

PERANCANGAN PERCOBAAN PADA KULTUR JARINGAN
TANAMAN¹⁾

EXPERIMENTAL DESIGN IN PLANT TISSUE CULTURE

G.A. Wattimena²

ABSTRACT

Research in plant biotechnology is based on experiments. The experiments is carried onto reveal the answers of the questions being asked. To reveal the good answers the experiments must be well planned. The well plan experiments consisted of consisted of well plan treatments design, experimental design and response design. The results be of the experiments have to be presented and interpreted. This paper discuss the use of the experimental design, presentation and interpretation of. plant tissue culture experiments.

RINGKASAN

Penelitian bioteknologi tanaman selalu didasarkan pada percobaan-percobaan. Percobaan dilakukan untuk memberikan jawaban atas pertanyaan yang ditanyakan pada penelitian tersebut. Untuk dapat menampilkan jawaban yang baik maka perlu dirancang dengan baik. Perancangan percobaan itu meliputi perancangan perlakuan, perancangan pemberian perlakuan dan perancangan respons. Data dari hasil percobaan ini harus disajikan dan ditafsirkan. Maksud makalah ini adalah untuk menyajikan perancangan percobaan, penyajian dan penafsiran data pada budidaya jaringan tanaman. W.

¹⁾ Disampaikan pada Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer Untuk Industri PAU Bioteknologi IPB, Bogor, 10 - 11 Desember 1991

²⁾ Guru Besar, Institut Pertanian Bogor

1.0. PENDAHULUAN

Bioteknologi tanaman sebenarnya adalah budidaya jaringan tanaman secara *in vitro* yang mempunyai kesejajaran dengan budidaya tanaman secara konvensional. Di dalam budidaya jaringan tanaman diusahakan untuk menanam eksplan yang berupa bagian tanaman, jaringan, sel, sub selular secara *in vitro* untuk mencapai tujuan tertentu. Tujuan itu berupa produksi tanaman bebas penyakit, bibit tanaman, varietas unggul, senyawa metabolit sekunder dan pelestarian plasma nutfah. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan membutuhkan persyaratan media dan lingkungan tertentu. Pada penciptaan kultivar baru selain persyaratan media dan lingkungan tertentu juga diperlukan cara tertentu untuk memindahkan sifat yang dikehendaki dari donor ke eksplan penerima.

Pertumbuhan dan perkembangan eksplan budidaya jaringan diusahakan supaya dapat berjalan dengan baik. Media tumbuh dan lingkungan tumbuh harus diusahakan pada keadaan yang kenyataannya kita tidak mengetahui dengan pasti keadaan yang optimum tersebut. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada keadaan optimum inilah yang harus dipecahkan di dalam penelitian budidaya jaringan tanaman melalui penelitian media dan lingkungan. Penelitian kultur jaringan tanaman atau budidaya jaringan tanaman adalah penelitian melalui percobaan. Percobaan merupakan suatu kesatuan urutan kegiatan yang dimulai dari perumusan masalah, perancangan percobaan, pelaksanaan percobaan, analisis data, penyajian dan penafsiran data dalam bentuk suatu tulisan ilmiah yang baik. Perumusan masalah itu sebenarnya terletak pada bagaimana menanyakan pertanyaan yang baik dan benar. Ketajaman pertanyaan yang ditanyakan itu tergantung pada berapa banyak yang telah diketahui tentang masalah yang hendak diteliti itu. Jika masih sedikit pengetahuan

dari masalah yang diteliti maka pertanyaan-pertanyaan itu merupakan suatu terkaan ilmiah (scientific quees) dan percobaan yang dilakukan itu merupakan suatu percobaan penapisan (screening). Percobaan penapisan adalah percobaan untuk mengidentifikasi faktor-faktor yang mempengaruhi masalah yang diteliti itu. Jika faktor-faktor itu telah diidentifikasi dan diinginkan untuk mencari interaksi antara faktor-faktor tersebut maka pertanyaan akan lebih tajam dan lebih terarah.

Berdasarkan pertanyaan-pertanyaan yang ditanyakan disusun perancangan percobaan, perancangan pemberian perlakuan dan perancangan respons untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan yang ditanyakan. Respons yang didapat berupa data dianalisis, disajikan dan ditafsirkan dalam bentuk tulisan ilmiah.

Penulisan makalah ini bertujuan membahas keterkaitan antara perancangan percobaan serta penyajian dan penafsiran data yang diangkat dari makalah-makalah yang terdapat di dalam: "Prosiding Lokakarya Statistika untuk Bioteknologi", PAU Bioteknologi IPB Bogor, 20 - 21 Agustus 1991".

2.0. PERANCANGAN PERCOBAAN

Perancangan percobaan dalam arti yang luas termasuk "treatment design, experimental design dan response design" (Urguhart, 1981). Barizi (1991) menterjemahkan istilah-istilah tersebut ke dalam perancangan perlakuan, perancangan pemberian perlakuan dan perancangan respons.

2.1. Perancangan perlakuan

Pembicaraan tentang perancangan perlakuan tidak dapat dilakukan tanpa penjelasan mengenai satuan percobaan dan

satuan evaluasi. Satuan percobaan dan satuan evaluasi adalah unit dasar dari perancangan perlakuan, perancangan pemberian perlakuan dan perancangan respons.

