

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*), yang sering dikenal sebagai seruni atau bunga emas adalah salah satu jenis bunga hias dan florikultura yang sangat diminati di Indonesia. Krisan termasuk dalam famili Asteraceae dan termasuk dalam kategori bunga hias yang paling disukai oleh masyarakat (Apriliani et al., 2023). Hal ini disebabkan oleh nilai keindahan yang dimiliki bunga krisan seperti aroma yang harum, bentuk dan ukuran bunga yang beraneka ragam dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi sehingga memberikan daya tarik tersendiri (Hamsyah dan Sitawati, 2020). Menurut Choliq et al., (2020) selain estetika, krisan juga memiliki berbagai manfaat diantaranya sebagai campuran obat tradisional serta ada pula yang mengkonsumsinya dalam bentuk teh krisan. Hal tersebut menyebabkan permintaan konsumen terhadap komoditas ini cukup tinggi.

Produksi krisan di Indonesia menunjukkan tren peningkatan yang signifikan setiap tahun. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat bahwa produksi krisan pada tahun 2021 mencapai 344.031.088 ton, meningkat menjadi 394.502.028 ton pada tahun 2022 dan mencapai 464.604.008 ton pada tahun 2023. Krisan menjadi salah satu komoditas unggulan Indonesia dengan nilai ekspor yang menempati posisi 20 besar dunia dan urutan ke-3 di ASEAN (Arumta et al., 2019). Namun, dalam perdagangan krisan internasional, Malaysia dan Vietnam menjadi pesaing utama Indonesia karena memiliki keunggulan yang komparatif dan daya saing yang lebih baik. Menurut Sukmayanti et al., (2022) Malaysia menduduki posisi pertama dengan mengekspor hingga 90% ekspor ASEAN ke seluruh dunia, disusul oleh Vietnam di posisi kedua. Meskipun produksi krisan di Indonesia terus meningkat, kualitas tanaman krisan masih belum optimal ataupun kurang memenuhi standar kriteria konsumen di negara lain. Hal ini menyebabkan nilai jual dan daya saing tanaman krisan Indonesia di pasar internasional menjadi rendah.

Permasalahan utama dalam industri krisan di Indonesia adalah kualitas tanaman yang belum memenuhi standar konsumen global, sehingga mengurangi daya saing produk krisan Indonesia di pasar Internasional. Bisnis florikultura khususnya bunga krisan telah berkembang pesat dalam beberapa tahun terakhir, mulai dari skala kecil hingga menengah. Hal ini disebabkan oleh peningkatan permintaan tanaman krisan untuk kebutuhan domestik dan ekspor (Kambu et al., 2024). Permintaan bunga krisan di Jepang melebihi bunga lainnya, menjadikannya sebagai salah satu komoditas utama. Menurut Wulandari (2022), Jepang merupakan salah satu importir terbesar bunga krisan di dunia, khususnya dari kawasan Asia, dan menjadikan tujuan ekspor utama bagi bunga krisan dari Indonesia. Meskipun Jepang secara terus menerus mengimpor bunga krisan dari Indonesia, volume ekspor yang dikirim tergolong rendah.

Ekspor bunga krisan ke Jepang mencapai 99%, namun Indonesia hanya menempati posisi kelima setelah Kolombia dengan kontribusi sebesar 0,19% dari total volume ekspor bunga krisan ke negara tersebut Wulandari (2022). Masyarakat Jepang membutuhkan bunga krisan untuk acara pesta pernikahan, upacara kematian hingga keperluan dekorasi selain itu bunga krisan merupakan lambang negara Jepang hingga simbol kekaisaran. Kondisi ini memberikan peluang besar bagi petani dan pengusaha krisan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produksi bunga krisan untuk memenuhi permintaan pasar yang terus meningkat. Petani dan pengusaha krisan dapat menjadi lebih kompetitif kualitas tanaman krisan meningkat dan mungkin memperoleh pangsa pasar yang lebih besar baik di dalam negeri maupun di pasar internasional. Selain itu, peningkatan kuantitas produksi memastikan bahwa kebutuhan yang terus meningkat dapat secara konsisten dipenuhi sehingga menghasilkan keuntungan ekonomi yang signifikan bagi industri bunga di Indonesia.

Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas tanaman krisan yaitu dengan melalui pemuliaan tanaman dengan induksi mutasi secara in-vitro. Pemuliaan mutasi adalah proses terbentuknya varian baru melalui terbentuknya alel dan susunan gen yang baru, yang disebabkan adanya rekombinasi pada alel dari kromosom yang homolog sehingga menyebabkan keragaman genetik (Lestari, 2021). Induksi mutasi merupakan salah satu metode efektif untuk meningkatkan keragaman tanaman (Afghani, 2022). Keuntungan pemuliaan induksi mutasi adalah dapat memisahkan gen linkage, menghasilkan sifat-sifat baru, dan efektif dalam perbaikan sifat (Damayanti, 2021).

Mutasi in vitro dapat dilakukan dengan perlakuan bio-catharantine. Bio-Catharantine dikembangkan sebagai alternatif alami pengganti kolkisin, yang selama ini banyak digunakan dalam proses induksi poliploidi, namun memiliki efek toksik. *Bio-Catharantine* lebih ramah lingkungan dan aman digunakan dalam kultur jaringan dan pemuliaan tanaman. *Bio-Catharantine* adalah inovasi yang diperoleh dari ekstrak daun tanaman Tapak Dara (*Catharanthus roseus*). Purbosari & Puspitasari (2018) menganalisis bahwa tanaman tapak dara memiliki kandungan alkaloid berupa vinkristin, vinblastin, vinorelbin dan vindesin yang dapat menjadi agen antimitotik.

Alkaloid tersebut diperkirakan memiliki efek seperti kolkisin yang dapat menggandakan kromosom namun dengan harga yang lebih murah dan mudah didapatkan. *Bio-Catharantine* berfungsi sebagai agen pengganda kromosom atau induksi poliploidi yang dapat merangsang pembelahan sel dengan cara menghambat aktivitas mitotik (antimitotik) sehingga terjadi penggandaan kromosom pada berbagai jenis tanaman tertentu. *Bio-Catharantine* digunakan sebagai agen antimitotik yang dapat menginduksi penggandaan kromosom karena terdapat kandungan alkaloid yang dapat menghambat proses pembelahan sel sehingga menimbulkan efek penggandaan (Aziz et al., 2023).

Induksi poliploidi menggunakan mutagen bio-catharantine telah dilakukan pada tiga kultivar krisan yaitu Pinka Pinky, Lolipop, dan Maruta sehingga telah menghasilkan mutan atau tanaman yang terinduksi poliploidi. Induksi poliploidi adalah proses dimana jumlah set kromosom dalam sel tanaman ditambahkan yang dapat meningkatkan keragaman genetik dan menghasilkan sifat-sifat baru yang

diinginkan. Penelitian Suryaflly (2021) menunjukkan bahwa perlakuan dengan bio-catharantine pada konsentrasi tertentu dapat menghasilkan perubahan tingkat ploidi dari diploid menjadi poliploid yang berdampak positif terhadap karakter fenotipik tanaman. Induksi poliploidi melalui bio-catharantine tidak hanya berpotensi untuk meningkatkan produktivitas krisan tetapi juga untuk memperbaiki karakteristik morfologis yang memenuhi standar pasar internasional.

Varietas baru tanaman krisan mutan yang memiliki produksi tinggi dan memiliki karakter morfologi yang memenuhi standar pasar dapat dilakukan evaluasi dengan penambahan zat pengatur tumbuh secara *in-vitro* hingga diperoleh tanaman mutan stabil dan bebas dari toksisitas mutagen. Zat pengatur tumbuh adalah suplemen yang ditambahkan ke dalam medium kultur jaringan untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan pada kultur jaringan dan kultur organ. Salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur *in-vitro* adalah golongan sitokinin. Zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah *Benzyl Amino Purine* (BAP) yang efektif untuk merangsang pembentukan tunas stabil dan tahan terhadap oksidasi (Yusdian et al., 2024). Jumlah tanaman mutan yang dihasilkan pada tahap awal penginduksian relatif terbatas, sehingga diperlukan upaya perbanyakan lebih lanjut melalui aplikasi BAP untuk mengoptimalkan regenerasi tunas dari hasil mutan yang telah berhasil diperoleh.

