



**PERKECAMBAHAN DAN PERTUMBUHAN KECAMBAH BIDARA
(*Ziziphus mauritiana* Lam.) SECARA *IN VITRO* DAN *EX VITRO*
PADA KONDISI GELAP DAN TERANG**

Skripsi
diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh
Murinah
4411414003

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2020

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan skripsi yang berjudul “Perkecambah dan Pertumbuhan Kecambah Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) secara *In vitro* dan *Ex vitro* pada Kondisi Gelap dan Terang” dan seluruh isinya adalah benar-benar karya sendiri, bebas plagiat, dan apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, Juni 2020



Murinah

4411414003

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Perkecambahan dan Pertumbuhan Kecambah Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)
secara *In vitro* dan *Ex vitro* pada Kondisi Gelap dan Terang

Disusun oleh

Murinah

4411414003

Telah dipertahankan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada 27
Februari 2020.

Panitia

Ketua



Sugianto, M.Si.

NIP 196102191993031001

Sekretaris

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Nms', written in a cursive style.

Dr.dr. Nugrahaningsih WH M.Kes

NIP 196907091998032001

Ketua Penguji

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'E.P.', written in a cursive style.

Drs. Eling Purwantoyo, M.Si.

NIP 196007081992031002

Anggota Penguji/

Pembimbing I

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Enni Suwarsi R.', written in a cursive style.

Prof. Dr. Enni Suwarsi R., M.Si.

NIP 196009161986012001

Anggota Penguji/

Pembimbing II

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Talitha Widiatningrum', written in a cursive style.

Talitha Widiatningrum, S.Si., M. Si., Ph.D.

NIP 198009292005012004

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

Setiap penulis akan mati. Hanya karyanyalah yang abadi. Maka tulislah sesuatu yang membahagiakanmu di akhirat nanti (Ali bin Abi Thalib).

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk Ibu Watmi, Ibu Sumi tercinta, FAMILIA, teman - teman Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Biologi UNNES, dan teman-teman seperjuangan.

PRAKATA

Puji syukur senantiasa terucap kehadirat Allah SAW, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya tersusunlah skripsi berjudul “Perkecambahan dan Pertumbuhan Kecambah Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) secara *In vitro* dan *Ex vitro* pada Kondisi Gelap dan Terang”.

Penyusunan sripsi ini tidak lepas dari bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di UNNES.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi yang membantu kelancaran administrasi penulis dalam penyelesaian skripsi.
4. Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan masukan dan pengarahan selama pembimbingan skripsi.
5. Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan masukan dan pengarahan selama pembimbingan skripsi.
6. Drs. Eling Purwantoyo, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam menguji kelayakan naskah skripsi saya.
7. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang diberikan pada penulis.
8. Kepala dan Staf Laboratorium Biologi FMIPA UNNES atas semua pelayanan dan fasilitas dalam menyelesaikan penelitian.
9. Ibu Watmi, dan Ibu Sumi atas dukungan, doa dan kesabarannya.
10. Teman-teman Biologi di Labaratorium Kultur Jaringan Tumbuhan (Novita Hermayani, Aida Raesa , Aisirotul Maisah, Adninta Husnu Amalia, Koriatun Wakidah, Siti Rochmah, Wahyu Nilam C., dan Mego Rifki. Terima kasih untuk semangat dan perhatiannya. Teman-teman seperjuangan Yenni Tyas Wulandari KE, Milatina Murni L, dan Siti Aminah Silviani terima kasih untuk kebersamaannya selama ini.

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

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih belum sempurna. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga hasil penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca.

Semarang, Januari 2020

Penulis

ABSTRAK

Murinah. 2020. *Perkecambahan dan Pertumbuhan Kecambah Bidara (Ziziphus mauritiana Lam.) Secara In vitro dan Ex vitro pada Kondisi Gelap dan Terang*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Prof. Dr. Enni Suwarsi Rahayu, M.Si. dan Pembimbing Pendamping Talitha Widiatningrum, S.Si., M. Si., Ph.D.

Kata kunci: perkecambahan, biji bidara, *in vitro*, *ex vitro*, gelap, dan terang

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) merupakan tanaman identitas kota Tegal yang kaya nutrisi dan sumber obat (Hasan *et al.* 2014). Biji bidara memiliki dormansi fisik dan fisiologis yang menyebabkan biji sulit berkecambah dan tumbuh di alam bebas. Pemecahan dormansi fisiologis dapat dilakukan antara lain dengan stratifikasi dan mengatur pencahayaan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pencahayaan terhadap perkecambahan biji bidara secara *in vitro* dan *ex vitro*.

Perkecambahan biji bidara menggunakan dua sub eksperimen. Sub eksperimen pertama adalah teknik perkecambahan *in vitro* (I) yang terdiri dari dua taraf yaitu *in vitro* gelap (IG) dan *in vitro* terang (IT). Sub eksperimen kedua adalah teknik perkecambahan *ex vitro* (E) yang terdiri dari dua taraf. Taraf pertama yaitu perkecambahan *ex vitro* gelap (EG) dan taraf kedua perkecambahan *ex vitro* terang (ET). Pada penelitian ini masing-masing taraf diulang sebanyak 16 kali. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman dan Riset Jurusan Biologi FMIPA UNNES. Sampel berupa biji bidara yang tersertifikasi, seragam, dan siap tanam diperoleh dari toko sarana pertanian. Parameter yang diukur adalah kecepatan perkecambahan, panjangibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil ruas pertama, jumlah daun, luas daun, persentase biji berkecambah, dan kadar klorofil. Pada teknik *in vitro* biji disterilisasi kemudian dilakukan imbibisi selama 24 jam, ditanam dalam media MS padat. Pada teknik *ex vitro* biji diimbibisi 24 jam dan ditanam pada medium campuran. Analisis data menggunakan *Mann-Whitney* dan *Paired Sample T-test*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pencahayaan berpengaruh terhadap jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil kecambah *in vitro*. Pada perkecambahan *ex vitro*, pencahayaan berpengaruh terhadap kecepatan perkecambahan, panjang hipokotil, luas daun, dan kadar klorofil.

Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang mampu mengoptimalkan perkecambahan dan pertumbuhan bidara adalah perlakuan *in vitro* dan *ex vitro* dengan pencahayaan terang, sehingga rekomendasi dari penelitian ini adalah bidara dapat dikecambahkan dengan teknik *in vitro* maupun *ex vitro* pada pencahayaan terang.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB	
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Istilah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERPIKIR	6
2.1 Tinjauan Pustaka	6
2.2 Kerangka Berpikir.....	16
2.3 Hipotesis.....	17
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	18
3.2 Variabel Penelitian	19
3.3 Bahan Tanaman.....	19
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	19
3.5 Prosedur Penelitian.....	21

3.6 Metode Pengumpulan Data.....	22
3.7 Teknis Analisis Data	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.2 Pembahasan.....	36
V. PENUTUP	48
5.1 Simpulan	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Perbandingan komposisi senyawa nutrisi anorganik resep <i>Hoagland</i> , MS, WPM, dan <i>Gamborg-B5</i>	13
3.1 Alat –alat penelitian	19
3.2 Bahan uji penelitian.....	20
3.3 Pengamatan perkecambahan biji bidara dengan variasi pencahayaan gelap dan terang	23
4.1 Rerata kadar klorofil kecambah bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap dan terang	34
4.2 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> dan <i>Paired Sample T-Test</i> pada parameter kecepatan perkecambahan, panjang radikula, panjang hipokotil, panjang epikotil, jumlah daun, luas daun, persentase perkecambahan,dan kadar klorofil kecambah <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i>	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi buah bidara.....	6
2.2 Morfologi biji bidara.....	7
2.3 Kerangka berpikir penelitian.....	16
3.1 Denah rancangan penelitian <i>in vitro</i>	18
3.2 Denah rancangan penelitian <i>ex vitro</i>	18
4.1 Kecepatan perkecambahan dengan perlakuan <i>in vitro</i> gelap, <i>in vitro</i> terang, <i>ex vitro</i> gelap dan <i>ex vitro</i> terang	25
4.2 Panjang radikula kecambah bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst.....	26
4.3 Panjang radikula pada sistem perkecambahan <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap dan terang.....	26
4.4 Pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan bidara pada pengukuran hari ke 2,4,6,8,10, dan 12 hst dengan teknik <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap dan terang.....	27
4.5 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan <i>in vitro</i> 4 hst dan 12 hst.....	28
4.6 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap 4 hst dan 12 hst.....	28
4.7 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan <i>ex vitro</i> pada kondisi terang 4 hst dan 12 hst	29
4.8 Pertumbuhan panjang epikotil perkecambahan bidara pada pengukuran 10,12,14,16,18, dan 20 hst	29
4.9 Perbandingan panjang epikotil perkecambahan <i>in vitro</i> gelap dan terang pada 12 hst dan 18 hst	30
4.10 Perbandingan panjang epikotil perkecambahan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap dan terang 12 hst dan 18 hst	31

4.11 Jumlah daun perkecambahan bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst.....	32
4.12 Daun kecambah bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> pada kondisi gelap dan terang	32
4.13 Luas daun kecambah bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst.....	33
4.14 Persentase perkecambahan bidara <i>in vitro</i> dan <i>ex vitro</i> tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang).....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur uji kadar klorofil	54
2. Rekap data pengamatan perkecambahan biji bidara secara in vitro dan ex vitro pada kondisi gelap dan terang	55
3. Nilai serapan hasil spektrofotometer UV VIS kecambah bidara	56
4. Analisis Data Perkecambahan Bidara	57
5. Nilai serapan hasil Spektrofotometer UV VIS DR 5000	65

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) merupakan tanaman kaya nutrisi dan sumber obat yang tumbuh optimal di beberapa negara (Hasan *et al.* 2014). Tanaman ini tumbuh baik di lingkungan panas dan kering (Orwa *et al.* 2009). Hampir semua organ tanaman ini bermanfaat baik akar, batang, daun, buah, dan biji (Susilo & Denny 2016). Grygorieva *et al.* (2014) menyatakan bahwa biji bidara banyak mengandung minyak. Daging buah bidara bertekstur lembut, dapat dikonsumsi langsung ataupun dijadikan bahan dasar berbagai produk makanan. Buah dan akar bidara dapat digunakan khususnya di bidang pengobatan dan kosmetik.

Bidara mengandung beberapa metabolit sekunder di antaranya alkaloid, flavonoid, glikosida, fenol, lignin, saponin, sterol, dan tanin. Selain metabolit sekunder, buah bidara mengandung antioksidan yang tinggi sekitar $69,7 \pm 4,3$ % (Prakash *et al.* 2013). Beberapa penelitian membuktikan bahwa bidara memiliki banyak manfaat dalam bidang farmasi. Aplikasi terapeutik ekstrak buah bidara dan *glibenclamide* menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan pada hari ke-6 dan ke-7 pemberian ekstrak (Avizeh *et al.* 2010). Kumar *et al.* (2017), menyatakan bahwa kandungan fenol dan flavonoid daun bidara bermanfaat sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Hussein *et al.* (2006) menyimpulkan bahwa akar bidara bermanfaat sebagai anti hiperglikemik, anti hiperlipidemik, dan antioksidan. Ekstrak kecambah bidara berpotensi menekan aktivitas mikroorganisme (Nkafamiya *et al.* 2013).

Bidara merupakan flora identitas Kota Tegal. Banyaknya manfaat bidara dalam bidang farmasi seharusnya mengakibatkan intensitas budidaya menjadi tinggi. Namun masyarakat Kota Tegal tidak membudidayakan bidara secara intensif. Hal ini karena masyarakat kurang memahami manfaatnya dan cara perkembangbiakan yang efisien (Rahayu & Budijantoro 2017).

Biji bidara memiliki dormansi fisik dan fisiologis yang menyebabkan biji sulit berkecambah dan tumbuh di alam bebas. Hal tersebut mengakibatkan populasi bidara di Kota Tegal semakin menurun. Perkecambahan perlu dipacu

dengan cara diberi perlakuan untuk memecah dormansi. Pemecahan dormansi fisiologis dapat dilakukan antara lain dengan stratifikasi dan mengatur pencahayaan.

Cahaya sebagai salah satu faktor lingkungan berpengaruh terhadap perkecambahan biji yang diperlukan untuk mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. Washa (2015) menyatakan bahwa intensitas cahaya gelap berpengaruh terhadap perkecambahan biji. Penelitian Socolowski *et al.* (2010) membuktikan bahwa biji *Cereus perambucensis* yang diinkubasi pada intensitas cahaya gelap tidak berkecambah. Hal ini mengindikasikan bahwa biji yang dikecambahkan sensitif terhadap cahaya yang di kontrol fitokrom. Penelitian Cordoso *et al.* (2015) menyimpulkan bahwa intensitas cahaya berpengaruh terhadap perkecambahan *Plukenetia volubilis*. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa biji yang diinkubasi dalam pencahayaan terus menerus lebih cepat berkecambah daripada biji yang diinkubasi dengan pencahayaan 12 jam.

Perkecambahan dapat dilangsungkan secara *in vitro* dan *ex vitro*. Perkecambahan *in vitro* merupakan perkecambahan yang dilakukan pada medium *in vitro* dalam kondisi aseptik pada ruang inkubasi serta memerlukan media, cahaya, dan suhu yang optimal. Perkecambahan *in vitro* sering digunakan untuk perbanyakan tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan menjadi metode sederhana untuk memperoleh regenerasi tanaman dengan waktu yang singkat (Khan *et al.* 2013). Selain itu, teknik *in vitro* dapat menunjang keperluan aplikasi transformasi genetik dan menyediakan kondisi yang optimal untuk perkecambahan biji dan pertumbuhan tanaman (Kone *et al.* 2015).

Perkecambahan *in vitro* merupakan perkecambahan yang dilakukan pada lingkungan yang terkendali pencahayaan, suhu, dan kelembabannya. Cahaya mempengaruhi perkecambahan dengan tiga cara, yaitu dengan intensitas (kuantitas) cahaya, kualitas cahaya (panjang gelombang) dan fotoperiodisitas (panjang hari). Cahaya dengan intensitas tinggi dapat meningkatkan perkecambahan pada biji, namun ada beberapa jenis biji yang perkecambahannya dihambat oleh cahaya (Harahap 2012).

Perkecambahan *ex vitro* merupakan perkecambahan yang dilakukan pada kondisi lingkungan alamiah tumbuhan. Teknik perkecambahan ini memerlukan

cahaya matahari sebagai sumber foton. Pencahayaan lingkungan *ex vitro* selalu mengalami fluktuasi setiap waktu. Pencahayaan lingkungan *ex vitro* dipengaruhi oleh kondisi sekitar khususnya cahaya matahari, begitupun dengan kelembabannya (Pipinis *et al.* 2011).

Tidak adanya cahaya juga dapat mempengaruhi perkecambahan biji. Biji-biji yang bersifat responsif terhadap cahaya dapat terhambat perkecambahannya jika terdapat cahaya. Biji yang sifatnya tidak responsif terhadap cahaya dapat berkecambah lebih cepat jika tanpa cahaya (Harahap 2012)

Berdasarkan latar belakang tersebut, pencahayaan gelap dan terang menjadi hal yang cukup penting untuk dianalisis pengaruhnya terhadap perkecambahan. Demikian pula kualitas perkecambahan pada kondisi *in vitro* dan *ex vitro*, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai perkecambahan biji bidara secara *in vitro* dan *ex vitro* pada pencahayaan gelap dan terang untuk menunjang konservasi bidara.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang akan diteliti dalam rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana pengaruh pencahayaan terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara secara *in vitro*?
- b. Bagaimana pengaruh pencahayaan terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara secara *ex vitro*?

1.3 Batasan Istilah

- a. Perkecambahan

Perkecambahan merupakan proses metabolisme biji hingga dapat menghasilkan pertumbuhan dari komponen kecambah yaitu plumula dan ibu akar (Purnobasuki 2011). Parameter perkecambahan yang akan diukur meliputi: kecepatan perkecambahan dan persentase perkecambahan. Parameter pertumbuhan kecambah yang akan diukur meliputi: panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil. Pada penelitian ini yang dimaksud dengan kecambah adalah

individu yang masih memanfaatkan kotiledon sebagai sumber nutrisi utama dalam pertumbuhannya.

b. Biji bidara

Biji bidara dalam penelitian ini adalah biji bidara yang tersertifikasi, seragam, dan siap tanam. Biji tersertifikasi adalah biji yang sifat viabilitas perkecambahannya tinggi.

c. Perkecambahan *In vitro*

Perkecambahan *in vitro* adalah perkecambahan yang dilakukan pada medium agar dengan resep MS (*Murashig and Skoog*) dalam kondisi aseptik dengan kondisi lingkungan yang terkendali. Perkecambahan ini dilakukan pada ruang inkubasi.

d. Perkecambahan *Ex vitro*

Perkecambahan *ex vitro* adalah perkecambahan yang dilakukan pada kapas basah dalam petridish, kemudian dipindah pada medium campuran dengan perbandingan berupa tanah, sekam, dan pupuk kandang = (1:1:1) selanjutnya diletakkan di *green house*.

e. Pencahayaan Terang dan Gelap

Perkecambahan *in vitro* dengan pencahayaan terang dikondisikan dengan meletakkan medium perkecambahan dan biji pada tempat yang mendapatkan cahaya lampu LED 18 Watt. Pencahayaan gelap dibuat dengan meletakkan biji yang dikecambahkan pada tempat yang tertutup.

Pada teknik *ex vitro*, pencahayaan terang dikondisikan dengan meletakkan medium perkecambahan dan biji pada tempat yang mendapatkan sinar matahari. Pencahayaan gelap dibuat dengan meletakkan biji yang dikecambahkan pada tempat tertutup.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- a. Menganalisis pengaruh pencahayaan terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara secara *in vitro*.
- b. Menganalisis pengaruh pencahayaan terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara secara *ex vitro*.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian diharapkan dapat memberi manfaat teoritis dan praktis.