2.1.1. Satuan percobaan

Objek yang menerima perlakuan dalam satu kali pemberian disebut satuan percobaan. Pada budidaya jaringan tanaman botol, cawan petri, tabung reaksi atau wadah lainnya merupakan satu satuan percobaan. Jika di dalam satu cawan petri terdapat dua eksplan atau 10^5 sel/protoplasma, masing-masing eksplan atau sel dalam cawan petri itu bukan merupakan satuan percobaan. Sama halnya dengan percobaan pemupukan di lapang bahwa satu petak dalam percobaan itu merupakan satu satuan percobaan bukan masing-masing tanaman dalam petak tersebut.

2.1.2. Satuan evaluasi

Satuan percobaan yang menerima perlakuan akan memberikan respons. Respons ini merupakan data yang akan diamati. Pengamatan respons ini dapat dilakukan terhadap semua individu atau sebagian individu yang terdapat di dalam satuan percobaan. Pada percobaan pemupukan di lapang hanya sebahagian dari tanaman di dalam petak itu yang diamati sehingga satuan evaluasi tidak sama dengan satuan percobaan. Pada percobaan budidaya jaringan tanaman satuan percobaan adalah sama dengan satuan evaluasi.

2.1.3. Perancangan perlakuan

Mengenai perancangan perlakuan dikatakan oleh Barizi (1991) sebagai berikut: "Perancangan perlakuan sesungguhnya merupakan penyusunan strategi untuk memperoleh jawaban bagi seperangkat pertanyaan yang ditanyakan. Karena perlakuan-perlakuan yang dicoba perlu ada kaitannya satu dengan yang lain dalam suatu struktur yang terarah, sehingga

nanti dapat dihubungkan dengan pola respons yang ditampilkan oleh satuan-satuan percobaan. Berdasarkan struktur perlakuan dapat disusun rencana pembandingan yang bermakna antar perlakuan untuk menghasilkan jawaban yang diperlukan".

Perlakuan itu ada yang mempunyai struktur tertentu ada yang tidak berstruktur. Perlakuan yang tidak berstruktur misalnya genotipa atau kultivar dari jenis tanaman tertentu. Dalam hal perlakuan tidak berstruktur ini kedudukan antar perlakuan adalah sama dan pembandingan dilakukan antar perlakuan yang satu terhadap yang lain (multiple comparisons). Perlakuan berstruktur terdiri dari perlakuan berkelompok, perlakuan beregresi dan perlakuan berfaktor. Perlakuan berstruktur berkelompok misalnya percobaan enam zat pengatur tumbuh yang mendorong akar jahe secara *in vitro*. Enam jenis zat pengatur tumbuh terdiri dari 3 jenis auksin (IAA, IBA, NAA) dan tiga jenis retardan C ancymidol, CC, paclobutrazol). Disebut berkelompok karena keenam jenis zat pengatur tumbuh ini dapat dibagi atas sifat kesamaan fisiologis dalam kelompok auksin dan kelompok retardan. Untuk struktur berkelompok ini pembandingan mula-mula dilakukan antar kelompok yaitu antar auksin dan retardan. Kemudian dalam masing-masing kelompok.

Perlakuan bergradien atau struktur regresi misalnya percobaan enam taraf konsentrasi IAA (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mg/l) dalam mendorong akar jahe *in vitro*. Untuk struktur seperti ini pembandingan antar perlakuan dilakukan melalui regresi.

Perlakuan berfaktor adalah perlakuan yang disusun berdasarkan kombinasi dari dua faktor atau lebih. Kombinasi faktor itu dapat berupa kombinasi dari struktur perlakuan yang telah dibicarakan itu (tidak berstruktur, beregresi atau berkelompok). Misalnya percobaan tiga taraf

IAA (0, 0.1, 0.2 mg/l) dalam mendorong perakaran *in vitro* tiga kultivar kentang (Red Pontiac, Katahdin, dan DTO 28). Pembeding antar perlakuan pada struktur berfaktor ialah untuk memperoleh keterangan tentang masing-masing faktor dan interaksi antar faktor. Tersedianya keterangan mengenai interaksi ini merupakan suatu ciri khas dari percobaan dengan struktur perlakuan berfaktor. Dari percobaan perlakuan *in vitro* tiga jenis kentang itu jika terdapat interaksi maka untuk masing-masing kultivar selanjutnya diadakan pembeding antar perlakuan IAA melalui regresi. Menurut Barizi (1991) bentuk lain dari struktur perlakuan berfaktor adalah struktur berfaktor tak lengkap (*incomplete factorial*), misalnya berfaktor pecahan (*fractional factorial*) dan struktur perlakuan berfaktor untuk menelaah permukaan respons. Dalam percobaan budiaya jaringan tanaman si peneliti harus benar-benar mengetahui dan memperhatikan struktur perlakuan percobaan. Tanpa pengetahuan struktur perlakuan percobaan tidak dapat melakukan pembeding antar perlakuan yang bermakna. Pembeding antar perlakuan yang bermakna ini akan terungkap nantinya di dalam analisis data serta dalam penyajian dan penafsiran data.

