



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN ANTER TANAMAN
MENTIMUN (CUCUMIS SATIVUS L) AKIBAT PEMBERIAN BAP
DAN KINETIN PADA MEDIA MS+2,4-D SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



**SETRI YENI
1010212023**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN ANTER
TANAMAN MENTIMUN (*Cucumis sativus* L.) AKIBAT
PEMBERIAN BAP DAN KINETIN PADA MEDIA MS + 2,4-D
SECARA *IN VITRO***

OLEH

**SETRI YENI
1010212023**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2015**

**PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN ANTER
TANAMAN MENTIMUN (*Cucumis sativus* L.) AKIBAT
PEMBERIAN BAP DAN KINETIN PADA MEDIA MS + 2,4-D
SECARA *IN VITRO***


SKRIPSI

OLEH


**SETRI YENI
1010212023**

MENYETUJUI :



Dosen Pembimbing I


Ir. Sutoyo, MS
NIP. 195909021984031002

Dosen Pembimbing II


Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MP
NIP. 196202091989031002





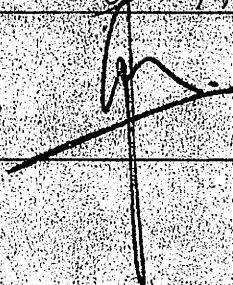
**Dekan Fakultas pertanian
Universitas Andalas**

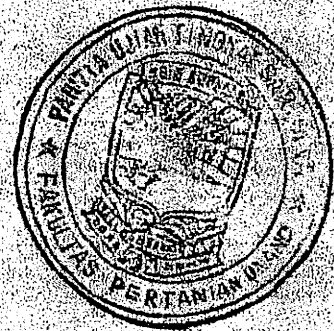


Prof. Ir. H. Ardi, MSc
NIP. 195312161980031004

**Ketua Program Studi Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**


Dr. Jumsu Trisno, SP, MSi
NIP. 196911211995121001

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana
Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada tanggal 09 Juli 2015

NO	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1.	Dr. Ir. Gustian, MS		Ketua
2.	Dr. Aprizal Zainal, SP, MSi		Sekretaris
3.	Dr. Ir. Benni Satria, MP		Anggota
4.	Ir. Sutoyo, MS		Anggota
5.	Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS		Anggota



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"Hai orang-orang yang beriman apabila dikatakan kepadamu, "Berlapang-lapanglah dalam majlis" maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan, "Berdirilah kamu", maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan."

(QS. Al-Mujadilah 58:11)

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila engkau telah selesai dengan suatu pekerjaan, segeralah engkau kerjakan dengan sungguh-sungguh urusan lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap."

(Q.S Al-Insyrah : 6-8)

Alhamdulillah Rabbil Alamin

Tercapai sudah langkah demi langkah cita-citaku, semua berkat Rahmat-Mu ya Rabb. Bersujud syukurku kepada-Mu ya Allah atas Nur, Rahim dan Rahim-Mu yang telah Engkau limpahkan kepadaku.

Atas ridho-Mu ya Allah, kupersembahkan karya kecilku ini dengan segenap ketulusan hati dan ucapan terimakasih kepada Ayahanda M. Shaleh dan ibunda Rosma Wilis yang selalu memberikan kasih sayang, cinta, do'a, motivasi, semangat serta pengorbanan yang tak dapat dibalas dengan suatu apapun di dunia ini (semoga Allah membalasnya). Untuk kakakku Firna Wati, Kiki Sasnita, Firda Wati dan abangku Aryas terimakasih untuk segala bentuk dukungan dan semangatnya selama menyelesaikan karya kecil ini.

Terhusus ucapan terimakasih yang setulusnya untuk kedua pembimbing Bapak Ir. Sutoyo MS dan Bapak Prof. Dr. Ir. Aswadi Anwar, MS. Syukurku mendapatkan dua motivator hebat yang sangat menginspirasi untuk dapat menjadi insan yang bermanfaat, pantang menyerah dan berwawasan luas. Tak lupa rasa terimakasihku kepada Ibu Dr. PK, Dewi Hayati, SP. Msi dan Ibu Aisyah tercinta yang selalu menemani selama perjalanan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Teruntuk orang-orang yang selalu ada dalam segala suasana kak Lara, ni Yet, kak Fitri, Khairul (Ujang '...'), bang Ary, kak Amel, kak Fera, Rika (amek), kak Rara, Ade, Iyut (semoga Allah memberikan yang terbaik untuk kita semua, Aaminn..). Pemuliaan 2010 Syuib dan Rheny (semangat berjuang..!) Rahmad, Tari, Hasfin dan Valen yang telah duluan selesai dari jalan perjuangan ini, mudah-mudahan kita dipertemukan lagi suatu saat nanti dalam keadaan yang jauh lebih baik, Aaminn.. Keluarga besar Agroekoteknologi 2010 terimakasih telah menambah warna dalam cerita ini. Dan yang terakhir untuk keluarga besarku FORSTUDI yang telah mengajarkan banyak hal dalam hidup ini, rumah ternyaman yang pernahku singgahi, yang selalu mendekatanku kepada Rabb semesta alam, selalu mengingatkan ketika tertipu, menghibur ketika sedih, membimbing ketika terjatuh, dan menguatkan ketika lemah. Terimakasih untuk semuanya.

BIODATA

Penulis dilahirkan di Tanjung Gadang, Kabupaten Sijunjung, Sumatera Barat pada tanggal 01 September 1992 sebagai anak kelima dari lima orang bersaudara, dari pasangan M. Shaleh dan Rosma wilis. Pendidikan Sekolah Dasar ditempuh di SD Negeri 05 Sibakur, Kecamatan Tanjung Gadang Kabupaten Sijunjung (1998-2004). Sekolah Menengah Pertama ditempuh di MTsN Palangki Kecamatan Muaro Bodi Kabupaten Sijunjung (2004-2007). Sekolah Menengah Atas ditempuh di SMAN 3 Tanjung Gadang Kabupaten Sijunjung (2007-2010). Pada tahun 2010 penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas Program Studi Agroekoteknologi.

Padang, 06 Juli 2015

S.Y

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahrabal'alaminn, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkah, limpahan rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pertumbuhan dan Perkembangan Anter Tanaman Mentimun (*Cucumis sativus* L.) akibat Pemberian BAP dan Kinetin pada Media MS + 2,4-D secara *In vitro*”**.

Penulis mengucapkan terimakasih yang setulusnya kepada Bapak Ir. Sutoyo, MS dan Bapak Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS selaku pembimbing yang telah memberikan arahan, nasehat, dan masukan yang sangat penulis butuhkan dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Kesempurnaan hanyalah milik Allah yang Maha Sempurna. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca sekalian terutama bagi kemajuan ilmu pengetahuan secara umum, dibidang kultur jaringan tumbuhan secara khusus.

Padang, 06 Juli 2015

S.Y

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Botani Tanaman Mentimun	4
1. Akar tanaman mentimun	5
2. Daun tanaman mentimun	5
3. Bunga tanaman mentimun	5
4. Buah tanaman mentimun	6
B. Kultur Anter Mentimun	7
C. Media Tanam	8
D. Zat Pengatur Tumbuh	9
E. Induksi Kalus	10
BAB III METODE PENELITIAN	11
A. Waktu dan Tempat	11
B. Alat dan Bahan	11
C. Metode Penelitian	11
D. Pelaksanaan Penelitian	12
1. Sterilisasi alat	12
2. Pembuatan media	12
3. Bahan tanam dan sterilisasi eksplan	13
4. Penanaman eksplan	13
5. Pemeliharaan	14

E. Pengamatan	14
1. Persentase eksplan yang hidup.....	14
2. Umur terbentuknya kalus	14
3. Persentase anter membentuk kalus.....	14
4. Tekstur kalus 6 minggu setelah tanam	14
5. Warna kalus 6 minggu setelah tanam.....	15
6. Diameter kalus 6 minggu setelah tanam	15
7. Volume kalus 6 minggu setelah tanam	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
A. Kondisi Umum Penelitian.....	16
B. Persentase Eksplan yang Hidup	17
C. Umur Terbentuknya Kalus.....	19
D. Persentase Anter Membentuk Kalus.....	20
E. Tekstur Kalus 6 Minggu Setelah Tanam.....	21
F. Warna Kalus 6 Minggu Setelah Tanam	23
G. Diameter Kalus 6 Minggu Setelah Tanam.....	25
H. Volume Kalus 6 Minggu Setelah Tanam.....	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
A. Kesimpulan	28
B. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Perkembangan eksplan anter mentimun selama pengkulturan.....	16
2. Persentase eksplan anter mentimun yang hidup pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam	18
3. Umur eksplan anter mentimun membentuk kalus pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam	19
4. Persentase eksplan anter mentimun membentuk kalus pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.....	21
5. Tekstur kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam	22
6. Diameter kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam	25
7. Volume kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Kuncup bunga mentimun.....	13
2. Pertumbuhan eksplan 6 minggu setelah tanam.....	23
3. Perbedaan warna kalus pada 6 minggu setelah tanam.....	24

LAMPIRAN

	Halaman
1. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	32
2. Komposisi Medium Murashige dan Skoog (MS).....	33
3. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium.....	34
4. Tabel Sidik Ragam	35
5. Pembuatan Larutan Stok pada Media Dasar MS.....	36

**PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN ANTER
TANAMAN MENTIMUN (*Cucumis sativus* L.) AKIBAT
PEMBERIAN BAP DAN KINETIN PADA MEDIA MS + 2,4-D
SECARA *IN VITRO***

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat respon pertumbuhan dan perkembangan anter tanaman mentimun dalam menginduksi kalus akibat pemberian BAP dan Kinetin pada media MS + 2,4-D. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari tujuh perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian BAP dan kinetin tidak meningkatkan persentase hidup eksplan sedangkan media MS + 2,4-D yang digunakan mampu mendukung persentase hidup eksplan secara maksimal. Kalus terbentuk pada umur tiga minggu setelah tanam. Persentase anter membentuk kalus mencapai 93,33% pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan 1,5 μM . Pada umumnya kalus berwarna kuning dan putih kekuningan dengan tekstur kompak. Volume dan diameter kalus terbaik didapatkan pada perlakuan BAP pada konsentrasi 1,5 μM .

