

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimen faktorial, karena tujuan dari penelitian ini yaitu melihat pengaruh Benzil Amino Purin (BAP)-Kitosan dan BAP-Air Kelapa terhadap ketahanan eksplan batang *Dendrobium sonia* yang dikultur pada medium ½ MS pada lingkungan suhu 28-30°C. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap faktorial (RAL faktorial), terdiri dari 3 faktor yaitu kitosan dengan 7 taraf variasi penelitian, air kelapa dengan 7 taraf variasi dan BAP dengan 6 variasi. Variabel-variabel yang termasuk dalam penelitian ini sebagai berikut.

1. Variabel kontrol: Medium ½ Murashige-Skoog (MS), lama penyinaran selama 12 jam, intensitas cahaya (20-watt *tubular lamp*) dan spesies *Dendrobium sonia*.
2. Variabel bebas: konsentrasi BAP, air kelapa dan kitosan
 - a) BAP: 0,5 ppm ; 1 ppm ; 1,5 ppm ; 2 ppm ; 2,5 ppm ; 3 ppm
 - b) Kitosan: 0 (sebagai kontrol), 5 ppm, 15 ppm, 25 ppm, 35 ppm, 45 ppm, 55 ppm.
 - c) Air Kelapa: 0 (sebagai kontrol), 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25% dan 30%.
 - d) Suhu 28-30°C dan kelembaban 45-50%
3. Variabel terikat: Eksplan batang *Dendrobium sonia* yang mengalami *browning*, bertahan hijau dan menunjukkan respons berupa bulatan kecil.

Terdapat empat puluh dua kombinasi perlakuan BAP-Kitosan yang ditampilkan pada Tabel 3.1 dengan kode X.

Tabel 3.1 Kombinasi BAP dan Kitosan

| | Konsentrasi (ppm) | BAP (ppm) | | | | | |
|---------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 0,5 | 1 | 1,5 | 2 | 2,5 | 3 |
| Kitosan | 0 | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₄ | X ₅ | X ₆ |
| | 5 | X ₇ | X ₈ | X ₉ | X ₁₀ | X ₁₁ | X ₁₂ |
| | 15 | X ₁₃ | X ₁₄ | X ₁₅ | X ₁₆ | X ₁₇ | X ₁₈ |
| | 25 | X ₁₉ | X ₂₀ | X ₂₁ | X ₂₂ | X ₂₃ | X ₂₄ |
| | 35 | X ₂₅ | X ₂₆ | X ₂₇ | X ₂₈ | X ₂₉ | X ₃₀ |
| | 45 | X ₃₁ | X ₃₂ | X ₃₃ | X ₃₄ | X ₃₅ | X ₃₆ |
| | 55 | X ₃₇ | X ₃₈ | X ₃₉ | X ₄₀ | X ₄₁ | X ₄₂ |

Terdapat empat puluh dua kombinasi perlakuan BAP-Air Kelapa yang ditampilkan pada Tabel 3.2 dengan kode A.

Tabel 3.2 Kombinasi BAP dan Air Kelapa

| | Konsentrasi (ppm) | BAP (ppm) | | | | | |
|------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 0,5 | 1 | 1,5 | 2 | 2,5 | 3 |
| Air Kelapa | 0 | A ₁ | A ₂ | A ₃ | A ₄ | A ₅ | A ₆ |
| | 5 % | A ₇ | A ₈ | A ₉ | A ₁₀ | A ₁₁ | A ₁₂ |
| | 10 % | A ₁₃ | A ₁₄ | A ₁₅ | A ₁₆ | A ₁₇ | A ₁₈ |
| | 15 % | A ₁₉ | A ₂₀ | A ₂₁ | A ₂₂ | A ₂₃ | A ₂₄ |
| | 20 % | A ₂₅ | A ₂₆ | A ₂₇ | A ₂₈ | A ₂₉ | A ₃₀ |
| | 25 % | A ₃₁ | A ₃₂ | A ₃₃ | A ₃₄ | A ₃₅ | A ₃₆ |
| | 30 % | A ₃₇ | A ₃₈ | A ₃₉ | A ₄₀ | A ₄₁ | A ₄₂ |