2.2. Perancangan pemberian perlakuan

Experimental design dalam arti sempit ini diterjemahkan oleh Barizi (1991) sebagai perancangan pemberian perlakuan dan dilingkungan IPB banyak yang menggunakan Perancangan Lingkungan. Perancangan pemberian perlakuan pada dasarnya merupakan penentuan pemberian perlakuan pada satuan-satuan percobaan (Barizi, 1991). Pada percobaan kultur jaringan tanaman misalnya dengan 12 perlakuan (A, B, C, ... M) dimana masing-masing botol kultur merupakan satu-satuan percobaan. Jika tiap perlakuan diulang sepuluh kali maka percobaan ini akan terdiri dari $12 \times 10 = 120$

satuan percobaan. Jika waktu atoklaf atau jenis atoklaf, waktu pemindahan dan tempat kultur pada rak kultur dianggap seragam maka cara pemberian perlakuan dan yang lainnya dilakukan secara acak, maka cara penentuan seperti disebut Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jika waktu pemindahan, otoklaf atau rak tidak seragam sehingga harus diadakan pengelompokan. Pada tiap kelompok harus terdapat ke-12 perlakuan tersebut. Cara pengaturan perlakuan tersebut disebut Rancangan Acak Kelompok (RAK). Misalnya waktu otoklaf itu tidak seragam dan satu kali otoklaf hanya mampu dikerjakan 24 botol, maka 120 botol itu dapat diotoklaf sebanyak lima kali. Dalam tiap kali otoklaf terdapat sebanyak dua botol dari masing-masing perlakuan dan dua botol ini dapat dianggap sebagai satu satuan percobaan dan satu satuan evaluasi.

Cara penentuan pemberian perlakuan lainnya adalah : Bujur Sangkar Latin, Rancangan Petak Terpisah, Rancangan Silang dan lain-lain. Rancangan yang umumnya pada budidaya jaringan tanaman adalah RAL dan RAK. RAL dengan ulangan yang banyak adalah yang terpopuler diantara para peneliti karena sederhana dan fleksibel dalam penanggulangan masalah kontaminasi yang tinggi. Dalam hal kontaminasi si peneliti tidak usah takut kepada ulangan yang tidak sama. Dengan RAL ulangan yang tidak sama dapat dijadikan sama dengan cara penyesuaian jumlah ulangan pada ulangan yang terkecil. Hal tersebut sulit dikerjakan pada RAK, namun demikian pada hal tertentu penggunaan RAK adalah yang terbaik. Pada penelitian lingkungan suhu dan cahaya dimana hanya ada satu ru-ang tumbuh pada satu kondisi lingkungan maka hari memasukkan kultur dapat dianggap sebagai kelompok.

Perlu diingat bahwa perancangan pemberian perlakuan bertujuan untuk mengidentifikasi dan memisah misahkan keragaman antar satuan percobaan, sehingga gangguan yang

ditimbulkan oleh keragaman antar satuan percobaan ini dapat mengaburkan hubungan antar respons dengan perlakuan dapat ditekan sekecil mungkin. Ketidak keseragaman antar satuan-satuan percobaan akan menentukan rancangan perlakuan mana yang sebaiknya digunakan. Keseragaman apa yang mungkin ada (otoklaf, hari pemindahan, eksplan, rak kultur dan lain-lain) dan berusaha mengatasi ketidak keseragaman tersebut. Makin terkendali bahan percobaan dan lingkungan percobaan makin sederhana perancangan perlakuan percobaan dan makin baik data yang diperoleh.

2.3. Perancangan Respons

Respons merupakan ciri yang digunakan untuk mengukur atau menilai pengaruh perlakuan. Peubah yang diukur sebagai suatu respons hendak dirumuskan secara konseptual dan sangat bergantung kepada kedalaman si peneliti menguasai masalah dan bidang yang diteliti. Kedalaman keahlian menentukan ketajaman, ketepatan dan kebenaran memilih peubah-peubah tersebut. Peubah yang dipilih sebagai pengukur respons harus benar-benar diketahui mana peubah utama, peubah pelengkap, peubah langsung maupun peubah tak langsung. Hasil pengukuran respons disebut data.

Data yang didapat tergolong dalam data kategorik atau data numerik. Data yang hanya dapat dideskripsikan secara kualitatif disebut data kategorik. Berdasarkan skala yang digunakan data kategorik dapat dibedakan atas data kategorik berskala nominal dan berskala ordinal. Data kategorik berskala nominal misalnya bentuk kalus (longgar, kompak, embrionik) atau warna kalus (putih, hijau, coklat). Data kategorik berskala nominal tidak mempunyai urutan tertentu, setiap kategorik merupakan nama untuk respons yang ditampilkan oleh perlakuan tersebut. Data kategorik berskala ordinal mempunyai urutan tertentu. Misalnya stadia

