

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AIR KELAPA,
BAP DAN NAA PADA MEDIA DKW TERHADAP PERTUMBUHAN
EKSPLAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum* Schumach) SECARA
*IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

ISMA ALFIANA

NPM 165001015



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SILIWANGI
TASIKMALAYA
2020**

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AIR KELAPA,
BAP DAN NAA PADA MEDIA DKW TERHADAP PERTUMBUHAN
EKSPLAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum* Schumach) SECARA
*IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam Memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Pada Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian
Universitas Siliwangi Tasikmalaya**

Oleh :

ISMA ALFIANA

NPM 165001015



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SILIWANGI
TASIKMALAYA
2020**

PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : ISMA ALFIANA

NPM : 165001015

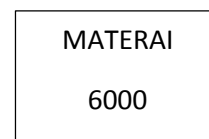
Jurusan : Agroteknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW Terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) Secara *In Vitro*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana), baik di Universitas Siliwangi maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Skripsi ini saya buat dengan bantuan dari pihak Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia dan tim Pembimbing.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang saya peroleh karena skripsi ini, serta sanksi lainnya sesuai norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Tasikmalaya, September 2020
Yang membuat pernyataan



Isma Alfiana
NPM 165001015

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW Terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumpuk Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) Secara *In Vitro*

Nama : Isma Alfiana

NPM : 165001015

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

Menyetujui Komisi Pembimbing,

Ketua Komisi Pembimbing,

Anggota Pembimbing,

Prof. Dr. H. Rudi Priyadi, Ir., M.S.

NIP. 19580627 198603 1 002

Dr. Hj. Ida Hadiyah, Ir., M.P.

NIP. 19581123 198601 2 001

Mengetahui dan Mengesahkan

Ketua Jurusan

Dekan Fakultas

Dr. Suhardjadinata, Ir., M.P.

NIDN. 04 0404 5901

Dr. Hj. Ida Hadiyah, Ir., M.P.

NIP. 19581123 198601 2 001

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW Terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) Secara *In Vitro*”. Shalawat dan salam tidak lupa penulis hanturkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, keluarganya, sahabat-sahabatnya dan para pengikutnya yang setia sampai sekarang. Tujuan penulisan skripsi ini adalah sebagai syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Siliwangi Tasikmalaya.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Rudi Priyadi, Ir., M.S. selaku Rektor Universitas Siliwangi serta Ketua Komisi Pembimbing.
2. Dr. Hj. Ida Hadiyah, Ir., M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi dan sebagai Anggota Pembimbing.
3. Dr. Puspita Lisdiyanti M. Agr. Chem selaku Kepala pusat Penelitian Bioteknologi- LIPI yang telah memberikan izin pelaksanaan penelitian.
4. Dr. Tri Muji Ermayanti selaku Pembina Utama di Lab. Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Bioteknologi LIPI.
5. Erwin Al Hafizh S.T., M.Si sebagai Pembimbing di Pusat Penelitian Bioteknologi.
6. TKM Development Co. Ltd. Yang telah memberikan pendanaan dalam kegiatan penelitian ini.
7. Pratika Estiaryani Putri S.Si dan Rikha Anggia Ayuninda yang telah membantu dalam pengambilan data.
8. Dr. Suhardjadinata, Ir., M.P. selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.
9. Yaya Sunarya, Ir., M.Sc. selaku Sekretaris Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

10. Visi Tinta Manik, S.Si., M.Si, Prof. Dr. H. Maman Suryaman, Ir., M.P. dan H. Amir Amilin, Ir., M.P selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesainya skripsi ini.
11. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Agroteknologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan selama pengerjaan skripsi ini, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
12. Semangat dalam hidupku yaitu Ayah Edi Suryadi dan Ibu Evi Fillah, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan panjatan do'a, semangat serta motivasi kepada penulis yang tidak pernah berhenti sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
13. Seluruh teman-teman Jurusan Agroteknologi angkatan 2016, yang berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan studi sampai memperoleh gelar S.P.
14. Semua pihak yang ikut serta membantu dan memberikan dukungan baik moril maupun materil dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan melimpahkan Rahmat dan Ridho-Nya, Aamiin...

Tasikmalaya, September 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACK	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	4
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Manfaat penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	
2.1 Tinjauan pustaka	5
2.1.1 Klasifikasi rumput gajah	5
2.1.2 Deskripsi rumput gajah (<i>Pennisetum purpureum</i>)	6
2.1.3 Syarat tumbuh rumput gajah	7
2.1.4 Teknik kultur jaringan	7
2.1.5 Media kultur jaringan	9
2.1.6 Zat pengatur tumbuh	10
2.2 Kerangka berpikir.....	12
2.3 Hipotesis	13
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan tempat penelitian	14
3.2 Alat dan bahan penelitian.....	14

3.2.1	Alat-alat penelitian	14
3.2.2	Bahan-bahan penelitian	14
3.3	Metode penelitian	15
3.3.1	Analisis Statistik	15
3.4	Prosedur penelitian	17
3.4.1	Sterilisasi alat	17
3.4.2	Sterilisasi ruang tanam	17
3.4.3	Pembuatan medium DKW	17
3.4.4	Penanaman eksplan tunas rumput gajah	18
3.5	Parameter penelitian	18
3.5.1	Pengamatan penunjang	18
3.5.2	Pengamatan utama	19
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pengamatan penunjang	20
4.1.1	Pengamatan visual	20
4.1.2	Pertumbuhan kalus	24
4.2	Pengamatan utama	24
4.2.1	Jumlah tunas	25
4.2.2	Jumlah daun	27
4.2.3	Jumlah akar	28
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	32
5.2	Saran	32
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN-LAMPIRAN		38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumput Gajah (<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach)	5
Gambar 2. Eksplan Rumput Gajah yang digunakan	14
Gambar 3. Kontaminasi pada botol kultur	20
Gambar 4. Nekrosis pada eksplan	22
Gambar 5. Rata-rata jumlah tunas pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam	25
Gambar 6. Rata-rata jumlah daun pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam	27
Gambar 7. Akar yang terbentuk pada umur 3 minggu setelah penambahan BAP 1 mg/L pada kultur <i>in vitro</i> <i>P. purpureum</i>	29
Gambar 8. Rata-rata jumlah akar pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Analisis kandungan kimia Rumput Gajah (<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach).....	7
Tabel 2. Kombinasi perlakuan	15
Tabel 3. Daftar sidik ragam	16
Tabel 4. Kaidah pengambilan keputusan	16
Tabel 5. Kondisi eksplan pada berbagai kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA	21
Tabel 6. Pengaruh kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA terhadap jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar	24

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Analisis statistik jumlah tunas rumput gajah.....	38
Lampiran 2. Analisis statistik jumlah daun rumput gajah.....	40
Lampiran 3. Analisis statistik jumlah akar rumput gajah	42
Lampiran 4. Larutan stok zat pengatur tumbuh	43
Lampiran 5. Takaran zat pengatur tumbuh	44
Lampiran 6. Komposisi Media DKW	45
Lampiran 7. Gambar hasil Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah secara <i>in vitro</i>	46
Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian	47
Lampiran 9. Surat Pernyataan Bimbingan	48

ABSTRAK

PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH AIR KELAPA, BAP DAN NAA PADA MEDIA DKW TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum* Schumach) SECARA IN VITRO

Oleh
Isma Alfiana
NPM 165001015

Dosen Pembimbing :
Rudi Priyadi
Ida Hadiyah

Rumput Gajah mempunyai potensi untuk digunakan sebagai bahan baku bioenergi. Untuk memenuhi kebutuhan bahan baku maka diperlukan upaya untuk menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif singkat. Rumput gajah sulit diperbanyak secara generatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media Driver Kuniyuki Walnut terhadap pertumbuhan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach). Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2020 di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat penelitian Bioteknologi – LIPI Bogor. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan dan diulang sebanyak empat kali. Konsentrasi air kelapa yang telah ditetapkan sebesar 0 ml/L, 50 ml/L, BAP sebesar 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, dan NAA dengan konsentrasi 0 mg/L, 0,01 mg/L, 0,1 mg/L. Data dianalisis menggunakan sidik ragam dengan uji F dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air kelapa 50 ml/L+ BAP 2 mg/L + NAA 0,01 mg/L merupakan kombinasi yang memberikan hasil lebih baik terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah dalam menginduksi jumlah tunas dengan rata-rata 4,92 tunas/eksplan dan jumlah daun dengan rata-rata 21,88 helai/eksplan, namun tidak memberikan hasil yang baik terhadap jumlah akar.

Kata kunci : Rumput Gajah, Air kelapa, BAP (*Benzyl Amino Purine*), NAA (*Napthalene Acetic Acid*)

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE COMBINATION OF GROWTH REGULATORS OF COCONUT WATER, BAP AND NAA ON DKW MEDIUM ON THE GROWTH OF ELEPHANT GRASS EXPLANTS (*Pennisetum purpureum* Schumach) IN VITRO

By
Isma Alfiana
NPM 165001015

Supervisor :
Rudi Priyadi
Ida Hadiyah

Elephant grass has the potential to be used as bioenergy raw material. To meet the need for raw materials, efforts are needed to produce large quantities of seeds in a relatively short time. Elephant grass is difficult to reproduce sexually. This study aims to determine the effect of the combination of growth regulating substances Coconut Water, BAP and NAA on Driver Kuniyuki Walnut Media on the growth of Elephant Grass (*Pennisetum purpureum* Schumach). The research was conducted from February to April 2020 at the Laboratory of Plant Cells and Tissues, Center for Biotechnology Research - LIPI Bogor. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with 10 treatments and was repeated four times. The concentration of coconut water has been set at 0 ml/L, 50 ml/L, BAP at 0 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, and NAA with a concentration of 0 mg/L, 0.01 mg/L, 0.1 mg/L. The data were analyzed using variance with the F test followed by Duncan's Multiple Range Test with a real level of 5%. The results showed that the combination of growth regulators of coconut water 50 ml/L + BAP 2 mg/L + NAA 0.01 mg/L was a combination that gave better results on the growth of elephant grass explants in inducing the number of shoots with an average of 4.92 shoots/explants and number of leaves with an average of 21.88 leaves/explant, but did not give good results on the number of roots.

Keywords: Elephant Grass, Coconut Water, BAP (*Benzyl Amino Purine*), NAA (*Napthalene Acetic Acid*)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Bahan bakar minyak menjadi sumber energi utama di Indonesia maupun dunia. Kondisi ini terlihat dari jumlah konsumsi minyak yang ternyata terus meningkat. Cadangan minyak bumi Indonesia juga terus mengalami penurunan, menurut catatan Badan Pengelola Migas (BP Migas) cadangan minyak terbukti hingga tahun 2012 adalah sebesar 3,92 miliar barel atau hanya cukup digunakan selama 12-15 tahun (Dewita, Priambodo dan Ariyanto, 2013). Asumsi ini berlaku apabila tidak ditemukan cadangan baru yang siap diproduksi. Turunnya sediaan minyak bumi memberi stimulasi yang nyata bagi proses pencarian persediaan sumber energi alternatif secara global. Fenomena ini juga mendorong banyak negara menetapkan target tentang seberapa besar energi terbarukan menjadi bagian dari kegiatan pembangunannya sebagai alternatif substitusi minyak bumi (Mildaryani, 2012).

Indonesia sebagai salah satu negara tropis yang memiliki sumber daya alam yang sangat potensial untuk usaha pertanian, karena Indonesia memiliki potensi sumber daya alam, agroklimat dan sumber daya manusia yang memadai. Kondisi iklim tropis dengan curah hujan yang cukup, ketersediaan lahan yang masih luas, serta telah berkembangnya teknologi optimalisasi produksi dapat mendukung kelayakan pengembangan biofuel (bioenergi).

Bioenergi adalah energi yang bersumber dari biomassa materi organik berusia relatif muda yang berasal dari makhluk hidup atau produk dan limbah industri budidaya (pertanian, perkebunan, kehutanan, peternakan dan perikanan) (Mildaryani, 2012). Bahan bakar nabati adalah sumber energi terbarukan, yaitu sumber energi yang dapat tersedia kembali dalam jangka waktu tahunan, tidak seperti BBM yang bersumber dari minyak bumi atau batu bara yang membutuhkan waktu jutaan tahun.

Di Indonesia ada 49 jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi. Salah satu komoditas yang dapat dikembangkan menjadi bioenergi adalah rumput gajah (*Pennisetum purpureum*). Rumput gajah memiliki potensi tinggi

dalam menghasilkan biomassa yang tinggi dengan nilai panas yang tinggi pula (Gan Thay Kong, 2002).

Selama ini rumput gajah lebih banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak, terkadang rumput gajah juga dianggap sebagai tumbuhan pengganggu. Rumput gajah mempunyai kadar selulosa tinggi (40,85%) yang dapat digunakan sebagai salah satu bahan penghasil etanol (Sari, 2009). Produksi biomassa dan nilai energi rumput gajah ini tidak terlepas dari perlakuan budidaya sebagai perbanyakan bahan baku.