Kata kunci : Kultur anter, *Cucumis sativus* L., media MS + 2,4-D, BAP dan kinetin.

IN VITRO GROWTH AND DEVELOPMENT OF CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.) ANTHEAS IN RESPONSE TO BAP AND KINETIN IN MEDIA MS+2,4-D

ABSTRACT

The experiment reported here was aimed at determining the growth and development of cucumber anthers in callus induction in MS + 2,4-D growth media enriched with BAP and kinetin. A completely randomized design with seven treatments and three replicates was assigned. Results showed that BAP and kinetin did not increase the percentage of living explants whilst the growth media MS + 2,4-D was suitable for maximizing the percentage of living explants. Callus was formed three weeks after planting. Treatment groups of BAP 0.5 and 1.5 μM resulted in 93.33% callus formation. Callus are yellow and yellowish with compact texture. The treatment group of BAP 1.5 μM resulted in the highest volume and diameter of callus.

Keyword : Anther culture, *Cucumis sativus* L., MS medium + 2,4-D, BAP and Kinetin.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan tanaman semusim yang bersifat merambat dengan perantara alat pemegang yang berbentuk spiral. Tanaman mentimun berasal dari bagian utara India, yakni lereng Gunung Himalaya, kemudian berkembang ke wilayah Mediteran. Di kawasan Asia khususnya Indonesia, mentimun baru dikenal sekitar dua abad sebelum masehi. Di Jawa dan Sumatera, mentimun banyak ditanam di dataran rendah. Mentimun merupakan salah satu jenis sayur yang cukup populer di hampir semua negara. (Abdurahman, 2005).

Tanaman mentimun termasuk jenis sayuran buah yang banyak memiliki manfaat dalam kehidupan masyarakat sehari-hari, sehingga permintaan terhadap komoditi ini sangat besar. Buah mentimun disukai oleh seluruh golongan masyarakat, mulai dari golongan masyarakat berpenghasilan rendah sampai berpenghasilan tinggi, sehingga buah mentimun dibutuhkan dalam jumlah relatif besar dan berkesinambungan. Kebutuhan buah mentimun cenderung terus meningkat sejalan dengan penambahan penduduk, peningkatan taraf hidup, tingkat pendidikan, dan kesadaran masyarakat tentang pentingnya nilai gizi (Mardalena, 2007).

Untuk terus meningkatkan nilai kualitatif maupun kuantitatif dari tanaman mentimun, strategi yang dapat dilakukan pemulia pada dasarnya adalah merakit suatu varietas baru yang mempunyai keunggulan secara genetik dalam produksi, termasuk komponen-komponen yang mempengaruhi produksi tersebut dengan cara melakukan hibridisasi. Hibridisasi adalah persilangan buatan dari dua tetua yang berbeda secara genetik bertujuan untuk menggabungkan sifat-sifat baik dari kedua tetua dan untuk menimbulkan dan memperluas keragaman genetik dimana dapat dilakukan seleksi bagi sifat yang diinginkan.

Dari hasil persilangan, generasi F1 memiliki jumlah genetik yang tinggi sehingga pada generasi F2 harus ditumbuhkan banyak populasi agar memberi peluang untuk semua segregasi. Penumbuhan polen dengan jumlah yang sedikit di dalam botol kultur secara *in vitro* akan memudahkan dalam mencapai individu-

individu segregasi dalam jumlah yang banyak. Penumbuhan polen melalui kultur anter dari generasi F1 akan melahirkan segregasi yang cukup memadai pada generasi F2. Kultur anter merupakan salah satu cara untuk mendapatkan tanaman haploid. Kultur anter adalah media penting untuk mengembangkan galur homozigot (*galur murni*) dan memperpendek siklus pemuliaan untuk mendapatkan varietas unggul baru (Yuniati *et al.*, 2008).

Sampai saat ini tanaman mentimun haploid hanya diperoleh dengan cara penyerbukan, dengan serbuk sari diiradiasi dengan sinar gamma, kemudian melalui kultur embrio haploid. Upaya untuk mendapatkan tanaman haploid mentimun dengan metode yang berbeda seperti kultur anter belum banyak yang berhasil (Nikolova dan Maria, 2000).

Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses kultur anter pada sebagian besar tanaman, terutama *Cucurbitaceae*. Adapun faktor tersebut adalah genotipe tanaman, kondisi pertumbuhan tanaman donor, tahap mikrospora, perkembangan kuncup bunga, media dan kondisi kultur (Hamidvand *et al.*, 2013). Suprunova dan Shmykova (2008) menambahkan, faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan kultur anter adalah sifat dan konsentrasi zat pengatur tumbuh, dan tahapan perkembangan mikrospora.

Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh yang tepat (Hendaryono dan Wijayani, 2002).

Komposisi auksin dan sitokinin dalam media kultur *in vitro* memainkan peranan penting dalam induksi dan regenerasi kalus menjadi tunas. Auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah *Asam indol-3-asetat* (IAA), *asam naptalen asetat* (NAA), dan *asam 2,4-diklorophenoxyasetik* (2,4-D). Lestari (2011) mengemukakan bahwa salah satu senyawa yang paling sering digunakan untuk menginduksi pembelahan sel adalah *asam 2,4-diklorophenoxyasetik* (2,4-D) dan juga berperan sebagai inisiasi kalus. Namun, Pierik (1997) menganjurkan untuk membatasi penggunaan 2,4-D pada kultur *in vitro* karena 2,4-D dapat

meningkatkan peluang terjadinya mutasi genetik dan menghambat fotosintesis pada tanaman yang diregenerasikan.

Sedangkan, menurut Hamidvand *et al.* (2013) medium 2,4-D merupakan medium yang mengandung induksi androgenesis yang baik pada *Cucumis pepo* dan *Cucumis sativus* L. Kemampuan androgenik semakin baik setelah diberi penambahan sitokinin pada medium induksi. Diantara beberapa sitokinin yang telah diuji didapatkan BAP dan Kinetin lebih unggul karena disebabkan oleh jumlah embrio tertinggi yang dihasilkan. Persentase kalus embriogenik dan rata-rata jumlah embrio per anter adalah sifat-sifat penting dari androgenesis.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Hamidvand *et al.* (2013) untuk melihat pengaruh zat pengatur tumbuh pada kultur anter mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan media MS + 2,4-D dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP dan kinetin memperoleh hasil respon pertumbuhan kalus yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penulis telah melaksanakan penelitian dengan judul **“Pertumbuhan dan Perkembangan Anter Tanaman Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Akibat Pemberian BAP dan Kinetin pada Media MS + 2,4-D secara *In vitro*”**.

B. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat respon pertumbuhan dan perkembangan anter tanaman mentimun dalam menginduksi kalus akibat pemberian BAP dan Kinetin pada media MS + 2,4-D.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Botani Tanaman Mentimun

Mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan kelompok dari *Cucurbitaceae* yang terdiri dari 90 genera dan 750 spesies (De Candolle, 1886). Klasifikasi tanaman mentimun :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Cucurbitales
- Famili : Cucurbitaceae
- Genus : Cucumis
- Spesies : *Cucumis sativus* L.

Mentimun dilaporkan berasal dari India, yakni lereng Gunung Himalaya, yang kemudian berkembang ke wilayah Mediteran. Hal ini dibuktikan terdapatnya *Cucumis hardwicki* mirip dengan *Cucumis sativus* kecuali bagian luar buah halus dan daging buah yang pahit. Mentimun *hardwicki* merupakan kerabat liar atau progeni dari mentimun yang dibudidayakan (De Candolle, 1886).

Mentimun termasuk tanaman semusim yang bersifat merambat dengan perantara alat pemegang yang berbentuk pilin spiral. Panjang atau tinggi tanaman dapat mencapai 50 cm - 250 cm, bercabang dan tumbuh disisi tangkai daun (Mardalena, 2007).

Buah mentimun yang dimakan adalah yang telah memasuki tahap dewasa. Mentimun memiliki kadar air yang tinggi dan digunakan sebagai bahan yang menyegarkan. Dalam 100 g bagian mentimun yang dimakan, buahnya mengandung 96 g air, 0.6 g protein, 2.2 g karbohidrat, 0.1 g lemak, 45 IU vitamin A, 0.03 mg vitamin B, 0.02 mg vitamin B₂, 0.3 mg niacin, 12 mg vitamin C, 12 mg kalsium, 0.3 mg zat besi, 15 mg magnesium, dan 24 mg fosfor (Esquinas dan Gullick, 1983).

1. Akar tanaman mentimun

Tanaman mentimun berakar tunggang. Akar tumbuh lurus kedalam tanah sampai kedalaman sekitar 20 cm, perakaran tanaman mentimun dapat tumbuh dan berkembang pada tanah yang berstruktur remah (Cahyono, 2003).

2. Daun tanaman mentimun

Mentimun berdaun tunggal, bentuk, ukuran, dan kedalaman lekuk daun mentimun bervariasi. Daun mentimun berbentuk bulat dengan ujung daun runcing berganda dan bergerigi, berbulu sangat halus, memiliki tulang daun menyirip dan bercabang-cabang, kedudukan daun tegap. Daun mentimun terdiri atas helaian daun (*lamina*), tangkai daun, dan ibu tulang daun. Daun mentimun dewasa mempunyai ukuran panjang dan lebar yang dapat mencapai 20 cm, berwarna hijau tua hingga hijau muda, permukaan daun berbulu halus dan berkerut (Muttaqin, 2010).

