



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

II. MATERIAL DAN METODE

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di *Research and Development* (R&D) PT. Arara Abadi, laboratorium Bioteknologi yang berlokasi di Desa Pinang Sebatang, Kelurahan Perawang, Kecamatan Tualang, Kabupaten Siak Propinsi Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Agustus 2017.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *Laminar Airflow cabinet* (LAF), pipet pasteur *disposable*, kertas saring, *autoklav*, pH meter, botol kultur, mikropipet, gelas ukur, beaker glass, pinset, scalpel, cawan petri, bunsen, korek api, tissue, handspayer, plastik wrap, kertas label.

Bahan yang digunakan adalah node pertama dan kedua dari eksplan *E. pellita*. Bahan tanaman dipotong tepat di atas dan di bawah node dengan ukuran kurang lebih 5 mm. Semua eksplan dicampur dan digunakan secara acak. Bahan kimia yang digunakan antara lain: media MS, CaCl_2 , BAP, IAA, Na-alginate, NaOH (*Natrium hidroksida*) dan KOH (*Kalium hidroksida*).

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini terbagi atas dua bagian yaitu optimalisasi konsentrasi na-alginate dan lama penyimpanan dan konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) terhadap pertumbuhan eksplan.

a. Optimalisasi Konsentrasi Na-Alginate

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum Na-alginate pada eksplan *E. pellita*. Metode penelitian ini menggunakan faktor tunggal yaitu konsentrasi Na-alginate dengan 4 taraf 1%, 2%, 3% dan 4% dengan 6 ulangan. Total, terdapat 24 unit percobaan (4x6). Setiap unit percobaan terdiri 5 kapsul, sehingga terdapat total 120 kapsul eksplan (24x5) yang digunakan dalam penelitian optimasi ini. Konsentrasi optimum diamati berdasarkan pengamatan karakter keragaman dan kualitas kapsul yang dihasilkan.

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

b. Lama Penyimpanan dan Konsentrasi (ZPT) Terhadap Pertumbuhan Eksplan

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor pertama adalah lama penyimpanan (W) dan faktor kedua adalah zat pengtur tumbuh (M) yang digunakan.

Faktor pertama adalah penyimpanan eksplan yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

2 minggu (W_2)

4 minggu (W_4)

6 minggu (W_6)

8 minggu (W_8)

Faktor kedua adalah ZPT (M) yang digunakan terdiri dari 6 taraf, yaitu:

MS + 0,5 mg/L BAP + 1,5 mg/L IAA (M_1)

MS + 0,5 mg/L BAP + 1,0 mg/L IAA (M_2)

MS + 0,5 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA (M_3)

MS + 1,0 mg/L BAP + 1,5 mg/L IAA (M_4)

MS + 1,0 mg/L BAP + 1,0 mg/L IAA (M_5)

MS + 1,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L IAA (M_6)

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 6 kali sehingga total terdapat 144 ($4 \times 6 \times 6$) unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 5 kapsul eksplan, sehingga terdapat 720 (144×5) kapsul eksplan yang digunakan dalam penelitian ini.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Sterilisasi Laminar, Alat dan Bahan

Sterilisasi laminar dilakukan dengan menghidupkan lampu dan blower lalu mengelap permukaan dalam dengan menggunakan tisu yang sudah dicelupkan alkohol 70% . Sterilisasi dilakukan setiap hari sebelum laminar dipakai.

Alat-alat logam dan gelas yang akan digunakan dilakukan sterilisasi dengan autoclave pada temperatur $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan tekanan 1 atm, selama 15 menit, sedangkan sterilisasi bahan atau media kultur selama 15 menit. Alat- alat seperti pinset dan *scalpel* selain disterilkan dengan autoclav dapat dilakukan dengan pembakaran di atas api bunsen.