Rumput gajah sulit dibudidayakan secara generatif karena bunga dan bijinya sangat kecil, serbuk sari tidak bisa bertahan hidup dan periode matangnya putik dan serbuk sari berbeda. Sehingga sulit untuk melakukan penyerbukan secara alami (Pongtongkam dkk., 2006). Teknik kultur jaringan diharapkan dapat mengatasi kendala yang disebabkan oleh budidaya generatif dengan cara menyediakan bibit yang mempunyai kualitas seragam dan mudah dalam perbanyakannya (Ermayanti dkk., 2002). Perbanyakan masal ini terutama digunakan untuk memenuhi kebutuhan bahan baku. Keuntungan pengadaan bibit melalui kultur jaringan antara lain dapat diperoleh bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu dapat diperoleh biakan steril sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk perbanyakan selanjutnya.

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik untuk mengkulturkan bagian tanaman *in vitro* di media buatan yang mengandung energi sekaligus bernutrisi lengkap pada kondisi aseptik dengan suhu dan pencahayaan terkontrol agar tumbuh dan berkembang ke arah tertentu (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh genotip, lingkungan tumbuh, eksplan dan media. Media kultur jaringan merupakan tempat tumbuh bagi eksplan. Media tersebut harus mengandung semua zat yang diperlukan eksplan untuk menjamin pertumbuhan eksplan yang ditanam. Media MS (*Murashige and Skoog*) merupakan media dasar yang umumnya digunakan untuk perbanyakan sejumlah besar spesies tanaman. Media dasar tersebut kaya akan mineral yang merangsang terjadinya organogenesis. Disamping media MS, media DKW (*Driver Kuniyuki Walnut*) sering pula digunakan pada mikropropagasi berbagai spesies tanaman, seperti pada

tanaman Purwoceng (Roostika, 2016). Selain hara makro dan mikro dalam kultur *in vitro* zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin dan auksin berperan dalam pertumbuhan dan morfogenesis. Keseimbangan kedua ZPT tersebut menentukan pola diferensiasi eksplan.

Hapsoro dan Yusnita (2018) menyatakan bahwa sitokinin adalah salah satu kelas ZPT yang merangsang pembelahan sel atau sitokinesis, selain itu terlibat dalam proses pertumbuhan maupun diferensiasi sel, yaitu antagonistik terhadap dominansi apikal, merangsang pecah sekaligus tumbuhnya mata tunas aksilar, merangsang pembentukan tunas adventif, menghambat penuaan (*senescens*), dan meningkatkan aktivitas sink. Jenis sitokinin yang paling sering dipakai pada inisiasi tunas adalah *6-Benzyl Amino Purine* (BAP) karena efektivitasnya yang tinggi (Yusnita, 2003).

Penggunaan ZPT dari kelompok sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin akan menghasilkan jumlah tunas lebih baik dibandingkan dengan sitokinin tunggal. Kelompok auksin yang sering digunakan umumnya adalah *Napthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Indolebutyric acid* (IBA). Hasil penelitian menyatakan terdapat jumlah rata-rata tunas tertinggi rumput gajah pada media MS yang mengandung 2 mg/L BA (*Benzyladenin*), sedangkan pembentukan akar terjadi pada media MS yang mengandung 0-2 mg/L BA dan pada media MS yang ditambah dengan BA + GA3 (*Giberelin acid*) (Al Hafiih dan Ermayanti, 2013).

Selain penambahan ZPT sintetik, media yang diberikan bahan organik seperti air kelapa terbukti berpengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Hal ini disebabkan karena pada air kelapa mengandung hormon auksin dan sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan tanaman.

Penelitian perbanyakan rumput gajah dengan perlakuan pemberian kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada media DKW (*Driver Kuniyuki Walnut*) belum ada yang meneliti, oleh karena itu dengan penambahan kombinasi ZPT tersebut pada konsentrasi yang tepat diharapkan dapat meningkatkan hasil pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini dipaparkan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh Air kelapa, BAP dan NAA dalam media DKW berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*?
2. Pada kombinasi zat pengatur tumbuh manakah yang paling efektif terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*?

1.3 Maksud dan Tujuan penelitian

Adapun maksud dari penelitian ini yaitu :

1. Menguji kombinasi zat pengatur tumbuh Air kelapa, BAP dan NAA dalam media DKW terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*.
2. Mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. Secara ilmiah dapat digunakan sebagai alternatif mempercepat perbanyakan rumput gajah (*P. purpureum*) melalui kombinasi yang paling efektif dalam media DKW.
2. Berpartisipasi dalam pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya di bidang kultur jaringan.
3. Dapat digunakan sebagai penyedia bahan baku bioenergi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan pustaka

2.1.1 Klasifikasi rumput gajah

Rumput gajah mempunyai klasifikasi sebagai berikut (USDA, 2012) :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliopsida
Kelas : Liliopsida
Ordo : Cyperales
Famili : Poaceae / Gramineae
Genus : Pennisetum
Spesies : *Pennisetum purpureum* Schumach.

Rumput gajah disebut juga *Elephant grass*, *Uganda Grass* dan *Napier Grass*. Rumput gajah adalah tanaman yang termasuk ke dalam kelompok rumput-rumputan. Rumput gajah banyak dimanfaatkan pada bidang peternakan yaitu sebagai makanan hewan ternak seperti sapi, kambing dan kuda. Rumput-rumputan yang ditanam pada suatu lahan dapat memperbaiki kondisi tanah. Tanaman rumput—rumputan membuat tanah menjadi lebih gembur (Gonggo dkk., 2005). Hal ini dapat meningkatkan porositas yang menyebabkan terjadi aerasi yang lebih baik terhadap lahan yang ditanami oleh rumput-rumputan (Handayani, 2002).



Gambar 1. Rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach)

2.1.2 Deskripsi rumput gajah (*Pennisetum purpureum*)

Rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) merupakan rumput unggul yang berasal dari Afrika tropis, termasuk jenis rumput potong yang berumur panjang (perennial), tumbuh tegak membentuk rumpun, tinggi dapat mencapai 7 m bila dibiarkan bebas dan kedalaman akar dapat mencapai 3-4 meter. Panjang daun 16 sampai 90 cm dan lebar 8 sampai 35 mm (Reksohadiprodo, 1985). Rumput gajah mempunyai batang bulat berkayu dan berbuku-buku dimana dari buku tersebut nantinya akan keluar tunas baru yang kemudian akan menjadi batang baru. Diameter batang dapat mencapai lebih dari 3 cm dan terdiri sampai 20 ruas/buku (Manglayang, 2005).

Tanaman rumput gajah biasanya diperbanyak dengan cara vegetatif yaitu dengan pols (rumpun) maupun dengan setek. Pols yang terbaik diperoleh dari pecahan rumpun-rumpun yang sehat dan masih mengandung cukup banyak akar serta calon anakan baru. Perbanyak dengan setek menggunakan potongan-potongan batang, setek digunakan karena lebih mudah dan ekonomis, sehingga cara ini dapat digunakan untuk penanaman rumput gajah dan rumput raja (Mufaritim, Lukiwati dan Sutarno, 2012). Panjang setek yang dianjurkan adalah 25 cm atau 2-3 ruas dan diambil dari tanaman berumur 3-6 bulan (Rahayu, 2001).

Pemotongan daun rumput dilakukan setelah rumput berumur 2-3 bulan. Panen perdana ini dimaksudkan sekaligus untuk meratakan pertumbuhan dan merangsang pertumbuhan anakan. Panen berikutnya dilakukan setiap 6 minggu dengan cara memotong rumput 10-15 cm di atas tanah untuk rumput raja dan rumput gajah. Rumput ini akan bisa berproduksi terus menerus selama 5-8 tahun atau bahkan 10 tahun untuk rumput raja (Sitorus, 2016). Produksi hijauan rumput gajah antara 100-200 ton/ha/tahun rumput segar (Rukmana, 2005). Peremajaan tanaman tua dilakukan setelah 4-6 tahun untuk diganti dengan tanaman yang baru.

Rumput gajah sebagian besar dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak yang merupakan hijauan unggul, dari aspek tingkat pertumbuhan, produktivitas dan nilai gizinya. Rumput gajah mempunyai potensi untuk digunakan sebagai bahan baku bioenergi. Menurut Okaraonye dan Ikewuchi (2009) analisis kandungan kimia dari rumput gajah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis kandungan kimia Rumput Gajah (*P. purpureum*)

Parameter	Berat basah (%)	Berat kering dalam 1 kg segar (gr)
Kandungan air	89,0	-
Jumlah abu	2,00	18,18
Protein kasar	2,97	27,00
Lemak kasar	1,63	14,82
Jumlah total karbohidrat	3,40	30,91
Serat kasar	1,00	9,09

2.1.3 Syarat tumbuh rumput gajah

Rumput gajah dapat tumbuh pada ketinggian hingga 2.000 meter di atas permukaan laut dengan suhu 25-40°C dan curah hujan 1.500 mm/tahun. Rumput ini toleran terhadap kekeringan dan lebih cocok tumbuh pada lahan dengan drainase yang baik dan pada tanah yang subur serta memiliki adaptasi yang luas terhadap tingkat kemasaman (pH) tanah (4,5-8,2) (Heuze dkk., 2016).

Kondisi tanah yang diperlukan untuk menghasilkan produksi yang optimal adalah tanah yang lembab, kelembaban yang dikehendaki oleh rumput gajah adalah 60-70% (Vanis, 2007). Menurut Manetje dan Jones (2000) menyatakan bahwa kelangsungan hidup serbuk sari sangat kurang dan barangkali inilah penyebab utama dari penentuan biji yang lazimnya buruk. Disamping itu, kecambahnya lemah dan lambat. Oleh karena itu rumput gajah ini ditanam secara vegetatif.

2.1.4 Teknik kultur jaringan

Kultur jaringan adalah teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan atau organ yang dilakukan secara *in vitro* (Yusnita 2003). Komponen utama yang dibutuhkan dalam kultur *in vitro* adalah sumber eksplan. Eksplan akan berkembang menjadi tanaman yang lengkap jika dikulturkan pada media yang sesuai. Pola perkembangannya dapat terjadi secara langsung (tidak melalui pembentukan kalus) maupun tidak langsung (melalui pembentukan kalus). Beberapa keuntungan penggunaan kultur jaringan untuk memperbanyak bibit dibandingkan dengan cara perbanyakan konvensional adalah sebagai berikut (Hapsoro dan Yusnita, 2018) :

1. Dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman *true-to-type* dalam jumlah besar dengan waktu relatif singkat.
2. Pelaksanaan produksi bibit tidak tergantung musim.
3. Tidak memerlukan tempat yang luas.
4. Dapat menghasilkan bibit lebih sehat karena berasal dari kultur *in vitro* yang steril.
5. Dapat digunakan untuk mengoleksi dan memelihara plasma nutfah.
6. Dapat digunakan untuk mengecambahkan benih yang sulit berkecambah secara konvensional atau penyelamatan embrio.
7. Dapat digunakan untuk memperbanyak klonal tanaman yang secara konvensional tidak dapat atau sulit diperbanyak secara vegetatif.

Prinsip dasar kultur jaringan berdasar pada teori sel dari Schwann dan Schleiden pada tahun 1834, atau yang biasanya dikenal dengan teori totipotensi yaitu setiap sel tanaman hidup memiliki informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang utuh jika kondisinya sesuai (Abbas, 2009).

Teknik kultur jaringan telah digunakan dalam membantu produksi tanaman dalam skala besar melalui memperbanyak klonal dari berbagai jenis tanaman. Jaringan tanaman dalam jumlah yang sedikit dapat menghasilkan ratusan atau ribuan tanaman secara terus menerus. Teknik ini telah digunakan dalam skala industri untuk memproduksi secara komersial berbagai jenis tanaman seperti tanaman hias (anggrek, bunga potong, dll.), tanaman buah-buahan (pisang), tanaman industri dan kehutanan (kopi, jati, dll). Melalui kultur jaringan, jutaan tanaman dengan sifat genetik yang sama dapat diperoleh hanya dengan berasal dari satu mata tunas. Oleh karena itu metoda ini menjadi salah satu alternatif dalam memperbanyak tanaman secara vegetatif.

Menurut Yuwono (2008), teknik *in vitro* terdapat beberapa tahapan yang harus dilakukan untuk mengembangkan bahan awal tanaman sampai menjadi tanaman yang lengkap dan siap dipindah ke medium tanah, yaitu: pemeliharaan sumber tanaman yang akan digunakan, penanaman atau multiplikasi pada medium yang sesuai, pembentukan tunas dan akar sampai terbentuk planlet, aklimatisasi

atau proses adaptasi terhadap iklim pada lingkungan baru. Kombinasi media dasar dan ZPT yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis (Lestari, 2011).

2.1.5 Media kultur Jaringan

Media merupakan salah satu faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Keberhasilan multiplikasi dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media, dan berpengaruh pula terhadap bibit yang dihasilkannya. Oleh karena itu, macam-macam media kultur jaringan telah ditemukan, sehingga jumlahnya cukup banyak. Nama-nama media tumbuh untuk eksplan ini biasanya sesuai dengan nama penemunya. Media tumbuh untuk eksplan berisi kualitatif komponen bahan kimia yang hampir sama, hanya agak berbeda dalam besarnya kadar untuk tiap-tiap persenyawaan (David, 2008).

