daun jeruk manis pada medium MS dengan penambahan BA dan NAA dengan konsentrasi 0,1 ppm – 10 ppm, dimana kombinasi BA dan NAA berhasil menginduksi kalus pada semua perlakuan.

### **1. Persentase tumbuh kalus**

Hasil anava pada pemberian BA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap persentase tumbuh kalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa BA dengan konsentrasi 5 mg/l dapat menginduksi kalus paling optimal sebesar 15%. Penurunan persentase berkalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 7,5 mg/l, 2,5 mg/l, dan 10 mg/l dengan persentase masing-masing 2,5%, 1,25%, dan 1,25%.

Hasil anava pada pemberian NAA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap persentase tumbuh kalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa NAA dengan konsentrasi 7,5 mg/l dapat menginduksi kalus paling optimal sebesar 12,5%. Penurunan persentase berkalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 5 mg/l, 2,5 mg/l, dan 10 mg/l dengan persentase masing-masing 5%, 1,25%, dan 1,25%.

Hasil uji Anava para interaksi BA dan NAA berpengaruh signifikan terhadap waktu mulai berkalus. Hasil analisis statistik dengan uji Duncan pada parameter persentase berkalus menunjukkan adanya perbedaan pengaruh antar kombinasi taraf perlakuan. Persentase keberhasilan eksplan yang membentuk kalus paling tinggi diperoleh pada perlakuan B2N3 yakni sebesar 35%. Persentase keberhasilan berkalus yang cukup rendah tersebut dimungkinkan karena penggunaan eksplan yang berasal dari tanaman yang telah bereproduksi yang umumnya mempunyai kemampuan dediferensiasi lebih rendah dibanding eksplan yang berasal dari tanaman juvenil (Mulyaningsih dan Nikmatullah 2006). Pada kombinasi taraf perlakuan yang sama ditemukan variasi keberhasilan eksplan dalam membentuk kalus. Pada B2N3 tidak semua eksplan berhasil diinduksi membentuk kalus, hal ini dimungkinkan konsentrasi ZPT yang dibawa eksplan berbeda satu sama lain, sehingga meski diberi BA dan NAA pada konsentrasi yang sama, respon eksplannya bervariasi.

Persentase pembentukan kalus pada perlakuan B2N3 diperoleh hasil paling tinggi dibandingkan kombinasi taraf perlakuan lainnya. Enam kombinasi taraf perlakuan tersebut berhasil menginduksi kalus karena konsentrasi BA dan NAA yang diberikan dapat menjadikan konsentrasi eksogen dan endogen dalam eksplan seimbang. Konsentrasi yang seimbang diketahui dapat merangsang induksi kalus pada eksplan (George dan Sherington 1984).

Penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Wijono dalam Prahardini *et al.* (1992) yang sebelumnya telah berhasil menginduksi kalus dari eksplan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan penambahan BA 2 ppm dan NAA 3 ppm. Pada kedua hasil penelitian dijumpai konsentrasi BA dan NAA optimal yang berbeda, hal ini dikarenakan setiap sel, jaringan, organ, dan tanaman yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap media tumbuh yang sama (Gunawan 1987). Meski konsentrasi optimal BA dan NAA berbeda dengan penelitian ini, perbandingan konsentrasinya masih sama, yakni ratio BA dan NAA adalah 2 : 3.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan hasil dari Jordan dan Velozo (1996) yang sebelumnya berhasil menginduksi kalus dari eksplan daun *C. pubescens* dan *C. papaya* dengan pemberian BA dan NAA. Pada penelitian tersebut dilaporkan kalus berhasil diinduksi pada konsentrasi BA dan NAA antara 2 – 10 mg/l. Dengan menggunakan kisaran konsentrasi yang sama, penelitian ini mendapatkan konsentrasi optimal pada BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm, konsentrasi yang juga berkisar antara 2 – 10 ppm. Sehingga dimungkinkan pada penelitian tersebut didapat konsentrasi optimal yang sama dengan penelitian ini.

Pada kombinasi taraf perlakuan yang tidak dapat menginduksi kalus hampir semuanya eksplan pada awal inkubasi terlihat membengkak dan melengkung. Hal ini mengindikasikan eksplan mulai menyerap hara dan ZPT yang terdapat dalam media, namun akhirnya respon terhenti yang berakhir dengan matinya eksplan. Kematian eksplan yang dimulai dari pencoklatan menandakan sel-sel eksplan tidak mampu bertahan hidup karena dua kemungkinan, yakni kadar ZPT terlalu rendah sehingga tidak mampu memicu induksi kalus atau dimungkinkan kadar ZPT terlalu tinggi sehingga justru bersifat racun bagi tanaman.

Terhentinya respon tersebut dimungkinkan karena tiga faktor, konsentrasi BA dan NAA yang terlampau kecil sehingga tidak mampu memacu induksi kalus, atau konsentrasi BA dan NAA yang terlalu tinggi yang justru bersikap toksik bagi eksplan yang akhirnya menyebabkan eksplan mati, atau perbandingan konsentrasi yang tidak seimbang antara antara BA dan NAA sehingga interaksi keduanya tidak cocok bagi eksplan untuk merangsang pembentukan kalus. Pada beberapa penelitian yang juga menggunakan eksplan daun ada yang langsung mengalami organogenesis, namun organogenesis tersebut tidak diperoleh pada penelitian ini, hal ini dimungkinkan konsentrasi BA dan NAA yang ditambahkan pada media tidak cocok untuk organogenesis. Pada perlakuan B1N4 terlihat seperti tunas kecil, namun dalam jangka waktu lebih lama tidak terjadi perkembangan ke arah pembentukan tunas yang ahirnya terindikasi sebagai kalus yang sangat kompak sehingga nampak seperti tumbuh tunas.

## **2. Waktu mulai mulai**

Hasil anava pada pemberian BA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap waktu mulai berkalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa BA pada konsentrasi 5 mg/l diperoleh rerata waktu mulai berkalus tertinggi yakni 21,938 hari. Penurunan rerata waktu mulai berkalus diperoleh pada konsentrasi



BA lainnya yakni dari 7,5 mg/l, 10 mg/l dan 2,5 mg/l, dengan rerata waktu mulai berkalus masing-masing 4,7 hari, 4 hari, dan 2,438 hari.

Hasil anava pada pemberian NAA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap waktu mulai berkalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa NAA pada konsentrasi 7,5 mg/l diperoleh rerata waktu mulai berkalus tertinggi yakni 15,4 hari. Penurunan rerata waktu mulai berkalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 5 mg/l, 2,5 mg/l dan 10 mg/l, dengan rerata waktu mulai berkalus masing-masing 7,25 hari, 2,1 hari, dan 1,95 hari.

Hasil uji Anava para interaksi BA dan NAA berpengaruh signifikan terhadap waktu mulai berkalus. Hasil uji lanjutan Duncan pada parameter waktu mulai berkalus menunjukkan adanya perbedaan kecepatan eksplan dalam membentuk kalus. Eksplan paling cepat diinduksi pada perlakuan B2N2 dan B2N3 yakni pada hari ke 29 dan 32. Kecepatan tumbuh kalus B2N2 tidak berbeda nyata dengan B2N3 (Tabel 10).

Kecepatan induksi kalus ditentukan oleh respon awal eksplan terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan. Kadar BA dan NAA eksogen yang seimbang diduga sebagai pemicu lebih awalnya eksplan mengalami dediferensiasi menjadikan sel lebih cepat menjadi meristematik kembali sehingga kalus terbentuk lebih awal. Hal ini menunjukkan bahwa dalam upaya induksi kalus, eksplan daun karika menghendaki pemberian BA dan NAA eksogen dengan konsentrasi BA 5 ppm dan NAA 5 atau BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm. Wulandari *et al.* (2004) berhasil menginduksi kalus paling cepat pada pemberian BA dan NAA yang tepat terhadap eksplan daun jeruk manis.

