

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Teknik yang digunakan dalam penulisan skripsi ini adalah studi literatur, yaitu dengan cara menganalisis dan memahami hasil penelitian pada artikel, buku referensi, dokumen, atau sumber tertulis lainnya yang relevan dan mendukung. Sumber data yang digunakan yaitu data sekunder. Sugiyono (2011) menerangkan data sekunder adalah sumber data yang tidak langsung memberikan data kepada pengumpul, bisa lewat orang lain atau dokumen yang ditulis oleh orang lain. Dalam studi literatur ini sumber sekunder merupakan artikel-artikel yang berhubungan dengan persoalan yang dibahas.

Tabel 3.1 Sumber data sekunder yang digunakan

Judul	Penulis	Tahun
<i>Micropropagation of Dendrobium draconis</i> Rchb. f. from Thin Cross-Section Culture	Niramol Rangsayatorn	2009
<i>Genetic Stability and Phytochemical Analysis of the in vitro Regenerated Plants of Dendrobium nobile</i> Lindl., an Endangered Medicinal Orchid	Paromik Bhattacharyya, Suman Kumaria, Reemavareen Diengdoh, Pramod Tandon	2014
<i>Micropropagation of Dendrobium densiflorum</i> Lindl. ex Wall. through Protocorm-Like Bodies: Effects of Plant Growth Regulators and Lanthanoids	Jian-Ping Luo, Ying Wang, Xue-Qiang Zha, Li Huang	2008

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Studi literatur ini dilakukan di Lingkungan Universitas Pendidikan Indonesia Bandung dan Kabupaten Sumedang pada bulan April-Juli 2020.

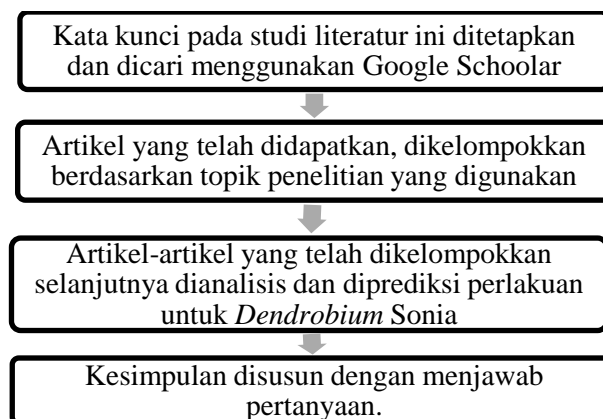
3.3 Prosedur Penelitian

Kegiatan studi literatur ini dimulai dengan menetapkan kata kunci pencarian, selanjutnya dilakukan pencarian data melalui aplikasi mesin pencari yang telah ditetapkan. Berdasarkan kajian singkat (judul, abstrak, dan kesimpulan) dari setiap artikel yang diambil, dilakukan pengelompokkan data berdasarkan genus

Dendrobium, eksplan batang, serta zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang digunakan. Kata kunci yang ditetapkan adalah “*Protocorm Like Body*”, “eksplan batang”, “*Dendrobium*”, “Medium MS”.

Langkah selanjutnya ialah dengan melakukan analisis zat pengatur tumbuh untuk induksi PLB pada masing-masing artikel dengan tujuan menganalisis perlakuan yang terbaik. Analisis data sekunder dilakukan dengan cara mengkaji hasil penelitian konsentrasi dan kombinasi zat pengatur tumbuh yang paling optimal dan perlakuan lainnya untuk setiap jenis *Dendrobium* yang digunakan. Cara ini dilakukan selain untuk mengelompokkan hasil penelitian, juga untuk memetakan berbagai permasalahan yang menjadi fokus studi literatur ini yaitu induksi *Protocorm Like Body* pada eksplan batang berbagai spesies *Dendrobium* pada medium MS dengan konsentrasi serta kombinasi auksin dan sitokinin. Hasil analisis data sekunder ini digunakan untuk memprediksi zat pengatur tumbuh yang optimal untuk induksi PLB pada eksplan batang *Dendrobium* Sonia pada medium MS.

