

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil terung terbesar di dunia yang masuk dalam lima besar produsen terung terbesar setelah India, China, Mesir, dan Turkey. Terung merupakan salah satu tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis salah satunya di Indonesia. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Tahun 2024, produksi tanaman terung pada tahun 2024 adalah sekitar 676.712 ton. Sedangkan produktivitas tanaman terung pada tahun 2024 adalah sekitar 14,19 ton/ha. Terung adalah salah satu tanaman hortikultura yang banyak diminati karena memiliki banyak kandungan gizi seperti vitamin, kalium, fosfor, zat besi dan masih banyak lagi. Kartana et al.. (2024), mengemukakan bahwa kandungan gizi yang ada pada terung memiliki banyak manfaat karena memiliki tingkat kalori yang rendah dan antioksidan yang tinggi serta dapat mencegah terjadinya penyakit hipertensi. Kandungan probiotik pada terung dapat membantu pencernaan dan kaya akan antioksidan yang berguna untuk menangkal kerusakan sel-sel pada tubuh.

Daerah penghasil terung di Indonesia sebagian besar berpusat di pulau Jawa. Jawa Tengah merupakan salah satu penghasil terung di Indonesia tetapi produksi yang dihasilkan masih tergolong sedang dibandingkan dengan Jawa Barat, Jawa Timur, Sumatera Barat dan Sumatera Utara. Menurut data Direktorat Jenderal Hortikultura (2024), produksi terung di Jawa Tengah pada tahun 2024 adalah sekitar 51.975 ton dengan produktivitas sekitar 13,26 ton/ha. Sedangkan di Sulawesi Selatan sendiri produksi terung pada tahun 2024 hanya 10.198 ton dengan produktivitas 6,55 ton/ha dan tergolong rendah dibandingkan dengan provinsi lainnya. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (2022), produksi terung tertinggi selama 10 tahun terakhir diperoleh pada tahun 2022 yaitu 704.223 ton. Banyaknya manfaat dari terung menyebabkan kebutuhan terung di Indonesia menjadi meningkat. Selain itu, meningkatnya jumlah penduduk dan kesadaran masyarakat akan nilai gizi ini menjadi faktor peningkatan kebutuhan terung tiap tahun.

Rendahnya produksi tanaman terung antara lain disebabkan oleh varietas yang digunakan, kondisi lingkungan, kesuburan tanah, penggunaan benih yang berulang, hama dan penyakit. Varietas yang digunakan menjadi faktor penyebab penurunan produksi tanaman terung. Hal tersebut terjadi karena setiap varietas memiliki adaptasi lingkungan yang berbeda-beda. Menurut Sitorus et al., (2023) penggunaan varietas unggul merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi tanaman. Sedangkan petani umumnya menggunakan benih yang berulang sehingga produksi tanamannya tidak optimal. Penggunaan benih berulang menyebabkan tanaman akan mudah terserang hama dan penyakit sehingga terjadi penurunan produksi dan menimbulkan kerugian bagi petani. Oleh

karena itu, salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi yaitu menggunakan varietas yang tahan terhadap serangan hama dan penyakit.

Produksi tanaman terung dapat ditingkatkan dengan menggunakan varietas unggul. Varietas unggul dapat diperoleh dari program pemuliaan tanaman salah satunya dengan menggunakan teknik kultur jaringan pada tanaman terung. Salah satu teknik kultur yang dapat digunakan adalah kultur antera. Menurut Pagalla et al. (2025), kultur antera merupakan salah satu pemanfaatan bioteknologi untuk memperbanyak tanaman salah satunya adalah tanaman terung dari anther (kepala sari) untuk mendapatkan galur murni tanpa melakukan persilangan. Selain untuk mendapatkan galur murni, kultur antera ini merupakan salah satu strategi yang dilakukan untuk mengurangi siklus dan biaya pemuliaan. Tanaman yang dihasilkan dari kultur antera ini yaitu tanaman haploid dan tanaman doubled haploid.