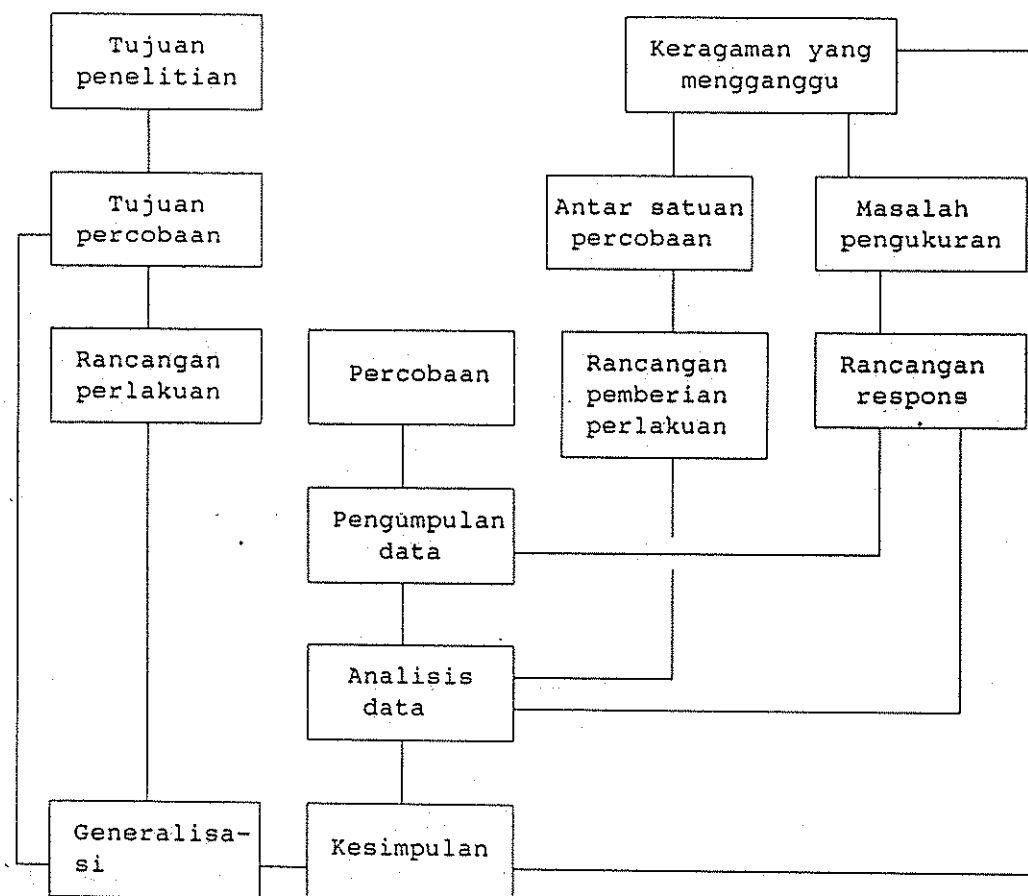
perkembangan kalus menjadi somatik embrio yang dapat dinilai dalam bentuk skoring (1 = tidak berdiferensiasi, 2 = awal berdiferensiasi, 3 = pra embrio, 4 = embrio). Data numerik dapat berupa data cacah atau data ukur. Data cacah dapat berupa jumlah tunas, jumlah umbi mikro, jumlah embrio somatik dan sebagainya, sedangkan data ukur dapat berupa bobot basah umbi mikro, diameter umbi mikro, panjang akar umbi mikro dan sebagainya. Data numerik yang berupa data cacahan dinamakan data diskrit sedangkan data ukur yang berupa bilangan kontinu disebut data kontinu. Perbedaan data ini dimaksudkan untuk membantu peneliti di dalam analisis data yang diperoleh. Data yang pengujian statistik secara parametrik adalah data kontinu yang persebarannya normal. Data cacah dan data lainnya yang persebarannya tidak normal harus dibuat normal terlebih dahulu melakukan teknik transformasi.

2.4. Keterkaitan antara Ketiga Rancangan

Barizi (1991) dengan sangat baik menyadur hubungan ketiga perancangan tersebut dari tulisan Urguhart (1981) yang berjudul "The anatomy of a study". Karena itu sub bab 2.4. ini kami muat secara lengkap saduran Barizi (1991) tersebut.

Telah dikemukakan bahwa perancangan percobaan meliputi tiga aspek, yaitu perancangan perlakuan, perancangan pemberian perlakuan, dan perancangan respons. Kaitan antara ketiga macam rancangan ini disajikan berupa bagan pada Gambar 1.

Setiap penelitian mempunyai tujuan tertentu yang ingin dicapai. Jika suatu penelitian terdiri dari serangkaian percobaan, maka berarti bahwa tujuan penelitian itu dipecah-pecah menjadi beberapa tujuan khusus untuk masing-masing percobaan. Tujuan dari satu percobaan dapat dijabarkan menjadi beberapa pertanyaan yang ingin dijawab atau



Gambar 1. Bagan perancangan dan pelaksanaan percobaan

hipotesis yang ingin diuji melalui percobaan, selanjutnya untuk memperoleh jawaban bagi seperangkat pertanyaan itu disusun suatu strategi berupa perancangan perlakuan yang akan dicoba. Bila rancangan perlakuan telah disusun, maka disediakan satuan-satuan percobaan yang akan menerima perlakuan itu. Untuk memisahkan keragaman antar satuan percobaan agar tidak mengaburkan pengaruh perlakuan, disusun rancangan pemberian perlakuan pada satuan-satuan percobaan. Penyusunan rancangan pemberian perlakuan ini dilakukan dengan memperhatikan sifat-sifat dan besarnya

keragaman antar satuan percobaan. Langkah berikutnya adalah perancangan respons, yaitu pemilihan respons yang akan diamati, penentuan satuan evaluasi dan cara pengukuran bagi setiap respons.