3. Bunga tanaman mentimun

Bunga mentimun bersifat tidak mantap karena sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan. Letak bunga jantan dan bunga betina terpisah, tetapi masih dalam satu tanaman (*monoceus*). Pada variasi kelamin bunga *monoceus*, persentase bunga jantan dan bunga betina hampir sama jumlahnya. Didaerah yang panjang penyinaran matahari lebih dari 12 jam/hari, intensitasnya tinggi dan suhunya panas, tanaman mentimun cenderung memperlihatkan lebih banyak bunga jantan dari pada bunga betina dan bunga jantan muncul lebih awal beberapa hari mendahului bunga betina (Mardalena, 2007).

Bunga betina mempunyai bakal buah yang membengkak, terletak dibawah mahkota bunga, sedangkan pada bunga jantan tidak mempunyai bagian bakal buah yang membengkak. Bunga jantan berukuran 2 cm - 3 cm terdiri dari tangkai bunga dan benang sari. Mahkota bunga terdiri dari 5 - 6 buah, berwarna kuning terang dan berbentuk bulat (Cahyono, 2003).

Penyerbukan mentimun umumnya disebabkan oleh serangga. Lebah madu merupakan faktor utama yang membantu penyerbukan mentimun, kondisi ideal untuk lebah madu melakukan penyerbukan adalah saat hari cerah. Waktu optimum yang baik untuk penyerbukan adalah antara jam 09.00 pagi sampai jam 12.00 siang. Untuk memastikan penyerbukan, lebah harus mengunjungi bunga

setidaknya 12 sampai 15 kali untuk pengembangan buah normal. Namun untuk tujuan menghasilkan benih hibrida, penyerbukan dilakukan secara manual. Serangga penyerbuk harus disingkirkan dalam mendapatkan selfing untuk mencegah kontaminasi serbuk sari (Kohli dan Amit, 2004).

Untuk melakukan kultur anter mentimun, eksplan yang digunakan adalah anter yang berasal dari kuncup bunga jantan tanaman mentimun. Kuncup bunga yang diambil adalah kuncup bunga yang berukuran sekitar 0,8 cm - 1,2 cm diukur mulai dari pangkal kuncup bunga dengan posisi mahkota sudah berada diatas kelopak bunga. Pengambilan kuncup bunga dilakukan sekitar jam 9:00 - 10:00 pagi hari.

4. Buah tanaman mentimun

Buah mentimun merupakan buah sejati tunggal, terjadi dari satu bunga yang terdiri satu bakal buah. Buah mentimun letaknya menggantung pada ketiak daun. Buah mentimun berbentuk bulat, lonjong atau memanjang dengan ukuran yang beragam. Jumlah dan ukuran duri atau kutil yang terserak pada ukuran buah beragam, biasanya lebih jelas terlihat pada buah muda. Warna kulit buah juga beragam dari hijau pucat hingga hijau sangat gelap, daging bagian dalam berwarna putih hingga putih kekuningan (Muttaqin, 2010).

Berdasarkan keadaan kulit buahnya, secara garis besar mentimun digolongkan menjadi 2 kelompok sebagai berikut : 1) mentimun dengan kulit buah berbintik-bintik terutama pangkal buahnya, yang termasuk ke dalam kelompok ini adalah : a) mentimun biasa, berkulit tipis dan lunak, buah muda dari mentimun ini berwarna putih kehijau-hijauan termasuk didalamnya mentimun jepang. b) mentimun watang, berkulit tebal dan agak keras. c) mentimun wuku, berkulit tebal dan buah berwarna coklat. 2) mentimun krai yang berkulit halus tidak berbintil-bintil, warna buah hijau kekuning-kuningan dan bergaris putih (Muttaqin, 2010).

Biji mentimun berwarna putih, krem, berbentuk bulat lonjong (oval) dan pipih. Biji mentimun diseliputi oleh lendir dan saling melekat pada ruang-ruang tempat biji tersusun dan jumlahnya sangat banyak. Biji-biji ini dapat digunakan untuk perbanyakan (Cahyono, 2003).

B. Kultur Anter Mentimun

Kultur anter adalah salah satu teknik perbanyakan tanaman dengan menggunakan organ reproduktif anter. Landasan dari kultur anter adalah teori sel yang mengatakan bahwa setiap sel merupakan unit bebas yang mampu membentuk organisme baru atau sel-sel tanaman mempunyai sifat totipotensi sel yang potensial. Kultur anter merupakan media penting untuk mengembangkan galur homozigot (galur murni) dan memperpendek siklus pemuliaan varietas unggul baru (Yuniati *et al.*, 2008).

Secara konvensional, untuk menghasilkan suatu varietas unggul dengan sifat-sifat yang diinginkan perlu ditempuh prosedur penelitian yang sistemik, mulai dari pemilihan tetua, persilangan, seleksi galur, pengujian daya hasil dan perbanyakan benih, diakhiri dengan pelepasan varietas unggul, sehingga memerlukan waktu 7-10 tahun (Aprisa *et al.*, 2010.). Untuk mempercepat perakitan varietas unggul harus diterapkan suatu kombinasi prosedur pemuliaan konvensional dengan prosedur bioteknologi. Salah satu prosedur alternatif yang dianjurkan dalam perakitan varietas baru adalah penggunaan sistem haploid, yaitu dengan terlebih dahulu membuat galur diploid homozigot atau galur murni dengan jalan menggandakan kromosom dari individu haploid (Croughan, 1995).

Keberhasilan kultur anter yang pertama adalah pada tanaman *Datura innoxia* kemudian tanaman *Nicotiana tabacum* pada tahun 1976. Sejak itu, informasi mengenai kultur anter semakin bertambah sampai sekarang. Kultivar - kultivar yang berasal dari kultur anter atau kultur mikrospora yang telah dirilis meliputi *Brassica napus*, tembakau, padi, gandum, dan jagung. Sampai saat ini, tanaman mentimun haploid hanya diperoleh melalui penyerbukan dengan serbuk sari diiradiasi sinar gamma, diikuti oleh kultur embrio haploid. Upaya untuk mendapatkan tanaman haploid dari mentimun dengan metode yang berbeda seperti kultur anter belum banyak yang berhasil (Nikolova dan Maria, 2000).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (2002) ada beberapa faktor yang menentukan hasil akhir kultur anter yaitu : 1) kondisi pertumbuhan tanaman donor, temperatur, fotoperiodisasi, dan intensitas cahaya, 2) umur tanaman donor, 3) tingkat perkembangan polen, 4) metode sterilisasi, 5) perlakuan, 6) media kultur, dan 7) kondisi ruang inkubasi.

Mikrospora adalah serbuk sari yang masih muda, dengan struktur satu inti. Pada perkembangan normal, mikrospora diprogram untuk berdeferensiasi menjadi polen dengan menghasilkan 2 inti sel sperma. Stadium perkembangan mikrospora menurut Latif (1991) dapat dibedakan menjadi beberapa fase, yaitu : 1) Uni-nukleat sangat awal, dicirikan oleh inti mikrospora di tengah, dinding mikrospora sangat tipis dan tanpa vakuola, 2) Uni-nukleat awal, dicirikan oleh inti mikrospora di tengah, dinding sudah semakin kuat dan vakuola kecil bentuk sferik, 3) Uni-nukleat tengah awal, dicirikan oleh sebagian besar inti mikrospora di tengah sedangkan sebagian kecil inti mikrospora di tepi, vakuola besar, 4) Uni-nukleat tengah, hampir sama dengan uninukleat tengah awal tetapi ukuran vakuola dua kali ukuran vakuola pada stadium sebelumnya, 5) Uni-nukleat akhir, dicirikan oleh hampir semua mikrospora mempunyai inti di tepi, pada beberapa jenis sudah berkembang menjadi stadium 2 inti, vakuola besar berbentuk bulat telur. Polen yang digunakan dalam kultur anter adalah polen atau mikrospora pada tahap stadium perkembangan Uni-nukleat akhir.

C. Media Tanam

Media tanam dalam kultur jaringan adalah tempat untuk tumbuh eksplan. Media tanam tersebut dapat berupa cair atau padat. Media cair berarti campuran komponen-komponen zat kimia dengan aquades, sedangkan media padat adalah media cair ditambah zat pematat agar. Media tanam harus berisi semua zat yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan eksplan. Bahan-bahan berisi campuran garam mineral sumber unsur hara makro dan mikro, gula, protein, vitamin dan hormon tumbuh. Dengan demikian keberhasilan kultur jaringan jelas ditentukan oleh media tanam dan jenis tanaman. Campuran media yang satu mungkin cocok untuk jenis-jenis tanaman tertentu, tetapi tidak cocok untuk jenis-jenis tanaman yang lainnya (Hendaryono dan Wijayani, 2002).

Pemilihan media sangat penting untuk meningkatkan efisiensi kultur anter karena beragamnya tanggap untuk setiap species. Dengan variasi bahan dasar media baik organik maupun anorganik, akan diperoleh suatu komposisi kimia yang cocok bagi suatu varietas tanaman (Masyudi dan Rianawati, 1994).

D. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilen, dan inhibitor dengan ciri khas serta pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologis. Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali (Hendaryono dan Wijayani, 2002).

Auksin dan sitokinin adalah dua golongan zat pengatur tumbuh yang paling luas digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Auksin berperan dalam pertumbuhan kalus, suspensi sel dan pertumbuhan akar. Pierik (1997) menyatakan bahwa pada umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar adventif, sedangkan auksin konsentrasi tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis. Auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah *indole-3-acetic acid* (IAA), *α -naphthalenacetic acid* (α -NAA), dan *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D).

Lestari (2011) mengemukakan bahwa salah satu senyawa yang paling sering digunakan untuk menginduksi pembelahan sel adalah asam 2,4-diklorophenoxyasetik (2,4-D) dan juga berperan sebagai inisiasi kalus. Namun, Pierik (1997) menganjurkan untuk membatasi penggunaan 2,4-D pada kultur *in vitro* karena 2,4-D dapat meningkatkan peluang terjadinya mutasi genetik dan menghambat fotosintesis pada tanaman yang diregenerasikan.