Tanaman haploid adalah tanaman yang dihasilkan dari kultur antera yang tidak dapat digunakan karena tanaman tersebut infertil atau tidak dapat menghasilkan keturunan. Sedangkan tanaman doubled haploid dihasilkan dari kultur antera yang dapat berbuah karena fertil. Menurut Zayid et al. (2021), persentase untuk mendapatkan tanaman doubled haploid pada kultur antera cukup rendah yaitu hanya 20% sedangkan 80% tanaman yang dihasilkan adalah tanaman haploid. Oleh karena itu, tanaman haploid hasil kultur antera perlu dilakukan perendaman kolkisin agar tanaman dapat menjadi fertil. Selain itu, tanaman yang dihasilkan dari kultur antera umumnya memiliki perbedaan dengan tanaman yang dihasilkan dari biji. Tanaman haploid umumnya memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan tanaman doubled haploid dan tanaman diploid (tanaman dari biji). Sedangkan tanaman doubled haploid umumnya memiliki ukuran yang lebih besar atau sama dengan tanaman yang dihasilkan dari biji.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian mengenai karakterisasi morfo-anatomi dan tingkat ploidi haploid dan doubled haploid tanaman terung *Solanum melongena* hasil kultur antera.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Morfologi Tanaman Terung (*Solanum melongena*)

Tanaman terung (*Solanum melongena* L.) merupakan tanaman asli yang berasal dari India dan Srilanka. Menurut Syarifuddin et al., (2021) terung merupakan tanaman hortikultura yang termasuk dalam famili Solanaceae dan banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis salah satunya di Indonesia. Tanaman terung umumnya berbunga dan termasuk dalam tanaman perdu. Menurut penelitian Anggraeni et al., (2023) tanaman terung termasuk tanaman semusim atau tahunan yang memiliki tinggi sekitar 40-150 cm. Terung memiliki daun yang besar dan berbentuk oval hingga lonjong serta memiliki bulu halus. Bunganya berwarna putih dan ungu tergantung varietasnya. Selain itu, terung memiliki bentuk buah yang beragam yaitu bulat, lonjong atau oval dan biji yang banyak pada daging buahnya.

Tanaman terung dapat dibudidayakan dan tumbuh pada daerah dengan ketinggian 1000 m dpl. Menurut Warsito, (2023) pertumbuhan terung dapat optimal apabila dibudidayakan di dataran rendah dan pada jenis tanah lempung berpasir

dengan drainase yang baik. Suhu yang paling cocok untuk tanaman terung yaitu antara 22°C-30°C. Apabila suhu terlalu dingin maka dapat menghambat pertumbuhan bunga dan buah dan jika terlalu panas akan merusak polen. Menurut Abdullah et al., (2025) Terung memerlukan penyinaran yang penuh agar proses fotosintesisnya maksimal. Tanah yang memiliki kandungan organik yang tinggi dapat mendukung pertumbuhan akar tanaman terung dan mempercepat pembungaan. Sehingga pemupukan harus dilakukan agar unsur hara makro dan mikro yang dibutuhkan oleh tanaman menjadi seimbang dan produksinya optimal. Menurut data Direktorat Jenderal Hortikultura (2024), produktivitas tanaman terung adalah sekitar 14,19 ton/ha.

Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi tanaman terung adalah teknik budidaya yang dilakukan. Menurut Waskito et al., (2018), media tumbuh yang digunakan yaitu yang memiliki porositas yang baik, mampu menyimpan air dan unsur hara serta tidak menjadi sumber penyakit. Kekurangan atau kelebihan unsur hara dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi tidak optimal. Penggunaan pupuk organik pada media berfungsi sebagai penyangga dan memperbaiki tanah yang rusak akibat penggunaan pupuk anorganik yang berlebihan.