Terakhir ialah menyusun kesimpulan yang menjawab pertanyaan tentang hasil-hasil penelitian induksi *Protocorm Like Body* pada eksplan batang beberapa spesies *Dendrobium* pada medium MS dengan konsentrasi serta kombinasi auksin dan sitokinin yang menjadi perlakuan optimal dalam induksi *Protocorm Like Body* serta memprediksi perlakuan yang optimal untuk induksi PLB pada eksplan batang *Dendrobium* Sonia.



Gambar 3.1 Model Penelitian

3.3.1 Pelaksanaan Penelitian pada Data Sekunder

Pelaksanaan penelitian yang digunakan pada beberapa artikel yang dikaji sebagai data sekunder pada studi literatur ini, yaitu sebagai berikut.

1. *Micropropagation of Dendrobium draconis* Rchb. F. from Thin Cross-Section Culture (Rangsayatarn, 2009)

Benih *Dendrobium draconis* Rchb. f. asli Thailand dikecambahkan pada medium *Murashige and Skoog* (MS) yang mengandung sukrosa 20 g/l. *Planlet* yang sudah berumur 6 bulan yang sudah terdiri dari 1-2 nodus diambil sebagai eksplan. *Thin-Cross Section* (TCS) dengan ketebalan sekitar 0,3-0,5 mm diambil dari batang bagian ujung pucuk. Eksplan TCS dikultur pada medium MS yang terdiri dari sukrosa 20 g/l dan konsentrasi maupun kombinasi zat pengatur tumbuh *Benzil Adenin* (BA), Kinetin (Kn), dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA). Derajat keasaman media disesuaikan menjadi 5,8 selanjutnya ditambahkan agar 0,7%. Sebanyak 20 ml media dituangkan ke dalam botol kultur dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada 121°C selama 20 menit. Semua kultur diinkubasi dibawah fotoperiodisme 12 jam. Penyimpanan botol menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dibuat 10 ulangan dengan 5 eksplan per botol. Pengamatan dilakukan setiap minggu. Parameter yang digunakan pada penelitian ini yaitu jumlah PLB yang terinduksi per-eksplan yang dihitung pada minggu ke-8. Eksplan TCS disubkultur setiap 4 minggu. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan tingkat signifikansi 0,05.

2. *Genetic Stability and Phytochemical Analysis of the in vitro Regenerated Plants of Dendrobium nobile* Lindl ex Wall., an Endangered Medicinal Orchid (Bhattacharyya dkk., 2014)

Dendrobium nobile yang didapatkan dari Pakyong, dipelihara di rumah kaca Laboratorium Bioteknologi Tumbuhan, Departemen Botani, *North-Eastern Hill University*, Shillong, India. Setelah 8-9 bulan buah kapsul dari *Dendrobium nobile* dikumpulkan dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dicuci dengan 10% detergen,

Ida Sayyidah Hamdah, 2020

INDUKSI PROTOCOLORM LIKE BODY DARI EKSPAN BATANG BEBERAPA SPESIES *Dendrobium* PADA MEDIUM MS DENGAN KONSENTRASI DAN KOMBINASI AUKSIN DAN SITOKININ

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

eksplan disterilkan menggunakan 0,04% fungisida selama 20 menit, dan dicuci tiga kali dengan akuades steril. Selanjutnya, buah kapsul dicelupkan ke dalam etanol 70% selama 30 detik dan dibakar menggunakan api spiritus selama 2-3 detik. Buah kapsul yang sudah steril dipotong dengan pisau bedah steril dan sekitar 1 g biji dari buah kapsul diinokulasi pada media *Murashige and Skoog* (MS, 1962) untuk perkecambahan dan pengembangan tanaman (Murashige dan Skoog, 1962). Setelah beberapa bulan, segmen *pseudostem* dengan nodus (0,5-1 cm) dipotong dari tanaman *in vitro* dan digunakan sebagai eksplan. Segmen *Pseudostem* dikultur dalam kombinasi dengan konsentrasi *Thidiazuron* (TDZ) yang berbeda (0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 mg l⁻¹) untuk induksi PLB. Percobaan diulang sebanyak tiga kali dengan sepuluh ulangan per-perlakuan. Parameter yang digunakan pada penelitian ini yaitu persentase respon eksplan, jumlah PLB per-eksplan, dan berat PLB (g). Analisis statistik dilakukan dengan analisis ANOVA pada taraf signifikan 0,05 selanjutnya dibandingkan dengan menggunakan uji metode *Fisher's LSD (Least Significant Difference)* (versi PC Origin 7.0, Northampton, MA, USA).