Konsentrasi BAP pada penelitian Arafah et al., (2021) memiliki kesimpulan bahwa pemberian BAP berpengaruh terhadap jumlah tunas, jumlah daun, jumlah akar, dan tinggi planlet. Menurut Fauziah et al., (2021) apabila sitokinin dalam media MS berada dalam jumlah yang cukup maka akan melakukan pembelahan yang lebih cepat. Semakin meningkat konsentrasi BAP pada media, maka saat muncul tunas semakin lama. Berdasarkan penelitian Lintong et al., (2022) perlakuan media utama Murashige and Skoog (MS) yang ditambahkan BAP 1,5 ppm merupakan konsentrasi terbaik dalam menghasilkan jumlah tunas tanaman krisan secara *in-vitro*. Media MS merupakan media yang sering digunakan saat ini. Media tersebut mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap dibanding media lainnya sehingga dapat digunakan untuk berbagai jenis spesies tanaman (Fatana et al., 2024).

BAP mempunyai efektivitas yang cukup tinggi untuk perbanyakan tunas, mudah didapat dan relatif murah (Septiawati et al., 2021). Pada konsentrasi di atas titik optimal, semakin tinggi konsentrasi penambahan BAP, maka semakin rendah proses induksi tunas pada eksplan sehingga jumlah tunas menurun (Taiz & Zeiger, 2012). Pada penelitian Amalia (2023), penambahan BAP konsentrasi 0,25 – 1,00 ppm menunjukkan hasil pertambahan tunas yang lebih banyak dibandingkan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 0,25 – 1,00 ppm termasuk rentang optimal pertumbuhan tunas krisan.

Efektivitas BAP dalam perbanyakan tunas planlet sangat dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan, di mana pada konsentrasi tertentu BAP mampu mengoptimalkan proses proliferasi dan multiplikasi tunas. Berdasarkan penelitian Yulia et al. (2020) menunjukkan bahwa pemberian BAP dalam konsentrasi 0,50 ppm hingga 2 ppm secara signifikan meningkatkan pertumbuhan subkultur anggrek *Cymbidium finlaysonianum* secara *in-vitro*. Hal ini memperkuat bahwa BAP bekerja efektif pada kisaran konsentrasi rendah hingga sedang dalam menstimulasi

pertumbuhan tunas. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan pengujian pengaruh konsentrasi BAP sebesar 0,50 ppm, 1,0 ppm, 1,5 ppm, dan 2,0 ppm terhadap pertumbuhan mutan krisan.

Berdasarkan uraian diatas, perbaikan kualitas dan kuantitas produksi tanaman krisan dapat dicapai melalui pemuliaan mutasi dengan menggunakan mutagen *Bio-Catharanthine* dan kemudian mengevaluasi pada berbagai konsentrasi BAP untuk memperbanyak tunas secara in-vitro.

1.2. Landasan Teori

Mutasi dalam pemuliaan tanaman adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba dan acak dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (heritable) (Harianja et al., 2022). Mutasi dalam bidang pemuliaan tanaman dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki (Soedjono, 2003). Mutasi dapat terjadi melalui induksi (*induced mutation*). Mutasi induksi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan bahan mutagen tertentu terhadap organ reproduksi tanaman. Menurut De Micco et al. (2011) dalam penelitiannya mutasi telah terbukti berhasil meningkatkan keragaman genetik dalam upaya memperoleh varietas unggul dalam berbagai tanaman

Salah satu bentuk mutasi dalam pemuliaan tanaman adalah poliploidisasi. Poliploidisasi adalah proses pembentukan sel atau organisme yang memiliki tiga atau lebih set kromosom homolog. Poliploidisasi dapat diinduksi secara in-vitro menggunakan zat penghambat pembelahan sel seperti Biokataranthine yang dapat meningkatkan jumlah kromosom. Menurut Amnah (2021) Induksi poliploidisasi menggunakan Bio-catharantine adalah salah satu cara yang digunakan dalam perbaikan genetik tanaman. Penggunaan *bio-chataranthine* dalam teknik induksi masih terbilang baru sehingga dalam suatu penelitian masih sangat jarang digunakan.

Krisan adalah tanaman hias dengan permintaan pasar yang tinggi di Indonesia, karenanya pengembangan krisan terus dilakukan, salah satunya dengan membuat varietas mutan yang memiliki keunikan (Pagesti et al., 2022). Evaluasi karakter mutan dilakukan untuk mengetahui keunikan, keseragaman, dan kestabilan tanaman hasil mutasi. Evaluasi karakter mutan penting dilakukan untuk menyeleksi mutan unggul yang dapat dikembangkan menjadi varietas baru yang lebih adaptif dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Dengan demikian, penggunaan mutasi induksi seperti poliploidisasi dengan bio-catharantine menjadi strategi yang menjanjikan dalam pengembangan tanaman krisan yang lebih unggul dan beragam.