A. Manfaat teoritis meliputi:

1. Memperkaya konsep perkecambahan dan pertumbuhan kecambah secara *in vitro* dan *ex vitro*
2. Memperkaya konsep tentang teknik pematangan dormansi biji

B. Manfaat praktis meliputi:

1. Meningkatkan perkecambahan bidara yang optimal
2. Mengatasi kelangkaan tumbuhan bidara di alam

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERPIKIR

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Kedudukan Taksonomi dan Morfologi Bidara

Klasifikasi *Ziziphus mauritiana* menurut *Natural Resources Conservation Services* (2014) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Rosidae
Ordo	: Rhamnales
Familia	: Rhamnaceae
Genus	: <i>Ziziphus</i> mill.-Jujube
Spesies	: <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam.

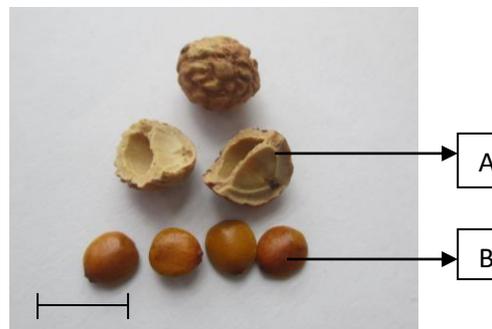


Gambar 2.1 Morfologi buah bidara
(Sumber: Rahayu 2018)

Z. mauritiana merupakan tumbuhan berbentuk pohon yang berduri dengan tinggi hingga 15 m serta memiliki diameter batang 40 cm atau lebih. Kulit batang berwarna abu-abu gelap kehitaman, pecah-pecah tidak beraturan. Daun tunggal dan berselang seling, memiliki panjang 4-6 cm dan lebar 2,5- 4,5 cm. Tangkai daun berbulu, tepi daun bergerigi halus. Buah berbiji satu, bulat sampai bulat telur, kulit buah kasar, mengkilap, berwarna kekuningan sampai kemerahan atau

kehitaman, daging buah putih, renyah, agak asam hingga manis (Goyal *et al.* 2012).

Z. mauritiana merupakan buah berbiji dengan daging buah yang empuk serta memiliki biji yang keras. Ada banyak variasi bentuk dan ukuran biji bidara, namun yang yang paling banyak ditemui berbentuk bulat. *Stone* beralur tidak beraturan dan biasanya terdiri dari dua biji berwarna coklat dengan kulit biji yang tipis (Joker 2003). Biji dapat disimpan pada kelembaban 7-10%, pada suhu ruang biji dapat disimpan minimal satu tahun. Sedangkan pada suhu dingin 5 °C biji masih memiliki viabilitas perkecambahan sampai beberapa tahun.



Gambar 2.2 Morfologi biji bidara. A. Endokarpium B. Kulit biji. *Scale bar*= 1 cm
(Sumber: Murinah 2018)

Kulit biji pada tumbuhan berbiji tertutup (Angiospermae) terdiri dari dua lapisan, yaitu lapisan kulit luar (*testa*) dan lapisan kulit dalam (*tegmen*). Lapisan kulit luar biasanya kuat dengan permukaan yang bervariasi, sedangkan lapisan kulit dalam bersifat seperti selaput dan sering kali juga disebut kulit ari. Pada tumbuhan berbiji terbuka (Gymnospermae), ada tiga lapisan kulit biji, yaitu kulit luar (*sarcotesta*), kulit tengah (*sclerotesta*) dan kulit dalam (*endotesta*). Kulit luar biasanya tebal berdaging berwarna hijau saat masih muda dan akan menjadi kuning dan akhirnya merah. Kulit tengah merupakan lapisan yang kuat, keras dan berkayu. Kulit dalam umumnya tipis seperti selaput dan seringkali melekat pada inti biji (Song Ai & Ballo 2010).

2.1.2 Fisiologi Perkecambahan Biji

Perkecambahan meliputi beberapa tahapan yaitu imbibisi, sekresi hormon dan enzim, hidrolisis cadangan makanan, pengiriman bahan makanan terlarut dan hormon ke daerah pertumbuhan embrio atau daerah lainnya, serta asimilasi atau fotosintesis (Song Ai & Ballo 2010). Beberapa biji yang memerlukan kondisi lingkungan tertentu untuk berkecambah misalnya pemaparan terhadap cahaya atau suhu rendah, mengakhiri dormansi jika diberi perlakuan dengan giberelin. (Campbell *et al.* 2012).

Setelah terjadi imbibisi maka embrio akan melepaskan giberelin (GA), yang mengirimkan sinyal ke aleuron, lapisan luar endosperma yang tipis. Aleuron merespon GA dengan mensintesis dan mensekresikan enzim amilase, lipase, dan protease yang menghidrolisis nutrien yang tersimpan dalam endosperma. (Campbell *et al.* 2012).

Enzim amilase bekerja memecah tepung menjadi maltosa, selanjutnya maltosa dihidrolisis oleh maltase menjadi glukosa. Protein dipecah oleh enzim protease menjadi asam amino. Enzim lipase memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Senyawa glukosa masuk ke dalam metabolisme untuk menghasilkan energi atau diubah menjadi senyawa karbohidrat penyusun struktur tubuh. Asam amino dirangkaikan menjadi protein yang berfungsi untuk menyusun struktur sel dan menyusun enzim-enzim baru. Asam lemak terutama dipakai untuk menyusun membran sel (Song Ai & Ballo 2010).

Transport materi hasil penguraian dari endosperm ke bagian embrio diangkut dari jaringan penyimpanan makanan menuju titik-titik tumbuh pada aulikula, ibu akar, dan plumula. Biji belum mempunyai jaringan pengangkut sehingga pengangkutan dilakukan secara difusi atau osmosis dari satu sel hidup ke sel hidup lainnya.

Asimilasi merupakan tahap akhir dalam penggunaan cadangan makanan dan merupakan proses pembangunan kembali menjadi protein baru dengan bantuan energi yang dihasilkan dari respirasi. Respirasi merupakan proses perombakan karbohidrat menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan membebaskan sejumlah energi. Proses ini dimulai pada aulikula, ibu akar, dan plumula dan akan beralih

ke endosperm atau kotiledon setelah cadangan makanan habis. Aktivitas respirasi yang tertinggi terjadi pada saat ibu akar menembus kulit biji.

Pertumbuhan terjadi setelah kulit biji memecah. Ada dua macam pertumbuhan pada perkecambahan, yaitu pembesaran sel-sel yang sudah ada dan pemebentukan sel-sel baru pada titik-titik tumbuh. Pertumbuhan berakhir setelah terjadi pemanjangan ibu akar dan plumula (Song Ai & Ballo 2010).

2.1.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perkecambahan Biji

Perkecambahan biji merupakan proses metabolisme biji hingga dapat menghasilkan pertumbuhan dari komponen kecambah, yaitu plumula dan ibu akar. Biasanya ibu akar keluar dari kulit biji, lalu tumbuh ke bawah dan membentuk sistem akar. Plumula muncul ke atas dan membentuk sistem tajuk. Perkecambahan meliputi beberapa tahapan yaitu imbibisi, sekresi hormon dan enzim, hidrolisis cadangan makanan, pengiriman bahan makanan terlarut dan hormon ke daerah pertumbuhan embrio atau daerah lainnya, serta asimilasi atau fotosintesis (Song Ai & Ballo 2010).

Perkecambahan biji dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor dalam dan faktor-faktor luar. Faktor-faktor dalam meliputi tingkat kemasakan biji, ukuran biji, dormansi, dan penghambat perkecambahan. Sedangkan faktor-faktor luar yang mempengaruhi perkecambahan biji meliputi air, temperatur, oksigen, dan cahaya. Perkecambahan biji tumbuhan liar sering terhambat oleh faktor lingkungan, tetapi perkecambahan biji berbagai tumbuhan budidaya hanya terhambat oleh kurangnya kelembaban atau suhu hangat (Fazal *et al.* 2016).

2.1.3.1 Faktor Internal

Salah satu faktor internal yang mempengaruhi perkecambahan biji adalah dormansi. Dormansi berhubungan dengan impermeabilitas dan kerasnya biji, embrio yang belum matang, dan inhibitor. Dormansi didefinisikan sebagai kondisi inaktif atau penundaan pertumbuhan pada beberapa waktu dan dapat aktif kembali (*Collins COBUILD Dictionary* 2015). Dormansi adalah suatu keadaan berhenti tumbuh yang dialami organisme hidup atau bagiannya sebagai tanggapan atas suatu keadaan yang tidak mendukung pertumbuhan normal. Dengan

demikian, dormansi merupakan suatu reaksi atas keadaan fisik atau lingkungan tertentu. Pemicu dormansi dapat bersifat mekanis, keadaan fisik lingkungan, atau kimiawi (Harahap 2012). Hormon tumbuhan asam absisat menunjukkan peran yang penting dalam dormansi, sedangkan giberelin berperan menginisiasi perkecambahan (Soppe & Bentsink 2016).

Dormansi dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu dormansi fisik dan dormansi fisiologis. Dormansi fisik disebabkan oleh pembatasan struktural terhadap perkecambahan biji, seperti kulit biji yang keras dan kedap sehingga menjadi penghalang mekanis terhadap masuknya air atau gas-gas ke dalam biji. Beberapa penyebab dormansi fisik adalah impermeabilitas kulit biji terhadap air dan resistensi mekanis kulit biji terhadap pertumbuhan embrio (Harahap 2012).

Dormansi fisiologis dapat disebabkan oleh sejumlah mekanisme, tetapi pada umumnya disebabkan oleh zat pengatur tumbuh, baik yang berupa penghambat maupun perangsang tumbuh. Beberapa penyebab dormansi fisiologis adalah *immaturity embryo*, *after ripening*, dan photodormansi (Harahap 2012). Dormansi dapat dipatahkan oleh hormon giberelin dan auksin. Giberelin mengirimkan sinyal ke aleuron yang mendorong pembentukan α -amilase dan enzim-enzim hidrolitik lainnya. Adanya enzim-enzim hidrolitik yang masuk ke kotiledon dan endosperma, akan mengakibatkan terjadinya hidrolisis cadangan makanan yang menghasilkan energi untuk aktivitas sel (Tetuko *et al.* 2015).

2.1.3.2 Faktor Eksternal

Faktor eksternal yang mempengaruhi perkecambahan *in vitro* menurut Prudente & Paiva (2018) dan Fazal (2016) adalah temperatur, cahaya, kelembaban, hormon dan substrat. Hal ini didukung oleh penelitian Cordoso *et al.* (2015) bahwa suhu, cahaya, dan media berpengaruh terhadap perkecambahan biji *Plukenetia volubilis*. Hasil penelitian Souza *et al.* (2016) menjelaskan bahwa kondisi optimal perkecambahan *Genipa americana* L. adalah dengan mengimbibisi biji dalam air selama 48 jam dan diinokulasikan pada media $\frac{1}{2}$ MS + 15 g/L sukrosa dengan stratifikasi pada kondisi gelap selama 16 hari serta dipindahkan pada pencahayaan lampu *fluorescent*.

Cahaya terutama panjang gelombang, kerapatan flux, dan fotoperiodisitas sangat penting artinya bagi tumbuhan dan morfogenesis tanaman pada kultur *in vitro*. Laju fotosintesis pada kebanyakan tanaman yang dikultur secara *in vitro* relatif rendah karena kultur tersebut sangat tergantung pada suplai sukrosa dari luar (dari medium). Oleh karena itu, pentingnya cahaya di kultur jaringan terletak pada pengaruhnya terhadap fotomorfogenesis bukan terhadap fotosintesis (Zulkarnain 2011).

Cahaya berpengaruh terhadap persentase perkecambahan biji dan laju perkecambahan. Cahaya juga memiliki peran regulasi yang signifikan pada sintesis beberapa fitokimia. Pada kondisi tertentu cahaya berpengaruh menstimulasi biosintesis metabolit sekunder (Abbasi *et al.* 2007). Penghambat perkecambahan biji pada kondisi pencahayaan berhubungan dengan perubahan aktivitas *different temperature-dependent phytochromes* (Heschel *et al.* 2008).

Cahaya mempengaruhi perkecambahan dengan tiga cara, yaitu dengan intensitas (kuantitas) cahaya, kualitas cahaya (panjang gelombang) dan fotoperiodisitas (panjang hari). Cahaya dengan intensitas tinggi dapat meningkatkan perkecambahan pada biji-biji yang *positively photoblastic* (perkecambahannya dipercepat oleh cahaya). Jika penyinaran intensitas tinggi ini diberikan dalam durasi waktu yang pendek. Hal ini tidak berlaku pada biji yang bersifat *negatively photoblastic* (perkecambahannya dihambat oleh cahaya) (Elisa 2006). Biji *positively photoblastic* yang disimpan dalam kondisi imbibisi dalam gelap untuk jangka waktu lama akan berubah menjadi tidak responsif terhadap cahaya, dan hal ini disebut *skotodormant*. Sebaliknya, biji yang bersifat *negatively photoblastic* menjadi *photodormant* jika dikenai cahaya. Kedua dormansi ini dapat dipatahkan dengan temperatur rendah (Harahap 2012).

Pigmen yang memegang peranan penting dalam perkecambahan biji adalah fitokrom yang hanya terdapat dalam jumlah sangat sedikit dalam biji. Fitokrom adalah fotoreseptor yang bertanggungjawab terhadap efek-efek yang berlawanan dari cahaya merah dan merah jauh. Suatu fitokrom memiliki sub unit yang identik, masing-masing terdiri dari sebuah komponen polipeptida yang berikatan secara kovalen dengan sebuah komponen nonpolipeptida kromofor, bagian subunit yang menyerap cahaya. (Campbell *et al.* 2012).

Pada keadaan terang, fitokrom pada beberapa biji seperti buah kacang tanah tidak terbentuk, sehingga gen-gen yang mengontrol perkecambahan tidak terekspresi. Selain itu, dalam keadaan terang dinding sel sebelah luar sel-sel eksokarp mengalami lignifikasi (Sulistiono 2000) yang akan menghalangi masuknya air dan unsur hara ke dalam biji. Efek lingkungan dapat mengubah peran jenis fitokrom pada perkecambahan. Oleh karena itu, beberapa jenis fitokrom penting dalam menginisiasi perkecambahan pada musim perkecambahan di alam (Donohue *et al.* 2007).

Penyebab terjadinya perkecambahan adalah daerah merah dari spektrum (red; 650 nm), sedangkan sinar infra merah (far red; 730 nm) menghambat perkecambahan. Efek dari kedua daerah di spektrum ini *adalah mutually antagonistic* (bertentangan). Dalam hal ini, biji mempunyai 2 pigmen yang *photoreversible* (dapat berada dalam 2 kondisi alternatif) yaitu P650 : mengabsorbir di daerah merah, P730 : mengabsorbir di daerah infra merah.

Jika biji dikenai sinar merah (red; 650 nm), maka pigmen P650 diubah menjadi P730. P730 inilah yang menghasilkan sederetan aksi-aksi yang menyebabkan terjadinya perkecambahan. Sebaliknya jika P730 dikenai sinar infra merah (far-red; 730 nm), maka pigmen berubah kembali menjadi P650 dan terhambatlah proses perkecambahan (Elisa, 2006). Biji *light sensitive* yang telah mengadakan imbibisi jika disinari dengan sinar merah (650 nm) mengakibatkan fitokrom merah menjadi bentuk fitokrom infra merah yang aktif sehingga dapat menyebabkan perkecambahan biji.

Jumlah simpanan nutrien yang terbatas pada kebanyakan jenis biji yang berukuran kecil, menyebabkan biji berkecambah saat lingkungan cahaya dan kondisi-kondisi yang lain hampir optimal (Campbell *et al.* 2012).

2.1.4 Teknik Perkecambahan Biji

2.1.4.1 Teknik Perkecambahan *In vitro*

Kultur jaringan atau kultur *in vitro* adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, organ, dan embrio yang dipelihara dan ditumbuhkan pada media buatan yang steril agar mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain 2011).

Kultur aseptik dapat diperoleh dengan melakukan langkah awal berupa disinfestasi atau sterilisasi terhadap bahan tanaman yang akan dijadikan eksplan, sehingga pada waktu dikulturkan, eksplan tersebut telah bebas dari mikroorganisme kontaminan. Selain dari bahan tanaman, kontaminasi dapat pula berasal dari dalam medium kultur, peralatan yang sterilisasinya kurang sempurna, dan berasal dari udara langsung yang masuk ke dalam kultur pada saat penanaman (Zulkarnain 2011).

Perkecambahan *in vitro* memerlukan media, cahaya, dan suhu yang optimal. Media merupakan salah satu faktor yang penting dalam kultur jaringan. Media tumbuh dalam kultur jaringan harus dapat memenuhi kebutuhan eksplan. Berbagai komposisi standar telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman antara lain komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1956), Gamborg dkk. B5 (1976), Linsmaier dan Skoog (1965), Murashige dan Skoog (1962) serta *Woody Plant Medium* (Lloyd dan McCown 1980). *Murashige and Skoog* (MS) merupakan media yang umum digunakan sebagian besar spesies tumbuhan. Media MS mengandung unsur dan persenyawaan yang lebih lengkap dibanding dengan medium lain (Tabel 2.1). Perkembangan teknik kultur *in vitro* membutuhkan media tanam *in vitro* yang aseptik serta perlunya subkultur untuk mengganti medium dengan medium baru. Sumber makanan dalam medium di *reducing* melalui metabolisme tumbuhan. Medium tersebut dapat bertahan sampai beberapa tahun (Silva *et al.* 2018).

Tabel 2.1 Perbandingan Komposisi Senyawa Nutrisi Anorganik Resep *Hoagland*, MS, WPM, dan *Gamborg-B5*

Komponen Senyawa	Kadar senyawa (ppm)			
	Hoagland	MS	WPM	Gamborg-B5
Senyawa makro				
NH ₄ NO ₃	850,00	1.650,00	400,00	-
KNO ₃	210,00	1.900,00	-	2500,00
Ca(NO ₃) ₂	-	-	386,00	-
CaCl ₂ . 2H ₂ O	200,00	440,00	72,50	113,24
KH ₂ PO ₄	31,00	170,00	170,00	-
KHSO ₄	-	-	990,00	-
(NH ₄) ₃ PO ₄	-	-	-	150,00
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	134,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	48,00	370,00	180,70	122,09
Senyawa mikro				

H ₃ BO ₃	0,50	6,20	6,20	3,00
Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	0,10	0,25	0,25	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	0,025	-	0,025
KI	-	0,83	-	0,75
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,50	16,90	22,30	10,00
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,05	8,60	8,60	2,00
CuSO ₄ .7H ₂ O	0,02	0,025	0,25	0,025
FeSO ₄ .7H ₂ O	1 – 5,00	27,80	27,85	27,80
Na ₂ EDTA	-	37,30	37,30	37,26

Sumber: Rahayu 2015.