Empat puluh dua perlakuan diterapkan pada media kultur, dengan jumlah pengulangan berdasarkan rumus Federer (1963) sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(42-1)(n-1) \geq 15$$

$$41(n-1) \geq 15$$

$$41n \geq 15 + 41$$

$$41n \geq 56$$

$$n \geq 1,3$$

Keterangan:

t = Jumlah Perlakuan

n = Jumlah Ulangan

Rancangan acak lengkap dilakukan dengan jumlah perlakuan 42 buah kombinasi dan ulangan minimal satu kali. Pengacakan 84 buah perlakuan ditunjukkan pada Tabel 3.3 dan Tabel 3.4.

Tabel 3.3 Hasil Pengacakan Kombinasi BAP dan kitosan

| | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| X ₂₅ | Y ₂₁ | X ₁₀ | Y ₂₇ | Y ₃₆ | X ₅ | Y ₁₃ | X ₃₄ | X ₉ | X ₄₀ | Y ₁₉ | Y ₈ | X ₁₁ | Y ₁₆ |
| X ₃₉ | Y ₃₅ | Y ₃ | Y ₁₅ | Y ₁₀ | X ₈ | X ₁₃ | X ₁₄ | X ₃₇ | X ₂₈ | X ₁ | X ₂₇ | X ₄ | X ₁₉ |
| X ₂₃ | X ₄₁ | X ₁₂ | Y ₂ | Y ₄ | Y ₂₉ | Y ₃₂ | X ₂₂ | Y ₂₀ | X ₂₁ | Y ₇ | X ₁₆ | Y ₂₄ | X ₂₀ |
| X ₃₉ | Y ₁₄ | Y ₄₀ | X ₃₅ | Y ₉ | Y ₆ | X ₂₄ | Y ₃₁ | X ₃₂ | Y ₃₈ | X ₁₇ | Y ₁₂ | Y ₅ | X ₃₃ |
| X ₁₈ | Y ₄₂ | Y ₁₈ | Y ₃₀ | X ₃₀ | Y ₂₈ | X ₂₉ | Y ₂₂ | Y ₂₃ | Y ₃₃ | X ₃₆ | X ₇ | Y ₂₆ | X ₂₆ |
| Y ₁₁ | X ₂ | X ₃ | Y ₃₄ | X ₃₁ | X ₄₂ | Y ₃₇ | X ₆ | Y ₄₁ | X ₁₇ | X ₁₅ | X ₃₈ | Y ₂₅ | Y ₁ |

Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

Pada Tabel 3.4 merupakan hasil pengacakan kombinasi BAP-kitosan dengan keterangan X ulangan pertama dan Y ulangan kedua. Pada Tabel 3.5 merupakan hasil pengacakan kombinasi BAP-Air kelapa dengan keterangan A ulangan pertama dan B ulang kedua.

Tabel 3.6 Hasil Pengacakan Kombinasi BAP dan Air Kelapa

| | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| A ₂₅ | B ₂₁ | A ₁₀ | B ₂₇ | B ₃₆ | A ₅ | A ₃₉ | A ₁₈ | B ₄₂ | B ₁₈ | B ₃₀ | A ₃₀ | A ₂₃ | B ₂₈ |
| B ₁₃ | A ₁₃ | B ₃₂ | A ₂₄ | A ₂₉ | B ₃₇ | B ₁₄ | B ₁₁ | A ₂ | A ₃ | B ₃₄ | A ₃₁ | A ₄₁ | A ₄₂ |
| B ₁₆ | B ₁ | A ₃₄ | A ₁₄ | A ₂₂ | B ₃₁ | B ₄₀ | A ₁₁ | A ₄ | B ₂₄ | B ₅ | B ₂₆ | A ₁₂ | B ₂₅ |
| B ₂₂ | A ₆ | A ₁₉ | A ₁₇ | A ₉ | A ₃₇ | A ₃₅ | B ₈ | A ₂₇ | A ₁₆ | B ₁₂ | A ₇ | B ₂ | A ₃₈ |
| B ₂₀ | A ₃₂ | B ₂₃ | B ₄₁ | A ₂₀ | B ₇ | B ₉ | A ₄₀ | A ₂₈ | A ₂₁ | B ₃₈ | B ₃₃ | B ₄ | A ₁₇ |
| A ₃₉ | B ₃₅ | B ₃ | B ₁₅ | B ₁₀ | A ₈ | B ₆ | A ₃₃ | A ₁ | A ₃₆ | A ₂₆ | A ₁₅ | B ₂₉ | B ₁₉ |