Ketiga macam rancangan ini (rancangan perlakuan, rancangan pemberian perlakuan, dan rancangan respons) menentukan bagaimana analisis data akan dilakukan. Analisis yang dibuat berdasarkan ketiga macam rancangan itu untuk suatu percobaan dengan t perlakuan yang setiap perlakuan diberikan pada r satuan percobaan (r ulangan), dan dari setiap satuan percobaan diambil s satuan evaluasi, disajikan dalam tabel sidikragam pada Table 1. Dengan demikian pada percobaan ini ada tr satuan percobaan dan digunakan sebanyak trs satuan evaluasi.

Sebagai ilustrasi, perhatikan percobaan pemberian ransum ayam pedaging yang telah dikemukakan terdahulu. Struktur perlakuan dalam percobaan ini adalah berfaktor 2×3 yang dilaksanakan menurut rancangan acak kelompok dalam lima ulangan. Faktor pertama adalah kandungan energi ransum yang terdiri dari dua taraf (rendah dan tinggi), sedangkan faktor kedua adalah kandungan protein yang terdiri dari tiga taraf (rendah, sedang, dan tinggi). Satuan percobaan berupa 10 ekor ayam yang diperlihara dalam satu kamar, sedangkan satuan evaluasi untuk respons pertambahan bobot badan adalah satu ekor ayam. Dengan demikian dalam percobaan ini ada $2 \times 3 = 6$ perlakuan yang diberikan pada $6 \times 5 = 30$ satuan percobaan, dan semuanya ada $30 \times 10 = 300$ satuan evaluasi (300 ekor ayam). Analisis data pertambahan bobot badan ayam dari percobaan ini disajikan dalam sidikragam (hanya dicantumkan sumber keragaman dan derajat bebas saja) pada Tabel 2.

Tabel 1. Sidikragam (sumber keragaman dan derajat bebas)

Sumber keragaman	Derajat bebas
Antar perlakuan	$t-1$
$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right]$ Penguraian ditentukan oleh rancangan perlakuan	$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right] (t-1)$
Antar satuan percobaan dalam perlakuan	$t(r-1)$
$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right]$ Penguraian ditentukan oleh rancangan pemberian perlakuan	$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right] p$
Galat a (galat percobaan)	$t(r-1)-p$
Antar satuan percobaan	$tr - 1$
Antar satuan evaluasi dalam satuan percobaan	$tr(s-1)$
$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right]$ Penguraian ditentukan oleh rancangan respons	$\left[\begin{array}{l} - \\ - \\ - \end{array} \right] q$
Galat b (satuan evaluasi dalam satuan percobaan)	$tr(s-1)-q$
Antar satuan evaluasi	$trs - 1$

Tabel 2. Sidikragam untuk penambahan bobot badan pada percobaan ransum ayam pedaging

Sumber keragaman	Derajat bebas
Perlakuan (ransum)	5
Energi] Penguraian menurut Protein] struktur perlakuan Interaksi] berfaktor 2 x 3	1 2 2
Antar satuan percobaan dalam perlakuan	24
Kelompok (Penguraian menurut rancangan acak kelompok)	4
Galat a (galat percobaan)	20
Antar satuan percobaan	29
Galat b (satuan evaluasi dalam satuan percobaan)	270
Antar satuan evaluasi	299

3.0. PENGUJIAN DAN PENAFSIRAN DATA

3.1. Umum :

Prinsip bahwa suatu produk yang baik dihasilkan dari bahan mentah yang baik dan cara pengolahan yang baik bukan saja berlaku pada industri makanan, tetapi juga di dalam bidang penelitian yang dilakukan melalui percobaan. Hasil yang baik dari suatu percobaan kultur jaringan tanaman tergantung dari si peneliti di dalam memahami dan melaksanakan prinsip-prinsip percobaan yang terdapat di dalam segitiga emas dari suatu percobaan penelitian yaitu:

- (1) menanyakan pertanyaan yang baik benar dan tepat
- (2) merencanakan percobaan dan mengumpulkan data yang dapat menjawab pertanyaan tersebut.
- (3) menjawab data yang dapat memberi jawaban yang tepat dan benar.

Di dalam percobaan budidaya jaringan tanaman sering terjadi tiga macam kekeliruan yaitu:

- (1) menanyakan pertanyaan yang kurang tepat
- (2) Analisis data, penyajian data dan penafsiran data tidak memberikan jawaban kepada pertanyaan yang ditanyakan
- (3) pertanyaan dan jawaban yang kurang tepat.

Pada bab 2.0. telah diuraikan mengenai perancangan percobaan secara luas dan bentuk data yang didapat. Dalam bab 3.0. akan ditampilkan kasus berupa ilustrasi atau hasil-hasil penelitian kultur jaringan yang diangkat dari Karya Ilmiah mahasiswa.