Media kultur jaringan umumnya mengandung nutrien berupa garam anorganik dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Sukrosa sering digunakan sebagai sumber karbon karena harga yang murah, stabil saat sterilisasi menggunakan autoklaf, dan mudah diasimilasi oleh tumbuhan. Jenis karbohidrat lain yang dapat digunakan adalah glukosa, maltose, dan galaktos. Gula-alkohol gliserol dan sorbitol juga baik digunakan sebagai sumber karbohidrat. Karbohidrat ditambahkan dalam medium kultur *in vitro* untuk mensuplai energi untuk metabolisme (Do Rego *et al.* 2009).

Selain media, faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan perkecambahan *in vitro* adalah lingkungan kultur. Lingkungan kultur merupakan hasil interaksi antara bahan tanaman, wadah tanaman, dan lingkungan eksternal ruang kultur yang memengaruhi system kultur jaringan. Sejumlah faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur adalah suhu, cahaya, karbondioksida, oksigen, dan kelembaban.

Suhu lingkungan kultur *in vitro* yang sering digunakan adalah dibawah suhu 26 °C. Suhu lingkungan dapat mempengaruhi kerja enzim-enzim yang terdapat dalam biji. Suhu inkubasi yang rendah dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan kelembababan lingkungan yang tinggi dapat menginduksi munculnya jamur dan patogen (Sudir *et al.* 2014).

Intensitas cahaya lingkungan *in vitro* dapat dikondisikan sesuai kebutuhan. Pertumbuhan *in vitro* jaringan tanaman yang telah terorganisasi pada umumnya tidak mengalami hambatan karena cahaya, bahkan seringkali cahaya dibutuhkan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Sebaliknya, inisiasi pembelahan sel pada eksplan dan pertumbuhan jaringan kalus kadang- kadang mengalami hambatan dengan adanya cahaya (Zulkarnain 2011). Sistem regenerasi dengan teknik *in*

vitro dapat menunjang keperluan aplikasi transformasi genetik dan menyediakan kondisi yang optimal untuk perkecambahan biji dan pertumbuhan tanaman (Kone *et al.* 2015).

2.1.4.2 Teknik Perkecambahan *Ex vitro*

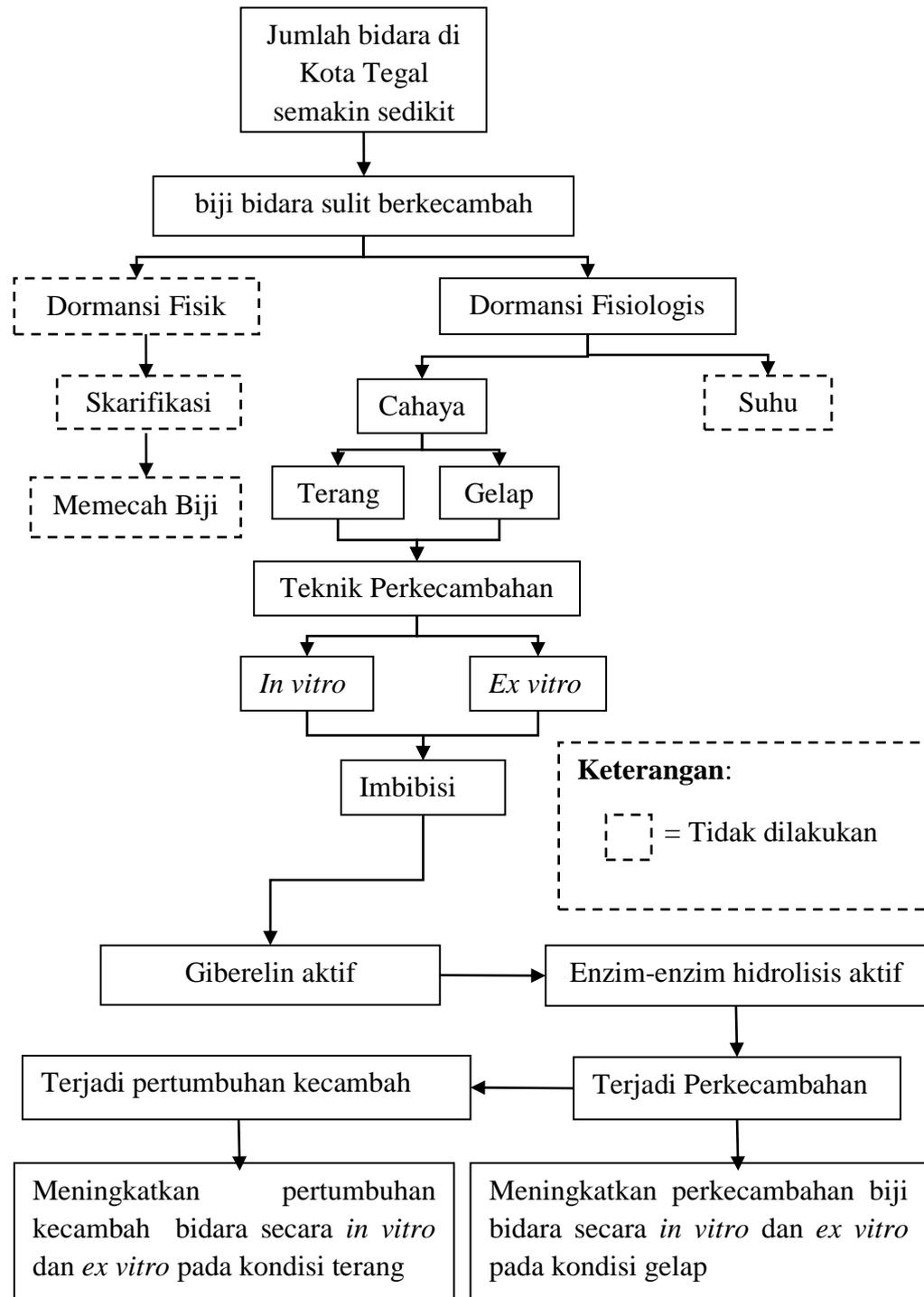
Perkecambahan *ex vitro* merupakan perkecambahan yang dilakukan pada kondisi lingkungan alamiah tumbuhan. Teknik perkecambahan ini memerlukan cahaya matahari sebagai sumber foton. Kondisi pencahayaan lingkungan *ex vitro* selalu mengalami fluktuasi setiap waktu. Begitupun dengan kondisi suhu lingkungan dan kelembabannya (Pipinis *et al.* 2011).

Salah satu faktor yang mempengaruhi perkecambahan biji adalah media perkecambahan. Media tumbuh yang digunakan untuk perkecambahan harus yang mampu menyiapkan unsur hara yang cukup (Saleh *et al.* 2008). Komponen media tanam yang baik bagi pertumbuhan tanaman terdiri dari tanah, bahan organik, air dan udara. Beberapa media tanam *ex vitro* yaitu pasir, tanah, arang sekam, dan *cocopeat* (Febriani 2017).

Media campuran yang berisi pupuk kandang, tanah, dan arang sekam merupakan media yang sering digunakan dalam perkecambahan *ex vitro*. Pemberian pupuk kandang menjamin ketersediaan unsur hara, perbaikan aerasi, dan drainasi media. Humus adalah senyawa organik tanah yang menyimpan nutrient tumbuhan dan berfungsi sebagai penyangga dalam proses fisik, kimia, dan biologi yang sangat penting untuk perbaikan struktur tanah (IRRI 2006). Sementara tanah mempunyai daya mengikat air dan unsur hara yang baik, tetapi cenderung memiliki aerasi dan drainase yang kurang baik.

Media sekam padi dapat menciptakan kondisi lingkungan tumbuh khususnya sifat fisik dan kimia tanah yang lebih baik bagi pertumbuhan tanaman karena lebih cepat proses pelapukannya (Sudomo & Santoso 2011).

2.2 Kerangka Berpikir



Gambar 2.2 Kerangka berpikir Penelitian

2.3 Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka dan kerangka berpikir, disusun hipotesis sebagai berikut:

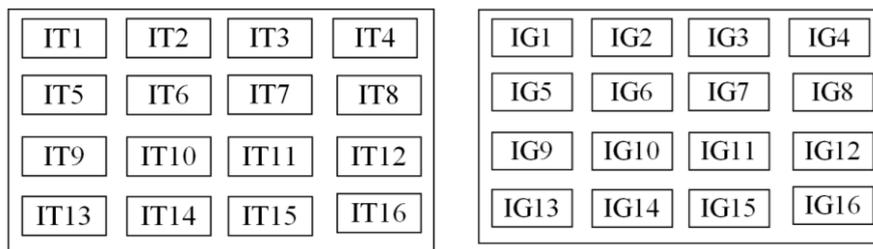
1. Pencahayaan gelap meningkatkan perkecambahan biji bidara secara *in vitro* dan *ex vitro*
2. Pencahayaan terang meningkatkan pertumbuhan kecambah bidara secara *in vitro* dan *ex vitro*

BAB 3

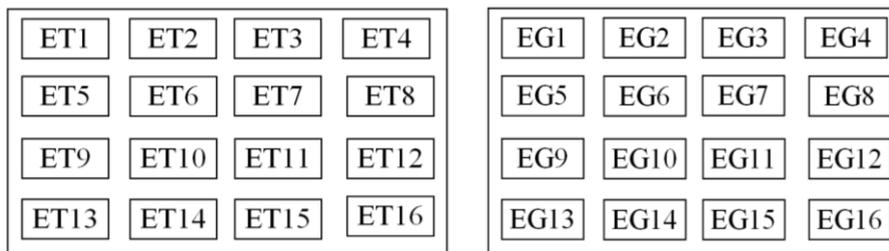
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Desain penelitian adalah penelitian dua sub eksperimen. Sub eksperimen pertama adalah teknik perkecambahan *in vitro* (I) yang terdiri dari dua taraf yaitu *in vitro* gelap (IG) dan *in vitro* terang (IT). Sub eksperimen kedua adalah teknik perkecambahan *ex vitro* yang terdiri dari dua taraf. Taraf pertama yaitu perkecambahan *ex vitro* gelap (EG) dan taraf kedua perkecambahan *ex vitro* terang (ET). Pada penelitian ini masing-masing taraf diulang sebanyak 16 kali ulangan. Denah desain penelitian pada penelitian ini sebagai berikut:



Gambar 3.1 Denah desain penelitian *in vitro* (SE 1)



Gambar 3.2 Denah desain penelitian *ex vitro* (SE 2)

Keterangan:

- T = Terang
- G = Gelap
- I = *In vitro*
- E = *Ex vitro*
- I-16 = Ulangan
- SE = Sub eksperimen

3.2 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat tiga variabel yaitu: variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

1. Variabel Bebas
 - a. pencahayaan gelap dan terang
 - b. Teknik pekecambahan
2. Variabel Tergantung
 - a. Kecepatan perkecambahan
 - b. Persentase biji berkecambah
 - c. Panjang ibu akar
 - d. Panjang hipokotil
 - e. Panjang epikotil ruas pertama
 - f. Jumlah dan luas daun pada kecambah
 - g. Kadar klorofil (20 hst) daun pada kecambah
3. Variabel Kendali
 - a. Media tanam berupa media MS dan media tanam campuran
 - b. pH media MS (5,4-5,6)
 - c. Suhu ruang tanam dan ruang inkubasi 20-24° C
 - d. Kelembaban udara ruang inkubasi (58-60%)
 - e. Intensitas cahaya ruang inkubasi (1000-2000 lux)

3.3 Bahan Tanaman

Bahan tanaman berupa biji bidara yang sudah tersertifikasi, seragam, dan siap tanam yang diperoleh dari toko sarana pertanian.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Table 3. 1 dan Tabel 3.2.

Tabel 3.1 Alat-alat penelitian

No.	Nama Alat	Fungsi
1.	<i>Laminar Air Flow</i> (LAF)	Tempat menanam eksplan secara steril
2.	<i>Autoclave</i>	Sterilisasi botol kultur dan media tanam
3.	Botol kultur	Tempat kultur eksplan
4.	Petridish	Tempat menyemai biji <i>ex vitro</i>

5.	Timbangan analitik	Menimbang zat-zat yang digunakan
6.	Pembakar spirtus	Untuk sterilisasi peralatan logam (pinset)
7.	Rak inkubasi	Tempat meletakkan botol-botol kultur saat penyimpanan (pencahayaan terang <i>in vitro</i>)
8.	Almari penyimpanan	Tempat menyimpan botol-botol dan petridish saat kultur (Pencahayaan gelap)
9.	<i>Polybag</i>	Tempat menanam <i>ex vitro</i>
10.	Kertas indicator pH	Mengukur pH media
11.	Gelas ukur	Mengukur volume larutan media
12.	Erlenmeyer 1000 ml	Tempat membuat media
13.	Pipet	Mengambil larutan stok
14.	Pengaduk	Mengaduk media saat pembuatan
15.	Kompor	Memasak media
16.	Panci	Tempat memasak media
17.	Termohigrometer	Mengukur suhu dan kelembaban ruang inkubasi
18.	<i>Lux meter</i>	Mengukur intensitas cahaya

Tabel 3.2 Bahan-bahan penelitian

No	Nama Bahan	Fungsi
1.	Media MS racikan dari stok MS	Sumber unsur hara bagi tanaman kultur
2.	Gula pasir	Sumber karbon
3.	Media tanam (tanah:sekam:pupuk kandang)	Media tanam <i>ex vitro</i>
4.	Alkohol 70%	Larutan sterilisasi
5.	Alkohol 95%	Pelarut klorofil
5.	Aquades	Bahan pelarut media <i>in vitro</i>
6.	Biji bidara	Sumber eksplan
7.	Deterjen cair	Sterilan
8.	Bakterisida dan Fungisida	Sterilan
9.	<i>Clorox</i> 10% dan 20%	Sterilan
10.	<i>Tween-20</i>	Sterilan
11.	Akuades steril	Sterilan
12.	Kapas	Media perkecambahan <i>ex vitro</i>
13.	Mulsa hitam	Penutup baki (suasana kedap cahaya)

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Prosedur perkecambahan *In vitro*

3.5.1.1 Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi peralatan dilakukan sebelum pembuatan media. Botol kultur dan pinset yang telah dicuci menggunakan deterjen dan dikeringkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit.

3.5.1.2 Pembuatan media

Media penanaman *in vitro* dalam penelitian ini adalah media MS. Media MS dibuat dengan cara melarutkan beberapa larutan stok MS, gula pasir 30 gram/liter, vitamin 1 ml/liter, dan *myoinositol* 10 ml/liter dalam Erlenmeyer 1000 ml. Racikan MS yang telah dibuat dalam Erlenmeyer ditambah akuades sampai 1 liter dan diaduk sampai homogen. Dilakukan pengukuran pH dengan indikator pH dan ditambahkan 8 gram agar. Media dimasak sampai mendidih dan terlihat bening selama ± 20 menit. Media MS selanjutnya dituang ke dalam botol yang telah diberi label dengan keterangan perlakuan dan tanggal pembuatan. Botol yang berisi media ditutup dengan plastik bening dan diikat dengan karet. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang sudah steril dipindahkan ke ruang inkubasi selanjutnya ditunggu 3-5 hari. Hal ini dilakukan untuk memastikan kesterilan media.

3.5.1.3 Sterilisasi eksplan

Biji yang akan ditanam disterilisasi menggunakan 2 ml deterjen cair dalam 100 ml air selama 30 menit sambil digojok menggunakan shaker. Biji dibilas menggunakan air mengalir. 3 ml sabun antiseptik cair (Dettol) ditambahkan dalam 100 ml air digojok selama 30 menit. Selanjutnya biji disterilisasi menggunakan 3 gram bakterisida dan fungisida digojok selama 1 jam. Biji masuk *Laminar Air Flow* dan ditambahkan sterilan berupa *chlorox* 20% dan 2 tetes tween-20, digojok selama 15 menit. Biji ditambahkan sterilan *chlorox* 10% dan 2 tetes tween-20, digojok selama 10 menit. Sterilan diganti dengan alkohol 70% selama 3 menit. Setiap pergantian sterilan, biji dibilas akuades steril sebanyak tiga kali. Biji direndam dalam air steril selama 24 jam. (Ahmadi *et al.* 2012 & Anggraeni 2016).

3.5.1.3 Penanaman eksplan secara *in vitro*

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF dalam keadaan steril. Setiap botol terdiri dari satu eksplan kemudian ditutup plastik bening dan diikat karet. Eksplan yang sudah ditanam selanjutnya diinkubasi dalam ruang inkubasi dengan suhu 20-24°C serta pencahayaan gelap dan terang (terkena cahaya lampu LED 18 watt).

3.6.2 Prosedur perkecambahan secara *ex vitro*

Penanaman eksplan secara *ex vitro* dilakukan dengan memecah kulit biji bidara bagian dalam (endokarpium). Biji direndam selama 24 jam. Penanaman biji dilakukan secara *ex vitro* dengan cara menyemai biji pada petridish yang sudah dilapisi kapas basah. Biji selanjutnya diinkubasi pada pencahayaan gelap dan terang. Setelah 4 hari kecambah di pindah pada media tanam instan yang terdiri dari tanah, arang sekam, dan pupuk kandang dalam pencahayaan gelap dan terang (terkena sinar matahari) serta disiram menggunakan air 2 hari sekali. Kecambah diamati pertumbuhannya selama 20 hari.

3.7 Metode Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan cara mengamati satu persatu eksplan yang telah ditanam. Waktu pengambilan data tersebut tergantung pada parameter yang akan diamati. Data pengamatan disajikan pada Table 3.3.