Media yang digunakan biasanya berupa garam mineral, vitamin dan hormon. Selain itu diperlukan juga bahan tambahan seperti gula, agar-agar, bahan organik dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenis maupun jumlahnya. Anjar (2008) menyebutkan bahwa komposisi media yang digunakan dalam kultur jaringan dapat mengakibatkan perbedaan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro*. Keasaman medium adalah salah satu yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan tanaman. Pada umumnya, keasaman medium ditetapkan antara 5,6-5,8. Media yang terlalu asam ($\text{pH} < 4,5$) atau terlalu basa ($\text{pH} > 7,0$) dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan.

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini adalah *Driver Kuniyuki Walnut* (Medium DKW). Media DKW merupakan media dasar yang umumnya digunakan untuk induksi tunas pada tanaman berkayu. Salah satu kelebihan media DKW adalah memiliki kandungan sulfur hampir 2 kali lipat dibandingkan dengan media WPM dan hampir enam kali lipat dibandingkan dengan media MS (Ajijah dkk., 2016). Selain itu, media DKW memiliki kadar ion P dan ion N lebih tinggi dibandingkan media MS. Ion P dan ion N merupakan makronutrien yang berperan

dalam sintesis protein yaitu asam amino sehingga metabolisme dalam sel tetap terjaga, sehingga tanaman berhasil tumbuh dan memanjang membentuk tunas baru. Komposisi media DKW dapat dilihat pada Lampiran 6. Kombinasi media DKW dengan ZPT air kelapa, BAP dan NAA diharapkan dapat meningkatkan hasil pertumbuhan rumput gajah.

2.1.6 Zat pengatur tumbuh

Menurut Hapsoro dan Yusnita (2018) bahwa Zat Pengatur Tumbuh adalah senyawa organik bukan hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Keberadaan ZPT dalam media kultur sangat penting karena peranannya dalam membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan.

Kesesuaian konsentrasi ZPT dengan media kultur akan mempercepat proses perbanyak tanaman dan menghasilkan tanaman yang berkualitas, sedangkan ketidaksesuaian perbandingan faktor tersebut dapat menyebabkan terjadinya hiperhidrisitas, yaitu pertumbuhan eksplan yang tidak normal secara morfologi, anatomi, maupun fisiologi. Hal ini mengakibatkan daun atau batang menjadi transparan, berwarna hijau muda hingga pucat dengan kandungan klorofil yang rendah (Marlina & Rohayati 2009).

Lima kelompok ZPT klasik yang dikenal memengaruhi fisiologi tanaman adalah auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat, dan etilen. Namun demikian, yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah Auksin dan Sitokinin (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

a. NAA (*Napthalene Acetic Acid*)

Penggunaan auksin dalam kultur jaringan digunakan untuk pembelahan sel dan diferensiasi akar. NAA secara luas digunakan untuk perakaran dan interaksi antara sitokinin untuk proliferasi tunas. Auksin sangat berpengaruh terhadap ekspresi gen di berbagai jaringan dan menyebabkan perubahan fisiologi juga morfologi pada tanaman. Auksin juga menyebabkan perpanjangan batang, internode, tropism, apikal dominan, absisi dan perakaran (Abbas, 2009).

Salah satu jenis auksin sintetik yang sering digunakan adalah NAA, karena NAA mempunyai sifat kimia lebih stabil daripada IAA (*Indole Acetic Acid*) (Fitriani, 2008). Auksin banyak digunakan secara luas pada kultur jaringan dalam merangsang pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Gunawan, 2008). Bentuk-bentuk auksin yang biasa ditambahkan ke dalam media kultur adalah 2.4-D (*2.4 Diclorophenoxy Asetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*), NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Auksin yang secara alami terdapat dalam tumbuhan adalah IAA (*Indole-3-Acetic Acid*).

b. BAP (*6-benzylaminopurine*)

Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang ditemukan pada tanaman. Sitokinin berfungsi untuk memacu pembelahan sel dan pembentukan organ. Jenis sitokinin yang paling sering dipakai adalah BAP (*6 Benzyl Amino Purin*). BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu (Yusnita, 2003).

BAP (*6 Benzyl Amino Purin*) mempunyai struktur yang sama dengan kinetin, akan tetapi lebih efektif bila dibandingkan dengan kinetin, karena memiliki gugus *benzyl*. Umumnya tanaman memiliki respon yang baik dengan BAP, efektif untuk memproduksi tunas *in vitro* maupun induksi kalus *in vitro* (Ramasamy dkk., 2005). Sitokinin alami dapat diperoleh dari berbagai buah-buahan, salah satu diantaranya adalah air kelapa. Sitokinin meliputi Kinetin, Zeatin dan *Benzil Amino Purin* (BAP).

c. Air Kelapa

Air kelapa mengandung ZPT alami yang termasuk dalam golongan sitokinin. Air kelapa merupakan senyawa organik yang sering digunakan dalam aplikasi teknik kultur jaringan. Hal ini disebabkan karena air kelapa mengandung ZPT berupa sitokinin (kinetin) sebesar 273,62 mg/L, zeatin 290,47 mg/L dan auksin (IAA) sebesar 198,55 mg/L (Kristina dan Syahid, 2012).

Air kelapa yang baik digunakan dalam kultur jaringan adalah air kelapa muda yang daging buahnya berwarna putih belum keras dan dapat diambil menggunakan sendok (Haryadi dan Pamenang, 1983). Seiring dengan

bertambahnya umur kelapa, kandungan ZPT alaminya juga akan berkurang, hal tersebut terjadi karena energi yang ada dibutuhkan untuk pembentukan daging buah.

2.2 Kerangka berpikir

Bahan bakar fosil sebagai sumber daya alam yang tidak dapat terbarukan mengalami titik krisis beberapa tahun belakangan ini. Seiring berkembangnya zaman, kebutuhan akan bahan bakar fosil khususnya minyak bumi akan semakin meningkat khususnya untuk pemenuhan modernisasi dan industrialisasi. Akibat krisis, maka banyak penelitian dilakukan untuk mencari terobosan energi alternatif baru. Salah satu sumber bahan bakar alternatif yang berpotensi mengurangi kebutuhan akan minyak bumi dan menjadi perhatian publik adalah bioenergi.

Salah satu bahan non-pangan yang berpotensi memasok bioenergi dari selulosa adalah Rumput Gajah (*P. purpureum*). Hal ini menunjukkan perlu adanya upaya pengembangan penelitian tentang perbanyakan rumput gajah, khususnya yang berkaitan dengan penyediaan bibit sebagai bahan baku melalui teknik kultur jaringan untuk menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif cepat.

Keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh media kultur dan zat pengatur tumbuh. Media kultur merupakan tempat tumbuh bagi eksplan. Medium yang digunakan pada penelitian ini adalah Medium DKW (*Driver Kuniyuki Walnut*) dengan penambahan kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA untuk mengetahui pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan rumput gajah secara *in vitro*.

Penelitian tentang perbanyakan rumput gajah mini dengan tunas secara *in vitro* telah dilakukan oleh Amaliah (2016), yakni perbanyakan tunas rumput gajah mini pada media MS didapatkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh NAA (*Napthalene Acetic Acid*) 0,5 ppm memberikan pengaruh nyata terhadap panjang akar, dan NAA 1 ppm menghasilkan rata-rata akar terpanjang.

Pratiwi (2018) mencoba untuk menumbuhkan eksplan Krisan dengan media MS yang diperkaya dengan konsentrasi air kelapa 10% memberikan pengaruh yang optimum terhadap kandungan klorofil b dan klorofil total. Kemudian pertumbuhan

eksplan krisan yang telah diteliti oleh Indriani (2014), bahwa pemberian ZPT BA 0 ppm, 1 ppm yang diinteraksikan dengan konsentrasi air kelapa 5% dapat meningkatkan tinggi tunas krisan, sedangkan untuk meningkatkan jumlah tunas dan jumlah daun dapat ditambahkan BA 0,5 ppm yang diinteraksikan dengan air kelapa 5% dan 15%.

Penelitian Tuhuteru, Hehanussa dan Raharjo pada tahun 2012 melakukan percobaan menumbuhkan anggrek pada media kultur *in vitro* dengan beberapa konsentrasi air kelapa. Disimpulkan bahwa perlakuan tingkat konsentrasi air kelapa 50 ml/L menghasilkan pertumbuhan buku batang, jumlah daun tertinggi dan tinggi planlet yang tidak berbeda jauh dengan konsentrasi 100 ml/L.

Imaniah (2016) mencoba untuk menumbuhkan eksplan tunas cendana dengan pemberian kombinasi BAP dan NAA. Diinformasikan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan NAA memberikan pengaruh terhadap hari muncul tunas aksilar, jumlah tunas aksilar, rata-rata panjang tunas dan jumlah daun. Kombinasi konsentrasi yang paling efektif dalam menginduksi tunas aksilar Cendana adalah BAP 2 + NAA 0 mg/L.

Melihat uraian penelitian tersebut, menunjukkan bahwa media kultur yang diberikan kombinasi ZPT seperti air kelapa, BAP dan NAA berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan. Hal itu disebabkan ZPT mampu mendorong pertumbuhan dan menentukan arah perkembangan bahan tanaman yang dikulturkan.

2.3 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah :

1. Terdapat pengaruh dari pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh Air kelapa, BAP dan NAA dalam media DKW terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*.
2. Terdapat salah satu kombinasi zat pengatur tumbuh yang paling efektif terhadap pertumbuhan eksplan rumput gajah (*P. purpureum*) secara *in vitro*.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-April 2020 di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat penelitian Bioteknologi – LIPI, Bogor.

3.2 Alat dan bahan penelitian

3.2.1 Alat-alat penelitian

Penelitian ini menggunakan peralatan yang dikelompokkan menjadi alat sterilisasi, pembuatan media dan alat penanaman. Alat sterilisasi terdiri dari autoklaf, oven dan pembakar spirtus. Alat yang digunakan selama pembuatan media diantaranya timbangan analitik, pipet, mikropipet, *hot plate and magnetic stirrer*, gelas piala, erlenmeyer, pH meter, botol kultur dan penutup. Sedangkan alat yang digunakan untuk kegiatan pananaman adalah LAF (*Laminar Air Flow*), petridish, skalpel, pinset, rak kultur dan spidol.

3.2.2 Bahan-bahan penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas bonggol rumput gajah (*P. Purpureum*) hasil dari kultur sebelumnya yang ditanam dalam media DKW dengan penambahan BAP 1 mg/L (Gambar 2). Bahan-bahan yang digunakan adalah media instan *Driver Kuniyuki Walnut* (DKW), agar-agar, gula, BAP, NAA, air kelapa muda yang berumur 6-9 bulan, aquades, larutan NaOH dan HCL. Bahan untuk sterilisasi alat adalah alkohol 70%, api bunsen dan spirtus.



Gambar 2. Eksplan rumput gajah yang digunakan

3.3 Metode penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan terdiri dari 10 kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA yang sudah ditetapkan konsentrasinya. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga terdapat 40 unit percobaan dalam setiap unit percobaan terdapat 3 eksplan rumput gajah, sehingga terdapat 120 eksplan yang diamati. Kombinasi berbagai perlakuan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi perlakuan

Air Kelapa	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Kode Perlakuan
0 ml/L	0	0	R1 (kontrol)
0 ml/L	1	0,01	R2
0 ml/L	1	0,1	R3
0 ml/L	2	0,01	R4
0 ml/L	2	0,1	R5
50 ml/L	0	0	R6
50 ml/L	1	0,01	R7
50 ml/L	1	0,1	R8
50 ml/L	2	0,01	R9
50 ml/L	2	0,1	R10

3.3.1 Analisis Statistik

Model Linier untuk rancangan acak lengkap menurut Gomez dan Gomez (2010) adalah sebagai berikut : $Y_{ij} = \mu + \tau_{ij} + \epsilon_{ij}$

$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$ dan 10

$j = 1, 2, 3$ dan 4

Dimana :

Y_{ij} = Hasil pengamatan dari perlakuan ke- i dan dengan ulangan ke- j

μ = Rata-rata pengamatan

τ_{ij} = Pengaruh perlakuan ke – i dan ulangan ke- j

ϵ_{ij} = Kesalahan eksperimen

Data hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisis statistik, kemudian dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam untuk mengetahui taraf nyata dari uji F, seperti pada tabel berikut :

Tabel 3. Daftar Sidik Ragam (Gomez dan Gomez, 2010)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5 %
Perlakuan	(t-1) = 9	$\Sigma \frac{T^2}{r} - FK$	$\frac{JKp}{p-1}$	$\frac{KTp}{KTg}$	2,25
Galat	27	$JKt - JKp$	$\frac{JKg}{(n-1)-(p-1)}$		
Total	36	$\Sigma x^2 - FK$			

Tabel 4. Kaidah Pengambilan Keputusan (Gomez dan Gomez, 2010)

Hasil Analisa	Kesimpulan Analisa	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{0,05}$	Tidak Berbeda Nyata	Tidak ada perbedaan Pengaruh Antara Perlakuan
$F_{hit} > F_{0,05}$	Berbeda nyata	Ada Perbedaan Pengaruh Antara perlakuan

Jika berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut:

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{KT \text{ galat}}{r}}$$

$$SSR = (\alpha \cdot dbg \cdot p)$$

$$LSR = SSR \cdot S_{\bar{x}}$$

Keterangan :

$S_{\bar{x}}$ = Galat baku rata-rata (*Standard Error*)

KTg = Kuadrat tengah galat

r = Jumlah ulangan pada tiap nilai tengah perlakuan yang dibandingkan

SSR = *Significant Studentized Range*

α = Taraf nyata

dbg = Derajat bebas galat

p = *Range* (perlakuan)

LSR = *Least Significant Range*

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Sterilisasi alat

Alat-alat yang perlu disterilisasi terdiri atas alat-alat diseksi, yakni pinset, skalpel, cawan petri. Sterilisasi alat dikeringkan dengan oven selama selama 2 jam dengan suhu 150 °C dan dibungkus dengan menggunakan koran.