Waktu mulai berkalus pada B2N2 dan B2N3 paling cepat (29 dan 32 hari) dibanding kombinasi taraf perlakuan lain. Pada B1N4, B3N3, B2N1, dan B4N3, masing-masing tumbuh pada hari ke 39, 40, 42, dan 64. Perbedaan ini dimungkinkan BA dan NAA yang diberikan pada selain perlakuan B2N2 dan B2N3 tidak terserap dengan cepat oleh eksplan, sehingga proses dediferensiasi terjadi lebih lambat dibanding B2N2 dan B2N3. Hadipoentnyani *et al.* (2008) menyatakan bahwa kombinasi dan keseimbangan zat pengatur tumbuh yang tepat akan mempengaruhi kecepatan pembentukan kalus.

### 3. Berat dan diameter massa kalus

Parameter berat dengan diameter massa kalus disajikan secara bersamaan karena kedua parameter tersebut dipengaruhi oleh faktor yang sama, yakni kecepatan pembelahan dan pembentangan sel setelah dediferensiasi.

Hasil anava pada pemberian BA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap rerata berat kalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa BA pada konsentrasi 5 mg/l diperoleh rerata berat kalus tertinggi yakni 3,407 hari. Penurunan rerata berat kalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 7,5 mg/l, 2,5 mg/l dan 10 mg/l, dengan rerata berat kalus masing-masing 0,782 g, 0,182 g, dan 0,095 g.

Hasil anava pada pemberian NAA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap rerata berat kalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa NAA pada konsentrasi 7,5 mg/l diperoleh rerata berat kalus tertinggi yakni 3,274 g. Penurunan rerata berat kalus diperoleh pada konsentrasi NAA lainnya yakni dari 5 mg/l, 10 mg/l dan 2,5 mg/l, dengan rerata berat kalus masing-masing, 0,931 g, 0,182 g, dan 0,079 g.

Hasil anava pada pemberian BA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap rerata diameter massa kalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa BA pada konsentrasi 5 mg/l diperoleh rerata diameter massa kalus tertinggi yakni 1,555 cm. Penurunan rerata diameter massa kalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 7,5 mg/l, 2,5 mg/l dan 10 mg/l, dengan rerata diameter massa kalus masing-masing 0,355 g, 0,15 g, dan 0,1 g.

Hasil anava pada pemberian NAA pada berbagai tingkat konsentrasi diketahui berpengaruh signifikan terhadap waktu mulai berkalus. Pada uji Duncan diketahui bahwa NAA pada konsentrasi 7,5 mg/l diperoleh rerata waktu mulai berkalus tertinggi yakni 1,365 g. Penurunan rerata waktu mulai berkalus diperoleh pada konsentrasi BA lainnya yakni dari 5 mg/l, 10 mg/l dan 2,5 mg/l, dengan rerata waktu mulai berkalus masing-masing, 0,515 g, 0,15 g, dan 0,13 g.

Hasil uji Duncan terhadap parameter berat dan diameter massa kalus, menunjukkan bahwa hasil paling optimal dicapai pada kombinasi taraf perlakuan B2N3 dengan berat 9,59 g dan diameter massa kalus 3,64 cm. Perlakuan B2N3 diketahui berbeda nyata dengan semua kombinasi taraf perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian 5 ppm BA dan 7,5 ppm NAA pada eksplan telah mencapai keseimbangan yang tepat sehingga NAA berperan optimal dalam

pembentangan dan BA berperan optimal pada pembelahan, dengan demikian kalus dapat tumbuh lebih cepat. Hal ini sesuai dengan Wulandari *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa berat kalus lebih besar disebabkan BA dan NAA yang diberikan mampu mendorong terbentuknya kalus lebih cepat dan diikuti pertumbuhan sel sehingga meningkatkan bobot basah kalus.

Tabel 22 Kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA paling efektif dalam induksi kalus karika dengan eksplan daun

Parameter	Paling Efektif	Hasil
Persentase eksplan yang berkalus	B2N3	35%
Waktu mulai berkalus	B2N2, B2N3	Hari ke- 29 dan ke- 32
Berat kalus	B2N3	9,59 g
Diameter massa kalus	B2N3	3,64 cm

Dari Tabel 14 dapat diketahui bahwa dalam upaya induksi kalus dari eksplan daun karika sebaiknya menggunakan media media MS dengan penambahan BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm. Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa hasil efektif dalam induksi kalus pada parameter persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat, dan diameter massa kalus diperoleh hasil paling efektif pada B2N3. Dengan demikian dapat diketahui bahwa kecepatan induksi kalus berhubungan dengan persentase keberhasilan eksplan membentuk kalus, berat dan diameter massa kalus.

Berdasarkan ciri karakteristik kalus, pada B2N3, B2N2, dan B3N3 didapatkan kalus yang bening kehijauan, remah, dan memiliki banyak nodul. Kadir (2005) menyatakan bahwa pertumbuhan kalus yang baik dicirikan dari penampakan kalus yang berwarna bening/keputihan dan mempunyai struktur yang remah.

Sedangkan pada perlakuan B1N4, B2N1, B4N3 didapat kalus yang lebih kecil dengan warna coklat atau putih dan struktur kompak. Purnamaningsih (2006) menyatakan bahwa kalus yang berbentuk globuler (nodul-nodul) dan berwarna bening biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna coklat kehitaman. Berdasarkan hasil uji Ducan, secara keseluruhan dapat diketahui bahwa konsentrasi paling efektif untuk induksi kalus dari eksplan daun karika adalah B2N3 (MS + BA 5 PPM + NAA 7,5 ppm).

## **BAB IV**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Berdasarkan uraian pembahasan dan hasil uji statistik, dapat ditarik simpulan sebagai berikut:

1. Penambahan BA, NAA, dan interaksinya pada media MS berpengaruh sangat signifikan terhadap persentase eksplan berkalus, waktu mulai berkalus, berat dan diameter massa kalus pada induksi kalus dari eksplan daun karika.
2. Kombinasi taraf perlakuan BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm dapat menginduksi kalus paling efektif pada parameter persentase berkalus, waktu mulai berkalus, berat, dan diameter massa kalus. Persentase berkalus terbanyak sebesar 35% dengan waktu mulai berkalus pada hari ke- 32, berat segar kalus 9,59 g, dan diameter massa kalus 3,64 cm.

#### **B. Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis merekomendasikan beberapa hal:

1. Untuk mendapatkan kalus dari eksplan daun karika paling cepat, digunakan media MS dengan penambahan BA 5 ppm dan NAA 5 ppm, sedangkan untuk mendapatkan persentase, berat, dan diameter tertinggi digunakan media MS dengan penambahan BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm. Sehingga untuk lebih efektifnya sebaiknya digunakan media MS dengan penambahan BA 5 ppm dan NAA 7,5 ppm.
2. Eksplan sebaiknya diambil dari tanaman yang belum bereproduksi karena kemampuan berdediferensiasinya lebih cepat dibanding tanaman yang sudah bereproduksi.
3. Pengambilan eksplan sebaiknya dilakukan di musim kemarau karena populasi cendawan pada tanaman umumnya relatif lebih rendah dibanding ketika diambil pada musim penghujan yang basah dan lembab.
4. Pada proses sterilisasi, perendaman eksplan dalam as. askorbat dilakukan di dalam LAF dan larutan tersebut sebelumnya juga disinari UV untuk mengurangi kontaminan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 1994. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Amirudin. 2008. *Petani Dieng Belum Maksimal Kelola Carica*. Semarang: Koran wawasan.
- Anonim. 2004. Karika. *Berita*. *On line at* [www.suarapembaruan.com/News](http://www.suarapembaruan.com/News). [diakses tanggal 22 November 2008].
- Anonim. 2008. Carica, Pepaya Mini dari Dieng. *On line at* [http://mainyuk.multiply.com/journal/item/7/CARICA\\_PEPAYA\\_MINI\\_DARI\\_DIENG](http://mainyuk.multiply.com/journal/item/7/CARICA_PEPAYA_MINI_DARI_DIENG) [diakses tanggal 22 November 2008].
- Damayanti D, Sudarsono, Mariska I, dan Herman M. 2007. Regenerasi Pepaya melalui Kultur In Vitro. Bogor: *Jurnal AgroBiogen* 3 (2): 49-54.
- Farid, MB. 2003. Perbanyak Tebu (*Saccharum officinarum* L. ) Secara *In Vitro* pada Berbagai Konsentrasi IBA dan BA. *Jurnal Sains & Teknologi*. 3 (3): 103-109.
- George EF and Sherrington PD. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. England: Exegenetic Limited.
- Gomez KA dan AA Gomez. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Edisi kedua. Jakarta: UI-PRESS.
- Gunawan LW. 1995. *Teknik Kultur In Vitro dalam Holtikultura*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Habibah AN dan Sumadi. 2006. *Petunjuk Praktikum Kultur Jaringan Tumbuhan*. Semarang: Laboratorium Kultur Jaringan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Hadipoentyan E, Nursalam A, Hartati SY, dan Suhesti S. 2008. *Perakitan Varietas untuk Ketahanan Nilam terhadap Penyakit Layu Bakteri*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Ibrahim MSD, Kristina NN dan Bermawie. 2004. Studi Pendahuluan : Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Daun *Echinaceae purpurea*. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 15 (2): 41-47.