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 7 bulan mulai dari 01 Januari 2022 sampai 30 Juli 2022. Penelitian dan pengambilan data dilakukan di Laboratorium Riset Kultur Jaringan Lingkungan, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia.

3.3 Alat dan Bahan

Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1. Komposisi medium MS yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan penelitian

3.4.1.1 Persiapan eksplan

Persiapan eksplan mulai dari pencarian atau observasi tanaman anggrek di daerah Bandung. Tanaman anggrek *Dendrobium sonia* yang digunakan berasal dari daerah Kampung Daun, Kabupaten Bandung Barat. Eksplan yang digunakan yaitu bagian batang *Dendrobium sonia* yang masih muda, belum berbunga dan berumur tujuh bulan (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Eksplan batang *Dendrobium sonia*
(Dokumentasi Pribadi, 2022)

3.4.1.2 Pembuatan stok larutan

A. Larutan stok makronutrien 100 ml (10 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok makronutrien mulai dari 16.5 gram NH_4NO_3 , 4.4 gram $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 3.7 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 19 gram KNO_3 , dan 1.7 gram KH_2PO_4 dimasukkan ke dalam masing-masing gelas piala. Masing-masing zat dilarutkan dengan 100 ml aquades. Masing-masing larutan dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Masing-masing larutan diberi label sesuai nama bahan dan tanggal pembuatan. Masing-masing bahan diambil 5 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

B. Larutan stok mikronutrien 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok mikronutrien mulai dari 0,62 gram H_3BO_3 , 0.006 gram $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.006 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 2.23 gram $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.083 gram KI, 0.025 gram $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 0.86 gram $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam masing-masing gelas piala/*beaker glass*. Masing-masing zat dilarutkan dengan 100 ml aquades. Masing-masing larutan dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Masing-masing larutan diberi label sesuai nama bahan dan ditulis tanggal pembuatan. Masing-masing bahan diambil 1 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

C. Larutan stok zat besi 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok zat besi mulai dari 0.373 gram Na_2EDTA dan 0.278 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam masing-masing gelas piala/*beaker glass*. Masing-masing zat dilarutkan dengan 100 ml aquades. Masing-masing larutan dihomogenkan

Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI
DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Masing-masing larutan diberi label sesuai nama bahan dan ditulis tanggal pembuatan. Masing-masing bahan diambil 10 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

D. Larutan stok Myo-inositol 100 ml (10 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok Myo-inositol mulai dari 1 gram myo-inositol dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Zat dilarutkan dengan 100 ml aquades. Larutan dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label Myo-inositol dan ditulis tanggal pembuatan. Myo-inositol diambil 1 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

E. Larutan stok Glisin 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok Glisin mulai dari 0,2 gram Glisin dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Glisin dilarutkan dengan 100 ml aquades. Glisin dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label Glisin dan ditulis tanggal pembuatan. Glisin diambil 1 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

F. Larutan stok Niacin 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok Niacin mulai dari 0,05 gram Niacin dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Niacin dilarutkan dengan 100 ml aquades. Niacin dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label Niacin dan ditulis tanggal pembuatan. Niacin diambil 1 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

G. Larutan stok Thiamin 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok Thiamin mulai dari 0,01 gram Thiamin dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Thiamin dilarutkan dengan 100 ml aquades. Thiamin dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label Thiamin dan ditulis tanggal pembuatan. Thiamin diambil 1 ml untuk 1 L medium $\frac{1}{2}$ MS.