1.2.2 Poliploidisasi

Tanaman poliploidi merupakan tanaman yang memiliki lebih dari dua set kromosom. Umumnya tanaman memiliki dua set kromosom atau diploid yang berasal dari masing-masing induknya. Menurut Wiendra et al (2011), dalam pemuliaan tanaman, induksi poliploidi dilakukan agar hasil panen menjadi lebih tinggi. Tanaman poliploidi mengalami peningkatan ukuran sel sehingga organ tanaman seperti batang, daun, bunga dan buah juga akan mengalami peningkatan yang cenderung lebih besar dibandingkan dengan tanaman pada umumnya. Selain itu, tanaman poliploid juga lebih tahan terhadap lingkungan dan kekeringan. Hal tersebut terjadi karena adanya penebalan pada kutikula dan dinding sel pada tanaman.

Poliploidi dapat terjadi secara alami maupun dengan bantuan induksi oleh manusia salah satunya yaitu menggunakan kolkisin. Kolkisin merupakan salah satu mutagen yang digunakan oleh pemulia untuk meningkatkan kromosom suatu tanaman. Menurut Dewi et al., (2018), penggunaan kolkisin dilakukan untuk menghambat pembentukan benang spindel pada saat terjadi pembelahan sel. Sehingga tidak terjadi pemisahan sehingga terjadi penggandaan jumlah kromosom dalam satu inti sel.

Tanaman dapat dibedakan berdasarkan jumlah set kromosomnya yaitu haploid, doubled haploid dan diploid. Tanaman yang hanya memiliki satu set kromosom atau tanaman haploid memiliki pertumbuhan yang lebih lambat dan ukuran organnya lebih kecil. Selain itu, tanaman haploid bersifat steril yang tidak menghasilkan biji. Tanaman diploid merupakan tanaman normal yang memiliki dua set kromosom yang umumnya memiliki keragaman genetik yang tinggi dan dijadikan induk dalam pemuliaan tanaman. Tanaman doubled haploid merupakan penggandaan dari tanaman haploid yang bersifat homozigot akan tetapi menghasilkan tanaman fertil. Keunggulan tanaman doubled haploid memiliki

homozigositas sempurna dan kestabilan genetik yang tinggi sehingga dapat mempercepat pembentukan galur murni dan menghasilkan varietas unggul lebih singkat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Apriani (2014), yang menyatakan bahwa tanaman doubled haploid dapat dikembangkan menjadi galur murni karena mencapai homozigositas murni dan juga untuk menyelamatkan beberapa generasi dalam program pemuliaan untuk galur hibrida.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik morfo-anatomi, dan tingkat ploidi tanaman haploid dan doubled haploid terung (*Solanum melongena*) dan hasil kuantitatif dari hasil kultur antera.

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakteristik morfo-anatomi, dan tingkatan ploidi tanaman haploid dan doubled haploid terung (*Solanum melongena*) dan hasil kuantitatif dari hasil kultur antera.

1.4 Hipotesis

1. Terdapat perbedaan karakter morfologi dan anatomi pada tanaman diploid dan haploid
2. Terdapat perbedaan karakter morfologi dan anatomi pada tanaman diploid dan doubled haploid
3. Terdapat perbedaan karakter morfologi dan anatomi pada tanaman doubled haploid dan haploid