- Jordan M dan Velozo J. 1996. *In vitro* propagation of highland papayas (*Carica pubescens* and *C. pentagona*). *ISHS Acta Horticulture* 447 44 (3): 189-194.
- Kadir A. 2005. Induksi Kalus dan Perbanyak Populasi Kalus, Regenerasi Tanaman serta Uji Respon Kalus Terhadap konsentrasi PEG dan dosis iradiasi Sinar Gamma. *On line at <http://www.damandiri.or.id/file/abdulkadiripbbab3.df+%22struktur+kalus%22&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id>*. [diakses 9 september 2009].
- Mariska I. 2007. Perkembangan Penelitian Kultur In Vitro pada Tanaman Industri, Pangan, dan Hortikultura. *Buletin AgroBio* 5 (2): 45-50.
- Mulyaningsih T dan Nikmatullah A. 2006. *Kultur Jaringan Melalui Publikasi World Wide Web*. Fakultas pertanian UNRAM.
- Nisa C dan Rodinah. 2005. Kultur Jaringan beberapa Kultivar Buah Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin. Kalimantan: *Jurnal Bioscientiae* 2 (2): 23-36.
- Prahardini P.E.R dan Sudaryono T. 1992. Pengaruh Kombinasi Asam Neftalen Asetat dan Benzyladenin Terhadap Kultur Pepaya Kultivar Dampit Secara *In Vitro*. *Jurnal Holtikultura*. 2 (4) : 6-11.
- Purnamaningsih R dan Mariska I. 2005. Seleksi *in vitro* tanaman padi untuk sifat tahan terhadap aluminium. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 10 (2): 61-69.
- Salisbury FB & CW Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Jilid 3*. Bandung: ITB Press.
- Suryowinoto M. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- United States Department of Agriculture. 2008. Plants Profile for *Carica pubescens*(A.DC.)Solms-Laub mountain papaya *On line at <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CAPU39&format=Print&photoID>*. [diakses tanggal 25 Juni 2009].
- Utami ESW, Soemardi I, dan Semiarti E. 2007. Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl: Struktur Dan Pola Perkembangan. *Jogjakarta. Berkala Penelitian Hayati* 13: 33–38.
- Wattimena GA. 1992. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.
- Wilkins BM. 1989. *Fisiologi Tanaman*. Jakarta: Penerbit Bina Aksara.

Wulandari S, Syafii W dan Yossilia. 2004. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) Secara *in vitro* akibat pemberian NAA dan BA. Riau: *Jurnal Biogenesis* 1(1): 21-25.

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efektif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

**Lampiran 1 Komposisi senyawa dari media MS 1962**

Senyawa	Konsentrasi dalam media (mg/l)	Konsentrasi dalam larutan stok (mg/l)	Nama stok	Volume larutan stok (ml/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	16500	Makro	100
KNO <sub>3</sub>	1900	19000	(10x)	
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	440	4400		
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	370	3700		
	170	1700		
Na <sub>2</sub> EDTA	27,8	2780	Mikro A	10
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	37,3	3730	(100x)	
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	22300	Mikro B	1
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6	8500	(100x)	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6200		
KI	0,83	830		
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	25		
CoCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	0,025	25		
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,25	250		
Tiamin	0,5	500	Vitamin	1
As, nikotinat	0,5	500	(1000x)	
Piridoksin	0,5	500		
Glisis	2	2000		
Myo-inositol	100	5000	Myo-inositol (50x)	20
Sukrosa	30000	Tidak dibuat stok	Sukrosa	-

Sumber : Gunawan 1995



**Lampiran 2 Hasil pengamatan parameter persentase pembentukan kalus (%)**

Kombinasi taraf perlakuan	Persentase kemunculan kalus (%)					Rerata
	Ulangan					
	1	2	3	4	5	
B1N1	0	0	0	0	0	0
B1N2	0	0	0	0	0	0
B1N3	0	0	0	0	0	0
B1N4	25	0	0	0	0	5
B2N1	0	0	0	25	0	5
B2N2	25	25	25	0	25	20
B2N3	50	25	50	25	25	35
B2N4	0	0	0	0	0	0
B3N1	0	0	0	0	0	0
B3N2	0	0	0	0	0	0
B3N3	0	0	25	0	25	10
B3N4	0	0	0	0	0	0
B4N1	0	0	0	0	0	0
B4N2	0	0	0	0	0	0
B4N3	0	25	0	0	0	5
B4N4	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

B1 = 2,5 ppm

B2 = 5,0 ppm

B3 = 7,5 ppm

B4 = 10,0 ppm

N1 = 2,5 ppm

N2 = 5,0 ppm

N3 = 7,5 ppm

N4 = 10 ppm

**Lampiran 3 Hasil pengamatan parameter waktu mulai berkalus (hari)**

Kombinasi taraf perlakuan	Waktu mulai berkalus					Rerata
	Ulangan					
	1	2	3	4	5	
B1N1	-	-	-	-	-	-
B1N2	-	-	-	-	-	-
B1N3	-	-	-	-	-	-
B1N4	39	-	-	-	-	39
B2N1	-	-	-	42	-	42
B2N2	27	29	30	-	30	29
B2N3	31	33	31	32	36	32
B2N4	-	-	-	-	-	-
B3N1	-	-	-	-	-	-
B3N2	-	-	-	-	-	-
B3N3	-	-	39	-	41	40
B3N4	-	-	-	-	-	-
B4N1	-	-	-	-	-	-
B4N2	-	-	-	-	-	-
B4N3	-	64	-	-	-	64
B4N4	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

- = Kalus tidak tumbuh

B1 = 2,5 ppm

B2 = 5,0 ppm

B3 = 7,5 ppm

B4 = 10,0 ppm

N1 = 2,5 ppm

N2 = 5,0 ppm

N3 = 7,5 ppm

N4 = 10 ppm

**Lampiran 4 Hasil pengamatan parameter berat kalus setelah empat bulan dari penanaman (g)**

Kombinasi taraf perlakuan	Berat kalus (g)					Rerata
	Ulangan					
	1	2	3	4	5	
B1N1	0	0	0	0	0	0
B1N2	0	0	0	0	0	0
B1N3	0	0	0	0	0	0
B1N4	3,630	0	0	0	0	0,726
B2N1	1,580	0	0	0	0	0,316
B2N2	9,630	8,17	0,17	0,64	0	3,722
B2N3	15,78	11,9	9,86	4,10	6,31	9,590
B2N4	0	0	0	0	0	0
B3N1	0	0	0	0	0	0
B3N2	0	0	0	0	0	0
B3N3	7,17	8,46	0	0	0	3,126
B3N4	0	0	0	0	0	0
B4N1	0	0	0	0	0	0
B4N2	0	0	0	0	0	0
B4N3	1,90	0	0	0	0	0,380
B4N4	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