H. Larutan stok Pyridoxin 100 ml (100 kali konsentrasi)

Pembuatan larutan stok Pyridoxin mulai dari 0,05 gram Pyridoxin dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Pyridoxin dilarutkan dengan 100 ml aquades. Pyridoxin dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label Pyridoxin dan ditulis tanggal pembuatan. Pyridoxin diambil 1 ml untuk 1 L medium ½ MS.

I. Larutan stok ZPT BAP (100 ml)

Pembuatan larutan stok BAP mulai dari 0,02 gram BAP dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Kemudian, ditambahkan KOH 1% sebanyak 5-15 tetes. BAP dilarutkan dengan 100 ml aquades. BAP dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label BAP dan ditulis tanggal pembuatan. BAP diambil sebanyak 0,75 ml (0,5 ppm), 1,5 ml (1 ppm), 2,25 ml (1,5 ppm), 3 ml (2 ppm), 3,75 ml (2,25 ppm), 4,5 ml (3 ppm) per 300 ml medium ½ MS.

J. Larutan stok ZPT kitosan (100 ml)

Pembuatan larutan stok kitosan mulai dari 0,25 gram kitosan dimasukkan ke dalam gelas piala/*beaker glass*. Kemudian, ditambahkan larutan asam asetat sebanyak 10-20 tetes. Kitosan dilarutkan dengan 100 ml aquades. Kitosan dihomogenkan dengan *stirrer* dan dimasukkan ke dalam botol gelap 250 ml, ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan plastik. Larutan diberi label kitosan dan ditulis tanggal pembuatan. Kitosan diambil sebanyak 1 ml (5 ppm), 3 ml (15 ppm), 5 ml (25 ppm), 7 ml (35 ppm), 9 ml (45 ppm) dan 11 ml (55 ppm) untuk 25 ppm per 50 ml medium ½ MS.

3.4.1.3 Pembuatan medium

Medium yang digunakan yaitu medium ½ MS. Pembuatan medium ½ MS mulai dari melarutkan 60 g/l sukrosa pada 500 ml aquades dalam gelas piala (Gambar 3.2 a), lalu ditambahkan larutan stok dan dihomogenkan. Aquades sebanyak 2 L dituangkan dalam dua gelas piala ukuran 1 L. Larutan dibagi menjadi 3 buah gelas piala, masing-masing sebanyak 600 ml dan diberi label untuk ditambahkan BAP dengan konsentrasi 0,5 ppm ; 1 ppm ; 1,5 ppm (Gambar 3.2 b). Larutan yang sudah ditambahkan BAP,

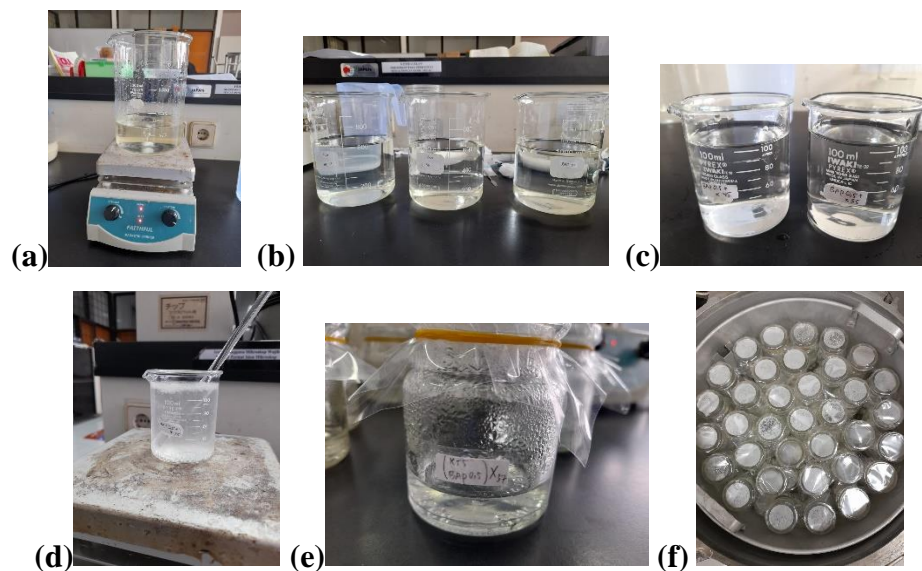
Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