Evaluasi mutan krisan dapat dilakukan memperbanyak melalui kultur jaringan dengan memperhatikan komposisi media dan zat pengatur tumbuh yang mempengaruhi cepat lambatnya pertumbuhan eksplan. Menurut Lestari (2011) penambahan senyawa auksin atau sitokinin akan mengatur arah pertumbuhan eksplan sebagai pemicu dalam proses tumbuh dan berkembangnya jaringan. Berbagai jenis sitokinin dan auksin yang digunakan dalam kultur jaringan diantaranya seperti NAA, IAA, IBA sebagai auksin dan BAP sebagai sitokinin. ZPT yang termasuk

golongan sitokinin yang sering digunakan adalah BAP. Kandungan yang terdapat di dalam BAP dapat mempercepat terbentuknya tunas pada eksplan. Pada meristem tunas apikal terjadi lokalisasi aktivitas hormonal sitokinin yang meningkatkan proliferasi sel di meristem tersebut (Schaller et al., 2015).

1.3. Tujuan dan Manfaat

1. Mendapatkan konsentrasi BAP yang paling tepat bagi pertumbuhan mutan krisan.
2. Mengetahui dan menganalisa pertumbuhan terbaik beberapa mutan krisan pada berbagai tingkat konsentrasi BAP.
3. Mengevaluasi tingkat ploidi pada mutan krisan hasil poliploidisasi *Bio-Catharanthine* terhadap berbagai konsentrasi BAP.
4. Menganalisis heritabilitas berbagai karakter mutan krisan pada berbagai konsentrasi BAP.

Manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu sebagai sumber informasi atau referensi bagi mahasiswa lain dalam mengembangkan varietas tanaman krisan serta memberikan pengetahuan mengenai peningkatan kualitas tanaman krisan melalui mutasi dan aplikasi BAP.

1.4. Hipotesis

1. Terdapat satu atau lebih interaksi antara konsentrasi BAP dan mutan krisan yang menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik.
2. Terdapat satu atau lebih konsentrasi BAP yang memberikan pertumbuhan mutan krisan yang lebih baik.
3. Terdapat satu atau lebih mutan krisan yang menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik.
4. Terdapat satu atau lebih perubahan tingkat ploidi pada mutan krisan hasil perlakuan poliploidisasi *Bio-Catharanthine* yang dievaluasi.
5. Terdapat satu atau lebih karakter mutan krisan yang memiliki heritabilitas tinggi dari hasil berbagai konsentrasi BAP.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan. Pelaksanaan penelitian ini mulai dari Agustus hingga Desember 2024.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media Murashige and Skoog (MS), ZPT BAP (*Benzyl Amino Purine*), Planlet krisan hasil mutasi *bio-catharanthine* varietas Pinka Pinky, varietas Lolipop, dan varietas Maruta, air kelapa, agar-agar, gula pasir, aquades steril, alkohol 96%, alkohol 70%, aluminium foil, karet gelang, label, *wrapping* plastik, spirtus, *tissue* steril dan formalin. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, gelas ukur, gelas piala, tabung erlenmeyer, pipet tetes, corong, botol kultur, pH meter, kompor, pinset, bunsen, scalpel, cawan petri, korek api, dan batang pengaduk, hand sprayer, *autoclave*, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), dan flow cytometry (BD Accuri C6+, USA).

2.3. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam bentuk percobaan menggunakan Rancangan Petak Terpisah (RPT) dalam rancangan acak kelompok (RAK) sebagai rancangan lingkungan.