3.2. Kasus penyajian data dan penafsiran

3.2.1. Pengaruh taraf BAP terhadap bobot basah umbi mikro kentang dan jumlah umbi mikro (ilustrasi).

Sebagai suatu ilustrasi diambil suatu percobaan pengumbian *in vitro* kentang dengan perlakuan berupa tujuh taraf BAP (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mg/l). Respons yang diamati adalah bobot basah umbi mikro dan jumlah umbi mikro. Penyajian data seperti yang tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Pengaruh taraf BAP terhadap bobot basah umbi mikro dan jumlah umbi mikro

Taraf BAP (mg/l)	Bobot basah umbi (mg/umbi)	Jumlah umbi per botol
0	222 a	9 d
1	202 ab	12 cd
2	205 ab	15 bc
3	186 bc	22 a
4	164 cd	19 ab
5	156 cd	17 b
6	147 d	11 cd

Nilai perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

Dengan pengujian seperti tabel 3.1. ini sulit untuk ditafsirkan terutama pada data jumlah umbi. Cara penyajian data yang demikian seakan-akan peneliti hendak menjawab pertanyaan berikut ini:

- (1) Diantara 21 pembanding antara 2 perlakuan mana saja yang berbeda nyata
 - (2) Diantara ke tujuh perlakuan tersebut perlakuan mana yang terbaik dan mana yang terjelek
- Sebenarnya ada pertanyaan yang lebih realistis yang dapat diajukan:

Bagaimana hubungan antara respons eksplan terhadap dosis BAP yang diberikan.

Hubungan ini terlihat dengan nyata pada analisis data seperti tertera pada tabel 3.2.

Tabel 3.2. Penguraian jumlah kuadrat perlakuan untuk respons bobot basah umbi dan jumlah umbi

Sumber keragaman	DB	JK	Persentase
..... Bobot Basah Umbi			
Perlakuan	6	23 805	
Linear	1	22 885	96%
Sisa	5	920	4%
..... Jumlah Umbi			
Perlakuan	6	650.0	
Linear	1	71.5	11%
Kuadratik	1	482.0	74%
Kubik	1	40.8	6%
Sisa	3	55.7	9%

Dari tabel 3.2. terlihat suatu hubungan linear yang nyata pada respons bobot basah umbi ($\hat{Y}_1 = 222 - 13 X$) dan hubungan kuadratik pada respons jumlah umbi ($\hat{Y}_2 = 7.5 + 7.15 X - 1.07 X^2$). Penafsiran secara biologis ialah bahwa makin tinggi konsentrasi BAP makin rendah bobot basah

Sedangkan pada respons jumlah umbi dapat dikatakan bahwa pada taraf dosis 3.3 mg/l BAP adalah dosis optimum yang menghasilkan jumlah umbi terbanyak (19.6 umbi).

3.2.2. Pengaruh taraf dosis kinetin dan ekstrak pisang terhadap bobot basah umbi mikro (ilustrasi).

Percobaan ini terdiri dari tujuh perlakuan yaitu kontrol dan 3 taraf kinetin (2.5 dan 10) yang dikombinasikan secara berfaktor dengan ekstrak pisang. Rancangan perlakuan pada percobaan ini kurang baik, karena kombinasi kedua faktor yang ada kurang lengkap dan taraf kinetin tidak berjarak sama. Jika ditambah satu perlakuan lagi, yaitu perlakuan ekstrak pisang tanpa kinetin maka terjadi kombinasi yang lengkap dari kedua faktor yaitu 2 (tanpa ekstrak, dengan ekstrak) x 4 (0, 2, 5, 10 mg/l kinetin). Penyajian data seperti yang tertera pada Tabel 3.3.

Tabel 3.4. Pengaruh kinetin dan ekstrak pisang terhadap bobot basah umbi mikro kentang

Taraf kinetin (mg/l)	Ekstrak pisang	Bobot basah (mg/umbi)
0	tanpa ekstrak	81 a
2	tanpa ekstrak	77 ab
2	dengan ekstrak	74 ab
5	tanpa ekstrak	67 bc
5	dengan ekstrak	66 bc
10	tanpa ekstrak	50 d
10	dengan ekstrak	56 cd

Dari hasil penyajian seperti pada tabel 3.4. tidak dapat menarik kesimpulan dengan baik. Tidak diketahui: apakah ekstrak berpengaruh atau tidak, apakah ada interaksi antara taraf kinetin dengan ekstrak pisang. Untuk mengetahui hal tersebut diadakan penguraian jumlah kuadrat perlakuan seperti yang tertera pada tabel 3.5.

Tabel 3.5. Penguraian jumlah kuadrat perlakuan taraf kinetin dan ekstrak terhadap bobot basah umbi mikro

Sumber keragaman	DB	JK	Persentase
Perlakuan	6	3 216	
Kontrol vs dosis (2, 5, 10)	1	915	28%
Linear antar dosis (2, 5, 10)	1	2 249	70%
Akstrak	1	0	0%
Sisa	3	52	2%

Tabel 3.6. Penyederhanaan dari tabel 3.5.

Sumber keragaman	DB	JK	Persentase
Perlakuan	6	3 216	
Linear	1	3 164	98%
Sisa	5	52	2%

Dengan penguraian komponen perlakuan seperti pada tabel 3.5. dan 3.6. diketahui bahwa ekstrak tidak berpengaruh dan pengaruh taraf kinetin linear nyata terhadap bobot basah umbi mikro kentang. Makin tinggi taraf konsentrasi kinetin makin rendah bobot basah umbi mikro. Persamaan linear adalah $(\hat{Y} = 81.2 - 2.9 X)$. Ilustrasi 3.2.2.

mempelihatkan suatu perancangan perlakuan dan penyajian data yang kurang baik.