3.4.2 Sterilisasi ruang tanam

Sterilisasi ruang tanam dilakukan dengan menyalakan lampu ultraviolet (UV) pada *Laminar Air Flow* (LAF) selama 30 menit. Selama proses ini tidak diperkenankan berada di sekitar LAF. Lampu UV dimatikan kemudian dinyalakan lampu neon serta *blower* ketika akan bekerja di LAF. Meja LAF disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% kemudian dibersihkan dengan kertas tisu.

3.4.3 Pembuatan medium perlakuan

Pembuatan medium perlakuan sebanyak 300 ml dilakukan dengan cara, menimbang media DKW sebanyak $\pm 1,6$ gram, gula sebanyak 9 gram, dan agar sebanyak 3 gram. Medium DKW yang sudah ditimbang dicampurkan dengan gula pada erlenmeyer dilarutkan dengan aquades secukupnya menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh air kelapa, BAP dan NAA sesuai konsentrasi yang dibutuhkan (Lampiran 4 dan 5). Kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai volume 300 ml dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, diukur pH media sebesar 5,8 dengan pH meter. Jika pH kurang 5,8 maka ditambahkan larutan NaOH 0,1 N dan jika lebih 5,8 maka ditambahkan HCL 0,1 N. Setelah pH diukur dengan baik, agar 3 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan media dipanaskan di atas hotplate stirrer hingga mendidih. Media yang telah masak dituangkan ke dalam botol kultur masing-masing sebanyak 25 ml. Botol kultur yang berisi media ditutup dengan penutup botol plastik dan diberi label pada masing masing perlakuan. Sterilisasi medium dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebelum digunakan, medium diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu ruang 22 °C untuk memastikan medium terhindar dari kontaminasi dan dapat digunakan.

3.4.4 Penanaman eksplan tunas rumput gajah

Eksplan yang digunakan adalah tunas bonggol *P. Purpureum* yang berukuran $\pm 1,5$ cm. Penanaman eksplan dilakukan di *Laminar Air Flow*. Untuk menjaga sterilitas dari alat, skalpel dan pinset di sterilkan dalam alkohol dan selalu dipanaskan sebelum digunakan. Botol kultur yang berisi tanaman yang akan dikultur dibuka dan planlet dikeluarkan dari botol kultur dengan pinset satu persatu, lalu diletakkan diatas cawan petri dan dipotong menggunakan skalpel dibagian tunas bonggol dengan ukuran masing-masing $\pm 1,5$ cm. Sebelum botol ditanami, terlebih dahulu di bagian mulut botol dipanaskan untuk menghindari kontaminasi. Dengan hati-hati tutup botol selanjutnya dibuka. Eksplan tunas diambil dan ditanam diatas media, setiap botol kultur terdiri dari 3 eksplan. Setelah selesai penanaman, mulut botol dipanaskan kembali. Tutup botol sebaiknya dipanaskan sebelum digunakan untuk menutup. Botol-botol kultur yang telah ditanami eksplan disimpan pada rak dalam ruang kultur dengan pencahayaan optimal dan suhu sekitar 23°C . Proses pengamatan dilakukan selama 42 hari. Apabila terdapat eksplan yang terkontaminasi maka segera dikeluarkan agar tidak menimbulkan kontaminasi pada eksplan lain.

3.5 Parameter penelitian

3.5.1 Pengamatan penunjang

a. Pengamatan visual

Kegiatan ini meliputi pengamatan secara keseluruhan kondisi umum pada eksplan yang ada, seperti terjadinya kontaminasi dan pencoklatan.

b. Pertumbuhan kalus

Mengamati ada atau tidaknya terbentuk kalus pada setiap perlakuan. Kalus ditandai dengan munculnya jaringan berwarna kehijauan pada permukaan eksplan.

3.5.2 Pengamatan utama

a. Jumlah tunas

Jumlah tunas dihitung pada akhir pengamatan (hari ke 42) dengan cara menghitung tunas yang tumbuh. Ditandai dengan adanya tonjolan kehijauan pada permukaan eksplan. Dikatakan tunas jika panjangnya sudah mencapai ± 2 mm.

b. Jumlah daun

Jumlah daun dihitung pada saat akhir pengamatan (hari ke 42) dengan cara menghitung jumlah daun yang terbentuk.

c. Jumlah akar

Jumlah akar yang tumbuh dihitung pada saat akhir pengamatan (hari ke 42). Ditandai dengan adanya tonjolan berwarna putih pada bagian bawah eksplan. Dikatakan akar jika panjangnya sudah mencapai ± 2 mm.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengamatan penunjang

4.1.1 Pengamatan visual

a. Kontaminasi

Kegiatan pengamatan visual meliputi pengamatan secara keseluruhan kondisi umum eksplan yang ada, pengamatan dilakukan setiap hari. Berdasarkan hasil pengamatan telah terjadi kontaminasi. Kontaminasi kultur *in vitro* adalah tumbuhnya mikroba yang tidak dikehendaki (kontaminan) pada media eksplan selama inkubasi. Tingkat kontaminasi yang telah terjadi dari keseluruhan eksplan cukup rendah yaitu sekitar 7,5% (Tabel 5). Kontaminasi terdapat pada perlakuan R6 (Air kelapa 50ml/L + BAP 0mg/L + NAA 0mg/L) dan R7 (Air kelapa 50ml/L + BAP 1mg/L + NAA 0,01mg/L).

Jenis kontaminasi yang ditemukan disebabkan oleh bakteri (Gambar 3). Menurut Shofiyani dan Damajanti (2015), sumber kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri menunjukkan ciri-ciri terbentuknya lapisan lendir berwarna putih dan lendir berwarna putih kecoklatan di bagian permukaan media yang terkontaminasi.



Gambar 3. Kontaminasi pada botol kultur

Kontaminasi merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan dalam kegiatan kultur jaringan. Kontaminasi kemungkinan disebabkan oleh tunas rumput gajah terkena kontaminan ketika proses pemotongan dan penanaman eksplan. Pemotongan dilakukan dengan cara mengeluarkan eksplan dari botol kultur, hal ini menyebabkan eksplan rentan terkontaminasi serta penutupan botol yang kurang rapat. Sehingga media kultur yang mengandung gula

dan nutrisi lainnya yang tujuannya untuk pertumbuhan eksplan, namun disisi lain hal ini bisa dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber makanan untuk pertumbuhannya.

Menurut Dwiyani (2015) bahwa sumber kontaminasi dapat berasal secara internal dari jaringan eksplan maupun secara eksternal dari luar jaringan eksplan. Secara internal dari jaringan eksplan bisa disebabkan oleh prosedur sterilisasi permukaan eksplan yang kurang sempurna sehingga eksplan tidak benar-benar bebas dari mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut kemudian tumbuh ketika eksplan ditanam pada media kultur. Sumber kontaminan eksternal dapat berasal dari lingkungan kultur seperti kondisi lingkungan, media kultur, meja kerja serta pekerja kultur. Kondisi eksplan rumput gajah pada umur 42 hari dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5. Kondisi eksplan pada berbagai kombinasi ZPT Air Kelapa, BAP dan NAA

	Kombinasi ZPT			Eksplan tunas rumput gajah	
	Air kelapa (ml/L)	BAP (mg/L)	NAA (ml/L)	Kontaminasi (%)	<i>Browning</i> (%)
R1	0	0	0	0	16,7
R2	0	1	0,01	0	8,3
R3	0	1	0,1	0	0
R4	0	2	0,01	0	0
R5	0	2	0,1	0	0
R6	50	0	0	50	25
R7	50	1	0,01	25	0
R8	50	1	0,1	0	0
R9	50	2	0,01	0	8,3
R10	50	2	0,1	0	0
Rata-rata				7,5	5,83

Upaya untuk mencegah terjadinya kontaminasi dapat dilakukan dengan penyemprotan tangan dengan alkohol sebelum pekerjaan dimulai, mencelupkan dan membakar alat diseksi sebelum digunakan untuk memotong/ menanam eksplan, serta penggunaan masker dan sarung tangan untuk mencegah kontaminasi.

b. Gejala Pencoklatan (*Browning*)

Permasalahan yang timbul pada kultur jaringan selain akibat terkontaminasi, persentase pencoklatan (*browning*) juga sering terjadi dalam

eksplan yang umumnya berkayu, karena didalam eksplan yang berkayu mempunyai kandungan fenol yang dapat menyebabkan eksplan yang akan kita kulturkan menjadi berwarna coklat dan akhirnya mati. Santoso dan Nursandi (2003) menyebutkan pencoklatan adalah suatu karakter yang munculnya warna coklat atau hitam yang sering membuat tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Pencoklatan pada eksplan dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 4. Pencoklatan pada eksplan

Pada akhir pengamatan jumlah persentase *browning* dari keseluruhan tunas rumput gajah yaitu 5,83%. Jumlah tunas yang mengalami *browning* dalam percobaan ini cukup rendah, diduga hal ini disebabkan eksplan yang digunakan dari tunas muda yang berumur 3-4 minggu. Tunas yang diambil dari eksplan muda memiliki aktivitas pembelahan sel yang masih tinggi, sehingga kemampuan pemulihan sel-sel yang rusak juga tinggi.

Perlakuan R6 (Air kelapa 50ml/L + BAP 0mg/L + NAA 0mg/L) pada tunas rumput gajah memiliki persentase tunas *browning* tertinggi yaitu 25%. Hal ini diduga karena kandungan senyawa fenol pada tunas perlakuan R6 lebih tinggi, selain itu daya adaptasi dan pemulihan sel lebih rendah dibanding dengan perlakuan lainnya. Semua perlakuan yang tidak mengalami *browning* diduga karena tunas yang digunakan memiliki kandungan senyawa fenol yang rendah serta memiliki daya pemulihan sel yang baik. Menurut Abdullah, Marziah dan Arif (1998) senyawa fenol pada sel-sel tanaman tidak terdistribusi secara merata, dan kandungan senyawa tersebut pada setiap tanaman bervariasi tergantung faktor genetik dan lingkungan.

Ada beberapa faktor penyebab terjadinya *browning* yaitu genotipe, eksplan dan proses pelukaan pada saat pengirisan atau pemotongan eksplan, pelukaan menyebabkan sel/ jaringan disekitar luka mengalami pencoklatan ketika berinteraksi dengan media. Menurut Herlindah (2019) bahwa pelukaan dapat menyebabkan pencoklatan saat pemotongan eksplan kurang benar, seperti penggunaan pinset atau pisau yang masih panas atau jarak subkultur yang terlalu dekat dengan api bunsen. Luka tersebut memacu stres pada tunas dan menyebabkan peningkatan aktivitas PAL (*Fenilaladenin amonia liase*) yang diikuti oleh produksi *fenilpropanoid* dan menyebabkan pencoklatan. Menurut Purnawati (2012) penggunaan jaringan tanaman muda dapat mengurangi kemungkinan *browning* pada eksplan, karena jaringan tanaman muda memiliki kandungan fenol yang lebih rendah dibandingkan jaringan tanaman yang sudah tua.

Upaya pencegahan *browning* dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya dengan penggunaan arang aktif, penggunaan antioksidan seperti asam askorbat dan yang paling umum adalah dengan mentransfer eksplan ke media baru atau subkultur. Menurut Dwiyani (2015) subkultur secara cepat 2-3 kali merupakan metode yang paling mudah untuk mengatasi *browning*.

4.1.2 Pertumbuhan kalus

Kalus adalah jaringan yang aktif membelah, dan tidak mengalami diferensiasi (fungsi yang spesifik). Pembentukan kalus sangat dipengaruhi oleh jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian hingga 42 hari semua kombinasi perlakuan tidak mampu memunculkan kalus. Hal ini diduga karena rasio sitokinin (Air kelapa dan BAP) terhadap auksin (NAA) dalam media terlalu tinggi sehingga tidak mampu memacu pertumbuhan kalus rumput gajah. Menurut Thomy (2012) menyatakan bahwa secara umum penambahan auksin pada konsentrasi tinggi memacu pembentukan kalus, sebaliknya jika perbandingan auksin dan sitokinin di dalam media lebih rendah akan memacu pertumbuhan eksplan beregenerasi membentuk organ.

Dilihat dari rasio konsentrasi yang dicobakan, konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibanding konsentrasi auksin sehingga eksplan tidak mampu membentuk kalus, melainkan membentuk tunas, daun dan akar. Hal ini sejalan dengan yang

diungkapkan Dwiyani (2015), bahwa rasio kedua golongan auksin dan sitokinin ini akan mempengaruhi arah morfogenesis yang terjadi pada kultur. Rasio auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan menstimulasi terbentuknya akar, sedangkan rasio sitokinin yang lebih tinggi dari auksin akan menginduksi terbentuknya tunas. Jika auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang sama (rasio 1) maka akan terbentuk kalus.