3.4.2. Eksplan

Materi eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah node pertama dan kedua dari *shoot* steril *E. pellita* koleksi laboratorium Bioteknologi (R&D) PT. Arara Abadi. Kegiatan pengambilan eksplan dilakukan di dalam laminar. Node pertama dan kedua dipotong ± 5 mm dan dipakai dalam unit percobaan. Sumber node tidak dibedakan dalam penelitian ini.

3.4.3. Pembuatan Kapsul Enkapsulasi

Pembuatan kapsul enkapsulasi dilakukan secara aseptik di dalam laminar. Potongan node dicampurkan ke dalam larutan Na-alginate. Eksplan diambil secara tunggal dengan cara memipet beserta larutan Na alginate menggunakan pipet *pasteur disposable*, kemudian diteteskan kedalam larutan 100 Mm CaCl_2 dan dilanjutkan dengan perendaman selama 30 menit (dengan sesekali digoyang untuk membantu proses pencampuran). Kapsul yang sudah terbentuk kemudian dibilas dengan akuades steril 3 kali dan kemudian dikeringanginkan diatas kertas saring.

3.4.4. Penyimpanan Kapsul Eksplan Enkapsulasi

Kapsul yang berisi 1 eksplan yang sudah terbentuk selanjutnya dimasukkan dalam botol regenerasi yang berisi air steril 2,5 ml pada masing-masing perlakuan. Selanjutnya disimpan selama 2, 4,6, dan 8 minggu pada rak kultur pada suhu ruang 23-25°C.

3.4.5. Pemeliharaan Kapsul Eksplan Enkapsulasi

Pemeliharaan eksplan dilakukan dengan cara menjaga kondisi ruang kultur dalam keadaan steril dan bersih. Dilakukan penyemprotan alkohol 70% pada ruang diantara botol kultur untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

3.4.6. Pemindahan Kapsul Eksplan Enkapsulasi ke Media Pertumbuhan

Setelah dilakukan lama penyimpanan eksplan selama msing-masing 2, 4, 6, dan 8 minggu eksplan ditanam ke dalam media pertumbuhan sesuai perlakuan dan dilakukan pengamatan pada umur 4 minggu.

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

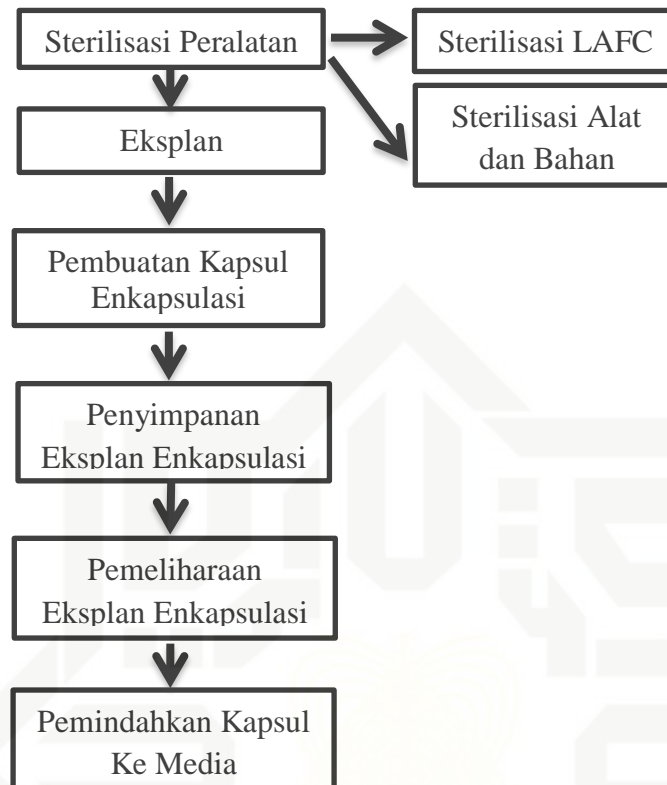
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