dibagi menjadi enam buah gelas piala 100 ml masing-masing sebanyak 100 ml untuk ditambahkan kitosan dengan 5 ppm, 15 ppm, 25 ppm, 35 ppm, 45 ppm, 55 ppm (Gambar 3.2 c). Lakukan kembali dengan konsentrasi BAP 2 ppm; 2,5 ppm ; 3 ppm dan 6 perlakuan kitosan, serta tanpa kitosan, supaya didapatkan 42 kombinasi medium $\frac{1}{2}$ MS. Langkah yang sama dilakukan pada pembuatan medium $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan BAP dan air kelapa. Konsentrasi BAP yang sama dan air kelapa 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml dan 30 ml.

Lakukan pengukuran pH dengan pH meter pada 42 kombinasi medium $\frac{1}{2}$ MS. Kisaran pH dibuat menjadi 5,6-5,8. Pengukuran pH dibantu dengan penambahan 0,1 N NaOH jika pH terlalu asam dan penambahan 0,1 HCl jika pH terlalu basa. Jika pH sudah sesuai, tambahkan 0,7 g/ml agar sebagai pematat kemudian dipanaskan hingga homogen (Gambar 3.2 d), lalu dimasukkan ke dalam botol kultur dan ditutup menggunakan aluminium foil dan plastik, diikat dengan karet (Gambar 3.2 e). Botol kultur di sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Gambar 3.2 f). Medium dalam botol kultur disimpan di ruang kultur dalam kondisi gelap di suhu ruang.



Gambar 3.2 Pembuatan Medium Perlakuan (a) Melarutkan sukrosa dengan aquades, (b) Membagi medium pada 3 beaker glass, (c) Membagi medium kedalam 6 beaker

Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

glass, (d) Memanaskan medium, (e) Menuangkan medium ke botol kultur, (f)
Sterilisasi medium
(Dokumentasi Pribadi, 2022)

3.4.1.4 Sterilisasi alat dan aquades

Sterilisasi alat bertujuan untuk mencegah adanya kontaminasi dari bakteri dan jamur. Alat yang di sterilisasi berupa *scalpel*, pinset, dan cawan petri. Alat-alat dicuci dan dibilas terlebih dahulu kemudian keringkan. Semua alat dibungkus dengan kertas dan plastik tahan panas (Gambar 3.3 a). Alat-alat disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Gambar 3.3 b).



Gambar 3.3 Membungkus Alat dan Sterilisasi alat
(Dokumentasi Pribadi, 2022)

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar air flow* (LAF) dengan keadaan steril dan aseptik. Batang yang digunakan sebagai eksplan yaitu batang yang masih muda dan belum muncul tangkai bunga. Eksplan yang sudah dipilih kemudian dipisahkan dan dipotong sesuai kebutuhan untuk dilakukan sterilisasi (Gambar 3.4 a). Batang yang sudah dipotong, kemudian dicuci dengan sabun dan sikat gigi bulu halus, lalu bilas dengan air mengalir sampai tidak ada sabun yang tersisa. Batang dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Sterilisasi dilakukan melalui 2 tahap yakni tahap pertama dengan air mengalir selama 3x15 menit (Gambar 3.4 b), lalu pencucian dengan aquades sebanyak 3x.