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di dua tempat yaitu laboratorium dan lahan penelitian yaitu di Laboratorium PT Benih Citra Asia, Jl. Nusadadi, Desa Rejodadi, Kecamatan Cimanggu, Kabupaten Cilacap, Provinsi Jawa Tengah. Lokasi penelitian terletak pada koordinat -7.32126 LS dan 108.79701 BT. Farm Medland Salem, Tembongraja, Kecamatan Salem, Kabupaten Brebes, Provinsi Jawa Tengah. Pelaksanaan penelitian ini mulai dari Juli hingga Desember 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah planlet haploid dan doubled haploid, OTTO I buffer, OTTO II buffer, benih tanaman diploid (varietas Yuvita, Hitavi, Provita, TP15673, dan TP15787), pewarna sel, 4,6 DAPI (Diamidino - 2 - phenylindole), dan Fluorescein Diacetate, bibit terung haploid dan DH (varietas Yuvita, Hitavi, Provita, TP15673, TP15787), tanah, sekam bakar, pupuk kandang, Pupuk NPK mutiara, dolomit, KNO₃ putih, MKP, KCL merah, diafentriuron, larutan AgNO₃, air, larutan Yodium Kalium Iodida, sampel daun dan sampel bunga.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jangka sorong, meteran, penggaris, alat tulis, kamera, kaca preparat, kaca penutup, silet, mikroskop CX 43, mini studio, dan flow cytometry, pot berukuran 12 cm, gelas sungkup, polybag ukuran 40 cm, elisa plate, pinset, skalpel, dan 96 sieve filter.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan metode deskriptif yaitu melakukan perbandingan karakter morfologi dan anatomi tanaman terung yang terdiri atas 63 tanaman dan berasal dari 5 genotipe yaitu Yuvita F1 15 tanaman (1 tanaman diploid, 10 tanaman DH, 4 tanaman haploid), Provita F1 13 tanaman (1 tanaman diploid, 7 tanaman DH, 5 tanaman haploid), Hitavi F1, 15 tanaman (1 tanaman diploid, 4 tanaman DH, 10 tanaman haploid), TP15673 7 tanaman (1 tanaman diploid, 3 tanaman DH, 3 tanaman haploid), TP15787 13 tanaman (1 tanaman diploid, 8 tanaman DH, 4 tanaman haploid). Tanaman haploid dan tanaman doubled haploid yang digunakan berasal dari hasil kultur antera. Sedangkan tanaman diploid berasal dari benih yang ditanam.

2.4 Metode Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahapan yang meliputi aklimatisasi, pindah tanam, pemupukan dan pemeliharaan tanaman.

2.4.1 Aklimatisasi Regeneran Haploid dan Doubled Haploid

Aklimatisasi tanaman haploid dan doubled haploid terdiri atas beberapa tahapan yaitu:

1. Menyiapkan planlet haploid dan doubled haploid hasil kultur anthera yang telah memiliki daun sejati dan perakaran yang baik.
2. Planlet kemudian dikeluarkan dari wadah kultur dan dibersihkan akarnya dari media kultur menggunakan air yang mengalir.
3. Menyiapkan media tanam yang terdiri dari sekam bakar dan tanah dengan komposisi perbandingan berat 1: 1 menggunakan ember.
4. Mengisi pot berukuran 12 cm dengan media tanam yang telah disiapkan dan menanam planlet yang telah dibersihkan.
5. Pot diberikan label penanda yang berisi identitas tanaman untuk membedakan tanaman haploid dan doubled haploid serta varietas tanaman.
6. Tanaman yang telah diberikan penanda kemudian disungkup menggunakan gelas plastik.
7. Setelah 14 hari, tanaman dipindahkan ke screen house untuk di pra-transplant.

2.4.2 Pindah Tanam ke Screen House

Tanaman haploid dan doubled haploid yang telah diaklimatisasi kemudian diberikan label yang berisi nomor aksesori dan varietas. Sebelum dipindahkan ke screen house tanaman tersebut dipratanam terlebih dahulu di lahan nursery selama 14 hari. Setelah itu menyiapkan polybag yang berukuran 40 cm dan diisi dengan sekam bakar, tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan berat 1 : 1 : 1 media tanam menggunakan ember. Setelah seminggu, media dapat digunakan dan tanaman yang telah dipra-transplant dipindahkan ke polybag. Tanaman yang telah dipindahkan kemudian disimpan di screen house dan diberikan perawatan.