3. *Micropropagation of Dendrobium densiflorum Lindl. ex Wall. through Protocorm-Like Bodies: Effects of Plant Growth Regulators and Lanthanoids* (Luo dkk., 2008)

Biji kapsul dari *Dendrobium densiflorum* Lindl. ex Wall. didapatkan dari Provinsi Yunnan, Cina, selanjutnya biji tersebut disterilkan menggunakan etanol selama 30 detik, selanjutnya dengan larutan natrium hipoklorit 1% selama 60 menit, kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan akuades steril. Biji kapsul yang telah disterilkan selanjutnya dikeringkan dan dipotong secara longitudinal. Biji ditanam pada botol kultur yang berisi 40 ml media MS (*Murashige and Skoog*, 1962) yang terdiri dari sukrosa 30 g l⁻¹ dan agar 7,0 g l⁻¹. Botol kultur disimpan di ruang kultur pada 25-27°C dengan kelembaban relatif 80% dengan fotoperiodisme 16-18 jam. Batang yang panjangnya sekitar 0,5 cm dengan tinggi 4-6 cm digunakan untuk menginduksi PLB.

Media MS yang mengandung 30 g^{-1} sukrosa dan 100 mg^{-1} *myo-inositol* dipadatkan dengan memberikan agar $7,0 \text{ g}^{-1}$. Derajat keasaman medium diatur hingga 5,8 selanjutnya diautoklaf pada 121°C selama 20 menit. Media kultur yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf selanjutnya disimpan pada ruangan dengan suhu $25\text{-}27^{\circ}\text{C}$. Batang yang telah disterilkan ditanam pada media MS yang sudah mengandung $0,1\text{-}10,0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP atau $0,1\text{-}10,0 \text{ mg l}^{-1}$ Kinetin, atau $0,1\text{-}2,0 \text{ mg l}^{-1}$ NAA untuk induksi PLB. *Protocorm Like Body* yang baru terbentuk dipindahkan ke media MS untuk proliferasi.

Parameter yang digunakan pada penelitian ini yaitu persentase eksplan yang membentuk PLB dan jumlah PLB per-eksplan. Semua percobaan dilakukan dalam desain acak lengkap. Sepuluh ulangan (50 kultur) digunakan untuk setiap perlakuan dan percobaan diulang sebanyak tiga kali. Pengamatan dilakukan setiap hari. Persentase eksplan yang membentuk PLB dan jumlah PLB per eksplan dicatat setelah 6 minggu induksi PLB. Data dianalisis secara statistik menggunakan analisis ANOVA, data $\pm\text{SE}$ dari setidaknya tiga percobaan berbeda diwakili dan dibandingkan menggunakan uji berganda Duncan (DMRT) dengan tingkat signifikansi yang ditetapkan sebesar 5%. Pada ketiga metode tersebut, untuk mendapatkan jumlah PLB yaitu dengan menghitung jumlah PLB per-eksplan, selanjutnya dihitung rata-rata per-botol.

Tabel 3.2 Perlakuan pada beberapa spesies *Dendrobium* untuk induksi PLB pada medium MS

Spesies <i>Dendrobium</i>	Eksplan yang digunakan	Zat Pengatur Tumbuh	Peneliti
<i>D. draconis</i> Rchb.F.	<i>Thin Cross-Section</i> (TCS)	BA, Kinetin, NAA	(Rangsayatorm, 2009)
<i>D. nobile</i> Lindl.	Segmen <i>pseudostem</i>	TDZ	(Bhattacharyya dkk., 2014)
<i>D. densiflorum</i> Lindl.ex Wall	Batang	BAP, Kinetin, NAA	(Luo dkk., 2008)