4.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama meliputi kegiatan pengambilan data berupa jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar. Pada setiap perlakuan pengambilan data dan pengukuran dilakukan setiap 1 minggu sekali selama 6 minggu (42 hari). Namun pada pelaksanaannya 3 unit botol kultur terkontaminasi. Oleh karena itu, analisis statistik dilakukan mengikuti seperti yang dideskripsikan oleh Gomez dan Gomez (2010) yaitu menentukan sidik ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan ulangan yang tidak sama.

Data hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh terhadap parameter jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar pada selang kepercayaan 95%. Selanjutnya dilakukan Uji Duncan untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh nyata, hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 6. Pengaruh kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA terhadap jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar

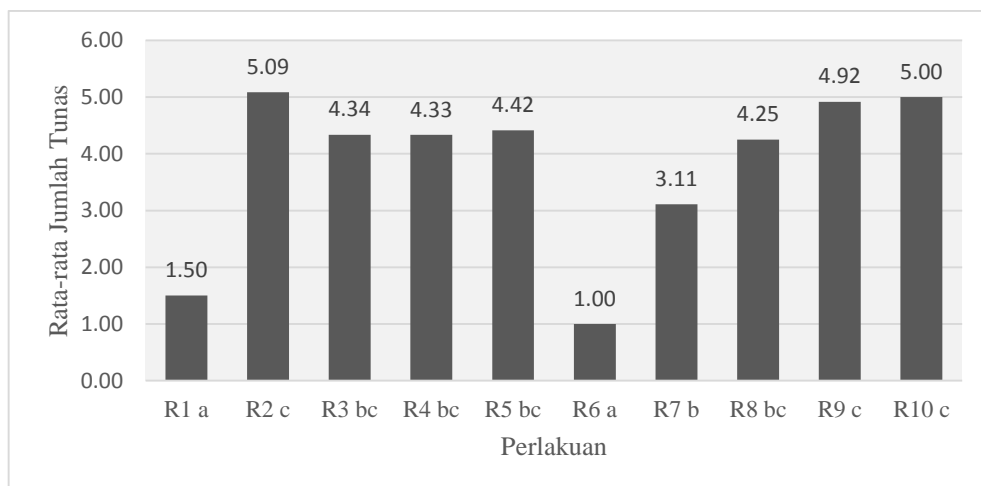
Perlakuan	Parameter		
	Jumlah Tunas	Jumlah Daun	Jumlah Akar
R1	1,50 a	6,79 a	6,21 b
R2	5,09 c	19,13 bc	1,54 a
R3	4,34 bc	19,33 bc	2,42 a
R4	4,33 bc	19,67 bc	1,17 a
R5	4,42 bc	18,75 bc	1,75 a
R6	1,00 a	7,50 a	0,00 a
R7	3,11 b	15,33 b	1,67 a
R8	4,25 bc	19,84 bc	1,92 a
R9	4,92 c	21,88 c	0,08 a
R10	5,00 c	20,25 bc	0,42 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf sama pada setiap kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan Uji Duncan pada selang kepercayaan 95%

4.2.1 Jumlah Tunas

Terbentuknya tunas dalam kultur *in vitro* sangat menentukan keberhasilan produksi bibit yang banyak, seragam, dan dalam waktu yang relatif singkat. Semakin banyak tunas yang terbentuk, maka bibit yang dihasilkan melalui kultur jaringan juga semakin banyak. Multiplikasi tunas dalam kultur *in vitro* dapat dipacu dengan menambahkan ZPT berupa sitokinin dalam media.

Data hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada media dasar DKW memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah tunas pada umur 42 hari setelah tanam. Keseimbangan konsentrasi sitokinin baik BAP maupun air kelapa yang ditambahkan dalam media mengakibatkan proses fisiologis dalam eksplan dapat berlangsung efektif dalam memacu pertumbuhan tunas, meskipun demikian konsentrasi sitokinin yang semakin tinggi tidak selalu memacu tumbuh tunas menjadi lebih banyak. Hal ini dimungkinkan setiap tanaman memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon penambahan ZPT pada konsentrasi tertentu. Histogram rata-rata jumlah tunas rumput gajah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 5. Rata-rata jumlah tunas pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam

Hasil analisis uji Anova, diketahui bahwa kombinasi air kelapa, BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas rumput gajah. Hal tersebut dapat diketahui dari nilai F hitung sebesar 8,05 lebih besar dari F tabel sebesar 2,25.

Karena F hitung melampaui nilai F tabel 5%, maka percobaan menghasilkan bukti adanya beda yang nyata. Sehingga dilakukan Uji DMRT dengan signifikansi 5%. Analisis statistik kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA terhadap Jumlah Tunas pada umur 42 hari dapat dilihat pada Lampiran 1.

Perlakuan R9 (Air kelapa 50 ml/L+BAP 2mg/L+NAA 0,01 mg/L) dipilih sebagai perlakuan yang paling efisien dalam menginduksi jumlah tunas. Hal tersebut karena selain mampu memberikan pengaruh nyata pada jumlah tunas, juga berpengaruh lebih baik pada pertumbuhan jumlah daun. Kombinasi BAP 1 mg/L dan NAA 0,01 mg/L sudah mampu menghasilkan jumlah tunas yang banyak. Hal tersebut disebabkan BAP merupakan golongan sitokinin aktif yang bila diberikan pada tunas pucuk akan mendorong proliferasi tunas yaitu keluarnya tunas lebih dari satu (Yusnita, 2003).

Perlakuan R1 (kontrol) dan R6 cukup sedikit dalam menginduksi pertumbuhan tunas baru dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan R1 tersebut memiliki rata-rata sebesar 1,50 tunas/eksplan, dan R6 memiliki rata-rata 1,00 tunas/eksplan. Perlakuan R6 menunjukkan bahwa penambahan air kelapa ke dalam media kultur tidak berpengaruh terhadap jumlah tunas. Hal ini diduga karena hormon endogen dalam kondisi yang seimbang dan optimal. Disamping itu penggunaan air kelapa sebagai ZPT kandungannya sulit ditentukan karena menurut Karyadi dkk., (1995) air kelapa berisi zat pengatur tumbuh sitokinin dan vitamin, jenis dan kadarnya sulit ditentukan karena tergantung dari jenis dan umur buah kelapa. Maka dari itu penambahan air kelapa saja tidak cukup untuk menghasilkan proliferasi tunas, namun dalam beberapa kasus juga dapat meningkatkan jumlah tunas per eksplan. Kombinasi air kelapa dengan ZPT dapat meningkatkan dua kali lipat hasil multiplikasi daripada media dengan air kelapa saja (Ardiansyah dkk., 2014).

Penggunaan air kelapa dalam kegiatan mikropropagasi sudah banyak dilakukan pada beberapa penelitian. Penggunaan air kelapa digunakan sebagai pengganti ZPT sintetik yang dijual di pasaran. Hal ini karena air kelapa merupakan endosperma cair yang banyak mengandung ZPT yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman, dengan konsentrasi kandungan yang berbeda untuk tiap

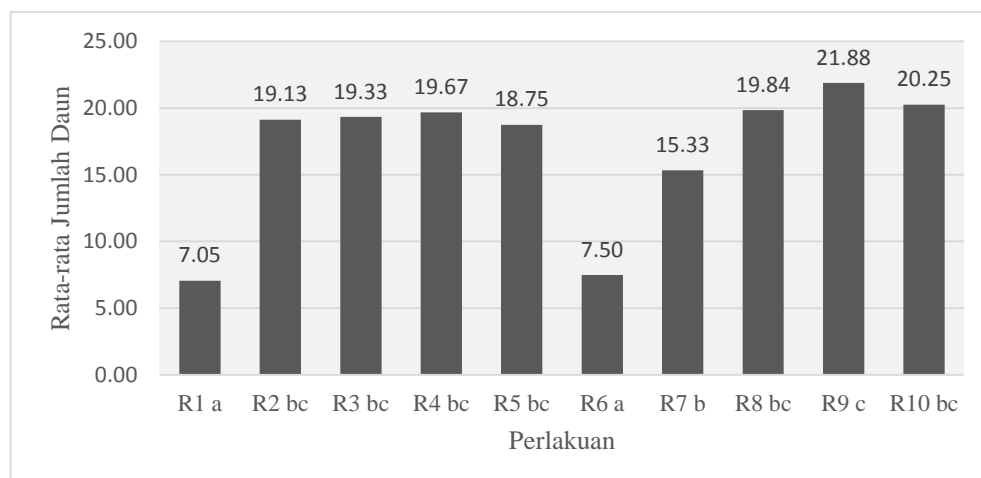
kemasakan buah kelapa. Air kelapa juga mengandung gula dan gula alkohol yang dapat memperbaiki pertumbuhan secara *in vitro* (Wattimena, 1991).

Keseimbangan konsentrasi yang efisien dari auksin dan sitokinin tidak dapat ditentukan secara pasti, karena sumber ZPT yang sama pada tanaman yang berbeda dapat memberikan efek yang berbeda. Menurut Hartman (2010) menyatakan bahwa tanaman yang berbeda dapat merespon hormon (sitokinin dan auksin) dalam berbagai konsentrasi secara berbeda pula. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kandungan konsentrasi hormon endogen tanaman itu sendiri.

4.2.2 Jumlah Daun

Daun merupakan komponen utama suatu tumbuhan untuk melaksanakan proses fotosintesis. Variabel pengamatan jumlah daun sangat diperlukan sebagai indikator pertumbuhan dan sebagai penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi seperti pembentukan biomassa tanaman (Sitompul dan Guritno, 1995).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam bahwa pemberian kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA memberikan pengaruh berbeda sangat nyata pada tingkat kepercayaan 95% terhadap pertumbuhan jumlah daun umur 42 hari setelah tanam. Hasil analisis statistik terhadap jumlah daun dapat dilihat pada Lampiran 2. Berikut histogram rata-rata jumlah daun rumput gajah dengan kombinasi zat pengatur tumbuh air kelapa, BAP dan NAA.



Gambar 6. Rata-rata jumlah daun pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam

Gambar tersebut terlihat bahwa pemberian kombinasi ZPT dapat meningkatkan jumlah daun pada perbanyakan rumput gajah. Perlakuan kontrol atau media DKW tanpa ZPT terlihat menghasilkan rata-rata jumlah daun yang cukup sedikit yaitu 6,79 daun/eksplan, bila dibandingkan dengan pemberian ZPT. Hal tersebut menandakan bahwa tanpa kehadiran ZPT eksplan rumput gajah tidak mampu menginduksi daun.

Setelah dilakukan Uji lanjut Duncan menyatakan pada perlakuan R9 (Air kelapa 50ml/L + BAP 2mg/L + NAA 0,01mg/L) memberikan pengaruh yang nyata terhadap penambahan jumlah daun, dan berpengaruh beda dengan perlakuan R1, R6 dan R7. Sedangkan pada perlakuan lainnya memberikan pengaruh yang sama pada penambahan jumlah daun rumput gajah. Rata-rata jumlah daun pada R9 yaitu 21,88 helai/eksplan yang merupakan jumlah daun terbanyak, hal ini diduga pada pemberian sitokinin yaitu BAP dan air kelapa pada konsentrasi tersebut cukup efektif. Pertumbuhan yang dipacu oleh sitokinin mencakup pembesaran sel yang lebih cepat dan pembentukan sel-sel yang lebih besar.

Media DKW yang dikombinasikan dengan ZPT air kelapa 50 ml/L + BAP 2 mg/L mampu menginduksi jumlah daun lebih tinggi dibanding kombinasi yang lain, yakni masing-masing memiliki rata-rata 21,88 daun/eksplan dan 20,25 daun/eksplan. Sebaliknya perlakuan R6 menghasilkan jumlah daun yang rendah dengan rata-rata 7,50 daun/eksplan. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan air kelapa tunggal pada konsentrasi 50 ml/L tidak mampu memberikan respon terhadap pertumbuhan daun. Hal tersebut diduga sel-sel tanaman belum mampu meningkatkan kemampuan jaringan untuk melakukan diferensiasi membentuk tunas. Dimana pemberian air kelapa saja tidak cukup untuk menginduksi jumlah tunas rumput gajah sehingga dibutuhkan tambahan ZPT lain. Jumlah daun dipengaruhi dengan banyaknya jumlah tunas pada tanaman tersebut, semakin banyak tunas kemungkinan jumlah daun akan semakin banyak pula.