B1 = 2,5 ppm

B2 = 5,0 ppm

B3 = 7,5 ppm

B4 = 10,0 ppm

N1 = 2,5 ppm

N2 = 5,0 ppm

N3 = 7,5 ppm

N4 = 10 ppm

**Lampiran 5 Hasil pengamatan parameter diameter kalus setelah empat bulan penanaman (cm)**

Kombinasi taraf perlakuan	Diameter kalus (cm)					Rerata
	Ulangan					
	1	2	3	4	5	
B1N1	0	0	0	0	0	0
B1N2	0	0	0	0	0	0
B1N3	0	0	0	0	0	0
B1N4	3	0	0	0	0	0,60
B2N1	2,6	0	0	0	0	0,52
B2N2	3,1	4,4	0,9	1,9	0	2,06
B2N3	4,7	4,3	4,1	2,3	2,8	3,64
B2N4	0	0	0	0	0	0
B3N1	0	0	0	0	0	0
B3N2	0	0	0	0	0	0
B3N3	4,2	2,9	0	0	0	1,42
B3N4	0	0	0	0	0	0
B4N1	0	0	0	0	0	0
B4N2	0	0	0	0	0	0
B4N3	2	0	0	0	0	0,40
B4N4	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

B1 = 2,5 ppm

B2 = 5,0 ppm

B3 = 7,5 ppm

B4 = 10,0 ppm

N1 = 2,5 ppm

N2 = 5,0 ppm

N3 = 7,5 ppm

N4 = 10 ppm

**Lampiran 6 Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter persentase kemunculan kalus**

BA	NAA				Jml	Jml	Rerata	
	N1	N2	N3	N4				
B1	0	0	0	25	25	20	1,25	
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
Jumlah	0	0	0	25				
N	5	5	5	5				
Rerata	0	0,04	0	5,00				
B2	25	25	50	0	300	20	15	
	0	25	25	0				
	0	25	50	0				
	0	25	25	0				
	0	0	25	0				
Jumlah	25	100	175	0				
N	5	5	5	5				
Rerata	5	20	35	0				
B3	0	0	25	0	50	20	2,5	
	0	0	25	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
Jumlah	0	0	50	0				
N	5	5	5	5				
Rerata	0	0	10	0				
B4	0	0	25	0	25	20	1,25	
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
	0	0	0	0				
Jumlah	0	0	25	0				
N	5	5	5	5				
Rerata	0	0	5	0				
Jumlah	25	100	250	25	400	80		
N	20	20	20	20				
Rerata	1,25	5	12	1,25				

**Faktor Koreksi**

$$Fk = \frac{(G)^2}{rab} = \frac{(400)^2}{80} = 2000$$

**Jumlah Kuadrat Total**

$$\begin{aligned} JK(\text{Umum}) &= (0)^2 + (0)^2 + (25)^2 + \dots + (0)^2 - 2000 \\ &= 10275 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar B (JKB)**

$$\begin{aligned} JK(B) &= \frac{(\sum X_{B1})^2}{r_{B1}} + \frac{(\sum X_{B2})^2}{r_{B2}} + \frac{(\sum X_{B3})^2}{r_{B3}} + \frac{(\sum X_{B4})^2}{r_{B4}} - Fk \\ &= \frac{(25)^2}{20} + \frac{(300)^2}{20} + \frac{(50)^2}{20} + \frac{(25)^2}{20} - 2000 \\ &= 4687,5 - 2000 \\ &= 2687,5 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar N (JKN)**

$$\begin{aligned} JK(N) &= \frac{(\sum X_{N1})^2}{r_{N1}} + \frac{(\sum X_{N2})^2}{r_{N2}} + \frac{(\sum X_{N3})^2}{r_{N3}} + \frac{(\sum X_{N4})^2}{r_{N4}} - Fk \\ &= \frac{(25)^2}{20} + \frac{(100)^2}{20} + \frac{(250)^2}{20} + \frac{(25)^2}{20} - 2000 \\ &= 3687,5 \\ &= 1687,5 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat interaksi B dan N**

$$\begin{aligned} JK(BN) &= \frac{(\sum X_{BIN1})^2}{r_{BIN1}} + \frac{(\sum X_{BIN2})^2}{r_{BIN2}} + \frac{(\sum X_{BIN3})^2}{r_{BIN3}} + \dots + \frac{(\sum X_{BIN4})^2}{r_{BIN3}} - Fk - JK(B) - JK(N) \\ &= \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \dots + \frac{(0)^2}{5} - 2000 - 1687,5 - 2687,5 \\ &= 2625 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat Error (Galat)**

$$\begin{aligned} JK(G) &= JK(U) - JK(B) - JK(N) - JK(BN) \\ &= 10275 - 2687,5 - 1687,5 - 2687,5 \\ &= 3275 \end{aligned}$$

**Derajat Bebas**

dk (A)	= Banyaknya kategori B - 1	= 4 - 1	= 3
dk (B)	= Banyaknya kategori N - 1	= 4 - 1	= 3
dk (AB)	= dk(B) x dk(N)	= 3 x 3	= 9
dk (T)	= Banyaknya subyek - 1	= 80 - 1	= 79
dk (G)	= dk (T) - dk(B) - dk (N) - dk (BN)	= 79 - 3 - 3 - 9	= 64

**Tabel Anava**

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> (α = 5%)	F <sub>tabel</sub> (α = 1%)
BA	3	2687,5	895,8333	17,506**	2,75	4,10
NAA	3	1687,5	562,5000	10,992**	2,75	4,10
BA X NAA	9	2625,0	291,6667	5,700**	2,03	2,70
Galat	64	3275,0	51,17190			
Total	79	10275,0	130,0633			

Keterangan :

\*\* Sangat signifikan

**Lampiran 7 Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter waktu mulai berkalus**

BA	NAA				Jml	Jml	Rerata	
	N1	N2	N3	N4				
B1	-	-	-	39	39	20	2,4375	
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
Jumlah	-	-	-	39				
N	5	5	5	5				
Rerata	-	0,04	-	39				
B2	42	27	32	-	351	20	21,9375	
	-	29	33	-				
	-	30	31	-				
	-	30	32	-				
	-	29	36	-				
Jumlah	42	145	164	-				
N	5	5	5	5				
Rerata	42	29	32,8	-				
B3	-	-	39	-	80	20	4,7059	
	-	-	41	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
Jumlah	-	-	80	-				
N	5	5	5	5				
Rerata	-	-	40	-				
B4	-	-	64	-	64	20	4,0000	
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
	-	-	-	-				
Jumlah	-	-	64	-				
N	5	5	5	5				
Rerata	-	-	64	-				
Jumlah	42	145	308	39	534	80		
N	20	20	20	20				
Rerata	2,1	7,25	15,4	1,95				



**Faktor Koreksi**

$$Fk = \frac{(G)^2}{rab} = \frac{(534)^2}{80} = 3564,45$$

**Jumlah Kuadrat Total**

$$\begin{aligned} JK(\text{Umum}) &= (0)^2 + (0)^2 + (42)^2 + \dots + (0)^2 - 3564,45 \\ &= 11157,55 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar B (JKB)**

$$\begin{aligned} JK(B) &= \frac{(\sum X_{B1})^2}{r_{B1}} + \frac{(\sum X_{B2})^2}{r_{B2}} + \frac{(\sum X_{B3})^2}{r_{B3}} + \frac{(\sum X_{B4})^2}{r_{B4}} - Fk \\ &= \frac{(39)^2}{20} + \frac{(351)^2}{20} + \frac{(80)^2}{20} + \frac{(64)^2}{20} - 3564,45 \\ &= 6760,9 - 3564,45 \\ &= 3196,45 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar N (JKN)**

$$\begin{aligned} JK(N) &= \frac{(\sum X_{N1})^2}{r_{N1}} + \frac{(\sum X_{N2})^2}{r_{N2}} + \frac{(\sum X_{N3})^2}{r_{N3}} + \frac{(\sum X_{N4})^2}{r_{N4}} - Fk \\ &= \frac{(42)^2}{20} + \frac{(145)^2}{20} + \frac{(308)^2}{20} + \frac{(39)^2}{20} - 3564,45 \\ &= 3687,5 - 3564,45 \\ &= 2394,25 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat interaksi B dan N**

$$\begin{aligned} JK(BN) &= \frac{(\sum X_{B1N1})^2}{r_{B1N1}} + \frac{(\sum X_{B1N2})^2}{r_{B1N2}} + \frac{(\sum X_{B1N3})^2}{r_{B1N3}} + \dots + \frac{(\sum X_{B1N4})^2}{r_{B1N4}} - Fk - JK(B) - JK(N) \\ &= \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \dots + \frac{(0)^2}{5} - 3564,45 - 2394,25 - 3196,45 \\ &= 3285,25 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat Error (Galat)**

$$\begin{aligned} JK(G) &= JK(U) - JK(B) - JK(N) - JK(BN) \\ &= 11157,55 - 3196,45 - 2394,25 - 3185,25 \\ &= 2381,6 \end{aligned}$$