3.5. Alur Pelaksanaan Penelitian



Gambar 3.1. Alur pelaksanaan penelitian

3.6. Parameter Pengamatan

Optimalisasi Konsentrasi Na-Alginate dilakukan dengan melakukan pengamatan warna, bentuk dan kondisi eksplan dari masing-masing konsentrasi Na-alginate yaitu 1%, 2%, 3% dan 4%. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-2 dan ke-5 untuk mengetahui pengaruhnya. Lama penyimpanan dan konsentrasi zat pengatur tumbuh terhadap pertumbuhan eksplan, pengamatan yang dilakukan sbb :

1. Persentase waktu eksplan menembus kapsul pengamatan dilakukan pada saat 4 minggu setelah subkulture (MSS).
2. Jumlah Tunas
Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah tunas pada setiap perlakuan saat minggu ke-4 MSS.
3. Tinggi eksplan
Pengamatan tinggi eksplan dilakukan dengan cara mengukur tinggi eksplan pada saat minggu ke-4 MSS.

4. Survival

Pengamatan survival dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang hidup pada minggu ke-4 MSS.

3.7. Analisis Data

Model linier untuk rancangan faktorial dua faktor dengan rancangan lingkungan RAL sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \sum_{ijk}$$

i : 1,2,3 (faktor lama penyimpanan)

j : 1,2,3 (faktor zat pengatur tumbuh)

k : 1,2,3 (ulangan)

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pertumbuhan eksplan pada ulangan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij (faktor waktu penyimpanan taraf ke-i dan faktor media ke-j).

μ : Rata-rata pengamatan pertumbuhan eksplan/ nilai tengah

α_i : Pengaruh waktu penyimpanan pada taraf ke-i

β_j : Pengaruh media pada taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$: Pengaruh interaksi waktu penyimpanan pada taraf ke-i dan pada media taraf ke-j

ϵ_{ijk} : Pengaruh galat percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ke- ij. (Herdiyantoro, 2013).

Analisis disusun berdasarkan tabel ANOVA (*analysis of varian*) sebagai berikut:

Tabel 3.1. Sidik Ragam RAL

SK	db	JK	KT	F-hit	F-table (5%)
Perlakuan	ab-1	JKP	JKP/db	KTP/KTG	
Faktor W (lama penyimpanan)	a-1	JK(A)	JK(A)/db	KT(A)/KTG	
Faktor M (konsentrasi ZPT)	b-1	JK(B)	JK(B)/db	KT(B)/KTG	
Interaksi WXM	(a-1)(b-1)	JK(AB)	JK(AB)/db	KT(AB)/KTG	
Galat	ab(r-1)	JK(G)	JK(G)/db	-	
Total	Rab-1	JKT		-	

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Setelah sidik ragam dilakukan dan didapat pengaruh perlakuan berbeda nyata maka diperlakukan mencari rata-rata mana yang berbeda. Perbandingan berpasangan tidak berencana yaitu setiap pasangan rata-rata yang diperbandingkan untuk mencari perlakuan yang berbeda nyata. Pengujian yang biasa dilakukan adalah uji jarak ganda Duncan. Uji jarak Duncan adalah sebagai berikut:

$$UJD_{\alpha} = R_{\alpha(p, db \text{ galat})} \times \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

- α : taraf nyata uji 5% atau 1%
- $R_{\alpha(p, db \text{ galat})}$: didapat dari tabel UJD dengan derajat bebas galat (DBG)
- P : banyaknya perlakuan
- KTG : kuadrat tengah dan galat dari sidik ragam yang di hitung
- r : banyaknya ulangan pada percobaan

Uji jarak ganda Duncan atau Uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) untuk mengetahui jenis terbaik berdasarkan rankingnya. Uji ini dilakukan karena adanya perbedaan nyata pada hasil analisis varians. Uji ini juga dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan dari pemberian perlakuan yang dilakukan uji F.