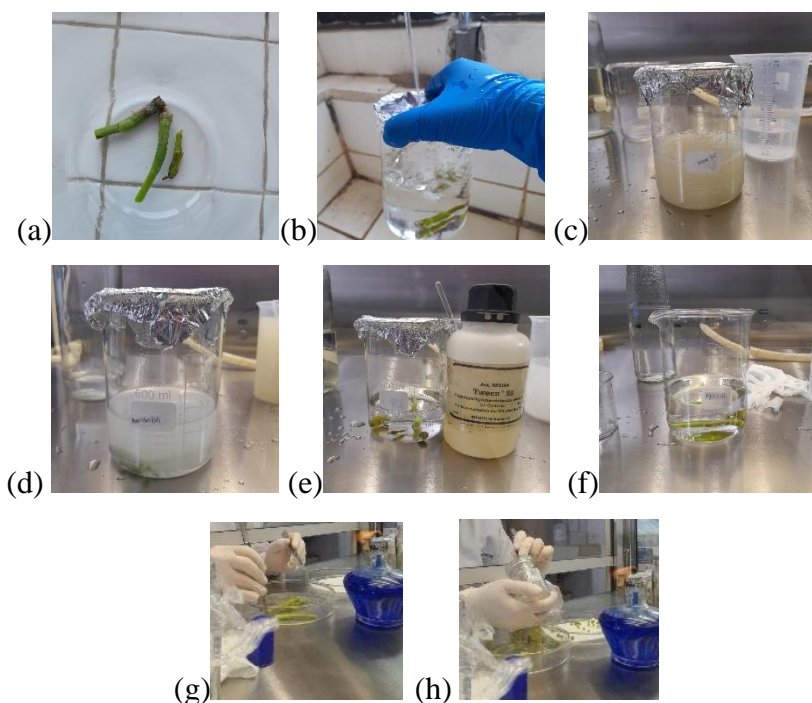
Tahap kedua sterilisasi di dalam LAF mulai dari eksplan batang direndam dengan detergen 0,1% selama 10 menit kemudian bilas dengan aquades steril hingga bersih sebanyak 3x. Selanjutnya, eksplan batang direndam pada agrep 0,1 % selama 55 menit (Gambar 3.4 c) dan dibilas aquades steril sebanyak 3x. Tahap ketiga dilakukan dengan Benstar 0,1% selama 55 menit (Gambar 3.4 d) dan dibilas aquades steril

Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPLAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

sebanyak 3x. Tahap keempat, penambahan *tween* sebanyak 2-4 tetes yang dihomogenkan dengan aquades steril sebanyak 300 ml selama 10 menit (Gambar 3.4 e) dan dibilas dengan aquades steril kembali sebanyak 3x. Tahap terakhir, sterilisasi dengan HgCl₂ 0,3% selama 20 menit (Gambar 3.4 f) dan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3x. Penanaman dilakukan dalam LAF, alat-alat berupa pinset, *scalple*, cawan petri disterilkan dengan alkohol 70% dan dipanaskan atau dibakar pada lampu spiritus. Penanaman eksplan yang sudah steril dimulai dari membuang kulit batang dan bagian batang yang berwarna kekuning akibat sterilisasi. Batang dipotong vertikal mengikuti bentuk batang dengan ukuran 0,5 cm (Gambar 3.4 g). Eksplan dipotong menjadi 1 cm. Permukaan eksplan diberi sayatan dan ditanam dalam 42 kombinasi medium kultur MS dan berbagai konsentrasi BAP dan kitosan serta berbagai konsentrasi BAP dan air kelapa (Gambar 3.4 h). Eksplan batang yang sudah ditanam pada media perlakuan disterilisasi dengan penyemprotan alkohol 70% dan disimpan pada ruang kultur dengan keadaan suhu 28-30°C dan kelembaban 45-50%, serta diamati.



Gambar 3.4 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan Batang *Dendrobium sonia* (a) Eksplan batang *Dendrobium sonia*, (b) Sterilisasi di air mengalir, (c) Sterilisasi di

Ulaya Hanifah, 2022

UJI KETAHANAN EKSPLAN BATANG *Dendrobium sonia* YANG DIKULTUR PADA SUHU TINGGI DENGAN MEDIUM MS DITAMBAH BAP, KITOSAN DAN AIR KELAPA

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

larutan agrep, (d) Sterilisasi di larutan benstar, (e) Sterilisasi di larutan tween, (f) Sterilisasi di larutan HgCl₂, (g) Memotong eksplan, (h) Menanam pada medium (Dokumentasi Pribadi, 2022)

3.5.2 Tahap Pengumpulan Data

Pengamatan uji ketahanan eksplan batang *Dendrobium sonia* dilakukan 3 hari selama 1 bulan. Pengamatan dilihat dari eksplan batang yang menunjukkan respons berupa bulatan kecil, bertahan hijau dan *browning*. Respons yang baik atau berhasil dicatat dan didokumentasikan. Jumlah eksplan yang merespons, bertahan hijau dan *browning* dalam botol kultur dihitung dalam persentase (%) dengan rumus sebagai berikut (Kumar *et al.*, 2012).