Parameter yang akan diamati pada perkecambahan biji adalah sebagai berikut:

1. Kecepatan perkecambahan biji (hst). Pengamatan kecepatan perkecambahan biji dimulai dari hari penanaman sampai hari ke 12, ditandai munculnya ibu akar.
2. Persentase perkecambahan. Persentase perkecambahan dilakukan pada 20 hst dengan menghitung jumlah biji berkecambah dibagi total biji yang dikecambahkan pada masing- masing perlakuan

Parameter yang akan diamati pada pertumbuhan kecambah adalah sebagai berikut:

1. Ibu akar (cm). Pengamatan ibu akar dilakukan dengan mengukur panjang ibu akar dari leher akar hingga ujung akar pada hari terakhir perlakuan.

2. Panjang hipokotil. Pengamatan panjang hipokotil dilakukan mulai hari ke 2 setelah penanaman sampai hari ke 12. Panjang hipokotil diukur dari leher batas leher akar sampai kotiledon.
3. Panjang epikotil ruas pertama. Pengamatan panjang epikotil ruas pertama dilakukan mulai hari ke 10 setelah penanaman sampai hari ke 19. Panjang epikotil ruas pertama diukur dengan mengukur panjang epikotil dari atas kotiledon hingga nodus daun pertama.
4. Jumlah dan luas daun. Pengamatan jumlah dan luas daun dilakukan pada akhir perlakuan (20 hst). Daun yang dihitung mulai daun pertama di atas kotiledon sampai daun yang masih kuncup. Luas daun dihitung dengan cara menggambar daun yang akan ditaksir luasnya pada sehelai kertas milimeter, yang menghasilkan replika (tiruan daun). Replika daun kemudian ditaksir dengan memberikan angka 1 pada bagian replika kotal penuh dan $\frac{1}{2}$ pada replika tidak penuh.
5. Jumlah klorofil (20 hst). Perhitungan jumlah klorofil dilakukan pada hari ke dua puluh setelah tanam (Lampiran 3.1) merujuk jurnal Ajiningrum 2018.

Tabel 3.3 Tabel pengamatan perkecambah biji bidara dengan variasi pencahayaan gelap dan terang secara *in vitro* dan *ex vitro*

Ulangan	I		E		Rerata
	G	T	G	T	
Parameter					
U ₁					
U ₂					
U ₃					
U ₄					
U ₅					
U ₆					
U ₇					
U ₈					
U ₉					
U ₁₀					
U ₁₁					
U ₁₂					
U ₁₃					
U ₁₄					
U ₁₅					
U ₁₆					

3.8 Teknik Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Data dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dianalisis menggunakan *Paired Sample T-test* (berpasangan). Jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal dan homogen, data dapat diuji dengan analisis nonparametrik *Mann-Whitney*.

BAB 4

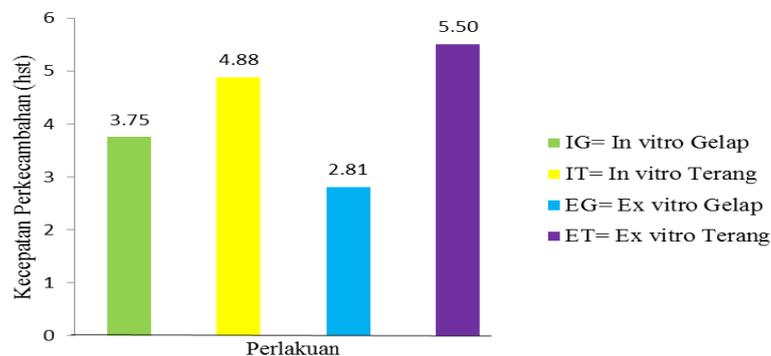
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara secara *in vitro* dan *ex vitro* dengan pencahayaan (terang) dan tanpa pencahayaan (gelap) diukur menggunakan beberapa parameter yaitu: kecepatan perkecambahan, persentase perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil ruas pertama, jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil.

4.1.1 Kecepatan Perkecambahan

Kecepatan perkecambahan ditunjukkan dengan rentang waktu antara saat biji diletakkan pada medium perkecambahan dengan saat munculnya ibu akar. Kecepatan perkecambahan *in vitro* tanpa pencahayaan (3,75 hst) lebih cepat dibanding perkecambahan *in vitro* dengan pencahayaan yaitu 4,88 hst (Gambar 4.1)



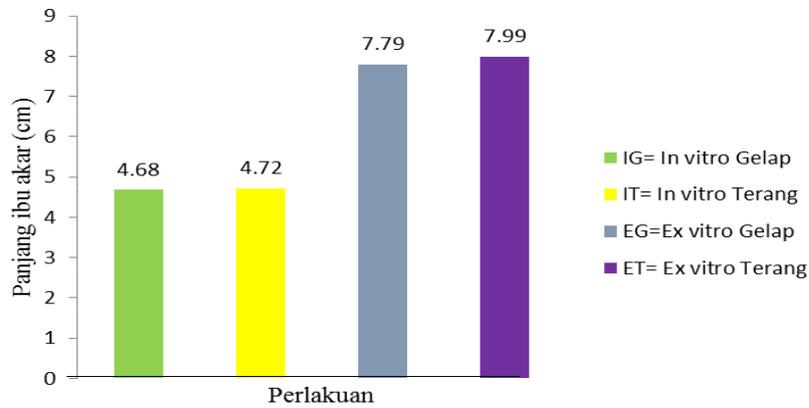
Gambar 4.1 Kecepatan perkecambahan dengan perlakuan *in vitro* gelap, *in vitro* terang, *ex vitro* gelap, dan *ex vitro* terang.

Pada perkecambahan *ex vitro* rerata kecepatan perkecambahan tanpa pencahayaan (gelap) lebih cepat dibanding perkecambahan *ex vitro* dengan pencahayaan (terang) yaitu 2, 81 hst (Gambar 4.1)

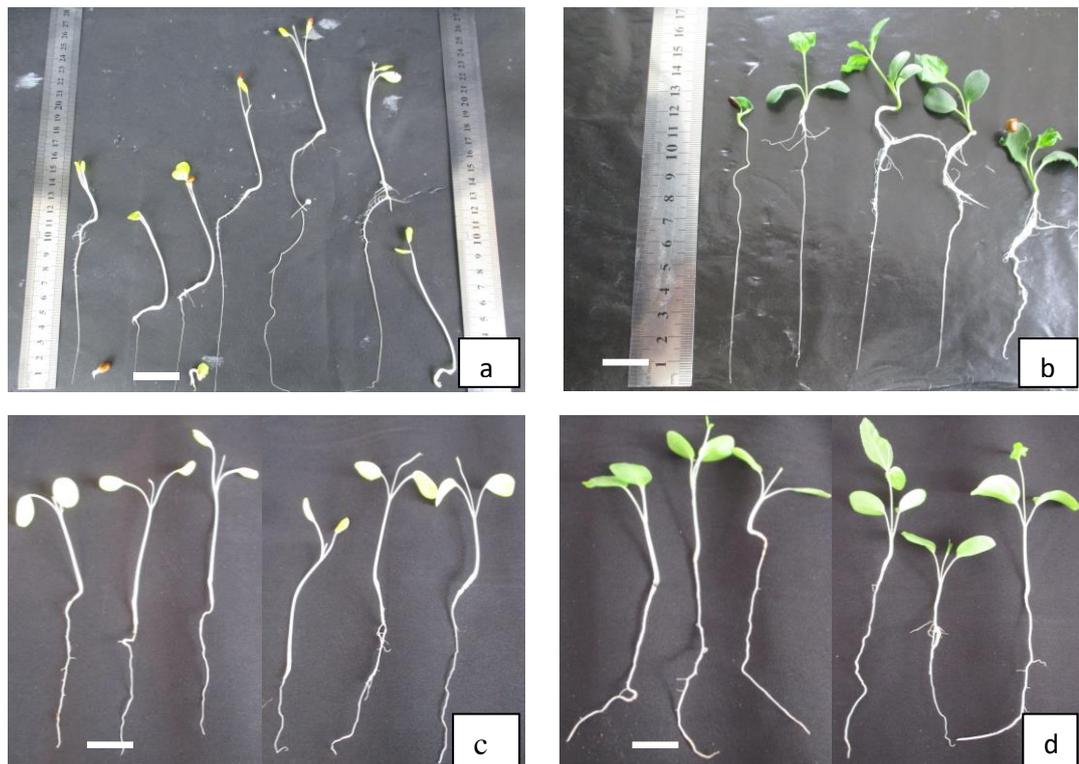
4.1.2 Panjang ibu akar

Pengamatan panjang ibu akar kecambah bidara secara *in vitro* dan *ex vitro* dilakukan pada hari ke 20 hst perlakuan. Biji yang dikecambahkan secara *in vitro* dengan pencahayaan (terang) memiliki rerata ibu akar yang lebih panjang (4,72 cm) dari pada biji yang dikecambahkan tanpa pencahayaan (gelap) 4,72 cm

(Gambar 4.2). Kecambah *in vitro* terang memiliki ibu akar yang lebih segar, berukuran lebih besar, dan rambut akar yang lebih banyak daripada kecambah *in vitro* gelap.



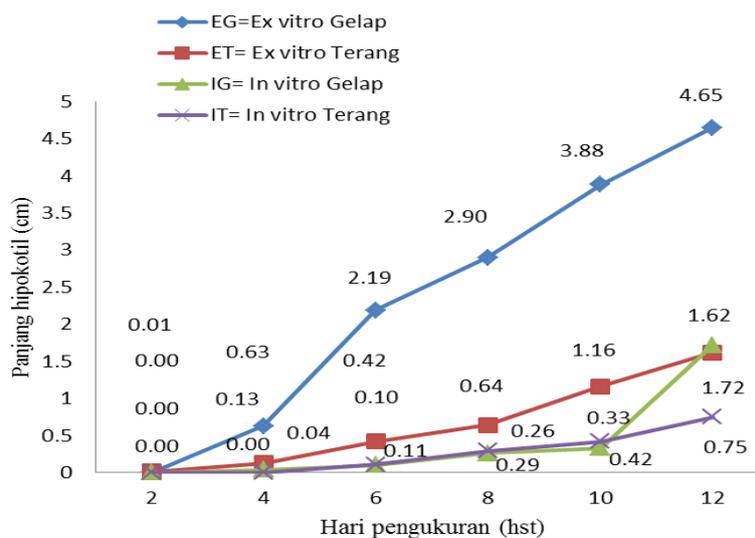
Gambar 4.2 Panjang ibu akar kecambah bidara *in vitro* dan *ex vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst



Gambar 4.3 Panjang ibu akar pada sistem perkecambahan *in vitro* dan *ex vitro* pada kondisi gelap dan terang (a) pada teknik *in vitro* gelap (b) pada teknik *in vitro* terang (c) pada teknik *ex vitro* gelap (d) pada teknik *ex vitro* terang. Scale bar: 2 cm

4.1.3 Pertumbuhan Hipokotil

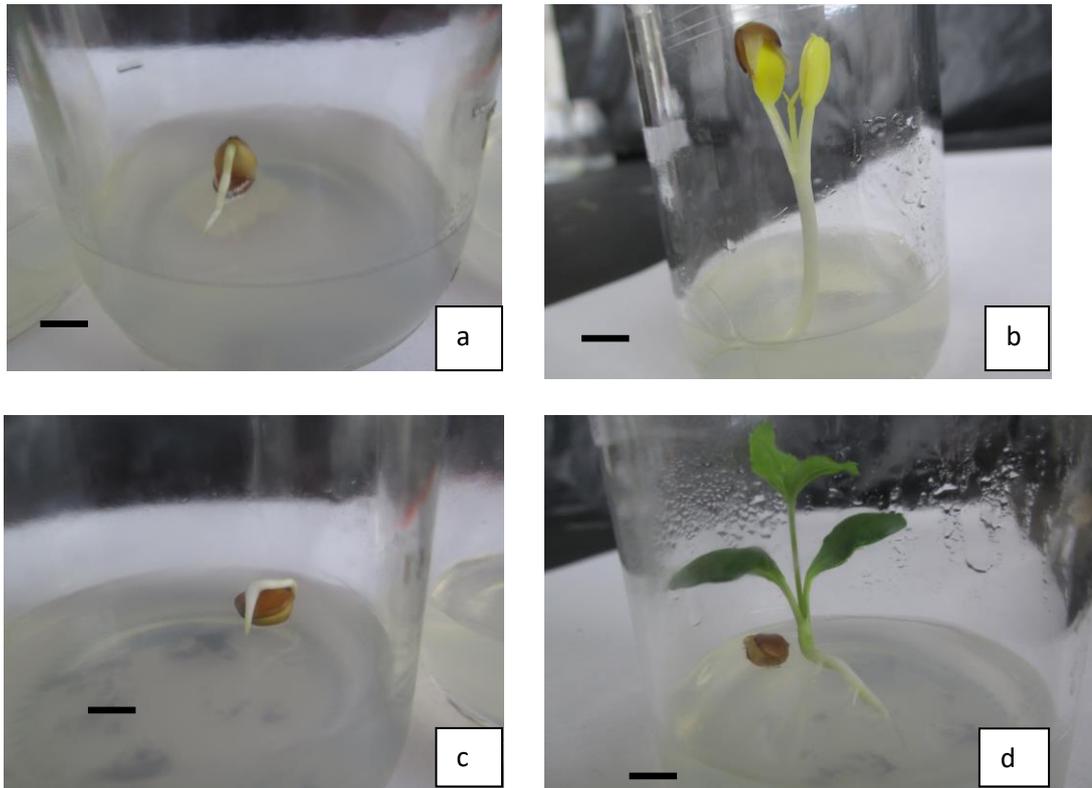
Pertumbuhan hipokotil diamati setiap 2 hari selama 12 hari. Pertumbuhan hipokotil mengalami penambahan panjang tiap periode pengukuran. Perkecambahan *in vitro* dan *ex vitro* mengalami peningkatan panjang hipokotil tertinggi pada 12 hst baik tanpa pencahayaan maupun dengan pencahayaan (Gambar 4.4).



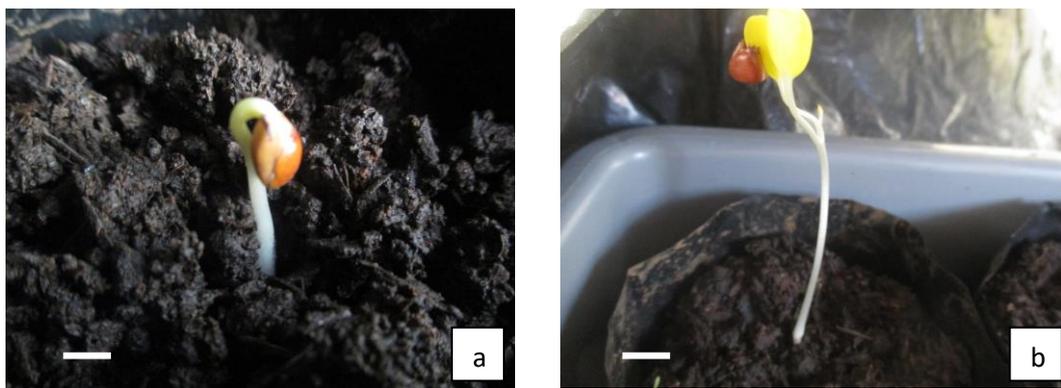
Gambar 4.4 Pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan bidara pada pengukuran hari ke 2,4,6,8,10, dan 12 hst dengan teknik *in vitro* dan *ex vitro* pada kondisi gelap dan terang

Panjang hipokotil kecambah *in vitro* gelap 4 hst berbeda dengan panjang hipokotil kecambah *in vitro* 12 hst. Hipokotil kecambah *in vitro* gelap 12 hst berwarna putih dan memiliki kotiledon berwarna kuning. Panjang hipokotil kecambah *in vitro* terang 4 hst berbeda dengan panjang hipokotil kecambah *in vitro* terang 12 hst (Gambar 4.5).

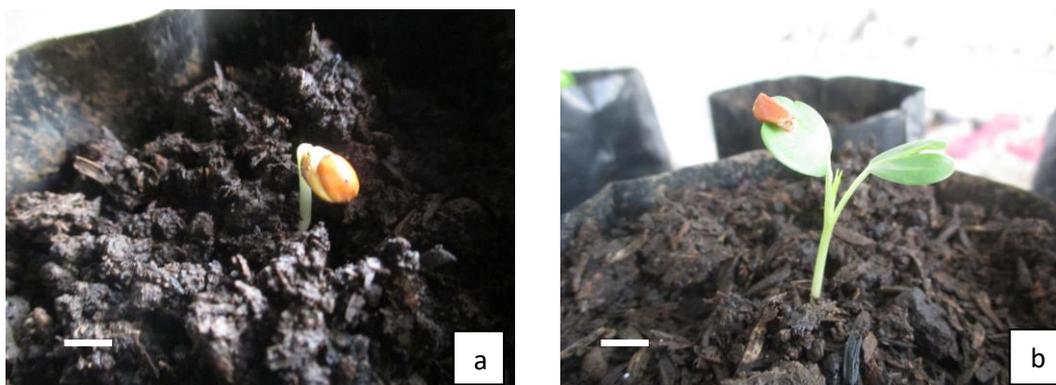
Panjang hipokotil kecambah *ex vitro* gelap 4 hst berbeda dengan panjang hipokotil 12 hst. Hipokotil kecambah *ex vitro* gelap 4 hst berwarna putih, berukuran besar, dan kotiledon masih menutup. Kecambah *ex vitro* 12 hst gelap memiliki hipokotil yang lebih panjang dari kecambah 4 hst, hipokotil berukuran kecil dengan kotiledon membuka berwarna kuning. Kecambah *ex vitro* terang 4 hst memiliki hipokotil berwarna putih dengan kotiledon masih menutup, sedangkan hipokotil kecambah *ex vitro* 12 hst terang berwarna putih kehijauan dengan kotiledon membuka berwarna hijau (Gambar 4.6 dan Gambar 4.7).



Gambar 4.5 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan *in vitro* (a) gelap 4 hst (b) gelap 12 hst (c) terang 4 hst (d) terang 12 hst. *Scale bar*: 1 cm.