4.2.3 Jumlah akar

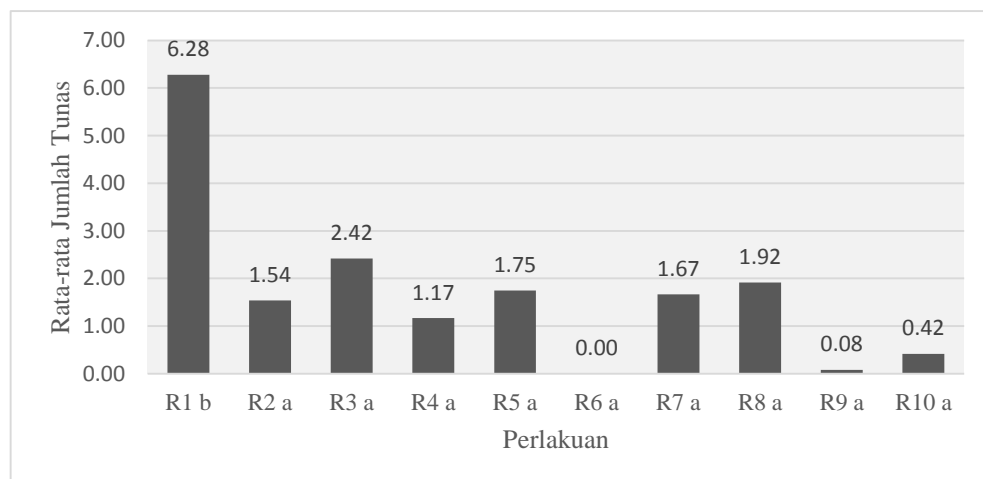
Akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral, dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Saat munculnya akar menjadi faktor yang penting dalam pertumbuhan tanaman karena

tanaman akan lebih mudah menyerap unsur-unsur yang terdapat dalam media kultur. Pada penelitian ini hampir seluruh kombinasi perlakuan diberikan ZPT dari golongan auksin, yaitu NAA (*Napthalene Acetic Acid*) sebanyak 0,01 dan 0,1 mg/L. Pemberian NAA dimaksudkan untuk memacu pembentukan akar, namun pada setiap perlakuan pertumbuhan akar sangat kecil. Secara visual, akar yang terbentuk pada eksplan *P. purpureum* berwarna putih kekuningan, mempunyai percabangan dan terbentuk pada dasar eksplan (Gambar 7).



Gambar 7. Akar yang terbentuk setelah penambahan BAP 1 mg/L umur 3 minggu pada kultur *in vitro* *P. purpureum*

Berikut histogram rata-rata jumlah akar rumput gajah dengan kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA.



Gambar 8. Rata-rata jumlah akar pada perlakuan kombinasi ZPT Air kelapa, BAP dan NAA pada umur 42 hari setelah tanam

Pengaruh kombinasi ZPT air kelapa, BAP dan NAA terhadap jumlah akar rumput gajah dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis diketahui kombinasi

ZPT air kelapa, BAP dan NAA berpengaruh nyata terhadap jumlah akar rumput gajah. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai F hitung sebesar 4,94 dan F tabel sebesar 2,25. Karena nilai F hitung lebih besar maka dilakukan Uji lanjut DMRT dengan signifikansi 5%. Hasil Uji DMRT 5% didapatkan bahwa perlakuan R1 yaitu media DKW tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (kontrol) mampu menghasilkan jumlah akar terbanyak, sedangkan penambahan kombinasi ZPT tidak mampu menginduksi pertumbuhan akar secara maksimal. Hal tersebut karena ketersediaan sitokinin di dalam media menyebabkan pertumbuhan akar menjadi terhambat. Sehingga perlakuan R1 menghasilkan jumlah akar terbanyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu 6,21 akar/eksplan pada umur 42 hari setelah tanam.

Media DKW tanpa penambahan ZPT ke dalam media kultur tetap dapat merangsang pertumbuhan akar. Menurut Rasud, Ulfa dan Baharia (2015), medium tanpa sitokinin lebih baik daripada medium yang mengandung sitokinin untuk pertumbuhan akar. Selain itu, konsentrasi auksin (NAA) yang digunakan dalam penelitian ini hanya 0,1 dan 0,01 mg/L, sedangkan untuk perakaran dibutuhkan tambahan auksin 1-5 ppm (Nisa dan Rodinah, 2005).

Selain itu pembentukan akar tidak hanya dipengaruhi hormon auksin eksogen yang ditambahkan dalam media. Tetapi adanya pengaruh dari hormon auksin endogen yang terkandung dalam tanaman rumput gajah itu sendiri. Sehingga, mampu merangsang pertumbuhan atau pembentukan akar meskipun tanpa penambahan hormon auksin eksogen kedalam media DKW. Hal ini sesuai pendapat Gunawan (2008), yang mengemukakan bahwa zat pengatur tumbuh endogen merupakan faktor untuk memacu proses tumbuh dan morfogenesis eksplan, baik membentuk kalus, akar, tunas dan planlet.

Dari hari ke-7 rata-rata tertinggi pembentukan akar terjadi pada media DKW tanpa pemberian ZPT yaitu 0,67 akar/eksplan, dan pada hari ke-42 mencapai rata-rata 6,21 akar/eksplan. Sesuai dengan penelitian Al-Hafiiz dan Ermayanti (2013) persentase tertinggi pembentukan akar terjadi pada media MS tanpa ZPT yaitu 100%. Semakin kecil konsentrasi BA yang diberikan ke dalam media, semakin besar persentase pembentukan akar. Marlin (2005) menyatakan bahwa pada eksplan jahe, penambahan BAP dalam konsentrasi yang lebih tinggi pada

media menyebabkan eksplan lebih terfokus pada multiplikasi tunas sehingga menyebabkan terhambatnya eksplan untuk membentuk akar.

Pemberian sitokinin berupa BAP dan air kelapa tidak menunjukkan penambahan jumlah akar yang signifikan selama 42 hari pengamatan. Pemberian sitokinin cenderung menghambat pertumbuhan akar. Hal tersebut karena BAP memiliki sifat yang sangat aktif yang berperan dalam diferensiasi sel, memicu pertumbuhan tunas, proliferasi tunas ketiak dan justru menghambat pertumbuhan akar (Wattimena, 1998). Namun jumlah akar meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi auksin NAA. Seperti halnya penambahan NAA 0,1 mg/L dalam media mampu menghasilkan akar lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi 0,01 mg/L. Mukhtar, dkk (2005) menyatakan bahwa pemberian 2 mg/L NAA dapat memberikan hasil terbaik terhadap panjang akar *Citrus reticulata*, hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi NAA yang optimum dalam induksi dan pemanjangan akar setiap taman berbeda-beda dan dipengaruhi keseimbangan antara hormon endogen (IAA) dan hormon eksogen.

Berdasarkan hasil dari parameter jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar menunjukkan bahwa perlakuan R9 yaitu kombinasi ZPT air kelapa 50 ml/L + BAP 2 mg/L + NAA 0,01 mg/L merupakan kombinasi yang paling efisien dalam menginduksi jumlah tunas dengan rata-rata 4,92 tunas/eksplan, jumlah daun 21,88 helai/eksplan, dan pertumbuhan jumlah akar 0,08 akar/eksplan. Hidayat (1995) menyatakan bahwa morfogenesis jaringan dipengaruhi oleh keseimbangan interaksi ZPT yang ditambahkan dari luar (eksogen) dan hormon tumbuh yang dihasilkan sel itu sendiri. Keseragaman ukuran dan cara pengambilan eksplan kemungkinan besar tidak diikuti dengan keseragaman hormon endogen tanaman sehingga penambahan ZPT eksogen ke dalam media kultur akan menghasilkan respon yang bervariasi.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dan didukung dengan beberapa literatur, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian kombinasi air kelapa, BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) pada media DKW (*Driver Kuniyuki Walnut*) berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar tanaman rumput gajah.
2. Media DKW yang ditambahkan ZPT air kelapa 50 ml/L + BAP 2 mg/L + NAA 0,01 mg/L berpengaruh dalam meningkatkan jumlah tunas dan daun, namun tidak memberikan hasil yang baik terhadap jumlah akar.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan terkait penelitian ini antara lain :

1. Untuk multiplikasi rumput gajah secara *in vitro* dapat digunakan media DKW dengan penambahan 50 ml/L air kelapa, 2 mg/L BAP dan 0,01 mg/L NAA.
2. Perlu penelitian lanjutan dengan pemberian zat pengatur tumbuh yang sesuai untuk kemudian diakarkan sampai tahap aklimatisasi planlet rumput gajah (*P. purpureum*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. 2009. Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan. Alfabeta. Bogor.
- Abdullah, M.A., M. Marziah, dan A.B. Arif. 1998. Establishment of Cell Suspension Cultures of *M. elliptica* for the Production of Anthraquinones. *Plant cell, Tissue and Organ culture*. 54 : 173-182.
- Ajjjah, N., S. Hartati., R. Rubiyo., D. Sukma dan Sudarsono. 2016. Effective cacao somatic embryo regeneration on kinetin supplemented medium DKW medium and somaclonal variation asesment using SSRs markers. *AGRIVITA journal of Agricultural Science*, 38 (1) : 80-92
- Al Hafiizh, E. dan T. M. Ermayanti. 2013. Perbanyak Rumpun Gajah (*P. purpureum*) Secara In Vitro dengan Penambahan *Benzyl Adenin* dan Giberelin. Prosiding Seminar Nasional dan Forum Komunikasi Industri Peternakan dalam Rangka Mendukung Kemandirian Daging dan Susu Nasional. Hal : 439-449.
- Amaliah, R. 2016. Pengaruh Berbagai Konsentrasi NAA dan BAP Terhadap Pertumbuhan Rumpun Gajah Mini (*Pennisetum purpureum*) Secara In Vitro. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar.
- Amutha, S., A. Ganapathi, and M. Muruganatham. 2003. In Vitro organogenesis and Plant formation in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 72 : 203-207.
- Anjar. 2008. Masalah-masalah dalam kultur jaringan. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Ardiansyah, R., Supriyanto., A.S. Wulandari., B. Subandy, dan Y. Fitriani. 2014. Teknik Sterilisasi Eksplan dan Induksi Tunas dalam Mikropropagasi Tembesu (*Fagraea fragrans*). *Jurnal Silvikultur Tropika* 5 (2) : 167-173.
- David. 2008. Pembuatan Media MS Untuk Kultur Jaringan. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Dewita, E., D. Priambodo, dan S. Ariyanto. 2013. Penentuan Jarak PLTN Dengan Sumur Minyak Untuk Enhanced Oil Recovery (EOR) Ditinjau dari Aspek Kehilangan Panas dan Keselamatan. *Jurnal Pengembangan Energi Nuklir*. 15 (2) :127-137.
- Dwiyani, R. 2015. Kultur Jaringan Tanaman. Pelawa Sari. Bali.
- Ermayanti, T.M., Y. Andri., D.R. Wulandari dan E. Al Hafiidz. 2002. Mikropropagasi *Artemisia cina* dan *Artemisia annua*. Seminar Nasional Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah. Bogor 3-4 September 2002.
- Fitriani, H. 2008. Kajian Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Multiplikasi Tanaman *Artemisia annua* L. Secara In Vitro, Surakarta. Skripsi Fakultas Pertanian UNS.

- Gan Thay Kong. 2002. Peran Biomassa Bagi Energi Terbarukan. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- George E. F., M.A. Hall, and G.J. De- Klerk (2008). Plant Propagation Tissue Culture 3rd Edition. Netherlands: Springer.
- Gomez, K.A dan A.A. Gomez. 2010. Prosedur Statistika untuk Penelitian Pertanian. (terjemahan: E. Sjamsuddin dan J.S. Baharsjah). Edisi Kedua. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta.
- Gonggo, B. M., B. Hermawan., and D. Anggraeni. 2005. Pengaruh jenis tanaman penutup dan pengolahan tanah terhadap sifat fisika tanah pada lahan alang-alang. Jurnal ilmu-ilmu Pertanian Indonesia. 7 (1) : 44-55.
- Gunawan, L. W. 2008. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 36-101.
- Handayani, I.P. 2002. Laporan penelitian pendayagunaan vegetasi invasi dalam proses agradasi tanah untuk percepatan restorasi lahan kritis. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu, Bengkulu.
- Hapsoro, D., dan Yusnita. 2018. Kultur Jaringan Teori dan Praktik. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Hartman, H.T., D.E. Kester., F.T. Davies and R.L. Geneve. 2010. Plant Propagation Principles and Practiese, Ed. New Delhi : Prentice Hall of Insia Private Limited.
- Haryadi & Pamenang. 1983. Pengaruh Sukrosa Dan Air Kelapa pada Kultur Jaringan Anggrek. Bul Agron, 14 (1) : 4-8.
- Herlindah, C., K. Suada., dan Adiartayasa. 2019. Kultur Jaringan Anthurium pada Media MS dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA.
- Heuze, V., G. Tran., S. Giger-Reverdin., dan Lebas F. 2016. Elephant grass (*Pennisetum purpureum*). Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO (online). Tersedia pada: [Http://www.feedipedia.org/node/395](http://www.feedipedia.org/node/395). [15 Desember 2019].
- Hidayat E.B. 1995. Anatomi Tumbuhan Berbiji. Bandung : Penerbit ITB.
- Imaniah B. W. 2016. Pengaruh Kombinasi BAP (*6-Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Napthalene Acetic Acid*) Terhadap Induksi Tunas Aksilar Cendana (*Santalum album* L.). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Malang.
- Indriani, B.S. 2014. Efektifitas Substitusi Sitokinin dengan Air Kelapa pada Medium Multiplikasi Tunas Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
- Ikeuchi, M., K. Sugimoto dan Iwase. (2013). Plant Callus : Mechanisms of Induction and Repression. The Plant Cell. 25 : 3159-3173.