Sedangkan, menurut Hamidvand *et al.* (2013) medium 2,4-D merupakan medium yang mengandung induksi androgenesis yang baik pada *Cucumis pepo* dan *Cucumis sativus* L. Kemampuan androgenik semakin baik setelah diberi penambahan sitokinin pada medium induksi. Diantara beberapa sitokinin yang telah diuji didapatkan BAP dan Kinetin lebih unggul karena disebabkan oleh jumlah embrio tertinggi yang dihasilkan. Persentase kalus embriogenik dan rata-rata jumlah embrio per anter adalah sifat-sifat penting dari androgenesis.

Sitokinin merupakan senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemberian sitokinin kedalam medium kultur jaringan tanaman penting untuk menginduksi perkembangan dan pertumbuhan eksplan. Senyawa tersebut dapat meningkatkan pembelahan sel, proliferasi pucuk, dan morfogenesis pucuk. Sitokinin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah kinetin, benziladenin (BA atau BAP) dan zeatin. Zeatin adalah sitokinin yang disintesis secara alamiah, sedangkan kinetin dan BAP adalah sitokinin sintetik (Smith, 1992).

E. Induksi Kalus

Induksi kalus merupakan salah satu metode kultur jaringan yang dilakukan dengan jalan memacu pembelahan sel secara terus menerus dari bagian tanaman tertentu seperti anter, daun, akar, batang, dan sebagainya dengan menggunakan zat pengatur tumbuh hingga terbentuk massa sel (kalus). Kalus tersebut selanjutnya akan beregenerasi melalui organogenesis ataupun embriogenesis hingga menjadi tanaman baru. Kalus merupakan proliferasi massa sel yang belum terdiferensiasi dan terdiri dari sel yang tidak teratur. Kultur kalus merupakan kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir yang berasal dari berbagai jaringan tumbuhan (Budiyati, 2002).

Faktor penting yang mempengaruhi induksi kalus adalah pemilihan jenis eksplan, genotipe dan suplemen media yang digunakan, mencakup tipe dan kuantitas zat pengatur tumbuh, dalam hal ini auksin dan sitokinin (Munarso *et al.*, 2008).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Desember 2014 sampai Februari 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Jadwal kegiatan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, petridish, pinset, bunsen, timbangan analitik, gunting runcing, gunting biasa, pisau scalpel, botol kultur, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), gelas piala, gelas ukur, labu semprot, autoklaf, *hot plate magnetic stirrer*, pengaduk gelas, pH meter, handsprayer, label, alat tulis, plastik wrap, plastik kaca ukuran besar dan kecil, lakban bening, rak kultur yang dilengkapi dengan lampu *flourescence* dan ruang inkubasi, kamera digital, aluminium foil, karet gelang, tissue dan alat lainnya.

Sedangkan bahan yang digunakan adalah kuncup bunga mentimun varietas Padang, alkohol 70%, media MS + 2,4-D (Lampiran 2), agarose dengan konsentrasi 4 gram per liter media, sukrosa 25 gram per liter media, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, spiritus, aquades steril, bayclin, sabun dan lainnya.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 taraf perlakuan dengan masing-masing 3 ulangan sehingga terdapat 21 satuan percobaan. Masing-masing satuan percobaan terdapat 5 botol kultur sehingga jumlah keseluruhan menjadi 105 botol. Semua populasi dijadikan sampel. Masing-masing taraf perlakuan adalah :

A = kontrol (tanpa BAP dan kinetin)

B = 0,5 μ M BAP

C = 1,0 μ M BAP

D = 1,5 μ M BAP

E = 0,5 μ M Kinetin

F = 1,0 μ M Kinetin

G = 1,5 μ M Kinetin

Pengolahan data dilakukan dengan uji F pada taraf nyata 5% untuk semua pengamatan yang dianalisis secara statistik. Untuk pengamatan umur terbentuknya kalus, diameter kalus dan volume kalus pengolahan data dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap ulangan tidak sama. Hasil tabel sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 4.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan untuk kultur jaringan, setelah dicuci dan dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas atau plastik dan disterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 15 psi, dan lama sterilisasi 15 – 20 menit. Setelah itu dikeringkan di dalam oven dengan suhu 75°C sebelum digunakan.

2. Pembuatan media

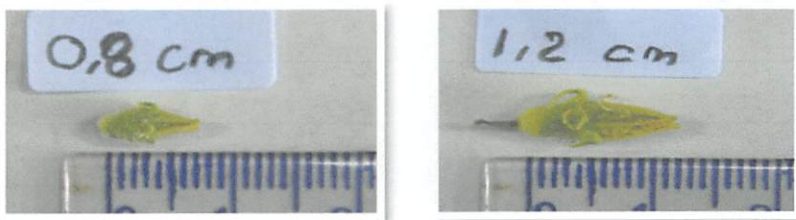
Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media MS + 2 µM 2,4-D. Zat pengatur tumbuh 2,4-D berperan penting dalam inisiasi kalus (Lestari, 2011). Untuk memudahkan penakaran dalam membagi media, media dibuat 700 ml untuk setiap kali pembuatan media kemudian dibagi 100 ml untuk setiap perlakuan. Pertama sebanyak 350 ml akuades steril dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran satu liter. Kemudian dimasukkan satu per satu stok larutan hara, zat pengatur tumbuh 2,4-D, dan vitamin untuk perhitungan media MS 700 ml sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah media dasar tercampur rata, media dibagi ± 50 ml kedalam 7 erlenmeyer ukuran 100 ml untuk setiap perlakuan. Perlakuan zat pengatur tumbuh ada enam perlakuan dengan satu kontrol. Setelah media MS + 2,4-D dibagi, masing-masing perlakuan zat pengatur tumbuh BAP dan Kinetin dengan berbagai dosis dimasukkan kedalam media tersebut lalu dicukupkan volumenya menjadi ± 100 ml untuk setiap perlakuan.

Setelah itu dilakukan pengukuran derajat kemasaman menggunakan pH meter sehingga pH mencapai 5,8. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan beberapa tetes NaOH 0,1 N jika terlalu masam atau HCl 0,1 N jika terlalu basa. Masing-masing perlakuan ditambahkan agar 0,4 gr/100 ml media lalu dipanaskan sampai mendidih. Setelah mendidih, masing-masing media tersebut dimasukkan

ke dalam botol kultur, masing-masingnya berisi ± 10 ml dan ditutup menggunakan aluminium foil untuk selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan dipertahankan pada tekanan 15 psi selama 15 menit. Setelah sterilisasi media selesai, tutup media yang berupa aluminium foil dilapisi dengan plastik kaca dan diikat menggunakan karet, selanjutnya botol-botol yang telah berisi media tersebut diinkubasi selama satu minggu di ruang kultur untuk melihat apakah terkontaminasi atau tidak.

3. Bahan tanam dan sterilisasi eksplan.

Anter mentimun yang digunakan dalam penelitian ini adalah anter mentimun varietas Padang. Tanaman ditanam dengan praktek agronomi standar. Anter mentimun diambil dari bunga yang masih kuncup. Kuncup bunga berukuran sekitar 0,8 – 1,2 cm diukur mulai dari pangkal kuncup bunga dengan posisi mahkota sudah berada diatas kelopak bunga. Kuncup bunga diambil sekitar jam 9:00 – 10:00 pagi hari. Kemudian kuncup bunga disterilisasi di *Laminar Air Flow Cabinet* dengan direndam kedalam alkohol 70% selama 2 menit dan ke dalam 1,5% Natrium Hipoklorit selama 15 menit. Setelah itu, kuncup bunga dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali.



Gambar 1. Kuncup bunga mentimun.

4. Penanaman eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAFC dengan kondisi aseptik. Anter diambil menggunakan pinset dari kuncup bunga mentimun yang telah disterilisasi dan ditanam ke dalam botol yang berisi masing-masing media perlakuan dengan menanam enam anter per botol. Kemudian botol ditutup dengan menggunakan lakban bening dan dibalut dengan *plastic wrap*. Selanjutnya, kultur anter disimpan dalam ruang inkubasi selama empat minggu dan disusun pada rak kultur sesuai dengan denah penempatan perlakuan (Lampiran 4).

5. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan terhadap ruang kultur dengan menjaga kebersihan dan suhu ruangan. Botol kultur yang sudah berisi media dan eksplan disemprot dengan alkohol 70%, sedangkan eksplan serta media yang terkontaminasi segera dikeluarkan dari ruangan, untuk meminimalisir penularan kontaminasi kepada yang lain.

E. Pengamatan

1. Persentase eksplan yang hidup

Eksplan yang hidup dicirikan dengan eksplan yang tidak berubah warna (tidak cokelat) serta tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme. Pengamatan dimulai satu hari setelah tanam sampai enam minggu setelah tanam, dengan perhitungan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Eksplan Hidup} = \frac{\sum \text{eksplan yang hidup}}{\sum \text{populasi tiap satuan percobaan}} \times 100\%$$

2. Umur terbentuknya kalus

Kalus dinyatakan telah terbentuk apabila pada permukaan telah terbentuk sel-sel yang tidak terorganisir yang bewarna putih kompak atau putih kekuningan, hal ini dapat terjadi pada salah satu sisi atau pada semua permukaan.

Kalus dinyatakan telah mulai terbentuk apabila 50% sampel dari populasi telah muncul atau tumbuh kalus. Pengamatan hanya secara visual berdasarkan kepada eksplan yang ditanam.