2.4.3 Pemupukan dan Pemeliharaan Tanaman

Tanaman yang disimpan di screen house kemudian diberikan pemupukan dan perawatan agar tanaman dapat menghasilkan bunga dan buah yang optimal. Pemupukan dilakukan pada umur 7 HST, 14 HST, 21 HST, 28 HST, dan 35 HST. Pupuk yang digunakan yaitu NPK mutiara 3 gram/tanaman, KNO₃ putih 1,5 gram/tanaman, KCl merah 2,0 gram/tanaman, dan pupuk MKP 1,0 gram/tanaman dengan metode pemupukan yaitu dicampur dan dikocor.

Tabel 1. Pemberian pupuk tanaman berdasarkan prosedur PT Benih Citra Asia

No	Umur Tanaman (HST)	Jenis Pupuk	Dosis (g/tanaman)	Metode
1	0 HST	Pupuk Kandang Dolomit	1 : 1	Dicampur pada media
2	7 HST	NPK Mutiara	3,0	Dicampur dan
		KNO ₃ Putih	2,0	kocor
3	14 HST	NPK Mutiara	3,0	Dicampur dan
		KCI Merah	2,0	kocor
4	21 HST	KNO ₃ Putih	1,5	Dicampur dan
		MKP	1,0	kocor
5	28 HST	NPK Mutiara	3,0	Dicampur dan
		KCI Merah	2,0	kocor
6	35 HST	KNO ₃ Putih	1,5	Dicampur dan
		MKP	1,0	kocor

Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan menyiram tanaman 2 kali sehari pagi dan sore setiap hari. Selain itu, pada tahapan pemeliharaan dilakukan pruning pada tanaman dengan memotong daun yang telah menguning atau layu setiap 2 kali seminggu. Pemberian pestisida dilakukan apabila terdapat hama yang menyerang tanaman. Pestisida diberikan secara kuratif dengan dosis yang dianjurkan menyesuaikan dengan hama atau penyakit yang menyerang tanaman. Salah satu pestisida yang dapat digunakan adalah diafenthuron untuk membasmi hama kutu kebul dengan dosis 1-2 ml/liter.

2.5 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan morfologi terdiri kuantitatif dan pengamatan kualitatif. Parameter kuantitatif pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

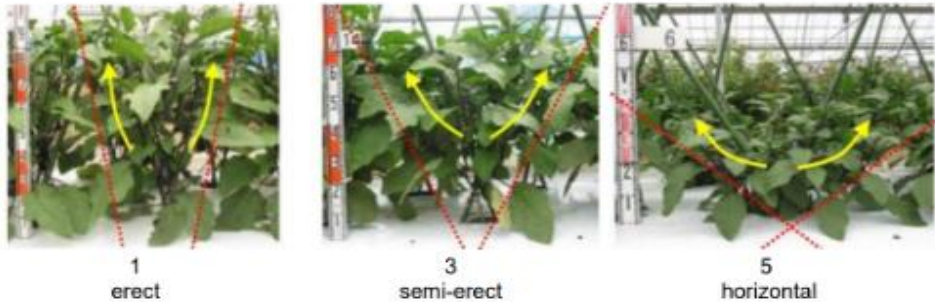
1. Tinggi tanaman (cm), diukur dari permukaan tanah sampai titik tumbuh tertinggi dengan menggunakan meteran, tanaman diamati saat tanaman berumur 90 HST.
2. Diameter pangkal batang (mm), diukur dari pangkal batang tanaman menggunakan jangka sorong, tanaman diamati saat tanaman berumur 90 HST.
3. Panjang dan Lebar daun (cm), diukur menggunakan penggaris, daun yang diukur adalah daun ketiga dari pangkal batang dan yang tidak terserang hama dan penyakit. Panjang daun diukur tegak lurus menggunakan penggaris mulai dari pangkal daun sampai ujung daun. Lebar daun diukur tegak lurus dari sisi kiri ke sisi kanan daun menggunakan penggaris.
4. Umur berbunga (hari), diukur dengan mencatat kapan setiap tanaman yang diamati mulai berbunga setelah tanaman dipindahkan ke screen house.
5. Ukuran bunga (cm), diukur mulai dari ujung sisi bunga ke sisi yang lain dengan melewati titik tengah bunga menggunakan penggaris.
6. Panjang buah (cm), diukur dari pangkal buah hingga ujung buah menggunakan penggaris. Buah yang diukur adalah buah yang telah memasuki matang fisiologis yaitu warna buah sudah mulai pudar dan tidak mengkilap.