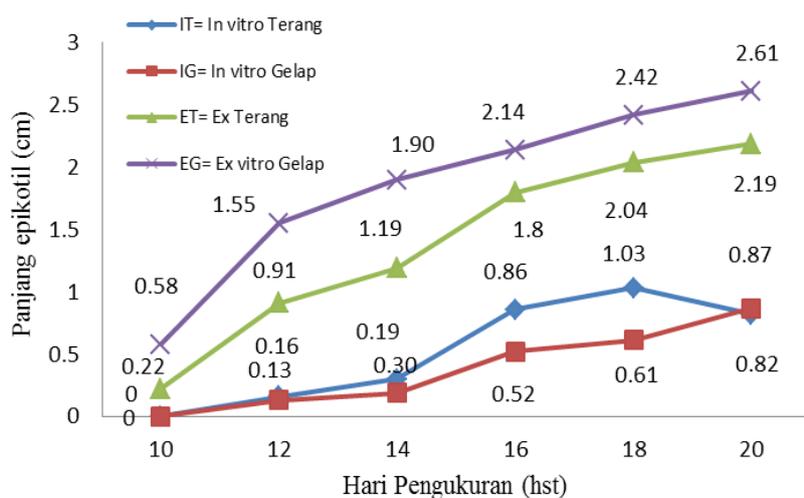
Gambar 4.6 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan *ex vitro* pada kondisi gelap (a) 4 hst, (b) 12 hst. *Scale bar* : 1 cm



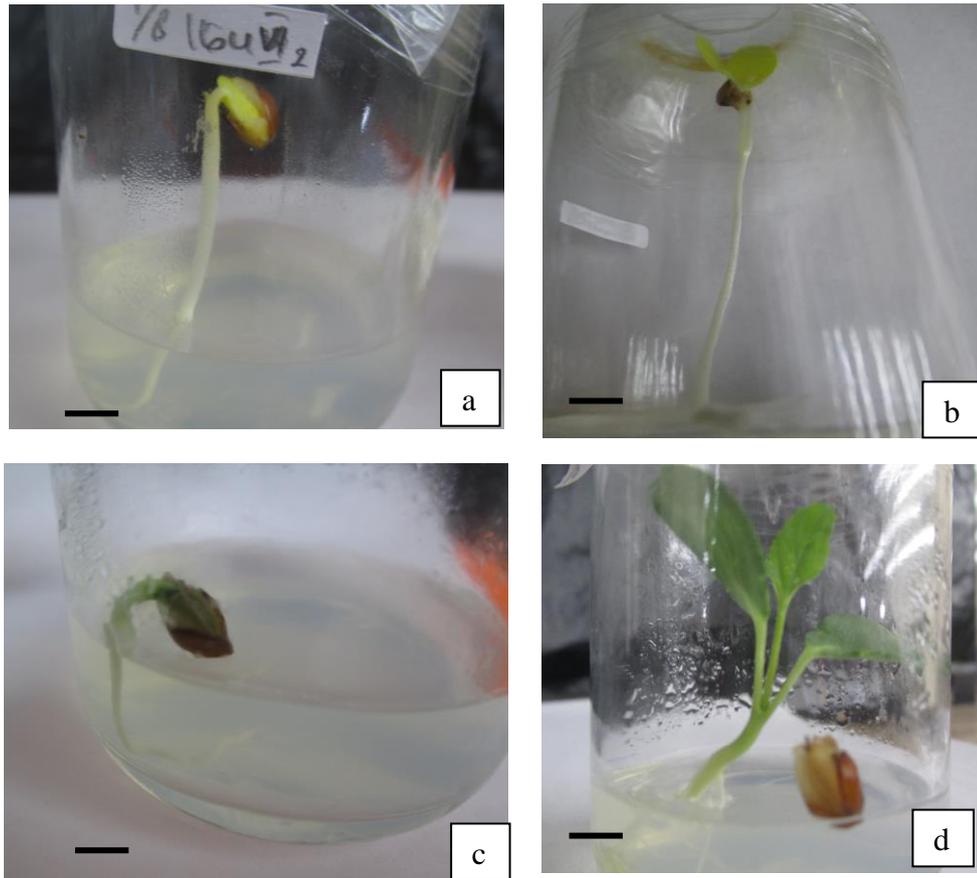
Gambar 4.7 Perbandingan pertumbuhan panjang hipokotil perkecambahan *ex vitro* pada kondisi terang (a) 4 hst, (b) 12 hst. *Scale bar*: 1 cm

4.1.4 Pertumbuhan Epikotil Ruas Pertama

Pertumbuhan epikotil diamati setiap 2 hari sekali selama 10 hari. Epikotil mengalami penambahan panjang tiap pengukuran. Perkecambahan *in vitro* dan *ex vitro* mengalami peningkatan panjang epikotil tertinggi pada 16 hst pengukuran baik tanpa pencahayaan (gelap) maupun dengan pencahayaan (terang). Pada 12 hst, kecambah *in vitro* gelap belum memunculkan epikotil, kotiledon masih menutup dan berwarna kuning. Pada hari 18 hst, epikotil sudah terlihat sekitar 0,87 cm. Dibanding kecambah *in vitro* gelap, epikotil kecambah *in vitro* terang pada hari ke 12 hst belum terlihat, kotiledon masih menutup dan berwarna hijau. Pada hari 18 hst epikotil sudah terlihat 0,82 cm (Gambar 4.8 dan Gambar 4.9).



Gambar 4.8 Pertumbuhan panjang epikotil ruas pertama perkecambahan bidara pada pengukuran 10,12,14,16,18, dan 20 hst



Gambar 4.9 Perbandingan panjang epikotil perkecambahan *in vitro* (a) gelap 12 hst (b) gelap 18 hst (c) terang 12 hst (d) terang 18 hst. *Scale bar*: 1 cm

Epikotil 12 hst kecambah *ex vitro* gelap sudah terlihat adanya plumula, kotiledon berwarna kuning dan panjang epikotil yaitu 1,55 cm. Pada hari ke 18 hst panjang epikotil menjadi 2,42 cm. Kecambah *ex vitro* terang 12 hst memiliki kotiledon membuka, berwarna hijau, dan panjang epikotil yaitu 0,91 cm. Epikotil mengalami pertumbuhan panjang pada hari 18 hst pengukuran bertambah panjang menjadi 2,04 cm (Gambar 4.10).



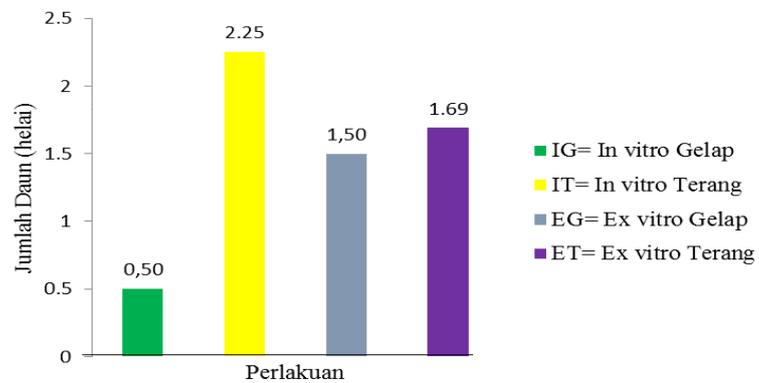
Gambar 4.10 Perbandingan panjang epikotil kecambah *ex vitro* dengan (a) terang 12 hst (b) terang 18 hst (c) gelap 12 hst dan (d) gelap 18 hst. *Scale bar*: 1 cm

4.1.5 Jumlah daun

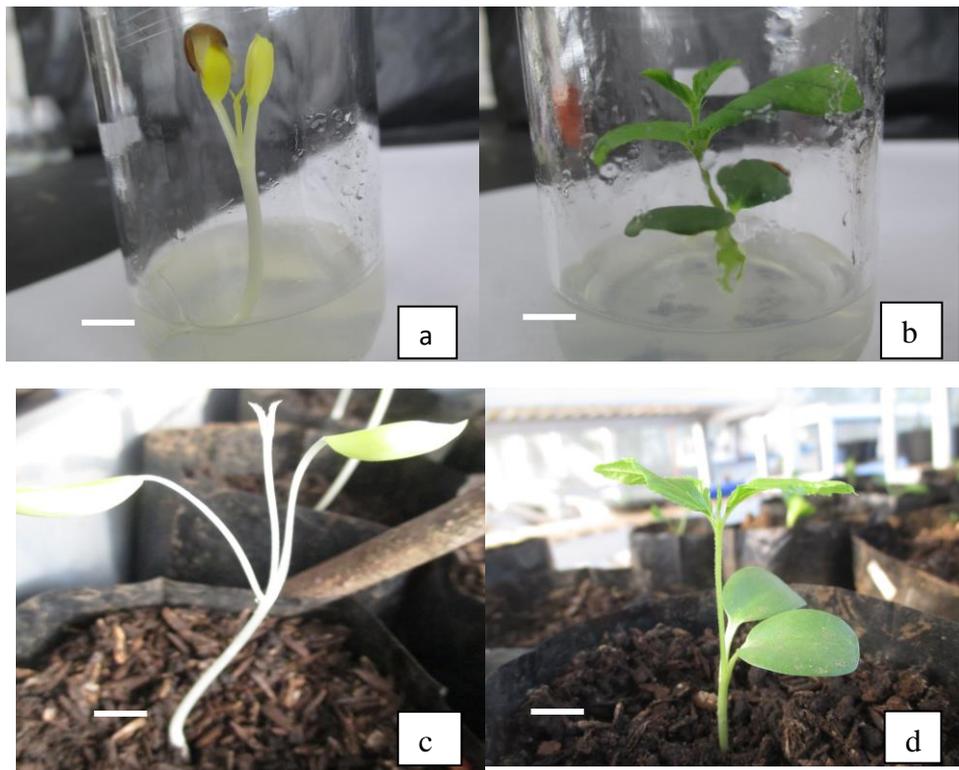
Jumlah daun kecambah bidara yang dikecambahkan secara *in vitro* dan *ex vitro* dengan pencahayaan dan tanpa pencahayaan diamati pada hari ke 20 hst. Rerata jumlah daun kecambah *in vitro* dengan pencahayaan (terang) sebanyak 2,25 helai lebih banyak dari pada daun kecambah bidara tanpa pencahayaan (Gambar 4.11). Daun kecambah *in vitro* gelap berwarna kuning, berukuran kecil, dan baru muncul dua helai setelah 20 hst, sedangkan daun kecambah *in vitro* terang berukuran lebih lebar dan berwarna hijau (Gambar 4.12)

Pada perkecambahan menggunakan teknik *ex vitro* jumlah daun kecambah bidara pada 20 hst rata-rata sebanyak 1,69 helai lebih banyak dibanding jumlah daun kecambah tanpa pencahayaan yaitu 1,50 helai. Daun kecambah *ex vitro* terang berwarna hijau, berukuran besar serta muncul beberapa helai pada 20 hst.

Daun kecambah *ex vitro* gelap berwarna kuning, berukuran kecil, dan hanya muncul dua helai pada 20 hst (Gambar 4.11 dan Gambar 4.12).



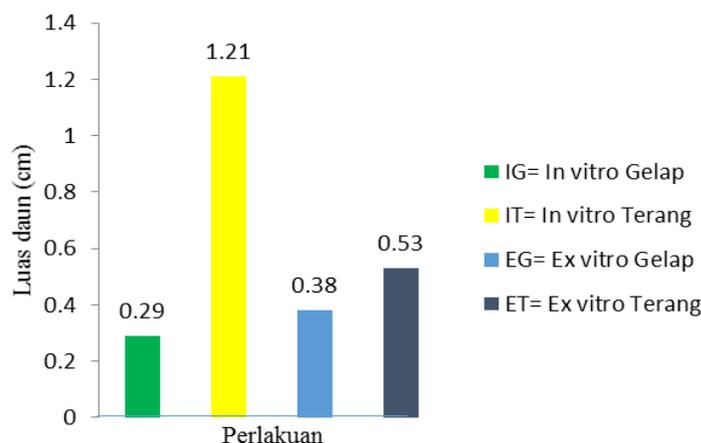
Gambar 4.11 Jumlah daun perkecambahan bidara *in vitro* dan *ex vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst



Gambar 4.12 Daun kecambah bidara (a) kecambah bidara *in vitro* gelap (b) kecambah bidara *in vitro* terang (c) kecambah bidara *ex vitro* gelap (d) kecambah bidara *ex vitro* terang. Scale bar: 1 cm

4.1.6 Luas Daun

Luas daun kecambah *in vitro* dan *ex vitro* diamati pada 20 hst. Rerata luas daun kecambah *in vitro* terang 1,21 cm lebih luas daripada daun kecambah *in vitro* gelap. Pada perkecambahan dengan teknik *ex vitro* luas daun kecambah bidara terang 0.53 cm lebih luas daripada luas daun kecambah *ex vitro* gelap (Gambar 4.13). Daun kecambah *ex vitro* gelap terlihat berukuran kecil, pucat, dan berwarna kuning, berbeda dengan daun kecambah *ex vitro* terang (Gambar 4.12).

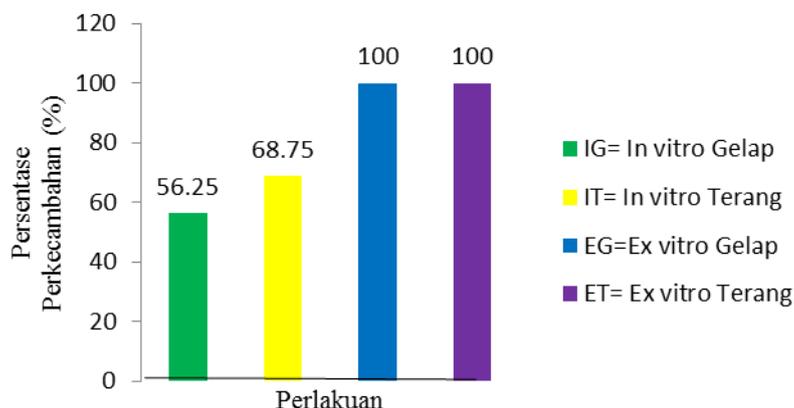


Gambar 4.13 Luas daun kecambah bidara *in vitro* dan *ex vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) pada 20 hst

4.1.7 Persentase Perkecambahan

Persentase perkecambahan bidara secara *in vitro* dan *ex vitro* adalah rasio jumlah biji berkecambah dengan jumlah biji yang dikecambahkan, dinyatakan dalam persen. Persentase perkecambahan *in vitro* dengan pencahayaan lebih tinggi sebanyak 68, 75% dibanding perkecambahan *in vitro* tanpa pencahayaan dengan persentase 56, 25% (Gambar 4. 14).

Hasil perhitungan persentase perkecambahan bidara *ex vitro* menunjukkan bahwa biji yang dikecambahkan secara *ex vitro* 100% berkecambah. Namun demikian tidak semua kecambah tersebut tumbuh dan berkembang menjadi kecambah normal (Gambar 4.14).



Gambar 4.14 Persentase perkecambahan bidara *in vitro* dan *ex vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang)

4.1.7 Kadar Klorofil Kecambah Bidara

Pengukuran kadar klorofil kecambah bidara dilakukan pada 20 hst, klorofil a, klorofil b, dan klorofil total. Kadar klorofil kecambah *in vitro* gelap lebih rendah daripada kecambah *in vitro* terang. Kadar klorofil kecambah *ex vitro* gelap juga lebih rendah daripada klorofil kecambah *ex vitro* terang. Pencahayaan menghasilkan kadar klorofil yang lebih tinggi daripada perkecambahan tanpa pencahayaan (gelap), baik pada perkecambahan *in vitro* maupun perkecambahan *ex vitro*.

Perbedaan kadar klorofil kecambah *in vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) serta kadar klorofil *ex vitro* tanpa pencahayaan (gelap) dan dengan pencahayaan (terang) dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rerata kadar klorofil kecambah bidara *in vitro* dan *ex vitro* pada kondisi gelap dan terang

Jenis Klorofil	Rerata Kadar Klorofil (mg/g)			
	IG	IT	EG	ET
Klorofil A	0.79083	6.8344	0.19097	11.3793
Klorofil B	1.69897	3.3036	0.25367	4.12607
Klorofil Total	2.49577	10.1885	0.44607	15.5893

Hasil penelitian pada parameter kecepatan perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, jumlah daun, luas daun, persentase perkecambahan, dan kadar klorofil selanjutnya dianalisis statistik. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, data yang diperoleh ada yang berdistribusi normal dan homogen, namun ada yang tidak berdistribusi normal dan homogen.

Data kecepatan perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, jumlah daun, luas daun, dan persentase perkecambahan tidak berdistribusi normal dan homogen, sehingga dianalisis menggunakan Uji *Mann-Whitney*. Data kadar klorofil berdistribusi normal dan homogen, sehingga dianalisis menggunakan *Paired Sample T-test*. Masing-masing parameter diuji dengan taraf signifikansi 0,05 untuk mengetahui perbedaan signifikan antar perlakuan.

Tabel 4.2 Hasil uji Mann-Whitney dan *Paired Sample T-test* pada parameter kecepatan perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, jumlah daun, luas daun, persentase perkecambahan, dan kadar klorofil kecambah bidara *in vitro* dan *ex vitro* pada kondisi terang dan gelap

Parameter	Nilai Asymp. Sig (2-tailed)			
	Mann-Whitney		Paired Sample T-test	
	<i>In vitro</i>	<i>Ex vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>Ex vitro</i>
Kecepatan perkecambahan	.360 ^m	.003*	-	-
Panjang ibu akar	.640 ^m	.157 ^m	-	-
Panjang hipokotil	.473 ^m	.000**	-	-
Panjang epikotil	.792 ^m	.282 ^m	-	-
Jumlah daun	.001**	.633 ^m	-	-
Luas daun	.000**	.046*	-	-
Persentase perkecambahan	.472 ^m	1 ^{tn}	-	-
Kadar klorofil	-	-	.001**	.003*

Keterangan: tn = tidak signifikan
 * = signifikan
 ** = sangat signifikan

Hasil analisis menunjukkan bahwa pencahayaan pada biji yang ditanam secara *in vitro* tidak berpengaruh signifikan terhadap kecepatan perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, dan persentase perkecambahan. Hasil analisis dikatakan signifikan jika nilai *Asymp. Sig (2-tailed)* <0.05. Perkecambahan biji bidara secara *in vitro* dengan perlakuan pencahayaan berpengaruh sangat signifikan terhadap jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil kecambah bidara dengan nilai *Asymp. Sig (2-tailed)* berturut-turut 0.001, 0.000, dan 0.001 atau <0.05.