3. Persentase anter membentuk kalus

Persentase eksplan yang membentuk kalus dihitung dengan cara berikut :

$$\% \text{ anter yang membentuk kalus} = \frac{\sum \text{anter yang membentuk kalus}}{\sum \text{populasi tiap satuan percobaan}} \times 100\%$$

4. Tekstur Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pengamatan tekstur kalus dapat dilakukan setelah anter membentuk kalus. Tekstur kalus ada yang kompak dan remah. Jika tekstur kalus kompak yang terbentuk, maka kalus termasuk kalus organogenik sedangkan jika kalus yang terbentuk bertekstur remah, maka kalus termasuk kalus embriogenik. Hasil pengamatan didokumentasikan menggunakan kamera digital dan dijelaskan secara deskriptif.

5. Warna Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna kalus, baik kalus yang berwarna putih maupun kalus yang berwarna kuning. Umumnya warna kalus yang baik adalah kalus yang berwarna kekuningan, karena menghasilkan tanaman hijau, sedangkan kalus yang berwarna putih akan menghasilkan tanaman albino.

6. Diameter kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pengamatan diameter kalus diperoleh dari hasil pengukuran luas kalus menggunakan aplikasi *microsoft visio*. Kemudian dari hasil pengukuran luas tersebut, diameter kalus dapat dihitung menggunakan rumus:

$$d = 2 \sqrt{\frac{L}{\pi}}$$

Keterangan : d = diameter

L = luas

π = 3,14

7. Volume kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Volume kalus diamati dengan cara mengukur penambahan volume kalus yang dimasukkan kedalam ependorf berukuran 2,5 ml yang telah diisi dengan aquades steril sebanyak 0,5 ml. Penambahan volume dari kalus dikurang dengan volume awal 0,5 ml.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kondisi Umum Penelitian

Dari penelitian dan pengamatan yang telah dilaksanakan dari minggu pertama setelah kultur hingga eksplan anter berumur 6 minggu setelah kultur, didapatkan kondisi umum selama penelitian seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Perkembangan eksplan anter mentimun selama pengkulturan

Perkembangan anter	Keterangan
	Minggu pertama setelah tanam, terlihat anter mulai membengkak.
	Minggu kedua setelah tanam, anter terlihat semakin membengkak dan pada bagian pinggir terlihat putih.
	Minggu ketiga setelah tanam, anter mulai membentuk kalus.
	Minggu keempat setelah tanam, terlihat kalus terbentuk hampir pada seluruh bagian anter.
	Minggu kelima dan keenam setelah tanam, kalus semakin besar dan seluruh bagian anter telah membentuk kalus.

Tahap perkembangan dari eksplan anter mentimun menjadi kalus dimulai dari terbentuknya sel-sel yang tidak terorganisir pada sisi bagian anter, yang selanjutnya terus membelah dan berkembang sehingga terbentuk kalus utuh. Proses pertumbuhan eksplan ini dapat dipengaruhi oleh media dan zat pengatur tumbuh yang sesuai untuk pertumbuhan kalus dan meningkatkan kemampuan sel untuk terus membelah dan akibatnya sel-sel baru terus bertambah. ZPT yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi auksin dan sitokinin. Pemberian ZPT ini berperan dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Indah dan Dini, 2013).

Anter mulai terlihat membengkak pada minggu pertama setelah tanam dan bagian tepi atau dinding anter berwarna putih, begitu juga pada minggu berikutnya anter terus mengalami pembengkakan. Selanjutnya anter mulai membentuk kalus, hal ini dapat dilihat pada minggu ketiga sebagian dari permukaan anter telah terbentuk sel-sel yang tidak terorganisir yang berwarna kuning keputihan. Pertumbuhan kalus semakin meningkat pada minggu-minggu berikutnya dan hampir seluruh bagian dari eksplan anter mentimun telah membentuk kalus.

B. Persentase Eksplan yang Hidup

Eksplan dapat dinyatakan hidup apabila tidak terjadi perubahan warna pada eksplan (tidak coklat) serta tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme. Hasil persentase eksplan yang hidup dapat dilihat pada Tabel 2. Dari hasil yang telah diperoleh persentase eksplan yang hidup pada semua perlakuan memiliki kemampuan hidup yang cukup tinggi, dengan rata-rata kemampuan hidup diatas 80%. Persentase eksplan hidup berbeda-beda pada setiap perlakuan. Persentase eksplan hidup tertinggi 100% pada kontrol (tanpa BAP dan kinetin), kemudian perlakuan BAP konsentrasi 1,0 μM dan 1,5 μM sebanyak 93,3% sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan kinetin pada konsentrasi 0,5 μM , 1,0 μM , dan 1,5 μM sebanyak 80%. Umumnya kematian eksplan yang terjadi pada penelitian disebabkan oleh kontaminasi. Kontaminasi yang terjadi disebabkan oleh eksplan anter mentimun yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari lapangan (rumah kawat), kemungkinan bahan tanam

telah mengandung berbagai kotoran dan mikroorganisme penyebab kontaminasi baik pada permukaan maupun dalam jaringan.

Tabel 2. Persentase eksplan anter mentimun yang hidup pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Eksplan hidup (%)
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	100,00
B	0,5 μ M BAP	80,00
C	1,0 μ M BAP	93,33
D	1,5 μ M BAP	93,33
E	0,5 μ M Kinetin	80,00
F	1,0 μ M Kinetin	80,00
G	1,5 μ M Kinetin	80,00

KK = 18,84%

Data berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%

Sutejo (2014) menyatakan, dalam pelaksanaan kegiatan kultur jaringan tumbuhan, banyak sekali masalah-masalah yang muncul sebagai pengganggu dan bahkan menjadi penyebab tidak tercapainya tujuan kegiatan kultur yang dilakukan. Salah satu gangguan yang sering terjadi dalam kegiatan kultur adalah berasal dari bahan tumbuhan. Misalnya, tumbuhan berasal dari alam/lapang, kondisi tumbuhan yang terserang penyakit, dan bahan yang tersedia terbatas. Tumbuhan yang berasal dari lapang sudah pasti mengandung debu, kotoran, dan berbagai kontaminan hidup pada permukaannya dan bahkan bisa pada bagian dalam jaringan. Kontaminan yang berasal dari lingkungan tersebut bisa mengakibatkan tumbuhan terserang penyakit. Kondisi tumbuhan yang terserang penyakit atau terkontaminasi mikroorganisme baik eksternal (permukaan) maupun internal (bagian dalam jaringan), tidak mudah untuk dilakukan pengkulturan. Kesulitan perbanyak tumbuhan yang terkontaminasi mikroorganisme dengan kultur jaringan, yaitu bagaimana mematikan atau menghilangkan mikroorganisme dengan bahan sterilian dan lama perendaman tanpa mematikan tumbuhan (eksplan).

Proses sterilisasi bahan eksplan merupakan kegiatan penting dalam kultur jaringan. Sterilisasi eksplan dapat dilaksanakan dengan dua cara, yaitu secara mekanik dan secara kimia. Sterilisasi eksplan secara mekanik digunakan untuk eksplan yang keras, yaitu dengan membakar eksplan tersebut. Sedangkan sterilisasi eksplan secara kimia digunakan untuk eksplan yang lunak dengan cara dibilas atau direndam. Sterilisasi merupakan proses untuk mematikan atau menonaktifkan spora dan mikroorganisme sampai ke tingkat yang tidak memungkinkan lagi berkembang biak atau menjadi sumber kontaminan selama proses perkembangan berlangsung. Meskipun terjadi kontaminasi pada penelitian ini, persentase eksplan yang hidup masih didapatkan 80% sehingga penelitian dapat dilanjutkan.

C. Umur Terbentuknya Kalus

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan selama penelitian, umur terbentuknya kalus sudah dapat ditentukan apabila kalus yang terbentuk sudah mencapai 50% dari jumlah populasi yang ditanam. Hasil pengamatan umur terbentuknya kalus dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Umur eksplan anter mentimun membentuk kalus pada media MS + 2 μM 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Umur Terbentuknya Kalus (MST)
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	3,50
B	0,5 μM BAP	2,67
C	1,0 μM BAP	3,00
D	1,5 μM BAP	3,00
E	0,5 μM Kinetin	4,00
F	1,0 μM Kinetin	3,00
G	1,5 μM Kinetin	3,33

KK= 12,6%

Data berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%

Kalus yang dihasilkan melalui kultur secara *in vitro* terbentuk karena adanya pelukaan pada jaringan dan respon terhadap hormon (ZPT). Hal ini sesuai

pendapat dari George dan Sherrington (1984) yang mengemukakan bahwa pembelahan sel yang mengarah pada terbentuknya kalus terjadi karena adanya respon terhadap luka dan suplai hormon alamiah ataupun buatan dari luar ke dalam eksplan. Data yang tertera pada Tabel 3 menunjukkan bahwa kalus yang paling cepat terbentuk adalah 2,67 minggu setelah tanam yaitu pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM , sedangkan kalus yang paling lama terbentuk adalah 4 minggu setelah tanam yaitu pada perlakuan kinetin konsentrasi 0,5 μM .

Zulkarnain (2009) menambahkan dalam kultur kalus, sel atau irisan jaringan tanaman yang ditanam dan dipelihara dalam media padat atau media cair yang cocok dalam keadaan steril, sebagian sel pada permukaan irisan akan mengalami proliferasi dan membentuk kalus. Pembentukan kalus merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Lama atau tidaknya eksplan membentuk kalus tergantung dari bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan serta komposisi media induksi yang digunakan.

D. Persentase Anter Membentuk Kalus

Hasil pengamatan persentase anter membentuk kalus dapat dilihat pada Tabel 4. Kalus merupakan sekumpulan sel yang belum terdiferensiasi dan dinyatakan telah terbentuk kalus apabila pada permukaan anter telah terbentuk sel-sel yang tidak terorganisir yang berwarna putih kompak atau kekuningan, hal ini dapat terjadi pada salah satu sisi atau pada semua permukaan anter. Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan. Penebalan tersebut merupakan interaksi antara eksplan dengan media tumbuh, zat pengatur tumbuh dan lingkungan tumbuh sehingga eksplan bertambah besar (Yelnitis, 2012).