**Derajat Bebas**

dk (A)	= Banyaknya kategori B - 1	= 4 - 1	= 3
dk (B)	= Banyaknya kategori N - 1	= 4 - 1	= 3
dk (AB)	= dk(B) x dk(N)	= 3 x 3	= 9
dk (T)	= Banyaknya subyek - 1	= 80 - 1	= 79
dk (G)	= dk (T) - dk(B) - dk (N) - dk (BN)	= 79 - 3 - 3 - 9	= 64

**Tabel Anava**

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> (α = 5%)	F <sub>tabel</sub> (α = 1%)
BA	3	3196,45	1065,4833	28,632**	2,75	4,10
NAA	3	2394,25	798,0833	21,447**	2,75	4,10
BA X NAA	9	3185,25	353,9167	9,511**	2,03	2,70
Galat	64	2381,60	37,2125			
Total	79	11157,55	141,2348			

Keterangan :

\*\* Sangat signifikan

**Lampiran 8 Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter berat kalus**

BA	NAA				Jml	Jml	Rerata
	N1	N2	N3	N4			
B1	0	0	0	3,63	3,63	20	0,1815
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	0	3,63			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0,04	0	0,73			
B2	1,58	9,63	15,78	0	68,14	20	3,4070
	0	8,17	11,90	0			
	0	0,17	9,86	0			
	0	0,64	4,10	0			
	0	0	6,31	0			
Jumlah	1,58	18,61	47,95	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0,32	3,72	9,59	0			
B3	0	0	7,17	0	15,63	20	0,7815
	0	0	8,46	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	15,63	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0	3,13	0			
B4	0	0	1,90	0	1,9	20	0,0950
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	1,90	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0	0,38	0			
Jumlah	1,58	18,61	65,48	3,63	89,3	80	
N	20	20	20	20			
Rerata	0,0790	0,9305	3,2740	0,1815			

**Faktor Koreksi**

$$Fk = \frac{(G)^2}{rab} = \frac{(89,30)^2}{80} = 99,68$$

**Jumlah Kuadrat Total**

$$\begin{aligned} JK(\text{Umum}) &= (0)^2 + (0)^2 + (1,58)^2 + \dots + (0)^2 - 99,68 \\ &= 746,97 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar B (JKB)**

$$\begin{aligned} JK(B) &= \frac{(\sum X_{B1})^2}{r_{B1}} + \frac{(\sum X_{B2})^2}{r_{B2}} + \frac{(\sum X_{B3})^2}{r_{B3}} + \frac{(\sum X_{B4})^2}{r_{B4}} - Fk \\ &= \frac{(3,63)^2}{20} + \frac{(68,14)^2}{20} + \frac{(15,63)^2}{20} + \frac{(1,9)^2}{20} - 99,68 \\ &= 245,21 - 99,68 \\ &= 145,53 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar N (JKN)**

$$\begin{aligned} JK(N) &= \frac{(\sum X_{N1})^2}{r_{N1}} + \frac{(\sum X_{N2})^2}{r_{N2}} + \frac{(\sum X_{N3})^2}{r_{N3}} + \frac{(\sum X_{N4})^2}{r_{N4}} - Fk \\ &= \frac{(1,58)^2}{20} + \frac{(18,61)^2}{20} + \frac{(65,48)^2}{20} + \frac{(3,63)^2}{20} - 99,68 \\ &= 232,48 - 99,68 \\ &= 132,8 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat interaksi B dan N**

$$\begin{aligned} JK(BN) &= \frac{(\sum X_{B1N1})^2}{r_{B1N1}} + \frac{(\sum X_{B1N2})^2}{r_{B1N2}} + \frac{(\sum X_{B1N3})^2}{r_{B1N3}} + \dots + \frac{(\sum X_{B1N4})^2}{r_{B1N4}} - Fk - JK(B) - JK(N) \\ &= \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \dots + \frac{(0)^2}{5} - 99,68 - 145,53 - 132,8 \\ &= 203,82 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat Error (Galat)**

$$\begin{aligned} JK(G) &= JK(U) - JK(B) - JK(N) - JK(BN) \\ &= 746,971 - 145,53 - 132,8 - 203,82 \\ &= 264,83 \end{aligned}$$

**Derajat Bebas**

dk (A)	= Banyaknya kategori B -1	= 4 - 1	= 3
dk (B)	= Banyaknya kategori N -1	= 4 - 1	= 3
dk (AB)	= dk(B) x dk(N)	= 3 x 3	= 9
dk (T)	= Banyaknya subyek - 1	= 80 - 1	= 79
dk (G)	= dk (T) - dk(B) - dk (N) - dk (BN)	= 79 - 3 - 3 - 9	= 64

**Tabel Anava**

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> (α = 5%)	F <sub>tabel</sub> (α = 1%)
BA	3	145,5260	48,5087	11,723**	2,75	4,10
NAA	3	132,8007	44,2669	10,698**	2,75	4,10
BA X NAA	9	203,8151	22,6461	5,4730**	2,03	2,70
Galat	64	264,8292	4,1380			
Total	79	746,9711	9,4553			

Keterangan :

\*\* Sangat signifikan

**Lampiran 9 Perhitungan analisis varian 2 jalan pada parameter diameter kalus (cm)**

BA	NAA				Jml	Jml	Rerata
	N1	N2	N3	N4			
B1	0	0	0	3,00	3	20	0,1500
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	0	3			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0,04	0	0,60			
B2	2,60	3,10	4,70	0	31,1	20	1,5550
	0	4,40	4,30	0			
	0	0,90	4,10	0			
	0	1,90	2,30	0			
	0	0	2,80	0			
Jumlah	2,6	10,3	18,2	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0,52	2,06	3,64	0			
B3	0	0	4,20	0	7,1	20	0,3550
	0	0	2,90	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	7,10	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0	1,42	0			
B4	0	0	2,00	0	2	20	0,1000
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
	0	0	0	0			
Jumlah	0	0	2,00	0			
N	5	5	5	5			
Rerata	0	0	0,40	0			
Jumlah	2,60	10,30	27,30	3,00	43,2	80	
N	20	20	20	20			
Rerata	0,1300	0,5150	1,3650	0,1500			

**Faktor Koreksi**

$$Fk = \frac{(G)^2}{rab} = \frac{(43,2)^2}{80} = 23,33$$

**Jumlah Kuadrat Total**

$$\begin{aligned} JK(\text{Umum}) &= (0)^2 + (0)^2 + (2,6)^2 + \dots + (0)^2 - 23,33 \\ &= 126,39 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar B (JKB)**

$$\begin{aligned} JK(B) &= \frac{(\sum X_{B1})^2}{r_{B1}} + \frac{(\sum X_{B2})^2}{r_{B2}} + \frac{(\sum X_{B3})^2}{r_{B3}} + \frac{(\sum X_{B4})^2}{r_{B4}} - Fk \\ &= \frac{(3)^2}{20} + \frac{(31,1)^2}{20} + \frac{(7,1)^2}{20} + \frac{(2)^2}{20} - 23,33 \\ &= 51,531 - 23,33 \\ &= 28,203 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat antar N (JKN)**

$$\begin{aligned} JK(N) &= \frac{(\sum X_{N1})^2}{r_{N1}} + \frac{(\sum X_{N2})^2}{r_{N2}} + \frac{(\sum X_{N3})^2}{r_{N3}} + \frac{(\sum X_{N4})^2}{r_{N4}} - Fk \\ &= \frac{(2,6)^2}{20} + \frac{(10,3)^2}{20} + \frac{(27,3)^2}{20} + \frac{(3)^2}{20} - 23,33 \\ &= 43,357 - 23,33 \\ &= 20,029 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat interaksi B dan N**

$$\begin{aligned} JK(BN) &= \frac{(\sum X_{B1N1})^2}{r_{B1N1}} + \frac{(\sum X_{B1N2})^2}{r_{B1N2}} + \frac{(\sum X_{B1N3})^2}{r_{B1N3}} + \dots + \frac{(\sum X_{B1N4})^2}{r_{B1N4}} - Fk - JK(B) - JK(N) \\ &= \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \frac{(0)^2}{5} + \dots + \frac{(0)^2}{5} - 23,33 - 28,203 - 20,029 \\ &= 29,94 \end{aligned}$$