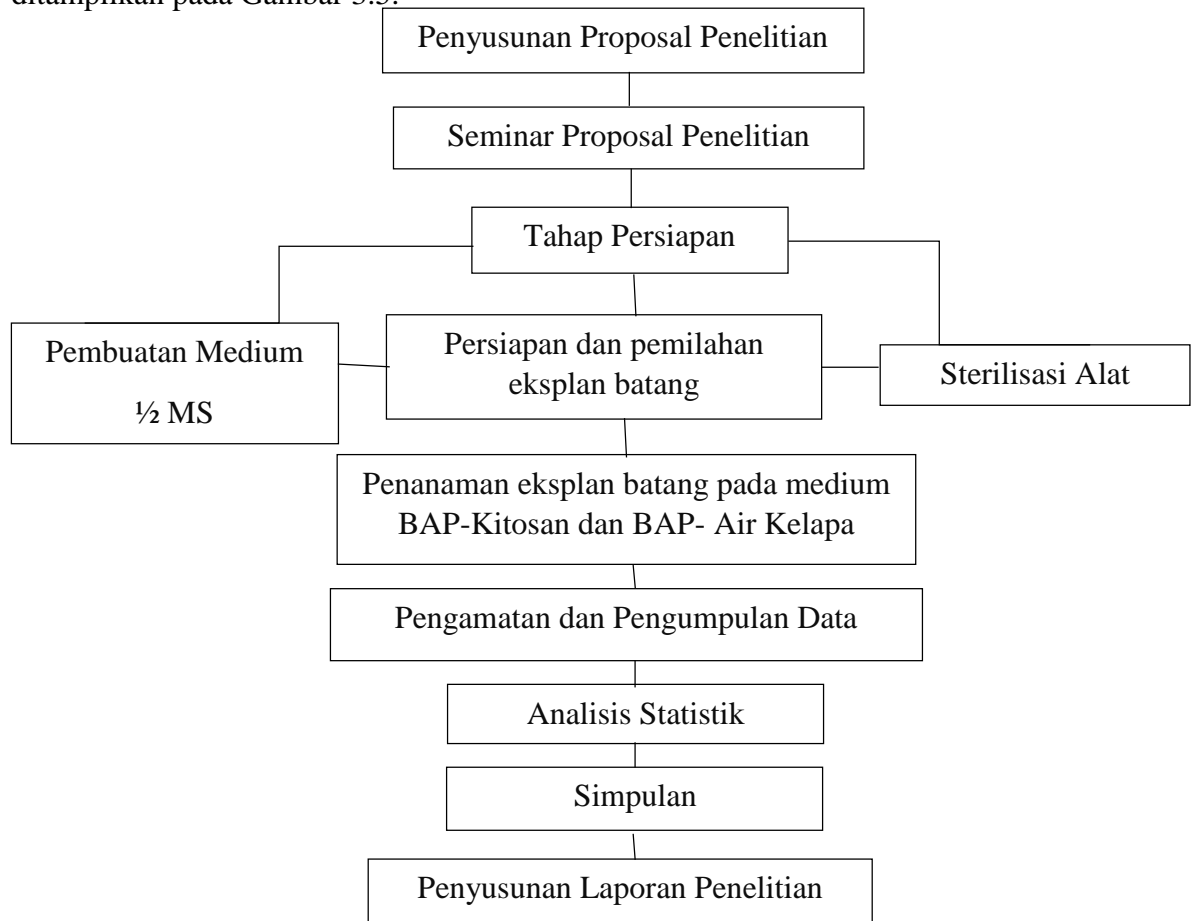
$$\% \text{ Ketahanan eksplan} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang merespon}}{\text{Jumlah eksplan total}} \times 100\%$$

3.5.3 Analisis Data

Pengolahan data secara kualitatif dari penelitian ini menggunakan analisis statistik dengan uji ANOVA faktorial melalui *Microsoft excel* yang bertujuan untuk melihat interaksi dan pengaruh yang berbeda dari setiap perlakuan dan uji Duncan atau *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) melalui *Software Statistical Program for Social Science* (SPSS) yang bertujuan untuk melihat perbedaan antara perlakuan yang diberikan.