Selama 6 minggu dikulturkan, perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan konsentrasi 1,5 μM merupakan perlakuan yang berhasil membentuk kalus paling tinggi yaitu mencapai 93,33%, sedangkan persentase eksplan anter yang membentuk kalus paling rendah adalah 40% didapatkan pada perlakuan kinetin konsentrasi 0,5 μM . Perbedaan persentase anter membentuk kalus pada berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh sangat besar yaitu antara 40% sampai 93,33%. Sekalipun demikian, analisis ragam memperlihatkan hasil yang berbeda tidak nyata. Hal ini terjadi karena tingginya keragaman fisiologis dari eksplan yang digunakan.

Tabel 4. Persentase eksplan anter mentimun membentuk kalus pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Anter Membentuk Kalus (%)
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	53,33
B	0,5 μ M BAP	93,33
C	1,0 μ M BAP	86,67
D	1,5 μ M BAP	93,33
E	0,5 μ M Kinetin	40,00
F	1,0 μ M Kinetin	40,00
G	1,5 μ M Kinetin	80,00

KK= 43,94%

Data berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%

Kondisi fisiologis yang berbeda pada eksplan dalam penelitian dapat disebabkan oleh jenis eksplan yang digunakan, umur pengambilan eksplan, ukuran eksplan (posisi mahkota), kondisi lingkungan waktu pengambilan eksplan, dan respon eksplan terhadap lingkungan kultur (suhu, cahaya, suplai hara/media, dan ZPT). Kondisi fisiologis suatu tanaman dalam merespon pertumbuhan secara alamiah akan beragam seiring dengan perubahan tahap pertumbuhan dan perubahan lingkungan (Zulkarnain, 2009).

E. Tekstur Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Berdasarkan hasil pengamatan dari penelitian yang telah dilakukan dari minggu pertama setelah tanam hingga eksplan anter berumur 6 minggu setelah tanam, didapatkan hasil untuk tekstur kalus yang terdapat pada Tabel 5. Pengamatan pada tekstur kalus hanya dilakukan pada eksplan yang telah membentuk kalus pada semua bagiannya, sedangkan eksplan yang baru membentuk kalus tidak dilakukan pengamatan karena kalus yang terbentuk masih sedikit dari sisi bagian eksplan sehingga tidak bisa ditentukan apakah kalus tersebut bertekstur remah atau kompak.

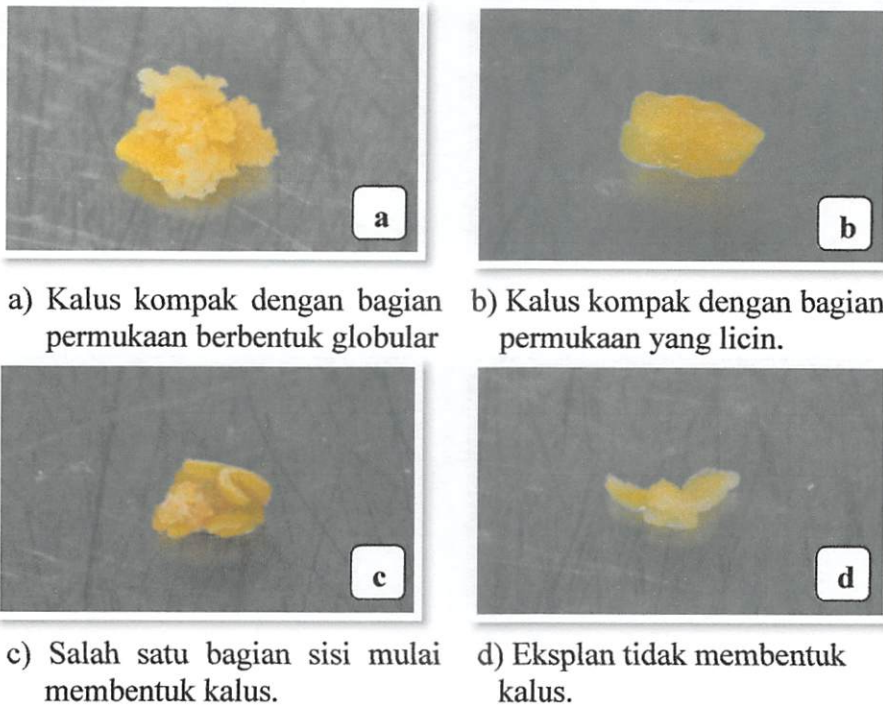
Tabel 5. Tekstur kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Tekstur Kalus
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	Kompak
B	0,5 μ M BAP	Kompak
C	1,0 μ M BAP	Kompak
D	1,5 μ M BAP	Kompak
E	0,5 μ M Kinetin	-
F	1,0 μ M Kinetin	Kompak
G	1,5 μ M Kinetin	Kompak

Keterangan : (-) Tekstur kalus belum dapat diamati.

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan suatu kalus. Pengamatan tekstur dilakukan setelah anter membentuk kalus. Tekstur kalus dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu kalus bertekstur remah dan kalus dengan tekstur kompak. Kalus remah memiliki ikatan antar sel yang renggang, sehingga kalus mudah pecah bila dipisahkan dengan pinset. Kalus kompak memiliki ikatan antar sel yang padat serta partikel-partikel kalus tidak mudah dipisahkan dengan pinset (Lizawati, 2012).

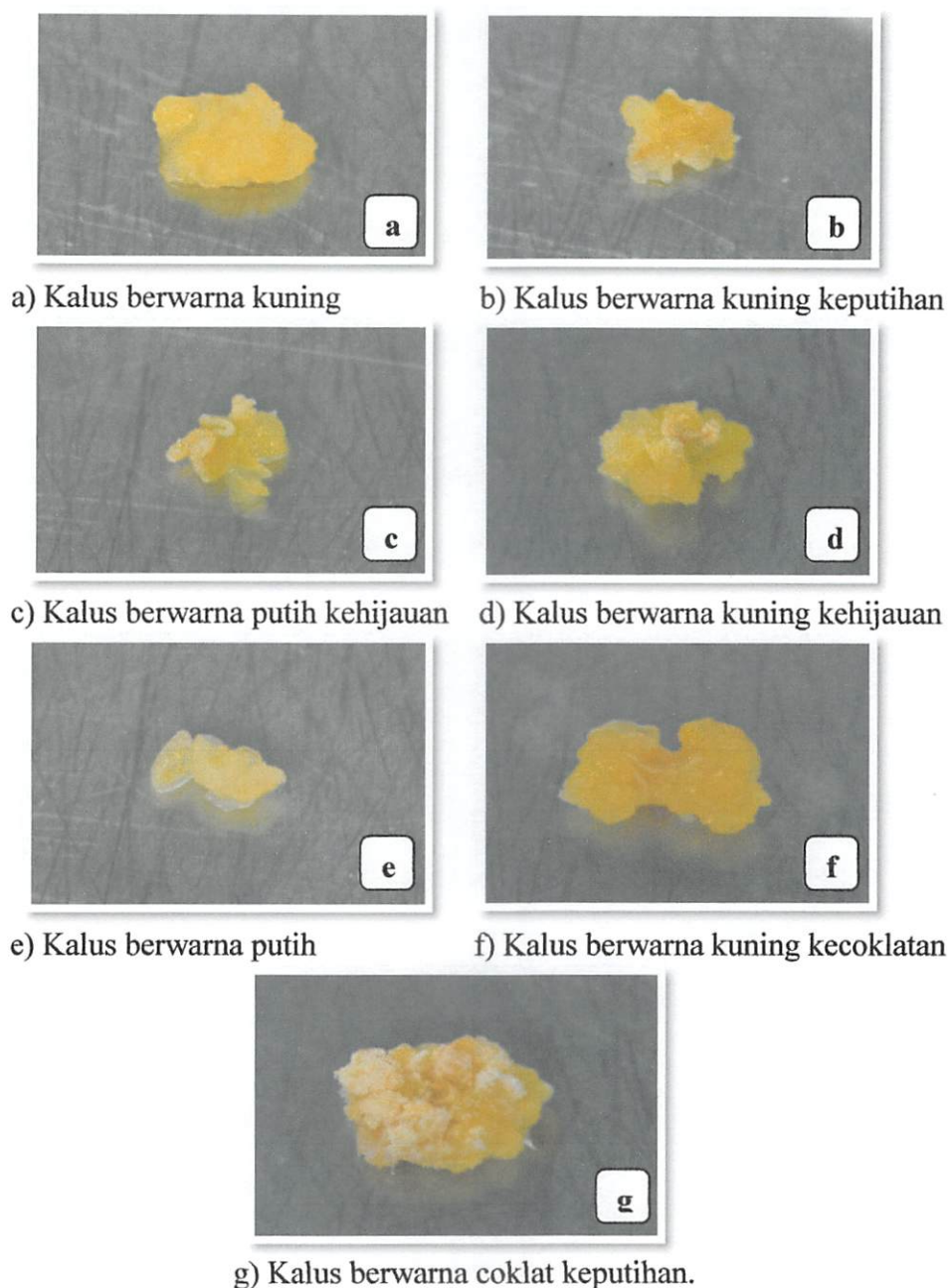
Berdasarkan hasil pengamatan dari penelitian pada Tabel 5 yang telah dilakukan pada tujuh perlakuan zat pengatur tumbuh dengan tiga ulangan, umumnya kalus yang diperoleh memiliki tekstur yang kompak. Namun, pada perlakuan kinetin konsentrasi 0,5 μ M pengamatan tekstur kalus belum bisa dilakukan karena kalus yang terbentuk dari eksplan umumnya masih sedikit dari bagian eksplan yang membentuk kalus dan beberapa eksplan lainnya ada yang belum membentuk kalus sehingga tidak dapat dikelompokkan menjadi kalus yang bertekstur remah atau kompak. Pada Gambar 2 dapat dilihat perbandingan pertumbuhan eksplan setelah enam minggu dikulturkan.