**Jumlah Kuadrat Error (Galat)**

$$\begin{aligned} JK(G) &= JK(U) - JK(B) - JK(N) - JK(BN) \\ &= 126,392 - 28,203 - 20,029 - 29,94 \\ &= 48,22 \end{aligned}$$

**Derajat Bebas**

dk (A)	= Banyaknya kategori B -1	= 4 - 1	= 3
dk (B)	= Banyaknya kategori N -1	= 4 - 1	= 3
dk (AB)	= dk(B) x dk(N)	= 3 x 3	= 9
dk (T)	= Banyaknya subyek - 1	= 80 - 1	= 79
dk (G)	= dk (T) - dk(B) - dk (N) - dk (BN)	= 79 - 3 - 3 - 9	= 64

**Tabel Anava**

Sumber variasi	db	JK	KT	F <sub>h</sub>	F <sub>tabel</sub> (α = 5%)	F <sub>tabel</sub> (α = 1%)
BA	3	28,203	9,4010	12,477**	2,75	4,10
NAA	3	20,029	6,6763	8,861**	2,75	4,10
BA X NAA	9	29,940	3,3267	4,415**	2,03	2,70
Galat	64	48,220	0,7534			
Total	79	126,392	1,5999			

Keterangan :

\*\* Sangat signifikan



### Lampiran 10 Perhitungan uji lanjut Duncan parameter persentase muncul kalus

Hasil perhitungan uji jarak ganda duncan pada parameter persentase muncul kalus sebagai berikut:

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2S^2}{r}}$$

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2 \times (51,1749)}{20}}$$

$$= 5,1172$$

Keterangan:

$S_{-d}$  = Galat baku perbedaan rata-rata

$s^2$  = KT galat

$r$  = Banyaknya ulangan

#### Nilai wilayah beda nyata terpendek

$$Rp = \frac{(r_p)(S_{-d})}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

$R_p$  = Nilai tabel wilayah nyata student yang diperoleh dari tabel Duncan

$r_p$  = diperoleh pada tabel uji duncan 5%

#### 1. Uji Duncan kelompok BA

Kelompok	Rerata	Peringkat
B2	15,0	1
B3	2,50	2
B1	1,25	3
B4	1,25	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 peroleh:

p	$r_p(0,05)$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	4,502762770
3	2,965	4,742696842
4	3,065	4,902652891

Selisih rerata		B2	B3	B1	B4
		15,0	2,50	1,25	1,25
B2	15,0	-	-	-	-
B3	2,50	12,50	-	-	-
B1	1,25	13,75	1,25	-	-
B4	1,25	13,75	1,25	0,00	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_p$
--------------------	------------	----------------	-------

B2	15,0	-	-
B3	2,50	12,5	4,502762770
B1	1,25	1,25	4,742696842
B4	1,25	0,00	4,902652891

Keterangan:

Rp < selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp > selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

## 2. Uji Duncan kelompok NAA

Kelompok	Rerata	Peringkat
N3	12,5	1
N2	5,00	2
N1	1,25	3
N4	1,25	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	4,502762770
3	2,965	4,742696842
4	3,065	4,902652891

Selisih rerata	Kelompok			
	N3	N2	N1	N4
	12,5	5,00	1,25	1,25
N3 12,5	-	-	-	-
N2 5,00	7,500	-	-	-
N1 1,25	11,25	3,750	-	-
N4 1,25	11,25	3,750	0,000	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp
N3	12,5	-	-
N2	5,00	7,50	4,50276
N1	1,25	3,75	4,74270
N4	1,25	0,00	4,90265

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### 3. Uji Duncan kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA

Kelompok	Rata-rata	Peringkat
B2N3	35	1
B2N2	20	2
B3N3	10	3
B1N4	5	4
B2N1	5	5
B4N3	5	6
B1N1	0	7
B1N2	0	8
B1N3	0	9
B2N4	0	10
B3N1	0	11
B3N2	0	12
B3N4	0	13
B4N1	0	14
B4N2	0	15
B4N4	0	16

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	Angka duncan	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	5,63	2,815	4,502763869
3	5,93	2,965	4,742698001
4	6,13	3,065	4,902654089
5	6,26	3,13	5,006625546
6	6,38	3,19	5,102599198
7	6,46	3,23	5,166581633
8	6,46	3,23	5,166581633
9	6,46	3,23	5,166581633
10	6,46	3,23	5,166581633
11	6,46	3,23	5,166581633
12	6,46	3,23	5,166581633
13	6,46	3,23	5,166581633
14	6,46	3,23	5,166581633
15	6,46	3,23	5,166581633
16	6,46	3,23	5,166581633

Selisih rerata		B2N3	B2N2	B3N3	B1N4	B2N1	B4N3	B1N1	B1N2	dst
		35	20	10	5	5	5	0	0	
B2N3	35	-								
B2N2	20	15	-							
B3N3	10	25	10	-						
B1N4	5	30	15	5	-					
B2N1	5	30	15	5	0	-				
B4N3	5	30	15	5	0	0	-			
B1N1	0	35	20	10	5	5	5	-		
B1N2	0	35	20	10	5	5	5	0	-	
B1N3	0	35	20	10	5	5	5	0	0	-
B2N4	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B3N1	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B3N2	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B3N4	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B4N1	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B4N2	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0
B4N4	0	35	20	10	5	5	5	0	0	0

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### Lampiran 11 Perhitungan uji lanjut Duncan parameter waktu mulai berkalus

Hasil perhitungan uji jarak ganda duncan pada parameter waktu mulai berkalus sebagai berikut:

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2S^2}{r}}$$

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2 \times (37,213)}{20}}$$

$$= 3,7213$$

Keterangan:

$S_{-d}$  = Galat baku perbedaan rata-rata

$s^2$  = KT galat

$r$  = Banyaknya ulangan

### Nilai wilayah beda nyata terpendek

$$Rp = \frac{(r_p)(S_{-d})}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

$R_p$  = Nilai tabel wilayah nyata student yang diperoleh dari tabel Duncan

$r_p$  = diperoleh pada tabel uji duncan 5%

### 1. Uji Duncan kelompok BA

Kelompok	Rerata	Peringkat
B2	21,9375	1
B3	4,70590	2
B4	4,00000	3
B1	2,43750	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 peroleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	3,839793112
3	2,965	4,044400205
4	3,065	4,180804933

Selisih rerata		B2	B3	B4	B1
		21,9375	4,7059	4,0000	2,4375
B2	21,9375	-	-	-	-
B3	4,7059	17,2316	-	-	-
B4	4,0000	17,9375	0,7059	-	-
B1	2,4375	19,5000	2,2684	1,5625	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_p$
--------------------	------------	----------------	-------

B2	21,9375	-	-
B3	4,70590	17,2316	3,83979
B4	4,00000	0,70590	4,04440
B1	2,43750	1,56250	4,18080

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

## 2. Uji Duncan kelompok NAA

Kelompok	Rerata	Peringkat
N3	15,4	1
N2	7,25	2
N4	1,95	3
N1	2,10	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 peroleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	3,839793112
3	2,965	4,044400205
4	3,065	4,180804933