Hasil analisis menunjukkan bahwa pencahayaan pada biji yang ditanam secara *ex vitro* tidak berpengaruh signifikan terhadap panjang ibu akar, panjang epikotil, jumlah daun, dan persentase perkecambahan dengan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* <0.05. Pada parameter kecepatan perkecambahan, perlakuan pencahayaan

pada biji yang ditanam secara *ex vitro* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kecepatan perkecambahan, luas daun, dan kadar klorofil dengan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* <0.05. Perlakuan pencahayaan pada parameter panjang hipokotil memberikan pengaruh yang sangat signifikan dengan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* 0.000. Hasil *Paired Sample T-test* pada kadar klorofil menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan dengan nilai sig. 0.003 atau < 0.05. Hasil analisis *Mann-Whitney* dan *Paired Sample T-test* ditunjukkan Tabel 4.2.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Perkecambahan *In vitro*

Hasil analisis menunjukkan bahwa pencahayaan pada biji yang ditanam secara *in vitro* tidak berpengaruh signifikan terhadap kecepatan perkecambahan, panjang ibu akar, panjang hipokotil, panjang epikotil, dan persentase perkecambahan. Pada perkecambahan *in vitro* pencahayaan hanya berpengaruh signifikan terhadap jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil kecambah bidara. Perkecambahan baik dengan teknik *in vitro* dilakukan pada pencahayaan terus menerus begitupula pada kondisi gelap.

Proses awal terjadinya perkecambahan adalah imbibisi. Setelah terjadi imbibisi, embrio akan melepaskan giberelin. Aleuron merespon giberelin dengan mensintesis dan mensekresikan enzim amilase, lipase, dan protease. Enzim-enzim tersebut menghidrolisis nutrisi yang tersimpan dalam endosperma, selanjutnya terjadi transport materi dan asimilasi (Campbell *et al.* 2012).

Pencahayaan tidak berpengaruh signifikan terhadap kecepatan perkecambahan *in vitro*. Hal ini berarti pencahayaan memberikan efek yang sama pada masing-masing perlakuan. Cahaya merupakan salah satu faktor luar yang berpengaruh terhadap perkecambahan biji. Cahaya diperlukan untuk mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pigmen yang memegang peranan penting dalam perkecambahan biji adalah fitokrom. Fitokrom adalah fotoreseptor yang bertanggungjawab terhadap efek-efek yang berlawanan dari cahaya merah dan merah jauh. Suatu fitokrom memiliki sub unit yang identik, masing-masing terdiri dari sebuah komponen polipeptida yang berikatan secara

kovalen dengan sebuah komponen nonpolipeptida kromofor, bagian subunit yang menyerap cahaya (Campbell *et al.* 2012).

Biji bidara merupakan jenis biji *negatively photoblastic* (fotoblastik negatif) yang perkecambahannya dihambat oleh cahaya. Pada kondisi gelap biji *in vitro* lebih cepat berkecambah, sedangkan pada kondisi terang perkecambahannya lebih lambat, namun perbedaannya tidak signifikan. Pada biji yang *positively photoblastic*, ketika biji terkena sinar merah (red; 650 nm), maka pigmen P650 diubah menjadi P730 nm. P730 inilah yang menghasilkan sederetan aksi aksi yang menyebabkan biji berkecambah. Berbeda dengan biji *positively photoblastic*, biji *negatively photoblastic* perkecambahannya tidak dipengaruhi oleh cahaya (Elisa 2006). Biji yang bersifat *negatively photoblastic* (fotoblastik positif) tidak sensitif terhadap cahaya karena dalam beberapa hal tingkat fitokrom dalam bentuk absorpsi sudah cukup membentuk kompleks fitokrom absorpsi sehingga biji dapat berkecambah (Liat 2016).

Tidak adanya pengaruh pencahayaan terhadap kecepatan perkecambahan dapat dipengaruhi oleh lingkungan *in vitro* yang terkondisikan pencahayaan, suhu, dan kelembabannya. Intensitas cahaya lingkungan *in vitro* rentang 1000-2000 lux. Intensitas cahaya yang tidak terlalu tinggi pada biji bidara menjadikan kecepatan perkecambahannya tidak berbeda signifikan dengan biji yang dikecambahkan pada kondisi gelap.

Selain pencahayaan, kecepatan perkecambahan juga dipengaruhi suhu lingkungan. Intensitas cahaya dapat mempengaruhi suhu lingkungan. Suhu lingkungan *in vitro* lebih rendah daripada suhu lingkungan *ex vitro*. Suhu lingkungan berpengaruh terhadap perkecambahan dan pertumbuhan melalui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim. Enzim berperan sebagai biokatalisator dalam semua reaksi kimia yang terjadi di dalam sel, antara lain fotosintesis, respirasi dan sintesis protein. Enzim aktif pada rentang temperatur tertentu, yaitu antara temperatur minimum hingga maksimum. Sampai titik maksimum, semakin tinggi temperatur, semakin tinggi pula aktivitas enzim. Pada temperatur di atas titik maksimum enzim akan rusak karena protein penyusunnya mengalami denaturasi, sebaliknya pada temperatur terlalu rendah hingga titik minimum,

aktivitas enzim akan menurun sehingga metabolisme berjalan lambat (Taiz & Zeiger 2010).

Rusmin *et al.* 2014 menyatakan terdapat tiga proses fisiologi biji yang dipengaruhi oleh suhu. Pertama, suhu bersama dengan kadar air dapat menentukan laju kemunduran perkecambahan biji, kedua menentukan laju pelepasan dormansi pada benih kering dan perubahan pola dormansi pada biji basah, dan ketiga menentukan laju perkecambahan untuk biji nondorman.

Suhu rendah rentang 16-25°C yang stabil pada perkecambahan *in vitro* mengakibatkan aktivitas enzim di dalam sel berjalan lambat. Akibatnya kecepatan perkecambahan biji bidara lebih lambat. Hal ini menyebabkan perlakuan pencahayaan gelap dan terang tidak berpengaruh signifikan pada kecepatan perkecambahan biji secara *in vitro*.

Pencahayaan pada teknik *in vitro* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap panjang ibu akar kecambah bidara. Tidak adanya pengaruh yang signifikan tersebut berarti bahwa perlakuan pada masing-masing teknik perkecambahan mampu memberikan pengaruh yang sama dalam mendorong pertumbuhan ibu akar perkecambahan bidara. Cahaya berperan penting dalam proses fisiologi tanaman, terutama fotosintesis, respirasi, dan transpirasi (Khusni 2018). Fotosintesis sebagai sumber energi bagi reaksi cahaya dan fotolisis air menghasilkan ATP dan NADPH₂. Intensitas cahaya yang tinggi menyebabkan laju fotosintesis tanaman maksimum. Cahaya mempengaruhi laju transpirasi tanaman. Intensitas cahaya yang meningkat menyebabkan transpirasinya juga meningkat karena banyak stomata yang terbuka. Peningkatan intensitas cahaya menyebabkan peningkatan laju respirasi. Sinar akan mempercepat proses fotosintesis dan menambah substrat, sedangkan penambahan substrat akan mempercepat proses laju respirasi (David & Annes 2013). Selain itu Akmalia & Akmalia & Suharyanto (2017) juga menyampaikan laju pemanjangan akar pada *Acer saccharum* menurun seiring dengan penurunan intensitas cahaya karena kurangnya karbohidrat yang dapat digunakan untuk pertumbuhan akar.

Selain faktor intensitas cahaya, hal ini dapat disebabkan oleh media perkecambahan. Salah satu faktor yang mempengaruhi perkecambahan adalah media tanam dan suhu inkubasi (Cordoso *et al.* 2015). Kemampuan membentuk

akar dan melakukan fotosintesis biasanya dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia substrat atau bahan pengisi medium (Zobayed *et al.* 2000). Menurut Newel *et al.* (2003), medium berpori meningkatkan konsentrasi oksigen di sekitar sistem perakaran. Hal ini meningkatkan penyerapan air dan nutrisi sehingga memperbaiki perkembangan dan anatomi akar. Oleh karena itu substrat dengan porositas udara yang baik mendorong pertumbuhan akar.

Media agar yang digunakan dalam perkecambahan *in vitro* mudah ditembus akar, hal ini dapat menjadi salah satu faktor banyaknya rambut halus yang muncul pada ibu akar. Banyaknya pertumbuhan rambut akar mempengaruhi pemanjangan ibu akar kecambah *in vitro*.

Perlakuan pencahayaan pada perkecambahan *in vitro* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap panjang hipokotil dan epikotil kecambah bidara. Hal ini disebabkan oleh intensitas cahaya yang rendah pada lingkungan *in vitro*. Pada hal ini cahaya yang diberikan belum mampu memacu rusaknya hormon auksin, sehingga pertumbuhan hipokotil dan epikotil tidak berbeda signifikan dengan hipokotil dan epikotil kecambah pada kondisi gelap.

Pengaruh cahaya pada panjang hipokotil dan epikotil berhubungan erat dengan efek fotomorfogenesis dan skotomorfogenesis. Cahaya selain berperan dominan pada proses fotosintesis juga sebagai pengendali, pemicu dan modulator respon morfogenesis khususnya pada tahap awal pertumbuhan tanaman (Kisman 2008).

Pada parameter jumlah daun dan luas daun kecambah bidara, pencahayaan memberikan pengaruh yang signifikan pada perkecambahan *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan intensitas cahaya yang diberikan pada perkecambahan *in vitro* mampu memicu munculnya daun lebih banyak daripada kondisi gelap. Pada parameter luas daun, pencahayaan terang menghasilkan luas daun yang lebih luas daripada kondisi gelap. Pada kondisi ini, intensitas cahaya 1000-2000 lux sudah mampu memacu pertumbuhan daun kecambah bidara dan memberikan hasil yang sangat signifikan dibanding jumlah dan luas daun pada kondisi gelap.

Intensitas cahaya merupakan komponen penting bagi pertumbuhan kecambah bidara, karena dapat mempengaruhi proses fotosintesis. Hasil fotosintesis berpengaruh terhadap pertumbuhan daun yang diamati. Peningkatan

intensitas cahaya matahari merupakan sumber energi utama untuk melakukan proses fotosintesis. Hasil fotosintesis akan ditranslokasikan ke seluruh jaringan tanaman melalui floem, selanjutnya energi hasil fotosintesis tersebut akan digunakan tanaman untuk mengaktifkan pertumbuhan tunas, daun, dan batang sehingga tanaman tumbuh optimal (Suci & Heddy 2018). Khusni (2018) menyatakan bahwa kondisi daun dalam kondisi gelap akan mengalami penuaan yang lebih cepat, akibatnya daun tidak menyumbang fotosintat bersih, sehingga laju pertumbuhan vegetatif terhambat, serta jumlah dan luas daun pada tanaman menjadi berkurang.

Intensitas cahaya dapat mempengaruhi perkembangan daun. Daun berasal dari perkembangan primordia daun pada jaringan meristem. Primordia daun berkembang dari sekelompok sel pada lapisan meristem. Tahap perkembangan daun meliputi tahap organogenesis, perkembangan sub organ, dan diferensiasi sel. Ketika meristem pucuk aktif membelah akan menghasilkan primordia daun dengan cepat sehingga nodus dan internodus pada awalnya tidak dapat dibedakan. Secara bertahap pertumbuhan terjadi pada nodus dan internodus. Semakin banyak nodus yang terbentuk semakin banyak daun akibat pembelahan sel pada meristem pucuk. Inisiasi daun pada kebanyakan angiosperma adalah dengan adanya pembelahan secara periklinal dibawah protoderm di daerah perifer apeks pucuk. Kombinasi pembesaran dan pembelahan sel menghasilkan formasi menjadi sebuah tonjolan, atau pembentukan penopang daun di bawah primordium daun muda (Taiz & Zieger 2010).

Pada tumbuhan dikotil, primordium daun segera mengembangkan aktivitas daerah meristem lokal (meristem marginal) pada sisi yang berlawanan dari porosnya. Daerah-daerah ini akan memulai pembentukan helai daun. Hasil dari aktivitas meristem marginal sejumlah lapisan sel mesofil terbentuk pada awal perkembangan daun, walaupun jumlah lapisan dapat meningkat selama perkembangan selanjutnya. Perbedaan tingkat pembelahan sel dan pembesaran sel pada berbagai lapisan daun menghasilkan pembentukan berbagai ruang interseluler dan menghasilkan karakteristik bentuk mesofil daun (Raven *et al.* 2012).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Widiastuti *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa penurunan intensitas cahaya dari 75% menjadi 55% mengakibatkan penurunan jumlah daun pada tanaman krisan. Kondisi ini menunjukkan bahwa kecambah bidara membutuhkan cahaya optimal untuk mendukung pertumbuhannya. Hal ini diperkuat oleh pendapat Buntoro *et al.* (2014) bahwa perbedaan perlakuan intensitas cahaya dapat berpengaruh pada jumlah daun, luas daun, dan jumlah anakan.

Hasil analisis *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa pencahayaan tidak berpengaruh signifikan terhadap persentase perkecambahan bidara *in vitro*. Namun demikian ada perbedaan persentase perkecambahan teknik *in vitro* dan *ex vitro*. Cahaya sebagai faktor eksternal seharusnya mampu memberikan pengaruh terhadap persentase perkecambahan. Namun Menurut Solikin (2014) nilai persentase perkecambahan dapat disebabkan oleh faktor dalam biji yang secara fisiologis membutuhkan penyimpanan kering selama beberapa waktu walaupun sebenarnya biji saat dipanen sudah tua.

Persentase perkecambahan *in vitro* pada kondisi terang lebih tinggi yaitu 68,75% dibanding perkecambahan *in vitro* gelap dengan persentase 56,25%. Persentase yang rendah pada perkecambahan *in vitro* terjadi karena intensitas cahaya kondisi lingkungan *in vitro* lebih rendah, serta media yang digunakan berupa agar sehingga lebih lembab. Kondisi media yang lembab dapat mengakibatkan biji rusak dan busuk sehingga biji tersebut tidak dapat berkecambah. Selain itu, kondisi pada teknik *in vitro* tidak seperti kondisi alamiah yang dibutuhkan biji bidara untuk berkecambah. Biji bidara dapat tumbuh pada suhu 25-35°C. Sedangkan pada teknik *in vitro* suhunya dibawah 25°C. Hal ini dikuatkan oleh penelitian Habibah (2014) bahwa persentase perkecambahan *in vitro* dipengaruhi oleh kelembaban media dan suhu lingkungan *in vitro* yang rendah.

Selain faktor kelembaban dan suhu, persentase perkecambahan *in vitro* yang rendah dapat disebabkan oleh sterilan. Sterilan digunakan sebelum biji diimbibisi. Residu sterilan yang masih menempel pada biji dapat ikut masuk ke dalam biji saat imbibisi, sehingga mengganggu proses metabolisme dalam biji. Metabolisme yang terganggu mengakibatkan biji gagal berkecambah. Hal ini

sejalan dengan pendapat Putri *et al.* (2017) bahwa senyawa sterilan ada yang bersifat fitotoksik sehingga meracuni jaringan tanaman. Selain itu penggunaan *Clorox* pada penelitian Sulistiyo *et al.* (2018) menunjukkan masih adanya kontaminan sehingga eksplan terkontaminasi. Penelitian ini juga menggunakan *clorox* sebagai salah satu bahan sterilan. Kontaminasi yang terjadi pada biji *in vitro* dapat dipastikan berasal dari bahan sterilan yang kurang optimal, sehingga biji yang sudah muncul ibu akar dan hipokotil tidak dapat menyerap hara dan biji tidak berkecambah karena terkontaminasi.

Hasil analisis *Paired Sample T-test* menunjukkan bahwa pencahayaan berpengaruh sangat signifikan terhadap kadar klorofil kecambah *in vitro*. Pada teknik *in vitro*, cahaya dikondisikan rentang 1000-2000 lux. Adanya pengaruh yang signifikan dapat diasumsikan bahwa intensitas cahaya 1000-2000 lux mampu memacu perkembangan proplastid menjadi klorolas. Pada kondisi gelap kecambah tidak mendapatkan cahaya sama sekali, sehingga tidak ada yang memacu perkembangan proplastid menjadi plastid.

Cahaya berperan penting pada reaksi pembentukan klorofil. Kecambah yang tumbuh pada tempat gelap sistem kerja enzim NADPH-*protoklorifillide* oksidoreduktase (POR) akan terganggu. POR adalah enzim yang sangat tergantung cahaya (*light dependent enzyme*) yang mereduksi *protoklorifillide* menjadi *klorifillide*, sehingga proses biosintesis klorofil (chl a/b) menjadi terganggu. Penambahan H⁺ pada *protochlorophyllide* menghasilkan *chlorophyllide* α kemudian menjadi klorofil a, proses ini sangat dipengaruhi oleh cahaya. Grand (1977) melaporkan bahwa tanaman yang tumbuh di tempat gelap tidak mengandung klorofil α.

Biosintesis klorofil dimulai dari ALA (*5-aminolevuliniuc acid*) yang merupakan prekursor klorofil yang diturunkan dari asam amino glutamat. Konversi ALA menjadi senyawa *Protochlorophyllide* (*Pchlide*) terjadi pada saat kondisi tanpa cahaya. Hal ini disebabkan karena enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan senyawa *pchlide* dari ALA aktif dalam gelap. Tahap selanjutnya adalah tahap dimana cahaya dibutuhkan untuk membentuk *Chlorophyllide* (*Chlide*) dari *pchlide*. Cahaya akan menyebabkan reduksi cincin ke-4 *tetrapirrol Pchlide* sehingga terbentuk senyawa *chlide*, serta menyebabkan

level mRNA yang mengkode enzim untuk pembentukan tetrapirol *chl*ide meningkat. *Chl*ide merupakan bentuk senyawa tidak aktif dari klorofil sehingga esterifikasi gugus *phytyl* dengan *chl*ide akan membentuk klorofil yang fungsional (Kisman 2008).