- a. Petak utama adalah konsentrasi BAP (K) :

k0 = 0 ppm	k3 = 1,5 ppm
k1 = 0,5 ppm	k4 = 2,0 ppm
k2 = 1,0 ppm	
- b. Anak petak adalah Mutan krisan (M) hasil mutasi pemberian *Bio-Catharanthine* terdiri dari 9 mutan dari tiga induk yaitu Pinka Pinky (M1pb, M2pb, M3pb), Lolipop (M1lb, M2lb, M3lb), dan Maruta (M1mb, M2mb, M3mb) yaitu:

m1 = m1pb	m4 = m1lb	m7 = m1mb
m2 = m2pb	m5 = m2lb	m8 = m2mb
m3 = m3pb	m6 = m3lb	m9 = m3mb

Dengan demikian terdapat 45 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan jumlah unit setiap perlakuan dalam ulangan sebanyak 2 unit sehingga terdapat 270 unit percobaan

2.4. Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Sterilisasi Botol, Alat Tanam, Laminar Air Flow (LAF) dan ruangan inkubasi

Botol dan alat-alat tanam yang digunakan disterilkan dalam autoclave dengan temperatur 121 °C dengan tekanan 17.5 psi (pounds per square inch) selama satu jam. Menyalakan lampu laminar dan blower, kemudian laminar disemprot menggunakan alkohol 70% dan mengeringkannya dengan tisu. Laminar Air Flow Cabinet (LAF) di UV selama satu jam. Persiapan ruang inkubasi dilakukan dengan pembersihan dan penyemprotan formalin ke setiap sisi ruangan.

2.4.2 Pembuatan Media Kultur

Persiapan media dimulai dengan pembuatan larutan stok yang mengacu pada komposisi media MS (Tabel Lampiran 1) dan volume untuk masing-masing stok MS adalah 1000 ml. Proses ini dilakukan dengan melarutkan bahan-bahan kimia menggunakan aquades steril. Bahan kimia tersebut ditambahkan ke dalam gelas ukur sesuai dengan konsentrasi akhir senyawa (mg/l).

Pembuatan 1000 ml media MS adalah menyiapkan *aquades* steril sebanyak kurang lebih 200 ml ke dalam gelas tabung erlenmeyer ukuran 1000 ml. Memasukkan larutan stok (A, B, C, D, E, F, G dan H) secara berurutan komponen satu persatu sambil dilakukan pengadukan kemudian memasukkan 100 ml air kelapa dan gula 20 g. Selanjutnya ditambahkan *aquades* steril hingga larutan media MS mencapai 1000 ml. pH larutan media MS berkisar 5.6-5.8. Setelah itu memasukkan larutan media kedalam panci dan menambahkan agar-agar sebanyak 7.5 g/liter. Larutan media dipanaskan menggunakan kompor sambil diaduk hingga mencapai titik didih agar agar-agar larut sempurna. Setelah media mendidih dan agar larut seluruhnya, media diangkat ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh berupa Benzyl Amino Purine (BAP) sesuai dengan konsentrasi perlakuan, yaitu 0 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, dan 2 ppm. Penambahan BAP dilakukan menggunakan larutan stok BAP yang telah disiapkan sebelumnya. Larutan stok BAP dibuat dengan cara melarutkan sejumlah BAP murni dengan akuades steril sesuai kebutuhan. Setelah BAP ditambahkan dan media tercampur secara homogen. Selanjutnya,

larutan media tersebut dituangkan ke dalam masing-masing botol kultur sebanyak 25 ml. Botol kultur kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan diikat dengan menggunakan karet gelang. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah proses sterilisasi, botol kultur yang berisi media diletakkan di rak kultur selama satu minggu untuk melihat kesterilan media.

2.4.3 Penanaman (Sub Kultur) Mutan Krisan

Pucuk tanaman krisan mutan (2 ruas) hasil induksi poliploidi digunakan sebagai eksplan dipotong dari planlet, dan ditanam pada media MS yang mengandung ZPT BAP sesuai dengan perlakuan. Setiap botol kultur berisi dua eksplan. Setelah penanaman, botol ditutup rapat dan diinkubasi dalam ruangan steril bersuhu 23-25°C dengan pencahayaan selama 16 jam/hari dan intensitas cahaya sekitar 1.000-2.000 lux selama 8 minggu.