- Karyadi A. K., Luthfy dan Buchory, 1995. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Giberelin Terhadap Pertumbuhan Stek Kentang Secara In Vitro. *J. Hort.* 5 (4) : 38-47.
- Kristina N.N. dan F.S. Syahid. 2012. Pengaruh Air Kelapa Terhadap Multiplikasi Temulawak di Lapangan. *Jurnal Littri*, 18 (3) : 125-134.
- Lestari. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 7 (1) : 63-68.
- Manetje, L., dan R.M. Jones. 2000. Sumber Daya Nabati Asia Tenggara. No. 4. Pakan. PT. Balai Pustaka Jakarta bekerjasama dengan Prosea Indonesia.
- Manglayang Agribusiness cooverative. 2005. Hijauan Pakan Ternak : Rumput Gajah. <http://www.manglayang.blogsome.com>.
- Marlin. 2005. Regenerasi In Vitro planlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada Beberapa Taraf Konsentrasi BAP dan NAA. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 7 (1). ISSN 1411-0067.
- Marlina, N. & E. Rohayati. 2009. Teknik Aklimatisasi Planlet Anyelir (*Dianthus caryophyllus* L.) untuk Tanaman Induk. *Buletin Teknik Pertanian* 14 (2): 72- 75.
- Mildaryani, W. 2012. Bobot Biomassa dan Nilai Panas Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) pada Berbagai Dosis Pupuk N, P, K, di Lahan Pasir Pantai, *Jurnal AgriSains* 3 (4) : 53-62.
- Mufaritim, A., Lukiwati dan Sutarno. 2012. Pertumbuhan dan Bobot Bahan Kering Rumput Gajah dan Rumput Raja Pada Perlakuan Aras Auksin yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*. 15 (2) 1-15.
- Mukhtar, R., M.M. Khan., B. Fatima., M. Abas dan A. Shahid. 2005. In vitro Regeneration and Multiple Shoots Induction in *Citrus reticulata*. *International Jurnal Agri. Biol* 7 (3).
- Nisa, C., dan Rodinah. 2005. Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin. *Bioscientiae* 2 (6) : 241-348.
- Okaraonye, C.C., and J.C. Ikewuchi. 2009. Nutritional and antinutritional components of *Pennisetum purpureum* Schumach. *Pakistan Journal of Nutritional* 8 (1): 32-34.
- Pongtongkam, P., S. Peyachoknagul., J.Arananant., A. Thongpan, dan T. Sayan. 2006. Production of Salt Tolerance Dwarf Napier Grass (*Pennisetum purpureum* cv Mott) Using Tissue Culture and Gamma Irradiation. *Kasetsart J.* 40 (2) : 625-633.
- Pratiwi, E. 2018. Efektivitas Konsentrasi Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Terhadap Pertmbuhan Eksplan Krisan (*Dendratherma grandiflora* Tzvelev) Kultivar 'Shamrock Green' Secara In Vitro. Skripsi FMIPA Unila.

- Purnamaningsih, R., dan M., Ashrina. 2011. Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin Dari *Artemisia annua* L. Jurnal Berita Biologi 10 (4) : 481-489.
- Purnawati. 2012. Sterilisasi Tunas Jabon (*Anthocephalus cadamba*) untuk Mendapatkan Eksplan Steril secara In Vitro. Skripsi. IPB Bogor.
- Rahayu, E. A. 2001. Perbandingan Daya Tumbuh Dan Kesempurnaan Tumbuh Stek Rumpun Gajah (*Pennisetum purpureum*) Yang Disimpan Dengan Metode Berbeda. Skripsi Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.
- Ramasamy, N., T. Ugandhar., M. Praveen., P. Venkataiah., M. Rambabu, M. Upender and K. Subhash. 2005. Somatic Embryogenesis and Planlet Regeneration From Cotyledons and Leaf Explants of *Solanum surattense*. Indian J. Biotech. 4 (1) : 414-418.
- Rasud, Y., S. Ulfa dan Baharia. 2015 Pertumbuhan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sitokinin Secara In Vitro. Agroland 22 (3) : 197-2014
- Reksohadiprojo, S. 1985. Produksi Tanaman Hijauan Tanaman Ternak Tropik. BPFE. Yogyakarta.
- Roostika, I., Mariska dan R. Purnamaningsih. 2005. Regenerasi Tanaman Sedap Malam (*Pimpinella pruatjan* M) Melalui Organogenesis dan Embriogenesis Somatik. Jurnal Agro Biogen. 5 (2) : 68-73.
- Rukmana, R. 2005. Budidaya Rumput Unggul, Hijauan Makanan Ternak. Yogyakarta. Kanisius.
- Santoso, N dan F. Nursandi. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. UMM Press. Malang.
- Sari, N.K. 2009. Pembuatan Bioetanol Dari Rumput Gajah Dengan Destilasi Batch, Jurnal Teknik Kimia 8 (3) : 94-103.
- Sitompul, S. M. dan B. Guritno. 1995. Analisis Pertumbuhan Tanaman. Yogyakarta. Gajah Mada University Press. 421 hal.
- Sitorus, T.F. 2016. Budidaya Hijauan Makanan Ternak Unggul Untuk Pakan Ternak Ruminansia. Program Pengabdian Masyarakat. Samosir
- Shofiyani, A. dan N. Damajanti. 2015. Pengembangan metode Sterilisasi dan Macam Media untuk Perbanyak Durian (*Durio zibethinus* L) Secara In Vitro. Jurnal Sains Dasar 2 (1) : 20-24.
- Thomy, Z. 2012. Effect of Plant Growth Regulator 2,4 D and BAP on Callus Growth of Plant Producing Gaharu. Prasiding Seminar Hasil Nasional Biologi. Medan.
- Tuhuteru, S., M. L. Hehanussa dan S.H.T. Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek pada Media Kultur In Vitro dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. Jurnal Agrologia 12 (1) : 1-12.

- USDA. 2012. Plants profile for *Pennisetum purpureum*. National Resources Conservation Services. United State Department of Agricultural. Tersedia pada <http://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=PEPU2> diakses pada 6 Januari 2020.
- Vanis, R. D. 2007. Pengaruh Pemupukan dan Internal Defoliiasi Terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Rumput Gajah di Bawali Tegakan Pohon Sengon. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Wattimena, G.A. 1998. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Bogor : PAU Institut Pertanian Bogor.
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Yuwono, T. 2008. Bioteknologi Pertanian Cetakan kedua. Gadjah Mada University press. Yogyakarta.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara, Jakarta.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis statistik jumlah tunas rumput gajah

a. Rata-rata jumlah tunas

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata	Notasi
	1	2	3	4			
R1	1,00	1,67	2,00	1,33	6,00	1,50	a
R2	4,67	4,67	5,00	6,00	20,34	5,09	c
R3	4,67	4,67	4,00	4,00	17,34	4,34	bc
R4	5,33	3,00	4,00	5,00	17,33	4,33	bc
R5	4,00	4,33	5,00	4,33	17,66	4,42	bc
R6	-	-	1,00	1,00	2,00	1,00	a
R7	-	2,67	2,33	4,33	9,33	3,11	b
R8	3,33	2,67	4,00	7,00	17,00	4,25	bc
R9	4,00	4,67	5,67	5,33	19,67	4,92	c
R10	4,33	4,67	5,67	5,33	20,00	5,00	c
	31,33	33,02	38,67	43,65	146,67		

Keterangan : -) : Eksplan mengalami kontaminasi

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{\text{Total}^2}{n} \\
 &= \frac{(146,67)^2}{37} \\
 &= \frac{21.512,09}{37} \\
 &= 581,40 \\
 \text{JK Total} &= \sum X^2 - \text{FK} \\
 &= (1,00^2) + (1,67^2) + (2,00^2) + (1,33^2) + (4,67^2) + \dots + (5,33^2) - 581,40 \\
 &= 662,70 - 581,40 \\
 &= 81,30 \\
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum I^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{6,00^2 + 20,34^2 + 17,34^2 + 17,33^2 + 17,66^2 + 2,00^2 + 9,33^2 + \dots + 20,00^2}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - 581,40 \\
 &= \frac{36,00 + 413,72 + 300,68 + 300,33 + 311,88 + 4,00 + 87,05 + \dots + 400}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - 581,40 \\
 &= 640,63 - 581,40 \\
 &= 59,23 \\
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 81,30 - 59,23 \\
 &= 22,06 \\
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db perlakuan}} = \frac{59,23}{9} = 6,58
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db galat}} = \frac{22,06}{27} = 0,82 \\ \text{F Perlakuan} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} = \frac{6,58}{0,82} = 8,03 \end{aligned}$$

b. Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	db	JK	KT	Fh	F05
Perlakuan	9	59,23	6,58	8,03*	2,25
Galat	27	22,06	0,82		
Total	36	81,30			

Keterangan : F hitung > F tabel menunjukkan H0 ditolak

c. Analisis Lanjutan Uji Jarak Berganda Duncan

$$S_x = \frac{\sqrt{\text{KT Galat}}}{r} = 0,45$$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSR	2,91	3,06	3,14	3,21	3,27	3,3	3,34	3,36	3,38
LSR 5%	1,32	1,39	1,42	1,45	1,48	1,49	1,51	1,52	1,53

Rata-rata	Beda rata-rata										LSR	
R6	1.00											
R1	1.50	0.50										1.32
R7	3.11	2.11*	1.61*									1.39
R8	4.25	3.25*	2.75*	1.14								1.42
R4	4.33	3.33*	2.83*	1.22	0.08							1.45
R3	4.34	3.34*	2.84*	1.23	0.09	0.01						1.48
R5	4.42	3.42*	2.92*	1.31	0.17	0.09	0.08					1.49
R9	4.92	3.92*	3.42*	1.81*	0.67	0.59	0.58	0.50				1.51
R10	5.00	4.00*	3.50*	1.89*	0.75	0.67	0.66	0.58	0.08			1.52
R2	5.09	4.09*	3.59*	1.98*	0.84	0.76	0.75	0.67	0.17	0.09		1.53

Keterangan : *) : eksplan berbeda nyata

Lampiran 2. Analisis statistik jumlah daun rumput gajah

a. Rata-rata jumlah daun rumput gajah

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata	Notasi
	1	2	3	4			
R1	6,00	7,33	8,50	5,33	27,16	6,79	a
R2	15,00	22,00	21,00	18,50	76,50	19,13	bc
R3	21,33	20,00	18,33	17,67	77,33	19,33	bc
R4	22,67	19,00	18,33	18,67	78,67	19,67	bc
R5	17,33	21,00	20,67	16,00	75,00	18,75	bc
R6	-	-	7,00	8,00	15,00	7,50	a
R7	-	11,33	15,00	19,67	46,00	15,33	b
R8	16,67	14,67	19,00	29,00	79,34	19,84	bc
R9	21,50	20,67	22,33	23,00	87,50	21,88	c
R10	17,33	19,67	21,67	22,33	81,00	20,25	bc
	131,83	155,67	171,83	178,17			

Keterangan : -) : Eksplan mengalami kontaminasi

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{\text{Total}^2}{n} \\
 &= \frac{(643,50)^2}{37} \\
 &= \frac{414.092,25}{37} \\
 &= 11.191,68 \\
 \text{JK Total} &= \sum X^2 - \text{FK} \\
 &= (6,00^2) + (7,33^2) + (8,50^2) + (5,33^2) + (15,0^2) + \dots + (22,33^2) - 11.191,68 \\
 &= 12.290,85 - 11.191,68 \\
 &= 1.099,17 \\
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum I^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{27,16^2 + 76,50^2 + 77,33^2 + 78,67^2 + 75,00^2 + 15,00^2 + 46,00^2 + \dots + 81,00^2}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - \text{FK} \\
 &= \frac{737,67 + 5852,25 + 5979,93 + 6188,97 + 5625 + 225 + 2116 + \dots + 6561}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - \text{FK} \\
 &= 11.771,81 - 11.191,68 \\
 &= 850,13 \\
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1.099,17 - 850,13 \\
 &= 249,04 \\
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db perlakuan}} = \frac{850,13}{9} = 94,46 \\
 \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db galat}} = \frac{249,04}{27} = 9,22
 \end{aligned}$$

$$F \text{ Perlakuan} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} = \frac{94,46}{9,22} = 10,24$$

b. Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	db	JK	KT	Fh	F05
Perlakuan	9	850,13	94,46	10,24*	2,25
Galat	27	249,04	9,22		
Total	36	1099,17			

Keterangan : F hitung > F tabel menunjukkan H0 ditolak

c. Analisis lanjutan Uji Jarak Berganda Duncan

$$S_x = \frac{\sqrt{KT \text{ Galat}}}{r} = 1,52$$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSR	2,91	3,06	3,14	3,21	3,27	3,3	3,34	3,36	3,38
LSR 5%	4,42	4,65	4,77	4,87	4,96	5,01	5,07	5,10	5,13

Rata-rata	Beda rata-rata										LSR
R1 6.79											
R6 7.50	0.71										4.42
R7 15.33	8.54*	7.83*									4.62
R5 18.75	11.96*	11.25*	3.42								4.77
R2 19.13	12.34*	11.63*	3.79	0.38							4.87
R3 19.33	12.54*	11.83*	4.00	0.58	0.21						4.96
R4 19.67	12.88*	12.17*	4.33	0.92	0.54	0.34					5.01
R8 19.84	13.05*	12.34*	4.50	1.09	0.71	0.50	0.17				5.07
R10 20.25	13.46*	12.75*	4.92	1.50	1.13	0.92	0.58	0.41			5.10
R9 21.88	15.09*	14.38*	6.54*	3.13	2.75	2.54	2.21	2.04	1.63	5.13	