7. Diameter buah (mm), diukur pada bagian tengah buah terung menggunakan jangka sorong. Buah yang diukur adalah buah yang telah memasuki matang fisiologis yaitu warna buah sudah mulai pudar dan tidak mengkilap.

Parameter pengamatan kualitatif pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

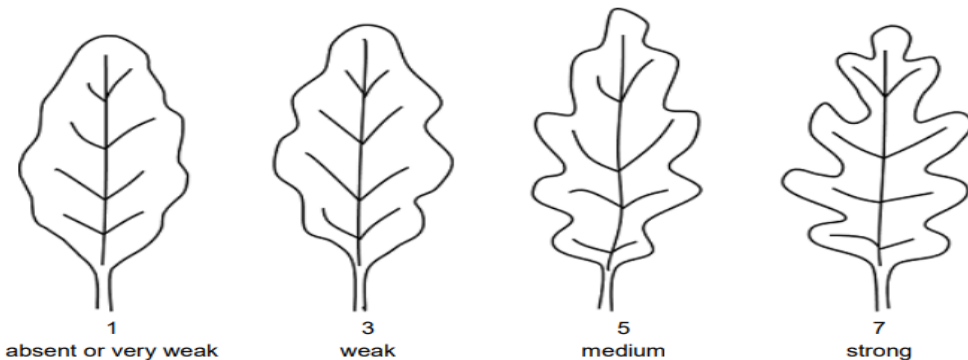
1. Kebiasaan tumbuh, diamati dengan menyesuaikan kebiasaan tumbuh tanaman terung dengan yang ada pada UPOV yaitu erect, semi erect, atau horizontal (memeja).

Ad. 3: Plant: growth habit



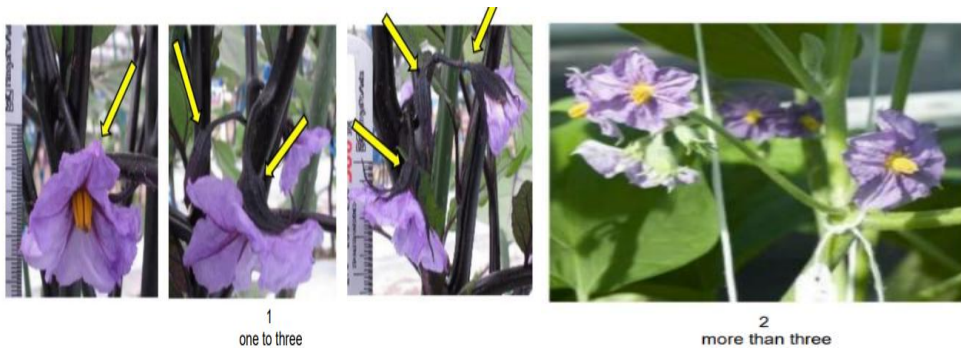
Gambar 1. Kebiasaan tumbuh tanaman terung erect, semi-erect, dan horizontal (Sumber : UPOV Eggplant, 2020)

2. Warna daun, diamati dengan menyesuaikan warna daun pada deskriptor terung yaitu warna (3) hijau terang, (5) hijau, (7) Hijau gelap
3. Warna tulang daun, diamati dengan menyesuaikan warna daun pada deskriptor terung yaitu (1) hijau, (3) hijau keunguan, (5) ungu, (7) ungu tua, (9) coklat tua.
4. Bentuk margin daun, diamati dengan membedakan bentuk marginnya yaitu absent, weak, medium, dan strong.