2.5. Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dan pengukuran yang dilakukan pada penelitian ini, yaitu:

- a. Persentase Hidup Planlet (%)
Pengamatan persentase hidup planlet dilakukan setelah penanaman. Pengamatan dilakukan hingga 12 MST.

$$\text{Persentase hidup planlet} = \frac{\sum \text{planlet yang ditanam} - \sum \text{planlet yang mati}}{\sum \text{planlet yang ditanam}} \times 100 \%$$
- b. Waktu Bertunas (HST)
Menghitung waktu bertunas dengan melihat waktu (hari) pertama kali muncul tunas pada sampel setelah perlakuan.
- c. Waktu Berakar (HST)
Menghitung waktu berakar dengan melihat waktu (hari) pertama kali muncul akar pada sampel setelah perlakuan.
- d. Waktu Membentuk Planlet (HST)
Menghitung waktu membentuk planlet dengan melihat waktu (hari) dimana pada sampel sudah membentuk tunas dan akar serta memiliki daun setelah perlakuan.
- e. Jumlah Tunas (Tunas)
Menghitung jumlah tunas berdasarkan tunas yang telah terbentuk sampai 12 MST. Perhitungan tunas dengan melihat bahwa tunas tersebut tidak berada dalam satu pangkal tunas. Apabila berada dalam satu pangkal tunas, maka tunas tersebut dihitung sebagai satu tunas.
- f. Jumlah Daun (Helai)
Menghitung jumlah daun yang tumbuh dari minggu pertama setelah perlakuan perendaman sampai 12 MST. Penghitungan daun berdasarkan daun yang telah membuka sempurna.
- g. Jumlah Akar (Buah)
Menghitung jumlah akar berdasarkan akar yang telah terbentuk sampai 12 MST dan hidup. Perhitungan akar dimulai ketika sudah mulai muncul bakal akar.
- h. Tinggi Planlet (cm)

Tinggi tanaman diukur menggunakan penggaris dari permukaan media sampai titik tumbuh tanaman tertinggi sampai 12 MST.

- i. Jumlah Ruas (Ruas)
Menghitung jumlah ruas yang telah terbentuk sampai 12 MST.
- j. Panjang Ruas (cm)
Panjang ruas dihitung dengan rumus tinggi tanaman keseluruhan dibagi dengan jumlah ruas 12 MST.
- k. Planlet Membentuk Kalus (%)
Pengamatan dilakukan dengan menghitung planlet yang mengalami pembentukan kalus sampai 12 MST.

$$\text{Planlet Membentuk Kalus} = \frac{\sum \text{planlet yang ditanam} - \sum \text{planlet yang berkalus}}{\sum \text{planlet yang ditanam}} \times 100 \%$$

2.6. Analisis Data

2.6.1 Sidik Ragam

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan kemudian dilakukan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) sesuai dengan Rancangan Petak Terpisah (RPT) dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK). Jika terdapat pengaruh nyata atau sangat nyata perlakuan, maka dilakukan analisis uji lanjutan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 95%. Analisis data menggunakan program STAR (Statistical Tool for Agricultural Research) dan Microsoft Office Excel 2013.

Tabel 1. ANOVA Rancangan Petak Terpisah (RPT) dalam RAK

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F.HITUNG
Kelompok	r-1	JKK	CTK	CTK/CTG _a
Petak Utama (A)	a-1	JKA	CTA	CTA/CTG _a
Error (a)	(a-1)(r-1)	JKG _a	CTG _a	
Anak Petak (B)	b-1	JKB	CTB	CTB/CTG _b
Interaksi A X B	(a-1)(b-1)	JKAB	CTAB	CTAB/CTG _b
Error (b)	a (b-1)(r-1)	JKG _b	CTG _b	
Total	abr-1			

2.6.2 Analisis Poliploidi

Analisis tingkat poliploidi dilakukan dengan menggunakan flow cytometry (BD Accuri C6+, USA). Sampel diambil dari potongan daun berukuran sekitar 0.5 x 0.5 cm diletakkan di atas cawan petri kemudian ditetesi dengan 250 µl *Nuclei Extraction Buffer* dan sedikit *polyvidon*, kemudian dicacah hingga halus dengan silet. Cacahan daun disaring dengan saringan millipore 3 µm. Filtrat dimasukkan dalam tabung kuvet dan ditambahkan larutan Staining Solution, propidium iodide, RNase sebanyak 350 µl untuk dianalisis.

2.6.3 Analisis Heritabilitas

Nilai Heritabilitas yaitu dengan menghitung perbandingan antara ragam genotipe dengan ragam fenotipe. Menurut Syukur et al., (2012) nilai duga heritabilitas dan kriterianya dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$h^2 = \frac{\sigma^2_g}{\sigma^2_p} \times 100\%$$

Kriteria nilai heritabilitas :

- $h^2 > 50\%$: heritabilitas tinggi
- $20\% < h^2 < 50\%$: heritabilitas sedang
- $h^2 < 20\%$: heritabilitas rendah