3.5.4 Alur Penelitian

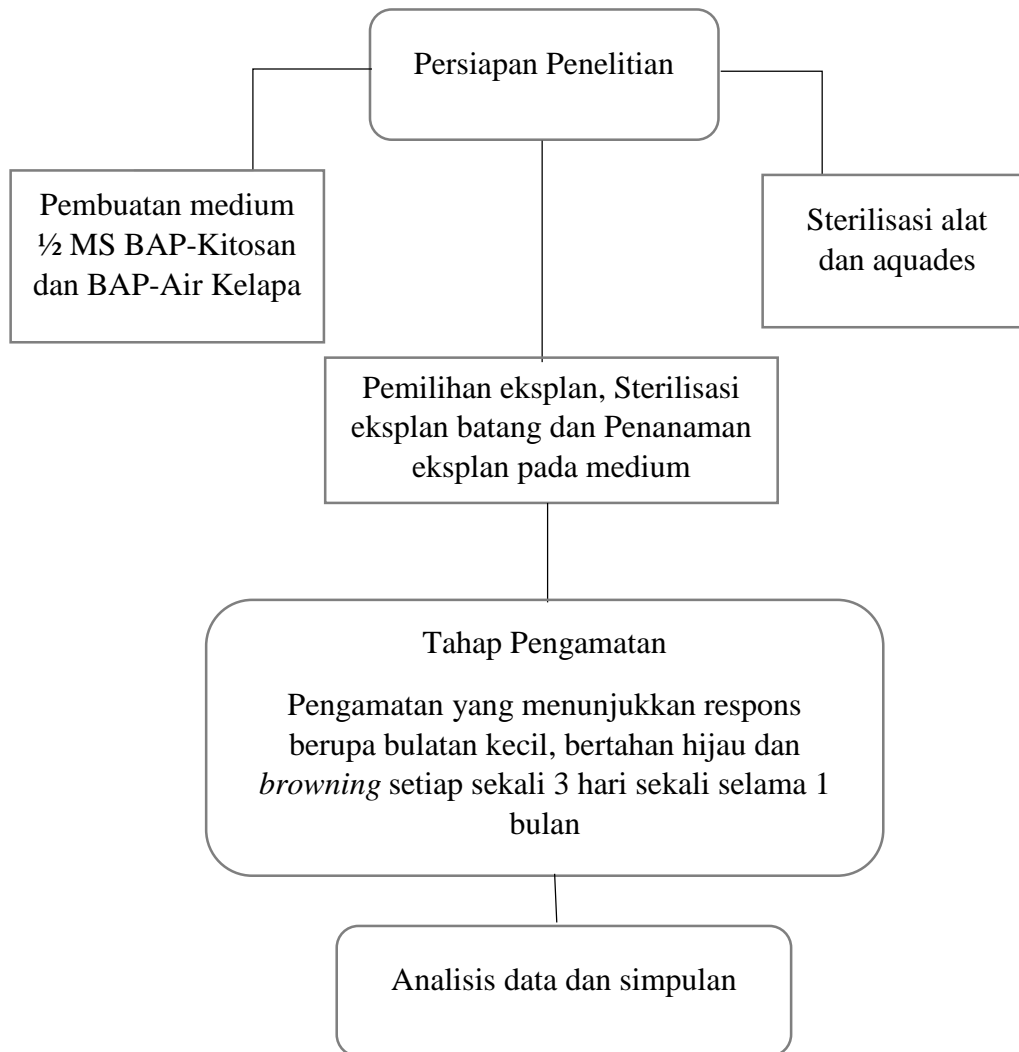
Berdasarkan penelitian yang sudah dijelaskan, bagan alur penelitian ini ditampilkan pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5 Bagan Alur Penelitian

3.5.5 Alur Kerja

Alur kerja dalam penelitian ini ditampilkan pada Gambar 3.6.



Gambar 3.6 Alur Kerja Penelitian