Hal tersebut dikuatkan oleh penelitian Chan *et al.* (2015) bahwa biji yang dikecambahkan pada kondisi terang memiliki klorofil yang lebih tinggi daripada biji yang dikecambahkan pada kondisi gelap. Penelitian Akmalia & Suharyanto (2017) juga membuktikan bahwa penurunan intensitas cahaya menyebabkan penurunan kadar klorofil karena cahaya berperan dalam biosintesis klorofil pada tahap pembentukan *chl*ide dari *pchl*ide.

4.2.2 Perkecambahan *Ex vitro*

Pada perkecambahan *ex vitro*, hasil analisis menunjukkan bahwa pencahayaan tidak berpengaruh signifikan terhadap panjang ibu akar, panjang epikotil, jumlah daun, dan persentase perkecambahan. Pada parameter kecepatan perkecambahan, luas daun, dan kadar klorofil perlakuan pencahayaan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kecepatan perkecambahan dan kadar klorofil, sedangkan perlakuan pencahayaan pada parameter panjang hipokotil memberikan pengaruh sangat signifikan.

Pencahayaan berpengaruh signifikan terhadap kecepatan perkecambahan. Biji bidara merupakan jenis biji *negatively photoblastic* yang perkecambahannya dihambat oleh cahaya. Biji yang bersifat *negatively photoblastic* tidak sensitif terhadap cahaya karena dalam beberapa hal tingkat fitokrom dalam bentuk absorpsi sudah cukup membentuk kompleks fitokrom absorpsi sehingga biji dapat berkecambah (Liat 2016).

Intensitas cahaya lingkungan *ex vitro* tidak dapat dikondisikan karena menggunakan sinar matahari. Intensitas cahaya rentang 3000-4000 lux merupakan intensitas yang cukup tinggi bagi perkecambahan biji. Intensitas yang tinggi menjadikan biji *negatively photoblastic* terhambat perkecambahannya, sehingga lebih lambat dibanding perkecambahan pada kondisi gelap. Hal ini dikuatkan oleh penelitian Washa (2015) yang membuktikan bahwa intensitas cahaya gelap berpengaruh terhadap perkecambahan biji yang bersifat *negatively photoblastic*. Penelitian Socolowski *et al.* (2010) pada biji *Cereus pernamucensis* yang

bersifat *positively photoblastic*, kondisi gelap justru mengakibatkan biji tidak berkecambah.

Selain intensitas cahaya, kecepatan perkecambahan juga dipengaruhi oleh suhu lingkungan *ex vitro*. Suhu lingkungan 25-35°C merupakan suhu yang optimal bagi perkecambahan biji. Hal ini sejalan dengan penelitian Cordoso *et al.* (2015) biji *Plukenetia volubilis* L. yang dikecambahkan pada suhu 25°C dan 30°C lebih cepat berkecambah dan seragam.

Pencahayaan pada teknik *ex vitro* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap panjang ibu akar kecambah bidara. Hal ini dapat disebabkan karena intensitas cahaya yang diterima belum mampu memberikan peran yang optimal dalam mendukung fotosintesis. Selain itu dapat disebabkan karena pertumbuhan akar masih memanfaatkan cadangan makanan dalam kotiledon, baik kecambah yg ditumbuhkan pada kondisi terang maupun gelap.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perkecambahan *ex vitro* memiliki ibu akar yang lebih panjang dibanding perkecambahan *in vitro*. Dibanding ibu akar kecambah *in vitro*, ibu akar kecambah *ex vitro* memiliki rambut rambut halus sedikit, sehingga asimilat digunakan untuk pemanjangan ibu akar, akibatnya ibu akar kecambah *ex vitro* lebih panjang dari ibu akar kecambah *in vitro*.

Pencahayaan pada lingkungan *ex vitro* memberikan pengaruh yang sangat signifikan pada panjang hipokotil, sedangkan pada panjang epikotil tidak terjadi perbedaan yang signifikan. Hipokotil kecambah *ex vitro* terang mengalami morfogenesis. Hipokotil tampak pendek, berwarna hijau, dan terlihat segar. Hal ini dikuatkan oleh pendapat Kisman (2008) bahwa morfogenesis (deetiolated) merupakan pola perkembangan awal tanaman yang selama perkecambahan mendapatkan cahaya penuh terus menerus (*in light-grown*). Pola perkembangan ini dicirikan memiliki hipokotil yang pendek, tingkat fotosintesis yang tinggi, tidak mempunyai *apical hook*, kedua kotiledon membuka dan berkembang dengan baik, serta kandungan klorofil yang tinggi.

Kondisi gelap mengakibatkan kecambah mengalami etiolasi (skotomorfogenesis), sedangkan kecambah pada kondisi terang mengalami morfogenesis. Etiolasi menyebabkan pertumbuhan hipokotil sangat cepat dan

tidak terkendali. Pada kondisi terang, hormon auksin mengalami kerusakan karena paparan cahaya, akibatnya pertumbuhan hipokotil menjadi lambat.

Hipokotil kecambah *in vitro* gelap mengalami skotomorfogenesis (etiolasi). Pola skotomorfogenesis (etiolasi) merupakan pola perkembangan awal tanaman tanpa cahaya (*in-dark grown*) secara terus menerus selama perkecambahan dengan ciri-ciri tingkat fotosintesis yang rendah, kandungan klorofil rendah, hipokotil tumbuh memanjang, berwarna kuning, posisi kotiledon merunduk, kotiledon tertutup, dan perkembangan daun yang tertekan (Kisman 2008). Khusni (2018) menyatakan bahwa tanaman yang terkena naungan atau dalam kondisi gelap akan mengalami pemanjangan terutama sel-sel pada batang.

Penambahan tinggi hipokotil disebabkan oleh kegiatan pembelahan sel yang terjadi pada meristem apikal. Berdasarkan teori meristem yang dikembangkan oleh Schmith, yang dikenal dengan teori tunika-korpusnya, pada meristem apikal terdapat dua lapisan meristem yaitu lapisan tunika yang terdiri beberapa lapis sel dan terletak pada bagian tepi dari meristem apikal dan beberapa jenis sel yang berada di sebelah dalamnya yang disebut dengan korpus.

Pembelahan pertama terjadi pada daerah tunika dan beberapa lapis daerah korpus. Pada daerah tersebut sel-selnya membelah secara periklinal, sehingga akan menghasilkan masa sel yang menonjol ke arah luar. Ketika meristem aktif membelah, meristem apikal tunas menghasilkan primordia daun dengan cepat sehingga nodus dan internodus pada awalnya tidak dapat dibedakan. Secara bertahap pertumbuhan mulai terjadi pada nodus dan internodus. Nodus berfungsi sebagai tempat melekatnya daun pada batang. Sedangkan internodus berperan pada penambahan panjang batang. Sebagian besar pemanjangan batang dikotil terjadi melalui pemanjangan internodus. Internodus akan terus menerus memanjang disepanjang batang selama periode pemanjangan. Hal tersebut karena adanya daerah meristem yang disebut meristem interkalar di dasar tiap-tiap internodusnya (Raven *et al.* 2012).

Tanaman dalam kondisi gelap, daun atau kotiledonnya mengakumulasi *pchlide* dalam jumlah sedikit. Hal ini mengindikasikan bahwa seluruh enzim dalam proses biokimia bekerja secara aktif sehingga klorofil yang terbentuk juga sedikit dan kecambah tidak tampak hijau (Kisman 2008). Setelah kurang lebih 6

hari (untuk monokotiledon) atau 10 hari (untuk dikotiledon) pada kondisi gelap, terjadi penurunan akumulasi *pchl*id. Penurunan ini diduga akibat dari penghambatan balik dari sintesis asam δ -amino-laevulinat (δ -ALA) oleh *pchl*id.

Adanya efek morfogenesis dan skotomorfogenesis juga dibuktikan oleh penelitian Suci & Heddy (2018) yang menyampaikan bahwa pertumbuhan hipokotil *Arabidopsis thaliana* berhubungan erat dengan jumlah intensitas cahaya yang diterima. Efek-efek tersebut mempengaruhi pertumbuhan kecambah khususnya hipokotil, epikotil, dan warna kecambah.

Pada parameter panjang epikotil, pencahayaan tidak berpengaruh signifikan. Hal ini dapat diakibatkan karena pembagian asimilat hasil fotosintesis. Pada kondisi terang, asimilat ditranslokasikan menuju daun dan pertumbuhan batang, sedangkan pada kondisi gelap asimilat digunakan untuk perpanjangan hipokotil yang tidak terkendali. Perbedaan tempat translokasi asimilat tidak menjadi penyebab perbedaan yang signifikan pada panjang epikotil kecambah gelap dan terang.

Pencahayaan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah daun kecambah *ex vitro*. Hal ini tidak sejalan dengan teori yang sudah ada bahwa cahaya merupakan sumber energi utama dalam fotosintesis yang dapat mempengaruhi pertumbuhan daun. Cahaya yang diterima oleh tumbuhan akan digunakan untuk fotosintesis. Menurut Bamigboye & Kayoed (2016) suplai cahaya yang kurang cukup dapat menyebabkan penurunan yang signifikan pada area daun, tinggi kecambah, dan besarnya kecambah *Dioscoreophyllum cumminsii*. Namun dalam penelitian ini yang dimaksud kecambah adalah tumbuhan yang masih memiliki kotiledon sebagai cadangan makanan. Hal yang mungkin terjadi adalah kecambah masih sama-sama menggunakan cadangan makanan dalam kotiledon untuk pertumbuhan daun, sehingga cahaya tidak memberikan pengaruh yang signifikan.

Pada parameter luas daun, pencahayaan memberikan pengaruh yang signifikan. Hal ini terjadi karena daun kecambah pada kondisi gelap mengalami etiolasi. Daun yang mengalami etiolasi berwarna kuning dan berukuran kecil, sedangkan daun kecambah pada kondisi terang berwarna hijau, tampak segar dan berukuran besar. Hal tersebut menyebabkan luas daun kecambah terang lebih luas.

Hal ini sejalan dengan penelitian Suci dan Heddy (2018) yang menyampaikan bahwa tanaman membutuhkan cahaya optimal untuk memacu pertumbuhan.

Intensitas cahaya matahari yang diterima oleh kecambah digunakan untuk fotosintesis, fotosintat selanjutnya ditranspot ke organ-organ tumbuhan salah satunya daun. Intensitas cahaya lingkungan *ex vitro* yang diterima sudah mampu mencukupi kebutuhan fotosintesis kecambah *ex vitro*, sehingga memberikan pengaruh yang signifikan terhadap luas daun kecambah bidara. Daun merupakan komponen utama suatu tumbuhan dalam proses fotosintesis. Perlakuan suhu dan intensitas cahaya pada penelitian Pertamawati (2010) menunjukkan intensitas cahaya yang diberikan berpengaruh terhadap pertumbuhan daun, baik jumlah, luas area, maupun berat segarnya.

Pencahayaan tidak berpengaruh terhadap persentase perkecambahan. Hal ini dapat disebabkan oleh intensitas cahaya yang diberikan hanya mampu menghambat waktu perkecambahan, namun tidak menghambat persentase perkecambahan. Biji bidara merupakan biji *negatively photoblastic* yang perkecambahannya dihambat oleh cahaya. Pada kondisi gelap biji mampu berkecambah 100%, begitupula pada kondisi terang. Namun, pada kondisi terang perkecambahannya terhambat sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama.

Kadar klorofil kecambah *ex vitro* dipengaruhi oleh pencahayaan. Kecambah yang ditumbuhkan pada kondisi terang memiliki kadar klorofil yang lebih tinggi. Hal ini terjadi karena cahaya yang diterima mampu mengubah proplastida menjadi kloroplas. Penelitian Sayekti *et al.* 2017 menyimpulkan bahwa pemberian intensitas cahaya berbeda dapat mempengaruhi kadar klorofil. Kloroplas merupakan plastida yang mengandung pigmen hijau daun yang disebut klorofil, yang hanya terdapat dalam sel-sel tumbuhan. Klorofil dihasilkan dalam kloroplas pada jaringan fotosintesis daun. Prekursor dalam pembentukan senyawa pigmen klorofil adalah senyawa intermediet glutamat, yang mengalami deaminasi menghasilkan α -ketoglutarat, kemudian direduksi menjadi γ,δ -dioxovalerate dan mengalami transmisi asam δ amino-laevulinat (ALA), sintesis ini memerlukan ATP dan NADPH (Utami 2014).

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pencahayaan berpengaruh terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara. Pencahayaan berpengaruh terhadap jumlah daun, luas daun, dan kadar klorofil kecambah *in vitro*. Kondisi terang pada pertumbuhan kecambah *in vitro* mampu menghasilkan daun terbanyak dan daun terluas.

Pada perkecambahan dan pertumbuhan kecambah *ex vitro*, pencahayaan berpengaruh terhadap kecepatan perkecambahan, panjang hipokotil, luas daun dan kadar klorofil. Kondisi terang pada lingkungan *ex vitro* mampu menghasilkan kadar klorofil yang paling tinggi, sedangkan pada kondisi gelap mampu mendorong kecepatan perkecambahan lebih cepat dan menghasilkan hipokotil yang lebih tinggi.

Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang mampu mengoptimalkan perkecambahan dan pertumbuhan kecambah bidara adalah perlakuan *in vitro* dan *ex vitro* dengan pencahayaan terang.

5.2 Saran

Perkecambahan bidara baik *in vitro* maupun *ex vitro* sebaiknya dilakukan pada kondisi gelap. Setelah 5 hst atau sudah muncul radikula, dilanjutkan proses pertumbuhan kecambah pada kondisi terang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi. 2007. Light enhanced caffeic acid derivatives biosynthesis in hairy root cultures of *Echinacea purpurea*. *Springer Link* 26(8):1367-1372.
- Ail NS & Ballor M. 2010. Peranan air dalam perkecambahan biji. *Jurnal Ilmiah Sains*: 190-195.
- Akmalia HA & Suharyanto. 2017. Respon Fisiologis dan Produktivitas Jagung (*Zea mays* L.) 'Sweet Boy-02' pada perbedaan Intensitas Cahaya dan Penyiraman. *Jurnal Teknosains*. 6(2): 59-138.
- Avizeh R, Najafzadeh H, Pourmahdi M, & Mirzaee M. 2010. Effect of Glibenclamide and Fruit extract of *Zizyphus spina-christi* on Alloxan-induced Diabetic Dogs. *International Journal Applies Res. Vet. Med.* 8(2): 109-113.
- Bamigboye TO & Kayode J. 2016. Effect of Light Intensity on the Growth of *Dioscoreophyllum cumminsii*. *International Journal of biological papers* (1): 36-40.
- Buntoro BH, Rohlan G, & Sri T. 2014. Pengaruh Takaran Pupuk Kandang dan Intensitas Cahaya terhadap Pertumbuhan dan Hasil Temu Putih (*Curcuma zedoaria* L.) *Jurnal Vegetalika* 3(4): 29-39).
- Campbell, Neil A, Reece & Jane B. 2012. *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Cardoso AA, Amana MO, Eduardo EB, Cristiane JS, & Haroldo SR. 2015. Environmental Factors on Seed Germination, Seedling Survival and Initial Growth of Sacha Inchi *Plukenetia volubilis* L.). *Journal of Seed Science* 37(2): 111-116, 201.
- Chan AN, Shutu X, Dongwei G, Yaqin S, Yanan Li, Yajun Li, & Jiquan Xu. 2015. Dark Response of Seedlings Evaluated by Chlorophyll Concentration in Maize Natural Population. *American Journal of Plant Sciences* (6): 2209-2219.
- Donohue K, Heschel MS, Butler CM, Barua D, Sharrock RA, Whitelam GC, & Chiang GCK. 2007. Diversification of phytochrome contribution as a function of seed-maturation environment. *Journal Compilation New Phytologist* : 367-379.
- Fazal H, Shinwari ZK, Ahmad N & Abbasi BH. 2016. Factors influencing *in vitro* seed germination, morphogenetic potential and correlation of secondary metabolism with tissue development in *Prunella vulgaris*. *Pak. Journal Botani*. 48(1): 193-200.
- Goyal M, Nagori BP, & Sasmal D. 2012. Review on Ethnomedicinal Uses, Pharmacological Activity and Phytochemical Constituents of *Ziziphus mauritiana* (*Z. jujuba* Lam., non Mill). *Spatula DD* 2(2):107-116.

- Grygorieva O, Vlasta A, Margarita K, Roman B, & Jan B. 2014. Morphological characteristics of fruits, drupes, and seeds in genotypes of *Ziziphus jujube* Mill. *Potravinarstvo Scientific Journal for Food Industry* 8(1): 306-314.
- Habibah NA. 2014. Efektivitas Skarifikasi dan Suhu Perendaman terhadap Perkecambahan Biji Kepel [*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. F & Thompson] secara *In vitro* dan *Ex vitro*. *Jurnal MIPA* 37(2): 105-114.
- Harahap, Fauziah. 2012. *FISIOLOGI TUMBUHAN: SUATU PENGANTAR*. Medan: Unimed Press.
- Hasan NM, Al Sorkhy MA, & Al Battah FF. 2014. *Ziziphus jujube* (Ennab) of The Middle East, Food and Medicine Unique. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicines* 2(6): 7-11.
- Heschel MS, Butler CM, Barua D, Chiang GCK, Wheeler A, Sharrock RA, Whitelam GC, & Donohue K. 2008. New roles of phytochromes during seed germination. *International Journal Plant Science*. 169(4): 531–540.
- Hussein HM, Ei-Sayed EM, & Said AA. 2006. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant effects of *Ziziphus spina-christi* and *Ziziphus jujube* in alloxan diabetic rats. *International Journal of Pharmacology* 2(5): 263-570.
- IRRI. 2006. IRRI Rice Knowledge Bank. Bahan Organik dan Pupuk Kandang Kerjasama Badan Litbang Pertanian dan IRRI. Jakarta
- Johson TR & Kane ME. 2012. Effects of temperature and light on germination and early seedling development of the pine pink orchid (*Bletia purpurea*). *Journal compilation, The Society for the Study of Species Biology* 27: 174–17.
- Khan MA, Abbasi BH, Ahmed N, & Ali H. 2013. Effect of light regimes on *in vitro* seed germination and silymarin content in *Silybum marianum*. *Journal Elsevier* 46: 105-110.
- Khusni L, Rini BH, & Erma P. 2018. Pengaruh Naungan terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Anti Oksidan pada bayam Merah (*Alternanthera amoena* Voss.). *Jurnal Anatomi dan Fisiologi Undip*. 3(1): 62-70.
- Kisman. 2008. Pola pertumbuhan Awal Tanaman Kedelai pada Kondisi Cekaman Intensitas Cahaya Rendah dan Pemberian Inhibitor Plastida (Uji Cepat Toleransi Kedelai terhadap Cekaman Naungan). *Jurnal CropAgro* 1(2): 85-89.
- Kone M, Kone T, Silue N, Soumahoro AB, & Kouakou TH. 2015. *In vitro* seeds germination and seedling growth of bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc. (Fabaceae)). *The Scientific World Journal*. 1-8.