Gambar 2. Pertumbuhan eksplan 6 minggu setelah tanam

F. Warna Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pengamatan warna kalus yang dilakukan secara visual pada 6 minggu setelah tanam, memperlihatkan bahwa kalus yang terbentuk berwarna kuning dan kuning keputihan pada semua perlakuan, hal ini dapat dilihat pada Gambar 3.a dan Gambar 3.b. Diantara perlakuan tersebut ada beberapa kalus yang berbeda warna dari warna kuning dan kuning keputihan. Adapun warna yang muncul adalah putih kehijauan (Gambar 3.c) terdapat pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan perlakuan kinetin konsentrasi 1,0 μM , kuning kehijauan (Gambar 3.d) terdapat pada perlakuan BAP konsentrasi 1,0 μM dan 1,5 μM dan perlakuan kinetin konsentrasi 1,5 μM , warna putih (Gambar 3.e) terdapat pada kontrol (tanpa BAP dan kinetin), kuning kecoklatan (Gambar 3.f) terdapat pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan warna coklat keputihan (Gambar 3.g) terdapat pada perlakuan BAP konsentrasi 1,5 μM . Perbedaan warna hanya terjadi pada satu atau dua botol sampel. Perbedaan warna yang terdapat pada perlakuan yang sama diduga disebabkan oleh respon fisiologis dari masing-masing eksplan. Hertiasari *et al.* (2014) menyatakan warna kalus yang bervariasi bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya, dan bagian tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan.



Gambar 3. Perbedaan warna kalus pada 6 minggu setelah tanam

Warna kalus menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan suatu sel. Menurut Arianto *et al.* (2013) perubahan warna kalus dapat disebabkan oleh adanya sintesis zat-zat fenolik pada sel (kalus). Warna putih menunjukkan sel yang masih muda yang aktif membelah warna kuning atau putih kekuningan menunjukkan bahwa sel-sel yang dewasa menuju fase pembelahan aktif, dan warna coklat atau kuning kecokelatan menunjukkan gejala penuaan sel. Perubahan warna coklat juga mengindikasikan

adanya penurunan pertumbuhan pada sel-sel kalus. Sel-sel yang demikian memiliki aktivitas pembelahan yang sangat rendah sehingga daya regenerasinya berkurang. Sedangkan warna hijau yang terdapat pada kalus adalah zat klorofil yang ada pada kalus tersebut.

G. Diameter Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pengamatan diameter kalus dilakukan pada masing-masing eksplan dengan menghitung diameter kalus dari hasil luas yang diperoleh dari pengukuran luas kalus menggunakan *microsoft visio*. Diameter kalus terpanjang terdapat pada media perlakuan BAP konsentrasi 1,5 μM yaitu 6,66 mm dan diameter kalus terkecil terdapat pada media perlakuan kinetin konsentrasi 0,5 μM yaitu 2,00 mm. Data diameter kalus dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Diameter kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μM 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Diameter Kalus (mm)
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	2,50
B	0,5 μM BAP	4,33
C	1,0 μM BAP	3,00
D	1,5 μM BAP	6,66
E	0,5 μM Kinetin	2,00
F	1,0 μM Kinetin	3,50
G	1,5 μM Kinetin	4,66

KK = 43,3%

Data berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%

Perbedaan pertumbuhan diameter kalus sangat besar yaitu 2,00 mm sampai 6,66 mm. Perbedaan pertumbuhan diameter kalus dipengaruhi oleh keragaman fisiologis masing-masing eksplan. Sekalipun demikian, analisis ragam memperlihatkan hasil yang berbeda tidak nyata. Menurut Zulkarnain (2009), pertumbuhan jaringan atau organ didalam kultur ditentukan oleh kondisi fisiologis jaringan itu sendiri. Respon terhadap perubahan kondisi pertumbuhan ditentukan oleh perubahan-perubahan fisiologis didalam jaringannya. Kondisi fisiologis suatu

tanaman secara alamiah akan beragam seiring dengan perubahan tahap pertumbuhannya dan perubahan-perubahan lingkungan maupun musim.

H. Volume Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Pertumbuhan adalah peningkatan permanen ukuran organisme atau bagian dari tumbuhan yang merupakan hasil dari peningkatan jumlah dan ukuran sel. Pembelahan sel terus menerus tanpa diikuti pembesaran dan pemanjangan sel akan menyebabkan terbentuknya kalus. Seiring dengan peningkatan diameter kalus, volume kalus juga ikut meningkat. Menurut Rahayu *et al.* (2003) kecepatan sel membelah diri dipengaruhi oleh kombinasi auksin dan sitokinin dalam konsentrasi tertentu, selain itu juga tergantung pada jenis tumbuhan dan faktor-faktor lain seperti jenis media, ketersediaan unsur hara makro/mikro, karbohidrat, dan juga faktor-faktor fisik seperti cahaya, suhu, dan pH media. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Volume kalus eksplan anter mentimun pada media MS + 2 μ M 2,4-D dengan berbagai konsentrasi BAP dan kinetin sampai umur 6 minggu setelah tanam.

Kode perlakuan	Perlakuan	Volume kalus (ml)
A	kontrol (tanpa BAP dan kinetin)	0,05
B	0,5 μ M BAP	0,12
C	1,0 μ M BAP	0,05
D	1,5 μ M BAP	0,30
E	0,5 μ M Kinetin	0,05
F	1,0 μ M Kinetin	0,05
G	1,5 μ M Kinetin	0,11

KK= 84,07%

Data berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%

Hertiasari *et al.* (2014) menyatakan volume kalus secara fisiologis terdiri dari dua kandungan yaitu air dan karbohidrat. Volume kalus yang besar disebabkan karena kandungan airnya yang tinggi. Volume yang dihasilkan sangat tergantung pada kecepatan sel-sel tersebut membelah diri, memperbanyak diri dan dilanjutkan dengan membesarnya kalus.

Dari tujuh kombinasi perlakuan yang digunakan, masing-masingnya menunjukkan volume kalus yang berbeda. Kombinasi media perlakuan BAP konsentrasi 1,5 μM merupakan kombinasi perlakuan yang memiliki rata-rata nilai volume kalus paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu 0,3 ml. Sedangkan kontrol (tanpa BAP dan kinetin), perlakuan BAP konsentrasi 1,0 μM , perlakuan kinetin konsentrasi 0,5 μM dan konsentrasi 1,0 μM merupakan perlakuan dengan nilai rata-rata paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan berat volume kalus yaitu 0,05 ml. Perbedaan berat volume kalus sangat besar yaitu 0,05 ml sampai 0,3 ml. Perbedaan ini disebabkan oleh beragamnya respon fisiologis pada masing-masing eksplan anter mentimun. Sekalipun demikian, analisis ragam memperlihatkan hasil yang berbeda tidak nyata. Berdasarkan hasil data juga dapat dilihat tingginya nilai koefisien keragaman pada pengamatan volume kalus yaitu 84,07%. Tingginya nilai koefisien keragaman disebabkan oleh pertumbuhan kalus yang lebih banyak tumbuh ke atas dengan ragam yang tinggi.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa: a). Pemberian BAP dan kinetin tidak meningkatkan persentase hidup eksplan sedangkan media MS + 2,4-D yang digunakan telah mampu mendukung persentase hidup eksplan secara maksimal, b). Anter membentuk kalus rata-rata pada umur tiga minggu setelah tanam, c). Persentase anter membentuk kalus mencapai 93,33% pada perlakuan BAP konsentrasi 0,5 μM dan 1,5 μM , d). Pada umumnya kalus berwarna kuning dan putih kekuningan dengan tekstur kompak tetapi tidak berhubungan dengan pemberian BAP dan kinetin yang diberikan dan e). Volume dan diameter kalus terbaik didapatkan pada perlakuan BAP pada konsentrasi 1,5 μM .

B. Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan tersebut penulis menyarankan agar penelitian selanjutnya dari jumlah kalus yang telah diperoleh dapat diregenerasikan ke media embriogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman. 2005. Teknik Pemberian Pupuk Organik dan Mulsa pada Budidaya Mentimun Jepang. *Buletin Teknik Pertanian* Vol. 10 : 2.
- Aksi Agraris Kanisius. 1983. Bercocok Tanam Mentimun. Yayasan Aksi Agraris Kanisius. Semarang. 115 hal.
- Aprisa, R., S. Khalimah, A. H. Kristanto, dan A. H. Izzawati. 2010. Kultur Polen untuk Mendukung Program Pemuliaan Tanaman Iles-Iles (*Amorphopalus muelleri* L). Usulan Program Kreativitas Mahasiswa. IPB. Bogor.
- Arianto, Z. B. dan U. B. Mirni. 2013. Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D secara *In Vitro*. *J Agrotekbis* 1 (3) : 211-220.
- Budiyati, R. 2002. Pertumbuhan Kalus Ibu Tangkai Daun Purwoceng (*Pimpinella alpine*) dalam Medium MS (Murashige dan Skoog) dengan Pemberian 2,4-D dan BAP. [Skripsi]. Undip. Semarang.
- Cahyono, B. 2003. Timun. *Aneka Ilmu*, Semarang. 124 hal.
- Croughan, T. P. 1995. Anther Culture for Double Haploid Production. In O. L. Gambong and G. C. Philips (eds.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. Kluwe Acad. Publ. Netherland. Page 134-154.
- De Candolle, A. 1886. *Origin of Cultivated Plants*. Kegan. Paul. Trench & Co. London.
- Esquinas, A. J. T. dan P. J. Gullick. 1983. Genetic resources of Cucurbitaceae. International Board for Plant Genetic Resources. Rome.
- George E. F. and P. D. Sherington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Comercial Laboratories*. Exegetics. Ltd. England. 709p.
- Hamidvand, Y., M. R. Abdollahi, M. Chaichi, dan S. S. Moosavi. 2013. The Effect of Plant Growth Regulators on Callogenesis and Gametic Embryogenesis from Anther Culture of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 2002. Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif Modern. Yogyakarta.
- Hertiasari, D., Murgayanti dan K. Agung. 2014. Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D dan Glutamin. *Unpad. Yogyakarta*. Vol. I (4) : 167-176
- Indah P. N. dan D. Ermavitalini. 2013. Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi BAP dan 2,4-D. *ITS. Surabaya*. Vol. 2 (1). 2337-3520.
- Kohli, U.K. dan V. Amit. 2004. Hybrid Cucumber. Department of Vegetable Crops. India.