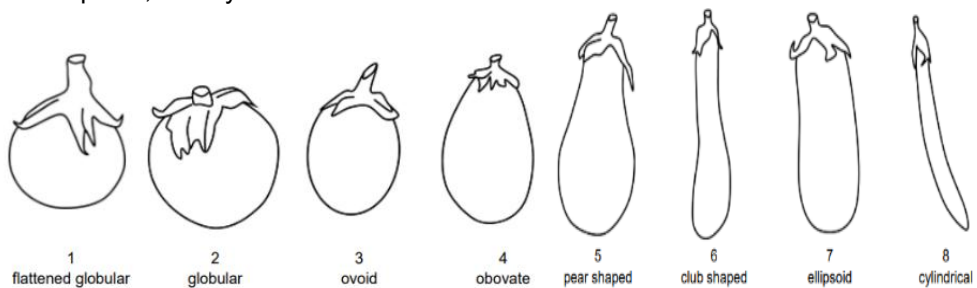
Gambar 2. Bentuk margin daun tanaman terung (Sumber : UPOV Eggplant, 2020)

5. Tipe bunga, dibedakan menjadi kluster yaitu terdapat lebih dari satu bunga pada satu tangkai dan tidak kluster



Gambar 3. Tipe bunga terung (Sumber : UPOV Eggplant, 2020)

6. Warna mahkota bunga, diamati dengan menyesuaikan warna mahkota bunga pada deskriptor terung yaitu (1) putih, (2) ungu terang, (3) ungu, (4) ungu gelap.
7. Warna kelopak bunga, diamati dengan menyesuaikan warna daun pada deskriptor terung yaitu (1) hijau, (3) hijau keunguan, (5) ungu, (7) ungu tua, (9) coklat tua.
8. Warna kepala putik, diamati dengan menyesuaikan warna kepala putik pada deskriptor terung yaitu (1) Hijau, (3) kuning
9. Warna kotak sari, diamati dengan menyesuaikan warna kepala putik pada deskriptor terung yaitu (1) Hijau, (3) kuning
10. Bentuk buah, diamati dengan menyesuaikan bentuk buah pada deskriptor terung yaitu flatte globular, globular, ovoid, obovate, pear shaped, club shaped, elipsoid, dan cylindrical.



Gambar 4. Bentuk buah terung (Sumber : UPOV Eggplant, 2020)

11. Ada buah atau tidak, diamati dengan menyesuaikan ada buah atau tidak pada deskriptor terung yaitu (1) tidak ada buah (3) ada buah
12. Ada biji atau tidak, diamati dengan menyesuaikan ada biji atau tidak pada deskriptor terung yaitu (1) tidak ada biji (3) ada biji
13. Jumlah kloroplas, dilakukan dengan mengambil sampel daun bagian epidermis dan diamati menggunakan mikroskop CX 43.
14. Polen, dilakukan dengan mengambil bagian anter bunga kemudian mengamati menggunakan mikroskop CX 43

Langkah-langkah pengamatan jumlah kloroplas pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengambil sampel daun tanaman terung diploid, haploid, dan doubled haploid. Daun yang diambil yaitu daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua serta memiliki bulu halus yang tipis atau bahkan tidak ada.
2. Menyiapkan kaca preparat, kaca penutup, larutan AgNO₃, air, dan sampel daun tanaman.
3. Memotong epidermis bagian bawah daun terung menggunakan silet atau pisau. Potongannya harus tipis agar stomata terlihat karena daun terung terdapat bulu halus.
4. Potongan tersebut kemudian diletakkan pada kaca preparat yang telah diberikan label untuk menandai daun diploid, haploid, dan doubled haploid.
5. Setelah itu, sampel ditetesi dengan larutan AgNO₃ dan ditutup dengan kaca penutup.
6. Sampel tersebut kemudian diamati menggunakan mikroskop CX 43 dengan perbesaran 40 x 10 yang terhubung langsung dengan komputer sehingga gambarnya terlihat jelas.
7. Setelah mendapatkan gambar stomata dan kloroplas pada sel penjaga yang sesuai, gambar tersebut disimpan dikomputer yang terhubung dengan mikroskop.