- Kumar RM, Gayatri N, Sivasudha T, & Ruckmani K. 2017. Profiling Of Bioactive Components Present In *Ziziphus mauritiana* Lam For In-Vitro Antioxidant And In-Vivo Anti-Inflammatory Activities. *International Research Journal Of Pharmacy* 8(9): 19-24.
- Liat HE. 2016. Pengaruh Model Pemeraman dan Kondisi Cahaya terhadap Perkecambahan Benih Pinang (*Areca catechu* L.). *Jurnal pertanian Konservasi Lahan Kering* 1(2): 74-76.
- Natural Resources Conservation Services*. diakses pada 7 Januari 2019
- Newell C, Growns D & McComb J. 2003. The Influence of Medium Aeration on In vitro Rooting of Australian Plant Microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (75): 131-142.
- Nkafamiya MH, Shagal, & Haruna M. 2013. Potential of *Ziziphus spina-christi* seed ethanolic extract on inhibition of microbial growth. *Academia Journal of Biotechnology* 1(4): 053-056.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, & Anthony S. 2009. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0* (<http://www.worldagroforestry.org/site/treedbs/treedatabases.asp>)
- Pertamawati. 2010. Pengaruh Fotosintesis terhadap Pertumbuhan Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) dalam Lingkungan Fotoautotrof secara In vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 12(1):31-37.
- Prakash D, Upadhyay G, & Gupta C. 2013. Total phenol and antioxidant activity of some fruits and their under-utilized parts. *International Food Research Journal* 20(4): 1717-1724
- Prudente DO & Paiva R. 2018. Seed Dormancy and Germination: Physiological Considerations. *Journal of Cell and Developmental Biology* 2(1): 1-2.
- Putri AI, Toni H, Prastyono, & Liliek H. 2017. Pengaruh Teknik Sterilisasi Eksplan terhadap Tingkat Perolehan Kultur Jaringan Aksenik Ramin (*Gonystylus bancanus*). *Jurnal pemuliaan Tanaman Hutan*. 11(2): 131-138.
- Rahayu ES. 2015. *KULTUR FOTOAUTOTROFIK. Solusi Mikropropagasi Tumbuhan Berkayu*. Semarang: Swadaya Manunggal.
- Raven PH, Evert RF, & Eichhorn Se. 2012. *Biology of Plants Eight Edition*: Worth Publishers, Inc., NY
- Rusmin D, Faiza CS, Ireng D, & satriya I. 2014. Pengaruh Suhu dan Media Perkecambahan terhadap Viabilitas dan Vigor Benih Purwoceng untuk Menentukan Metode Pengujian Benih. *Litro* 25(1): 45-51.

- Saleh MS, Adelina E, Murniati E & Budiarti T. 2008. Pengaruh skarifikasi dan media tumbuh terhadap viabilitas biji dan vigor kecambah aren. *J Ilmu Pertanian Indonesia* 13(1): 7-12.
- Sayekti S, Esti H, & Moh. M. 2017. Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kandungan Klorofil-a dan -c Zooxanthellae dari Isolat Karang Lunak *Zoanthus sp.* *Jurnal MASPARI*. 9(1): 61-68.
- Socolowski F, Vieira DCM, Simao E, & Takaki M. 2010. Influence of light and temperature on seed germination of *Cereus perambucensis* Lemaire (Cactaceae). *Biota Neotrop Journal* 10(2): 53-56.
- Solanki P & Siwach P. 2012. 27, Optimization of conditions for *in vitro* seed germination and shoot multiplication of *Aconitum heterophyllum* Wall. *J. Med. Arom. Plants* 2(3): 481-487.
- Solikin. 2014. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Perkecambahan Biji *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. *Jurnal UNiversitas Indoneis dan LIPI*. 65-70.
- Soppe WJ & Bentsink L. 2016. *Dormancy in Plant*. Cologne, Germany.
- Souza RR, Paiva PD, Silva RR, Reis MV, Nery FC, & Paiva R. Optimization of jenipapo *in vitro* seed germination process. *Jurnal Science Agroteknologi* 40(6):658-66.
- Suci WC & Heddy S. 2018. Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Keragaman Tanaman Puring (*Codiaeum variegatum*). *Jurnal Produksi Tanaman* 6(1): 161-169.
- Sudomo A & Santosa HB. 2011. Pengaruh media organik dan tanah mineral terhadap pertumbuhan dan indeks mutu bibit mindi (*Melia azedarach* L.). *J Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 8(3): 263-271.
- Sulistiono, Sumardi I & Azis P. 2004. Kajian Pertumbuhan Ginofor, Buah dan Biji selama tahap Perkembangan Buah Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* (L.) Merr.). *Prosiding seminar Nasional*. UNY Yogyakarta. P. B53 – B64.
- Sulistiyo RH, Zayyan L, Buana S, Lengga ND, Eko CW, Nuniek, & Endry NP. 2017. Pengaruh Teknik Sterilisasi dan Komposisi Medium terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Sirsak Ratu. *Jurnal Pendidikan Biologi* 11(1):1-5.
- Susilo A & Denny. 2016. Keragaman Tumbuhan dan Potensi Pemanfaatannya di Kawasan Hutan Alam Sekunder RPH Cisujen KPH Sukabumi, Jawa Barat. *Prosiding Seminar Nasional Masy Biodiv Indo*. 2(2): 256-262
- Taiz L & Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. Masschusetts: Sinauer Associated Inc. Publishers.

- Washa BW. 2015. Potential of the dark as a factor affecting seed germination. *International Journal of Science and Technology* 5(2): 28-36.
- Widiastuti L. 2004. Pengaruh Intensitas Cahaya dan Kadar Daminosida terhadap Iklim Mikro dan Pertumbuhan Tanaman Krisan dalam Pot. *Jurnal Ilmu Pertanian* 11(2): 35-42.
- Yazdanpanah E, Armand N, Mohsenzadeh S, Moradshahi A, Ahmadi K & Jahanta E. 2013. Seed dormancy breaking of *Ziziphus Nummularia*. *World Applied Sciences Journal* 28 (11): 1831-1833.
- Zobayed SMA, Afreen-ZobayedF, Kubota C, & Kozai T. 2000. Mass Propagation of *Eucalyptus camaldulensis* in A Scaled-up Vessel under *In vitro* Photoautotrophic Condition. *Annals of Botany* (85): 587-572.
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.

Lampiran 1. Prosedur Uji kadar Klorofil

Tabel 1. Alat uji kadar klorofil

No.	Nama Alat	Fungsi
1.	Corong	Tempat pemisah ekstrak
2.	Erlenmeyer 50 ml	Tempat ekstrak
3.	1 set kuvet	Tempat ekstrak yang akan masuk ke spektrofotometer
4.	Mortar	Menumbuk kecambah
5.	Spektrofotometer UV Vis	Alat penyerap panjang gelombang
6.	Neraca analitik	Menimbang kecambah
7.	Extortionist pump	Pompa pemisah ekstrak
8.	Pipet	Mengambil ekstrak

Tabel 2. Bahan uji kadar klorofil

No.	Nama Bahan	Fungsi
1.	Akuades	Blanko
2.	Alkohol 95 %	Pelarut klorofil
3.	Kertas saring	Pemisah ekstrak dengan serat daun

CARA KERJA

1. Menimbang masing masing 2 gram kecambah (kecambah *in vitro* terang, kecambah *in vitro* gelap, kecambah *ex vitro* terang, dan kecambah *ex vitro* gelap) kemudian dipotong kecil-kecil. Kecambah ditumbuk menggunakan mortar dan diekstrak dengan 20 ml alkohol 95% sampai klorofil larut
2. Memastikan semua klorofil telah larut dengan indikator bagian kecambah berwarna putih
3. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring di atas tabung Erlenmeyer 50 ml dengan bantuan extortionist pump
4. Ekstrak yang diperoleh dianalisis konsentrasi klorofil a dan klorofil b menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 649 dan 665 nm
5. Kadar klorofil dihitung menggunakan rumus $20 A_{649.0 \text{ nm}} + 6,1 A_{665.0 \text{ nm}}$.

Lampiran 3. Nilai serapan hasil spektrofotometer UV VIS kecambah bidara

Tabel 4. Hasil pengamatan nilai serapan kadar klorofil

Perlakuan	IG		IT		EG		ET	
Panjang gelombang	649	665	649	665	649	665	649	665
Nilai serapan U_1	0.076	0.079	0.312	0.631	-0.007	-0.001	0.49	1.05
Nilai serapan U_2	0.109	0.111	0.329	0.642	-0.009	-0.006	0.45	1.01
Nilai serapan U_3	0.1	0.103	0.309	0.623	0.064	0.069	0.459	1.02

Lampiran 4. Analisis Data Perkecambahan Bidara

1. Analisis data pada parameter kecepatan perkecambahan *in vitro*

Tabel 5. Nilai rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	15.03	240.50
Terang	16	17.97	287.50
Total	32		

Tabel 6. Uji Mann-Whitney kecepatan perkecambahan *in vitro*

	Kecepatan perkecambahan
Mann-Whitney U	104.500
Wilcoxon W	240.500
Z	.916
Asimp. Sig. (2-tailed)	.360
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.381

2. Analisis data pada parameter kecepatan perkecambahan *ex vitro*

Tabel 7. Nilai Rata-Rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	11.62	186.000
Terang	16	31.28	342.000
Total	32		

Tabel 8. Uji Mann-Whitney kecepatan perkecambahan *ex vitro*

	Kecepatan perkecambahan
Mann-Whitney U	50.000
Wilcoxon W	185.000
Z	-3.009
Asimp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.003 ^a

3. Analisis data pada parameter panjang ibu akar *in vitro*

Tabel 9. Rata rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	15.75	252.000
Terang	16	17.25	276.000
Total	32		

Tabel 10. Uji Mann-Whitney panjang ibu akar *in vitro*

	Panjang ibu akar
Mann-Whitney U	116.000
Wilcoxon W	252.000
Z	-.648
Asimp. Sig. (2-tailed)	.640
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.669 ^a

4. Analisis data pada parameter panjang ibu akar *ex vitro*

Tabel 11. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	14.16	226.50
Terang	16	18.84	301.50
Total	32		

Tabel 12. Uji Mann-Whitney panjang ibu akar *ex vitro*

	Panjang ibu akar
Mann-Whitney U	90.500
Wilcoxon W	226.500
Z	-1.415
Asimp. Sig. (2-tailed)	.157
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.160 ^a

5. Analisis data pada parameter panjang hipokotil *in vitro*

Tabel 13. Rata –rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	15.34	245.50
Terang	16	17.66	282.50
Total	32		

Tabel 14. Uji Mann-Whitney panjang hipokotil *in vitro*

	Panjang hipokotil
Mann-Whitney U	109.500
Wilcoxon W	245.500
Z	-.717
Asimp. Sig. (2-tailed)	.473
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.415 ^a

6. Analisis data pada panjang hipokotil *ex vitro*

Tabel 15. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	24.50	392.00
Terang	16	8.50	136.00
Total	32		

Tabel 16. Uji Mann-Whitney panjang hipokotil *ex vitro*

	Panjang hipokotil
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	136.000
Z	-4.826
Asimp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.000 ^a

7. Analisis data pada panjang epikotil *in vitro*

Tabel 17. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	16.88	270.00
Terang	16	16.12	258.00
Total	32		

Tabel 18. Uji Mann-Whitney panjang epikotil *in vitro*

	Panjang epikotil
Mann-Whitney U	122.000
Wilcoxon W	258.000
Z	-.254
Asimp. Sig. (2-tailed)	.799
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.838 ^a

8. Analisis data pada parameter panjang epikotil *ex vitro*

Tabel 19. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	18.28	292.50
Terang	16	14.72	235.50
Total	32		

Tabel 20. Uji Mann-Whitney panjang epikotil *ex vitro*

	Panjang epikotil
Mann-Whitney U	99.500
Wilcoxon W	235.500
Z	-1.075
Asimp. Sig. (2-tailed)	.282
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.287 ^a

9. Analisis data pada parameter jumlah daun *in vitro*

Table 21. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	12.50	200.000
Terang	16	20.50	328.000
Total	32		

Tabel 22. Uji Mann-Whitney jumlah daun *in vitro*

	Jumlah daun
Mann-Whitney U	64.000
Wilcoxon W	200.000
Z	-2.696
Asimp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.015 ^a

10. Analisis data pada parameter jumlah daun *ex vitro*

Table 23. Rata-rata

Pencahayaannya	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	16	15.88	254.00
Terang	16	17.12	274.00
Total	32		

Table 24. Uji mann-Whitney jumlah daun *ex vitro*

	Jumlah daun
Mann-Whitney U	118.000
Wilcoxon W	254.000
Z	-.478
Asimp. Sig. (2-tailed)	.633
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	.724 ^a

11. Analisis data pada parameter luas daun *in vitro*

Tabel 25. Rata-rata

Pencahayaan	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	64	48.41	3098.00
Terang	64	80.59	5158.00
Total	128		

Tabel 26. Uji Mann-Whitney luas daun *in vitro*

	Luas daun
Mann-Whitney U	1018.000
Wilcoxon W	3098.00
Z	-58960
Asimp. Sig. (2-tailed)	.000

12. Analisis data pada parameter luas daun *ex vitro*

Tabel 27. Rata-rata

Pencahayaan	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	64	58.75	3760.00
Terang	64	70.25	4496.00
Total	128		

Tabel 28. Uji Mann-Whitney luas daun *ex vitro*

	Luas daun
Mann-Whitney U	1680.000
Wilcoxon W	3760.000
Z	-1.993
Asimp. Sig. (2-tailed)	.046

13. Analisis data pada parameter persentase perkecambahan *in vitro*

Tabel 29. Rata –rata

Pencahayaan	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	1	1.00	1.00
Terang	1	2.00	2.00
Total	2		

Tabel 30. Uji Mann-Whitney persentase perkecambahan *in vitro*

	Persentase perkecambahan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	1.000
Z	-1.000
Asimp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	1.000 ^a

14. Analisis data pada parameter persentase perkecambahan *ex vitro*

Tabel 31. Rata-rata

Pencahayaan	N	Mean Rank	Sum of Rank
Gelap	1	1.50	1.50
Terang	1	1.50	1.50
Total	2		

Tabel 32. Uji Mann-Whitney persentase perkecambahan *ex vitro*

	Persentase perkecambahan
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	1.500
Z	.000
Asimp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig))	1.000 ^a

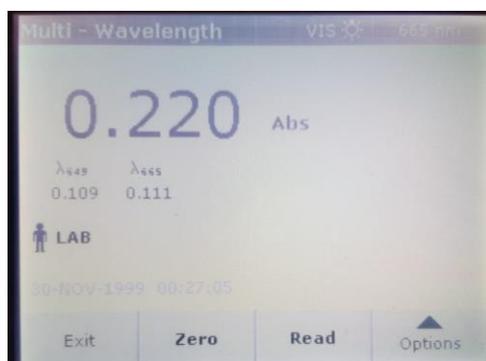
15. Analisis *Paired Sample T-test* kadar klorofilTabel 33. Kecambah *in vitro*

Paired Differences						df	Sig. (2-tailed)
Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference				
			Lower	Upper	t		
-7.69277	.37053	.21392	-8.61321	-6.77233	-35.960	2	.001

Tabel 34. Kecambah *ex vitro*

Paired Differences						df	Sig. (2-tailed)
Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference				
			Lower	Upper	t		
-1.51451	1.34045	.77391	-18.47313	-11.81340	-19.567	2	.003

Lampiran 5. Nilai serapan hasil Spektrofotometer UV VIS DR 5000

Gambar 1. Serapan *in vitro* gelap, ulangan 1Gambar 2. Serapan *in vitro* terang, ulangan 1Gambar 3. Serapan *in vitro* gelap, ulangan 2Gambar 4. Serapan *in vitro* terang, ulangan 2Gambar 5. Serapan *in vitro* gelap, ulangan 3Gambar 6. Serapan *in vitro* terang, ulangan 3



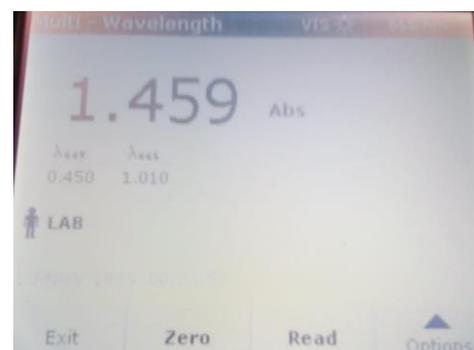
Gambar 7. Serapan *ex vitro* gelap,
ulangan 1



Gambar 8. Serapan *ex vitro* terang,
ulangan 1



Gambar 9. Serapan *ex vitro* gelap,
ulangan 2



Gambar 10. Serapan *ex vitro* terang,
ulangan 2



Gambar 11. Serapan *ex vitro* gelap,
ulangan 3



Gambar 12. Serapan *ex vitro* terang,
ulangan 3