Keterangan : *) : eksplan berbeda nyata

Lampiran 3. Analisis statistik jumlah akar rumput gajah

a. Rata-rata Jumlah Akar

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata	Notasi
	1	2	3	4			
R1	6,00	8,00	6,50	4,33	24,83	6,21	b
R2	1,33	0,00	3,33	1,50	6,16	1,54	a
R3	5,00	3,00	1,00	0,67	9,67	2,42	a
R4	1,67	1,67	1,00	0,33	4,67	1,17	a
R5	2,67	1,00	3,33	0,00	7,00	1,75	a
R6	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	a
R7	-	0,00	4,00	1,00	5,00	1,67	a
R8	0,00	2,00	5,67	0,00	7,67	1,92	a
R9	0,00	0,33	0,00	0,00	0,33	0,08	a
R10	0,00	0,00	0,00	1,67	1,67	0,42	a
	10,67	16	24,83	9,5			

Keterangan : -) : Eksplan mengalami kontaminasi

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{\text{Total}^2}{n} \\
 &= \frac{(67,0)^2}{37} \\
 &= \frac{44,89}{37} \\
 &= 121,32 \\
 \text{JK Total} &= \sum X^2 - \text{FK} \\
 &= (6,00^2) + (8,00^2) + (6,50^2) + (4,33^2) + (1,33^2) + \dots + (1,67^2) - 121,32 \\
 &= 293,5 - 121,32 \\
 &= 172,18 \\
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum I^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{24,83^2 + 6,16^2 + 9,67^2 + 4,67^2 + 7,00^2 + 0,00^2 + 5,00^2 + \dots + 1,67^2}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - 121,32 \\
 &= \frac{616,53 + 37,95 + 93,51 + 21,81 + 49,00 + 0,00 + 25,00 + \dots + 2,79}{4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 4 \quad 2 \quad 3 \quad 4} - 121,32 \\
 &= 228,46 - 121,32 \\
 &= 107,14 \\
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 172,18 - 107,14 \\
 &= 65,04 \\
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db perlakuan}} = \frac{107,14}{9} = 11,90 \\
 \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db galat}} = \frac{65,04}{27} = 2,41
 \end{aligned}$$

$$F \text{ Perlakuan} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} = \frac{11,90}{2,41} = 4,94$$

b. Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	db	JK	KT	Fh	F05
Perlakuan	9	107,14	11,90	4,94*	2,25
Galat	27	65,04	2,41		
Total	36	172,18			

Keterangan : F hitung > F tabel menunjukkan H0 ditolak

c. Analisis Lanjutan Uji Jarak Berganda Duncan

$$S_x = \frac{\sqrt{KT \text{ Galat}}}{r} = 0,78$$

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSR	2,91	3,06	3,14	3,21	3,27	3,3	3,34	3,36	3,38
LSR 5%	2,26	2,38	2,44	2,49	2,54	2,56	2,59	2,61	2,62

Rata-rata	Beda rata-rata									LSR
R6 0.00										
R9 0.08	0.08									2.26
R10 0.42	0.42	0.34								2.38
R4 1.17	1.17	1.09	0.75							2.44
R2 1.54	1.54	1.46	1.12	0.37						2.49
R7 1.67	1.67	1.58	1.25	0.50	0.13					2.54
R5 1.75	1.75	1.67	1.33	0.58	0.21	0.08				2.56
R8 1.92	1.92	1.84	1.50	0.75	0.38	0.25	0.17			2.59
R3 2.42	2.42	2.34	2.00	1.25	0.88	0.75	0.67	0.50		2.61
R1 6.21	6.21*	6.13*	5.79*	5.04*	4.67*	4.54*	4.46*	4.29*	3.79*	2.62

Keterangan : *) : eksplan berbeda nyata

Lampiran 4. Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh

Larutan Stok BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) yang tersedia yaitu 10 mg dalam 100 ml aquades, dengan perhitungan:

a) Larutan stok BAP 100 mg = $\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$

b) Larutan stok NAA 100 mg = $\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$

Lampiran 5. Takaran Zat Pengatur Tumbuh

a) Perlakuan pemberian BAP

1. Konsentrasi 0,01 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 0,01 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,01 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 0,03 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 0,1 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 0,1 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,1 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 0,3 \text{ ml}$$

b) Perlakuan pemberian NAA

1. Konsentrasi 1 mg/L

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 0,01 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 3 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 2 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ mg} \times V1 = 2 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2 \text{ mg} \times 300 \text{ ml}}{100 \text{ mg}}$$

$$V1 = 6 \text{ ml}$$

c) Perlakuan pemberian Air Kelapa

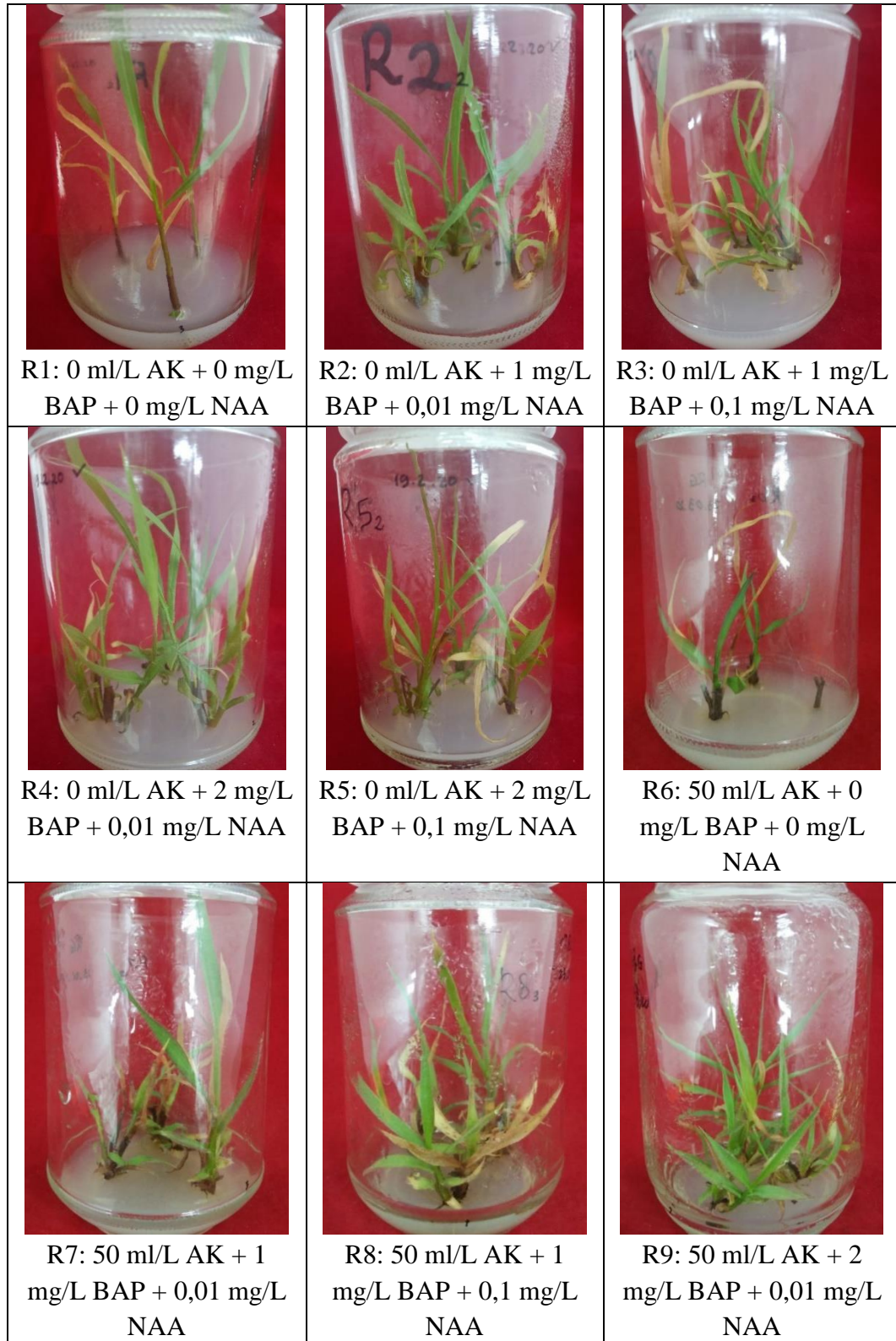
Konsentrasi 50 ml/L

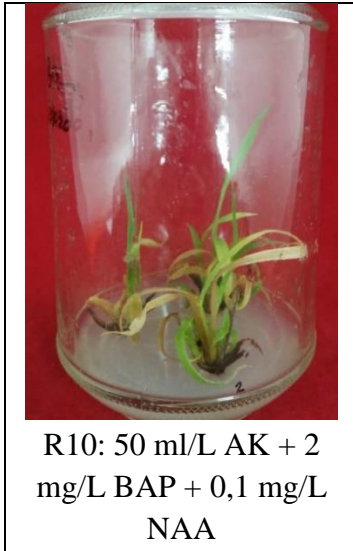
$$\text{Untuk } 300 \text{ ml media} = \frac{300 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 50 \text{ ml} = 15 \text{ ml}$$

Lampiran 6. Komposisi media DKW (Caisson Labs)

Komponen	(mg/L)
Ammonium nitrat (NH_4NO_3)	1416.0
Boric acid (H_3BO_3)	4.8
Calcium chloride, Anhydrous (CaCl_2)	112.5
Calcium nitrate, Tetrahydrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1367.0
Cupric sulfate, Pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.25
EDTA, Disodium Salt, Dihydrate ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	45.4
Ferrous sulfate, Heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	33.8
Glycine ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$)	2.0
Magnesium sulfate, Anhydrous (MgSO_4)	361.49
Manganese sulfate, Monohydrate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	33.5
Molybdic Acid Sodium Salt, Dihydrate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.39
Myo-Inositol ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	100.0
Nickel sulfate, Hexahydrate ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.005
Nicotinic acid ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$)	1.0
Potassium Phosphate, Monobasic, Anhydrous (KH_2PO_4)	265.0
Potassium sulfate, Anhydrous (K_2SO_4)	1559.0
Thiamine, Hydrochloride ($\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$)	2.0
Zinc nitrate, Hexahydrate ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	17.0

Lampiran 7. Gambar hasil pertumbuhan eksplan Rumput Gajah secara *In Vitro*





Lampiran 8. Foto Kegiatan Penelitian



	Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI	Kode Dok : P2BIOTEK/FR/DK/7.5-2-1
		No Rev : 0
LIPI	Kesediaan Membimbing	Tanggal : 24/11/2019
		Halaman: 1/1

KESEDIAAN MEMBIMBING

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erwin Al Hafiizh, M.Si
 NIP : 197510192007011005
 Pangkat : III/d
 Jabatan : Peneliti Ahli Muda

bersedia membimbing siswa/mahasiswa sebagai berikut:

Nama : Isma Alfiana
 NIM : 165001015
 Universitas/Sekolah : Universitas Siliwangi
 Jurusan/Departemen : Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian

untuk melakukan penelitian tugas akhir S1 dengan topik “Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW terhadap Pertumbuhan Eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) Secara In Vitro” di laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI mulai 3 Februari 2020 sampai dengan April 2020.

Jika pembimbing mengalami halangan atau tidak dapat melaksanakan kegiatan bimbingan lagi, maka tugas membimbing akan dilimpahkan kepada :

Nama : Dr. Tri Muji Ermayanti
 NIP : 196108291986032001
 Pangkat : IV/e
 Jabatan : Peneliti Ahli Utama

Demikian surat persetujuan ini dibuat agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Cibinong,

Erwin Al Hafiizh, M.Si
 NIP. 197510192007011005



RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Isma Alfiana, lahir di Kabupaten Ciamis Provinsi Jawa Barat pada Tanggal 09 Maret 1998, merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis lahir dari pasangan Edi Suryadi dan Evi Fillah.

Penulis menyelesaikan pendidikan formal di SDN 1 Sindangkasih dan lulus pada tahun 2010, lalu melanjutkan pendidikan SMP di MTsN Sindangkasih dan lulus pada tahun 2013. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan SMA di SMAN 5 Tasikmalaya dan lulus pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan study di Universitas Siliwangi untuk Program Strata 1 Jurusan Agroteknologi di Fakultas Pertanian pada tahun 2016. Selama menjalani sebagai mahasiswa penulis aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Pers Mahasiswa atau yang sekarang dikenal dengan GEMERCIK periode 2017-2018. Penulis juga pernah magang di Balai Penelitian Tanaman Hias (BALITHI) Cianjur pada tahun 2018, dan melaksanakan penelitian di Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI, Bogor.

Penulis berharap dengan adanya skripsi ini dapat menambah referensi bagi pembaca untuk mengetahui Pengaruh Kombinasi ZPT Air Kelapa, BAP dan NAA pada Media DKW terhadap Pertumbuhan eksplan Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schumach) secara *In Vitro*.