3.2.3 Percobaan penapisan cara pengumbian dan media pengumbian

Percobaan terdiri dari 8 perlakuan yaitu kombinasi dari 4 media perlakuan (1, 2, 3, 4) dan 3 cara pengumbian. Tiga cara pengumbian itu adalah padat cair (PC), cair-cair (CC), cair substitusi cair (CSC). Penyajian perlakuan tertera pada tabel 3.7.

Percobaan ini sebenarnya tidak begitu baik dirancang karena kombinasi faktor tidak lengkap. Jika ditambahkan lagi 4 perlakuan CC - 3, CSC -3, CC -4 dan CSC 4 maka percobaan ini merupakan percobaan berfaktor dua, kedua faktor itu merupakan perlakuan yang tida berstruktur. Dari data tabel 3.7.

Tabel 3.7. Pengaruh cara pengumbian dan media pengumbian terhadap jumlah umbi dan bobot basah umbi (Wattimena, 1987)

Perlakuan	Jumlah umbi tiap botol		Bobot basah umbi mg/umbi
	$Vx+0.5$	(X)	
PC - 1	2.34 bc	(5.0)	829 ab
CC - 1	2.08 bc	(3.8)	944 c
CSC - 1	2.66 c	(6.6)	846 b
PC - 2	2.01 bc	(3.5)	761 a
CC - 2	1.07 a	(0.6)	742 a
CSC - 2	1.17 a	(0.9)	728 a
PC - 3	2.13 bc	(4.0)	768 a
PC - 4	1.59 ab	(2.0)	745 a)

terlihat bahwa p kombinasi perlakuan CSC - 1 adalah yang terbaik. Pengamatan secara visual diduga bahwa mungkin media cair di dalam botol itu terlampau tinggi, maka ditambahkan 4 perlakuan lagi dari CC -1 seperti tertera pada tabel 3.8.

Pengujian dengan uji berganda seperti tabel 3.8. sebetulnya kurang tepat sebab karena perlakuan tersebut adalah perlakuan berstruktur beregresi atau bergradien. Pada perlakuan berstruktur beregresi sebaiknya diuji dengan ortogonal ponomial.

Tabel 3.8. Pengaruh tinggi media pengumbian terhadap jumlah umbi, bobot basah umbi dan persentase bahan kering umbi (Wattimena, 1987).

Tinggi media pengumbian cm (ml)	Jumlah umbi per botol	Bobot basah (mg)	Persentase bahan kering (%)
1 (25)	19.83 c	112 a	15.80 a
2 (45)	18.17 c	158 b	17.34 a
3 (70)	16.14 b	127 b	21.10 b
4 (90)	3.40 a	84 a	16.90 a

Dari hasil percobaan tambahan itu telah ditetapkan metoda pengumbian CC yang terbaik dan dipakai sebagai standar di lab Jurusan Budidaya pertanian IPB. Metoda tersebut telah diberi nama S_2L_2 (Static shallow liquid - liquid method) (Wattimena, 1991).

3.2.4. Pengaruh taraf 2iP dan taraf nitrogen terhadap pembentukan umbi mikro kentang (Percobaan optimasi)

Tujuan dari percobaan ini untuk mengetahui taraf optimum dari nitrogen dan 2iP terhadap res-pons jumlah umbi,

berat basah umbi, diameter umbi dan persentase bahan kering umbi. Percobaan adalah percobaan berfaktor dua. Kombinasi perlakuan terdiri 5 taraf nitrogen (7.5, 15.0, 30.0, 60.0 dan 120.0 mM N) dan 4 taraf 2iP (0, 2.5, 5.0 dan 10.0 mg/l). Faktor 2iP dan nitrogen keduanya berupa perlakuan berstruktur regresi. Dalam pengujian statistik pengaruh taraf 2iP maupun interaksi aksi 2iP dan nitrogen tidak berbeda nyata. Hasil percobaan disajikan pada tabel 3.9.

Dari segi penggunaan umbi mikro sebagai propagul selain jumlah yang dihasilkan juga penting kualitas umbi yang dihasilkan yang ditentukan oleh berat basah, diameter dan persentase bahan kering. Respons diameter, berat basah, dan persentase bahan kering terhadap nitrogen yang diberikan bersifat kuadratik dan kubik nyata. dari persamaan regresi nilai dugaan optimum Nitrogen yang menghasilkan respons terbaik adalah 30 mM.

Tabel 3.9. Pengaruh nitrogen terhadap jumlah, diameter, berat basah dan persentase bahan kering umbi (Wattimena et al., 1991)

Nitrogen (mM)	Jumlah umbi $Vx+0.5$	(X)	Diameter (mm)	Bobot basah (mg)	Persentase kering (%)
7.5	3.02	(8.8)	4.9	97.9	22.2
15.0	3.02	(8.8)	5.3	120.8	21.3
30.0	2.86	(7.8)	5.9	157.2	20.8
60.0	2.78	(7.3)	5.5	139.5	16.7
120.0	2.73	(7.0)	5.4	134.3	16.6
Linear		**	tn	tn	**
Kuadratik		tn	**	**	**
Kubik		tn	**	**	**
Kuartik		tn	tn	tn	tn