Langkah-langkah pengamatan polen pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengambil bunga tanaman terung diploid, haploid, dan doubled haploid yang masih kuncup.
2. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan seperti sampel bunga, larutan Yodium Kalium Iodida (IKI), kaca preparat, kaca penutup, dan pinset.
3. Membuka bunga terung yang belum mekar dan mengambil anther terung.
4. Anther tersebut kemudian diletakkan pada kaca preparat yang telah diberi label dan dihancurkan menggunakan pinset.
5. Setelah itu, sampel tersebut diberikan tetesan larutan IKI dan ditutup dengan kaca penutup.
6. Sampel tersebut kemudian diamati menggunakan mikroskop CX43 dengan perbesaran 10 x 10 yang terhubung langsung dengan komputer sehingga gambarnya terlihat jelas.
7. Setelah itu, gambar polen yang dihasilkan disimpan pada komputer.

Langkah-langkah pengamatan tingkat ploidi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Planlet yang telah tumbuh normal dan memiliki daun sejati akan dilakukan pengecekan ploidi untuk mengetahui tanaman tersebut haploid atau doubled haploid menggunakan alat flow cytometry.
2. Sampel planlet diberi label yang terdiri atas 7 digit huruf dan angka yang berisi kode plate yaitu tanggal dan bulan sampling serta nomor sampel yang ada pada cup kultur.
3. Sampel 01-04 digunakan untuk sampel tanaman kontrol yaitu tanaman diploid yang ditanam dari biji yang dimasukkan kedalam elisa plate.

4. Sampel 05 dan seterusnya akan mengikuti penomoran sampel pada elisa plate hingga sampel terakhir.
5. Setelah itu, mencatat tanggal cek ploidi dan jumlah planlet yang akan beregenerasi.
6. Daun tanaman hasil in vitro yang digunakan sebagai sampel yaitu ± 50 mg yang diambil secara aseptik dengan pinset dan skalpel.
7. Sampel dimasukkan kedalam elisa plate flat shape yang telah diberi label dan apabila sampel tidak langsung dicek ploidi maka bisa dimasukkan kedalam lemari pendingin dengan suhu konstan $\pm 4^{\circ}\text{C}$.
8. Memberikan larutan OTTO I Buffer per well sebanyak 125 μl pada sampel dan digerus menggunakan mini homogenizer.
9. Sampel yang telah diencerkan kemudian disaring menggunakan 96 sieve filter kedalam elisa plate *flat bottom shape*.
10. Sampel yang telah difilter tersebut kemudian ditambahkan 50 μl OTTO II Buffer per well.
11. Sampel kemudian dianalisis menggunakan mesin flow cytometry dan menghasilkan grafik yang berisi tentang data sampel tanaman diploid, haploid dan doubled haploid.
12. Hasil analisis tanaman tersebut tercatat dalam sistem data cek ploidi dan dilaporkan melalui form laporan hasil ploidi.
13. Untuk planlet yang terindikasi haploid dimasukkan kedalam duplikasi kromosom in vitro dan planlet yang terindikasi doubled haploid diberi label yang berisi informasi tanaman dan langsung diaklimatisasi.

2.6 Analisis Data

Data pengamatan karakter morfologi tanaman dianalisis dengan menggunakan aplikasi STAR (Statistical Tool for Agricultural Research) untuk analisis cluster hirarki dalam bentuk dendogram untuk mengetahui tingkat kemiripan antar varietas tanaman terung. sedangkan untuk pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan uji T student menggunakan software STAR (*Statistical Tool Agricultural Research*). Rumus uji T student yang digunakan sebagai berikut :

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

t : koefisien t

\bar{x} : rata-rata sampel

μ : rata-rata populasi

S : Standar deviasi sampel

n : Banyak sampel