Selisih rerata	Kelompok			
	N3	N2	N1	N4
	15,4	7,25	1,95	2,10
N3	15,4	-	-	-
N2	7,25	8,150	-	-
N4	2,10	13,30	5,15	-
N1	1,95	13,45	5,30	0,15

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp
N3	15,4a	-	-
N2	7,25b	8,15	3,83979
N4	2,10c	5,15	4,04440
N1	1,95c	0,15	4,18080

Keterangan:

Rp < selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp > selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### 3. Uji Duncan kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA

Kelompok	Rata-rata	Peringkat
B4N3	64,0	1
B2N1	42,0	2
B3N3	40,0	3
B1N4	39,0	4
B2N3	32,6	5
B2N2	29,0	6
B1N1	0,00	7
B1N2	0,00	8
B1N3	0,00	9
B2N4	0,00	10
B3N1	0,00	11
B3N2	0,00	12
B3N4	0,00	13
B4N1	0,00	14
B4N2	0,00	15
B4N4	0,00	16

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	Angka duncan	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	5,63	2,815	3,839793112
3	5,93	2,965	4,044400205
4	6,13	3,065	4,180804933
5	6,26	3,13	4,269468007
6	6,38	3,19	4,351310844
7	6,46	3,23	4,405872736
8	6,46	3,23	4,405872736
9	6,46	3,23	4,405872736
10	6,46	3,23	4,405872736
11	6,46	3,23	4,405872736
12	6,46	3,23	4,405872736
13	6,46	3,23	4,405872736
14	6,46	3,23	4,405872736
15	6,46	3,23	4,405872736
16	6,46	3,23	4,405872736

Selisih rerata	B2N3	B2N2	B3N3	B1N4	B2N1	B4N3	B1N1	B1N2	dst
	64	42	40	39	32,6	29	0	0	
B2N3	64	-							
B2N2	42	22	-						
B3N3	40	24	2	-					
B1N4	39	25	3	1	-				
B2N1	32,6	31,4	9,4	7,4	6,4	-			
B4N3	29	35	13	11	10	3,6	-		
B1N1	0	64	42	40	39	32,6	29	-	
B1N2	0	64	42	40	39	32,6	29	0	-
B1N3	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B2N4	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B3N1	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B3N2	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B3N4	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B4N1	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B4N2	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0
B4N4	0	64	42	40	39	32,6	29	0	0

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda



## Lampiran 12 Perhitungan uji lanjut Duncan parameter berat kalus

Hasil perhitungan uji jarak ganda duncan pada parameter berat kalus sebagai berikut:

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2S^2}{r}}$$

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2 \times (4,1380)}{20}}$$

$$= 0,4138$$

Keterangan:

$S_{-d}$  = Galat baku perbedaan rata-rata

$s^2$  = KT galat

r = Banyaknya ulangan

### Nilai wilayah beda nyata terpendek

$$Rp = \frac{(r_p)(S_{-d})}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

$R_p$  = Nilai tabel wilayah nyata student yang diperoleh dari tabel Duncan

$r_p$  = diperoleh pada tabel uji duncan 5%

### 1. Uji Duncan kelompok BA

Kelompok	Rerata	Peringkat
B2	3,4070	1
B3	0,7815	2
B1	0,1815	3
B4	0,0950	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	1,280431594
3	2,965	1,348660631
4	3,065	1,394146655

Selisih rerata	B2	B3	B1	B4
	3,4070	0,7815	0,1815	0,0950
B2 3,4070	-	-	-	-
B3 0,7815	2,6255	-	-	-
B1 0,1815	3,2255	0,6000	-	-
B4 0,0950	3,3120	0,6865	0,0865	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_p$
--------------------	------------	----------------	-------

B2	3,4070	-	-
B3	0,7815	2,6255	1,28043
B1	0,1815	0,6000	1,34866
B4	0,0950	0,0865	1,39415

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

## 2. Uji Duncan kelompok NAA

Kelompok	Rerata	Peringkat
N3	3,2740	1
N2	0,9305	2
N4	0,1815	3
N1	0,0790	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	1,280431594
3	2,965	1,348660631
4	3,065	1,394146655

Selisih rerata		N3	N2	N1	N4
		3,2740	0,9305	0,1815	0,0790
N3	3,2740	-	-	-	-
N2	0,9305	2,3435	-	-	-
N4	0,1815	3,0925	0,7490	-	-
N1	0,0790	3,1950	0,8515	0,1025	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp
N3	3,274	-	-
N2	0,9305	2,3435	1,28043
N4	0,1815	0,749	1,34866
N1	0,079	0,1025	1,39415

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### 3. Uji Duncan kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA

Kelompok	Rata-rata	Peringkat
B2N3	9,590	1
B2N2	3,722	2
B3N3	3,126	3
B1N4	0,726	4
B4N3	0,380	5
B2N1	0,316	6
B1N1	0,000	7
B1N2	0,000	8
B1N3	0,000	9
B2N4	0,000	10
B3N1	0,000	11
B3N2	0,000	12
B3N4	0,000	13
B4N1	0,000	14
B4N2	0,000	15
B4N4	0,000	16

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	Angka duncan	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	5,63	2,815	1,280438266
3	5,93	2,965	1,348667658
4	6,13	3,065	1,394153920
5	6,26	3,13	1,423719990
6	6,38	3,19	1,451011747
7	6,46	3,23	1,469206252
8	6,46	3,23	1,469206252
9	6,46	3,23	1,469206252
10	6,46	3,23	1,469206252
11	6,46	3,23	1,469206252
12	6,46	3,23	1,469206252
13	6,46	3,23	1,469206252
14	6,46	3,23	1,469206252
15	6,46	3,23	1,469206252
16	6,46	3,23	1,469206252

Selisih rerata	B2N3	B2N2	B3N3	B1N4	B2N1	B4N3	B1N1	B1N2	dst
	9,5900	3,7220	3,1260	0,7260	0,3800	0,3160	0	0	
B2N3	9,590	-							
B2N2	3,722	5,868							
B3N3	3,126	6,464	0,596						
B1N4	0,726	8,864	2,996	2,400					
B2N1	0,380	9,210	3,342	2,746	0,346				
B4N3	0,316	9,274	3,406	2,810	0,410	0,064			
B1N1	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316		
B1N2	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,3800	0,316	0	-
B1N3	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B2N4	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B3N1	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B3N2	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B3N4	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B4N1	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B4N2	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0
B4N4	0,000	9,590	3,722	3,126	0,726	0,38	0,316	0	0

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

Rp < selisish rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### Lampiran 13 Perhitungan uji lanjut Duncan parameter diameter kalus

Hasil perhitungan uji jarak ganda duncan pada parameter diameter kalus sebagai berikut:

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2S^2}{r}}$$

$$S_{-d} = \sqrt{\frac{2 \times (0,7534)}{20}}$$

$$= 0,07534$$

Keterangan:

$S_{-d}$  = Galat baku perbedaan rata-rata

$s^2$  = KT galat

r = Banyaknya ulangan

#### Nilai wilayah beda nyata terpendek

$$Rp = \frac{(r_p)(S_{-d})}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

$R_p$  = Nilai tabel wilayah nyata student yang diperoleh dari tabel Duncan

$r_p$  = diperoleh pada tabel uji duncan 5%

#### 1. Uji Duncan kelompok BA

Kelompok	Rerata	Peringkat
B2	1,555	1
B3	0,355	2
B1	0,150	3
B4	0,100	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 peroleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	0,546370217
3	2,965	0,575484083
4	3,065	0,594893327

Selisih rerata	B2	B3	B1	B4
	1,555	0,355	0,150	0,100
B2	1,555	-	-	-
B3	0,355	1,200	-	-
B1	0,150	1,405	0,205	-
B4	0,100	1,455	0,255	0,050

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	Rp
--------------------	------------	----------------	----

B2	1,555	-	-
B3	0,355	1,200	0,54637
B1	0,150	0,205	0,57548
B4	0,100	0,050	0,59489

Keterangan:

$R_p >$  selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

$R_p <$  selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

## 2. Uji Duncan kelompok NAA

Kelompok	Rerata	Peringkat
N3	1,365	1
N2	0,515	2
N4	0,150	3
N1	0,130	4

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	2,815	0,546370217
3	2,965	0,575484083
4	3,065	0,594893327

Selisih rerata		N3	N2	N1	N4
		1,365	0,515	0,150	0,130
N3	1,365	-	-	-	-
N2	0,515	0,850	-	-	-
N4	0,150	1,215	0,365	-	-
N1	0,130	1,235	0,385	0,020	-

Pada taraf kesalahan 5%

Kelompok perlakuan	Rerata (%)	Selisih rerata	$R_p$
N3	1,365	-	-
N2	0,515	0,850	0,54637
N4	0,150	0,365	0,57548
N1	0,130	0,020	0,59489

Keterangan:

$R_p >$  selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

$R_p <$  selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

### 3. Uji Duncan kombinasi taraf perlakuan BA dan NAA

Kelompok	Rata-rata	Peringkat
B2N3	3,64	1
B2N2	2,06	2
B3N3	1,42	3
B1N4	0,60	4
B2N1	0,52	5
B4N3	0,40	6
B1N1	0,00	7
B1N2	0,00	8
B1N3	0,00	9
B2N4	0,00	10
B3N1	0,00	11
B3N2	0,00	12
B3N4	0,00	13
B4N1	0,00	14
B4N2	0,00	15
B4N4	0,00	16

Pada taraf kesalahan 5% dengan dk = 64 diperoleh:

p	Angka duncan	$r_{p(0,05)}$	$R_{p(0,05)}$
2	5,63	2,815	0,546356620
3	5,93	2,965	0,575469761
4	6,13	3,065	0,594878522
5	6,26	3,130	0,607494216
6	6,38	3,190	0,619139473
7	6,46	3,230	0,626902977
8	6,46	3,230	0,626902977
9	6,46	3,230	0,626902977
10	6,46	3,230	0,626902977
11	6,46	3,230	0,626902977
12	6,46	3,230	0,626902977
13	6,46	3,230	0,626902977
14	6,46	3,230	0,626902977
15	6,46	3,230	0,626902977
16	6,46	3,230	0,626902977

Selisih rerata	B2N3	B2N2	B3N3	B1N4	B2N1	B4N3	B1N1	B1N2	dst	
	3,64	2,06	1,42	0,6	0,52	0,4	0	3,64		
B2N3	3,64	-								
B2N2	2,06	1,58	-							
B3N3	1,42	2,22	0,64	-						
B1N4	0,60	3,04	1,46	0,82	-					
B2N1	0,52	3,12	1,54	0,90	0,08	-				
B4N3	0,40	3,24	1,66	1,02	0,20	0,12	-			
B1N1	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	-		
B1N2	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	-	
B1N3	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	-
B2N4	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B3N1	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B3N2	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B3N4	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B4N1	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B4N2	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0
B4N4	0,00	3,64	2,06	1,42	0,60	0,52	0,4	0	0	0

Keterangan:

Rp > selisih rerata = tidak berbeda, notasi sama

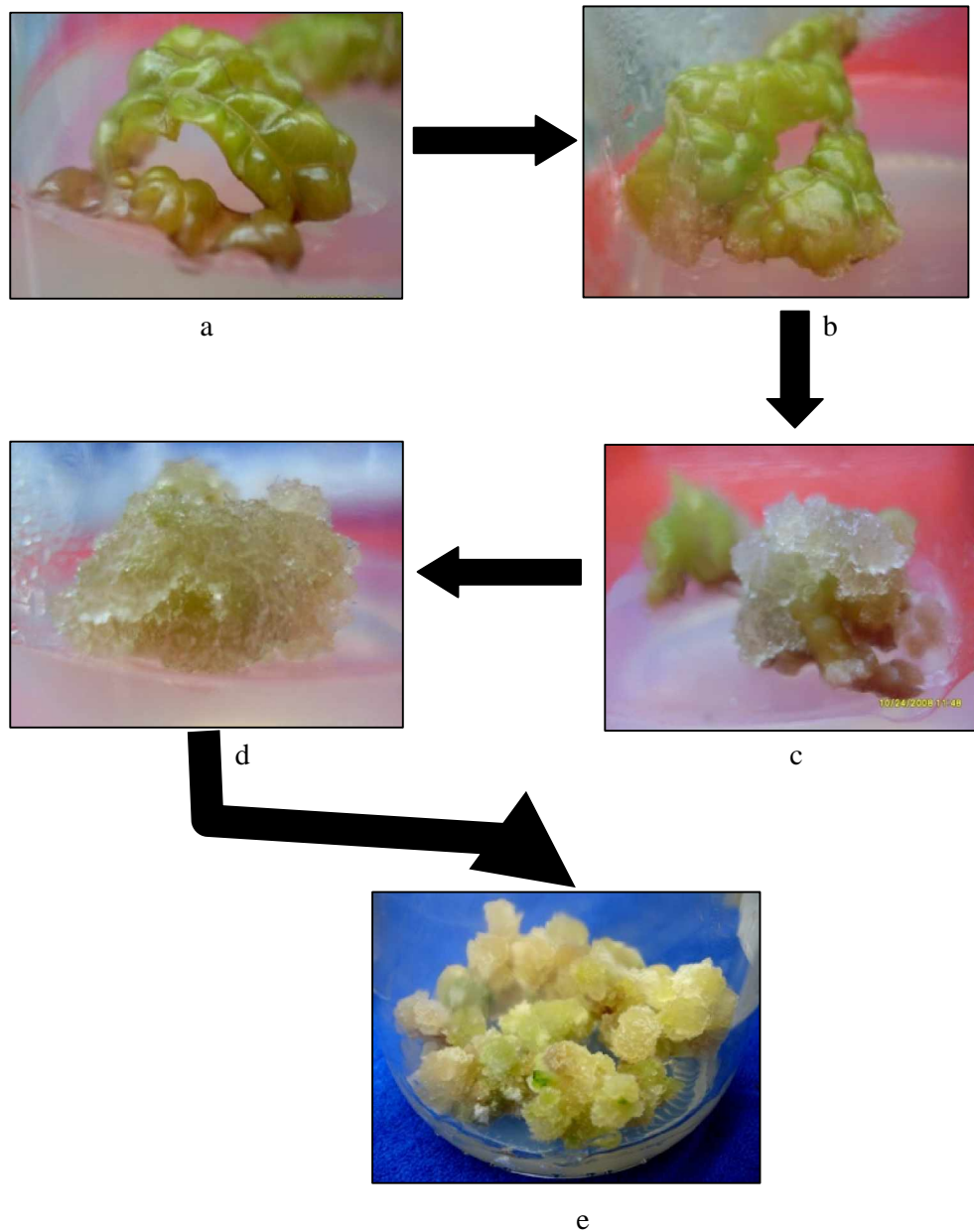
Rp < selisih rerata = berbeda nyata, notasi berbeda



**Lampiran 14 Wilayah nyata student pada taraf 5% dan 1% uji jarak berganda duncan**



### Lampiran 15 Tahapan perkembangan eksplan menjadi kalus



#### Keterangan

- Eksplan berumur satu sampai dua minggu, daun mulai membengkak
- Eksplan berumur tiga minggu, kalus mulai terbentuk ditandai munculnya massa sel berwarna putih
- Kalus telah menutupi seluruh permukaan eksplan
- Sel terus mengalami pembelahan dan pembentangan, kalus bertambah besar
- Kalus setelah empat bulan dari inokulasi, Mulai terbentuk klorofil, Kalus berwarna bening kehijauan

Lampiran 16 Gambar hasil penelitian yang berhasil diinduksi membentuk kalus



B2N3



B2N2



B3N3



B1N4



B2N1



B4N3

Lampiran 16 Gambar hasil penelitian yang tidak berhasil diinduksi membentuk kalus



B1N1



B1N2



B1N3



B2N4



B3N1



B3N2