3.2.5. Percobaan verifikasi pengaruh sitokinin dan retardan terhadap produksi umbi mikro kentang

Pada percobaan optimasi telah diketahui taraf konsentrasi optimum bagi masing-masing jenis sitokinin dan retardan. Di dalam pengumbian mikro kentang kombinasi zat pengatur tumbuh yang terbaik adalah kombinasi antara sitokinin dan retardan. Jika masing-masing sitokinin dan retardan telah diketahui konsentrasi optimum seharusnya kombinasi mana saja yang diambil akan memproduksi umbi mikro dengan kualitas yang sama. Pertanyaan tersebut yang hendak dijawab oleh percobaan verifikasi ini. Percobaan adalah percobaan berfaktor dua masing-masing jenis pada konsentrasi optimum. Seluruhnya ada 16 kombinasi perlakuan terdiri dari 4 jenis sitokinin (BA, Kinetin, Benomyl, Adenin sulfat) dan 4 jenis retardan (Coumarin, CCC, Paclobutrazol, Uniconazole). Hasil percobaan disajikan pada tabel 3.10. Dari tabel 3.10 juga dapat ditarik kesimpulan bahwa apa yang ditanyakan sebenarnya sudah terjawab. Respons yang berbeda nyata itu hanya pada jumlah umbi yaitu kombinasi perlakuan Benomyl - Coumarin berbeda nyata dari perlakuan Adenin Sulfat - Uniconazole dan BA - CCC.

Tabel 3.10. Pengaruh sitokinin dan retardan terhadap jumlah umbi, diameter umbi, dan bobot basah umbi (Sugih, 1991).

Perlakuan	Jumlah umbi Vx+0.5 ,	(x)	Diameter umbi (mm)	Bobot ba- sah mg/umbi	
BA					
Coumarin	2.49	ab	(5.9)	3.39	36.9
C C C	2.12	a	(4.4)	3.42	41.6
Paclobutrazol	2.67	ab	(6.8)	3.52	33.8
Uniconazole	2.44	ab	(5.7)	3.87	51.0
Kinetin					
Coumarin	2.69	ab	(7.0)	3.37	38.4
C C C	2.72	ab	(7.0)	3.44	36.5
Paclobutrazol	2.28	ab	(4.9)	3.56	41.8
Uniconazole	2.25	ab	(4.7)	4.43	60.4
Benomyl					
Coumarin	2.93	b	(9.0)	3.41	41.1
C C C	2.50	ab	(6.0)	3.96	56.7
Paclobutrazol	2.67	ab	(6.8)	4.05	50.0
Uniconazole	2.28	ab	(4.9)	4.15	53.9
Adenin Sulfat					
Coumarin	2.45	ab	(5.6)	3.45	35.9
C C C	2.63	ab	(6.6)	3.44	37.1
Paclobutrazol	2.35	ab	(5.1)	3.74	44.3
Uniconazole	2.16	a	(4.2)	4.04	53.4

BNJ₀₅. Perlakuan pada kolom yang sama dengan satu atau dua huruf yang sama tidak berbedanya nyata.

PENUTUP

1. Penelitian budidaya jaringan yang berbentuk percobaan merupakan suatu kesatuan urutan kegiatan dimuali dari perumusan masalah, perancangan percobaan, pelaksanaan percobaan, analisis data, penyajian dan pelaksanaan percobaan, analisis data dalam suatu bentuk tulisan ilmiah.
2. Rumuskan pertanyaan-pertanyaan yang baik dan benar yang ingin memperoleh jawaban melalui percobaan yang akan diadakan.
3. Rancanglah perancangan percobaan yang baik dan efesien untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan yang dirumuskan pada butir 2.
4. Laksanakanlah percobaan itu dengan baik dan tekun sesuai rencana pada butir 3 supaya data yang dikumpulkan itu benar-benar dapat digunakan untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan pada butir 2.
5. Analisis data, penyajian data, penafsiran data serta penarikan kesimpulan diarahkan untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan pada butir 2.
6. Berlatihlah untuk menulis hasil percobaan itu dalam suatu tulisan ilmiah secara terbuka dan jujur.

PUSTAKA

- Barizi. 1991. Perancangan percobaan. Prosiding Lokakarya Metoda Statistika untuk Bioteknologi, Bogor, 20 - 21 Agustus 1991.
- Little, M.T. 1981. Interpretation and presentation of results. Hort science 16(5): 637-640.
- Sugih, R.S. 1991. Pengaruh jenis zat penghambat tumbuh dan sitokinin terhadap pengumbian *in vitro* kentang (*Solanum tuberosum* L.). Karya Ilmiah S₁ Jurusan Budidaya Pertanian, IPB.

Urguhart, N.S. 1981. The anatomy of study. Proceedings of the Symposium: Statistic a tool for the horticultural scientist. Insert Hort science 16(5): 620 - 636.

Wattimena, G.A. 1987. *In vitro* microtuber as an alternative technology for potato production (Plant Biotechnology) Second Interim Progress Report, IPB, Bogor.

Wattimena, G.A., A. Purwito, N.A. Mattjik and I. Sundari. 1991. Production of potato microtuber by manipulating the nitrogen and Zip of the tuberization medium. Workshop m Agricultural Biotechnology, Bogor, Indonesia.