- Latif, S. 1991. Identifikasi Mikrospora Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* J) untuk Kultur Haploid. Buletin Perkebunan Vol. 22 : 231-238.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Jurnal Agrobiogen Vol. 7 (1) : 63-68.
- Lizawati. 2012. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan Penggunaan 2,4-D dan TDZ. Unja, Jambi. Vol 1 (2) : 2302-6472
- Mardalena. 2007. Respon Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Terhadap Urine Sapi yang Telah Mengalami Perbedaan Lama Fermentasi. [Skripsi]. Fakultas Pertanian, USU. Medan.
- Masyudi, M. F., dan S. Rianawati. 1994. Pengaruh Genotipe dan Sumber Karbon pada Kultur Antera Tanaman Padi Bulu. Zuriat. Vol. 5 : 1.
- Munarso, Y. P., I. S. Dewi, dan Suwarno. 2008. Regenerasi Tanaman dengan Kultur Anter Beberapa Persilangan Padi Hibrida. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan Vol. 27 (1) : 13-17.
- Muttaqin, Z. 2010. Pengaruh Kombinasi Pupuk Kandang dengan Pupuk Organik Cair Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Mentimun (*Cucumis sativus* L.). [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN. Malang.
- Nikolova, V., dan A. Maria. 2000. Gynogenesis in a Dihaploid Line of Cucumber (*Cucumis sativus* L.). Institute of Horticulture and Canned Fruits, Plovdiv, Bulgaria. Cucurbit Genetics Cooperative Report 24 : 20-21.
- Pierik, R. L. M. 1997. Plant Tissue Culture as Motivation for the Symposium in Bragt, J. V. Effects of Sterilisation on Components In Nutrient Medium. Wageningen, Vennman and Zonen.
- Rahayu B., Solichatun dan Endang A. 2003. Pengaruh Asam 2,4-D terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. Jurusan Biologi, FMIPA, UNS Surakarta. Biofarmasi 1 (1): 1-6.
- Smith, R. H. 1992. Plant Tissue Culture Techniques and Experiments. Newyork. Academic Press Inc.
- Suprunova, T., dan N. Shmykova. 2008. *In Vitro* Induction of Haploid Plants in Unpollinated Ovules, Anther and Microspore Culture of *Cucumis sativus* L. Journal International. Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Cucurbitaceae* (Pitrat M, ed), INRA, Avignon. France.
- Sutejo, P. 2014. Optimasi Metode Sterilisasi Daun Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) secara *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian dan Peternakan, UIN Sultan Syarif Kasim. Pekanbaru.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Vol 6 (3) : 181-194.

- Yuniati, P., Munarso, S. D. Iswari, dan Suwarno. 2008. Regenerasi Tanaman dengan Kultur Anter Beberapa Persilangan Padi Hibrida. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi Sukamandi, Jawa Barat.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Jakarta. PT Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Penelitian dari Bulan Desember Tahun 2014 sampai Bulan Februari Tahun 2015

NO	Kegiatan	Minggu Ke-											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	Persiapan Alat & Bahan												
2	Sterilisasi Alat												
3	Pembuatan Media												
5	Sterilisasi Eksplan dan Penanaman												
6	Pemeliharaan sampai pembentukan kalus												
7	Pengamatan												
8	Pengolahan Data												

Lampiran 2. Komposisi Medium Murashige dan Skoog (MS).

Bahan kimia	Larutan baku (mg/l)	Larutan stok (g/l)	Kepekatan (kali)	Kebutuhan media/l
Unsur makro				
KNO ₃	1900	19.00	10	100
NH ₄ NO ₃	1650	16.50	10	100
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	4.40	10	100
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	3.70	10	100
KH ₂ PO ₄	170	1.70	10	100
Unsur mikro				
MnSO ₄ .H ₂ O	22.30	223*	100	10
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60	86*	100	10
H ₃ BO ₃	6.20	62*	100	10
KI	0.83	8.30*	100	10
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.25*	100	10
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	2.50*	100	10
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	0.25*	100	10
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80	5.57	200	5
Na ₂ FeEDTA.2H ₂ O	37.30	7,45	100	5
Vitamin				
Mio-inositol	100	1000*	100	10
ThiaminHCl	0.1	10*	1000	1
NikotinikAsid	0.50	50*	1000	1
PiridoksinHCl	0.50	50*	1000	1
Glisin	2.00	2.00	1000	1

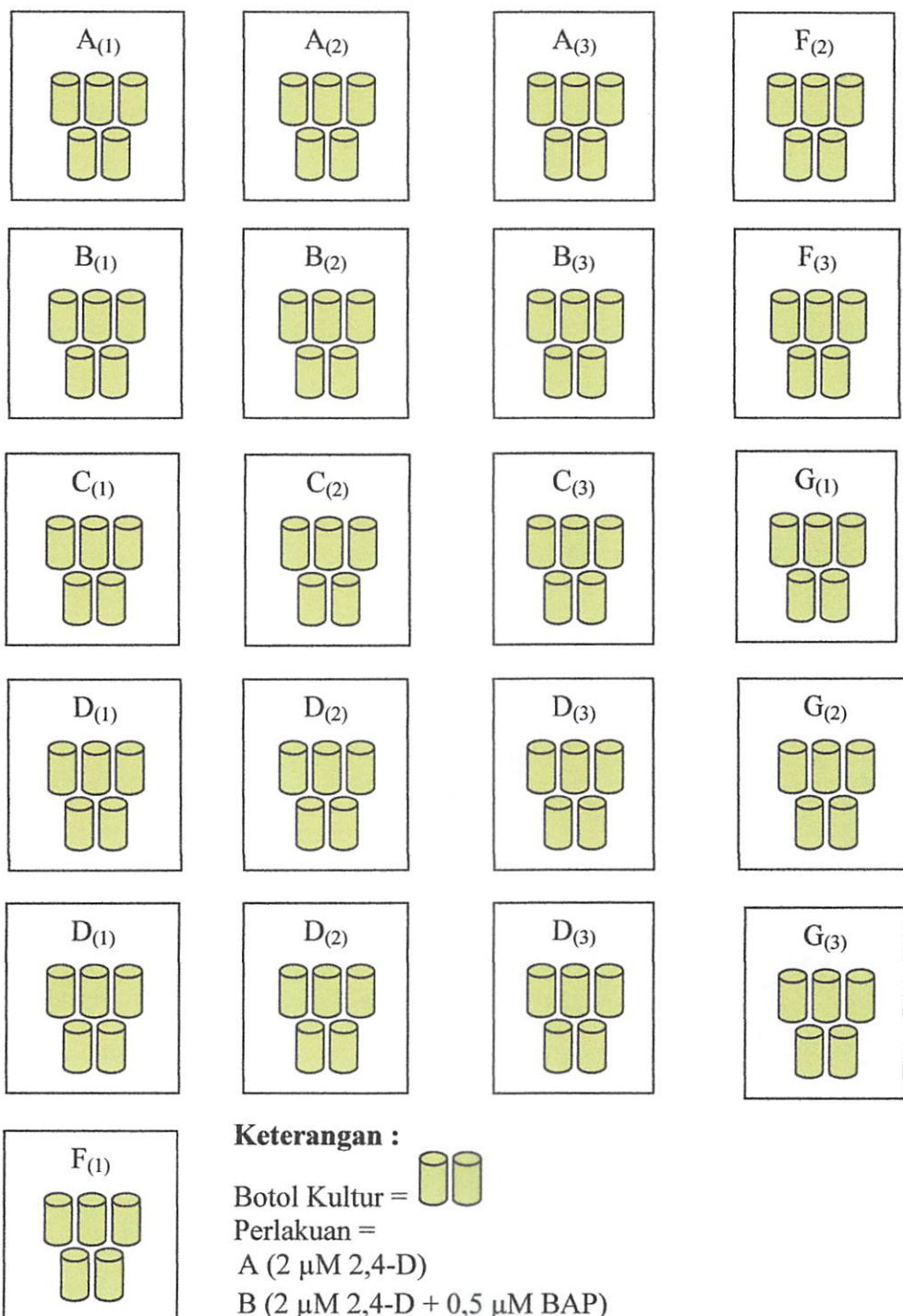
- Sukrosa 25 g/l

- Agar 4 g/l

- 2 μM 2,4-D

*) mg/100 ml larutan stok, pH 5.8

Lampiran 3. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium



Lampiran 4. Tabel Sidik Ragam

a. Persentase Eksplan yang Hidup

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	6	1333,33	222,22	0,83	<i>tn</i>	2,85	4,46
Galat	14	3733,33	266,67				
Total	20	5066,67				KK = 18,84%	

tn) = Berbeda tidak nyata

b. Umur Terbentuknya Kalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	6	2,66	0,44	2,63	<i>tn</i>	3,09	5,07
Galat	11	1,84	0,167				
Total	17	4,5				KK = 12,6%	

tn) = Berbeda tidak nyata

c. Persentase Anter Membentuk Kalus

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	6	10628,57	1771,43	1,90	<i>tn</i>	2,85	4,46
Galat	14	13066,67	933,33				
Total	20	23695,24				KK = 43,94%	

tn) = Berbeda tidak nyata

d. Diameter Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	6	38,99	6,4983333	2,16	<i>tn</i>	3,09	5,07
Galat	11	33,01	3,0009091				
Total	17	72				KK = 43,3%	

tn) = Berbeda tidak nyata

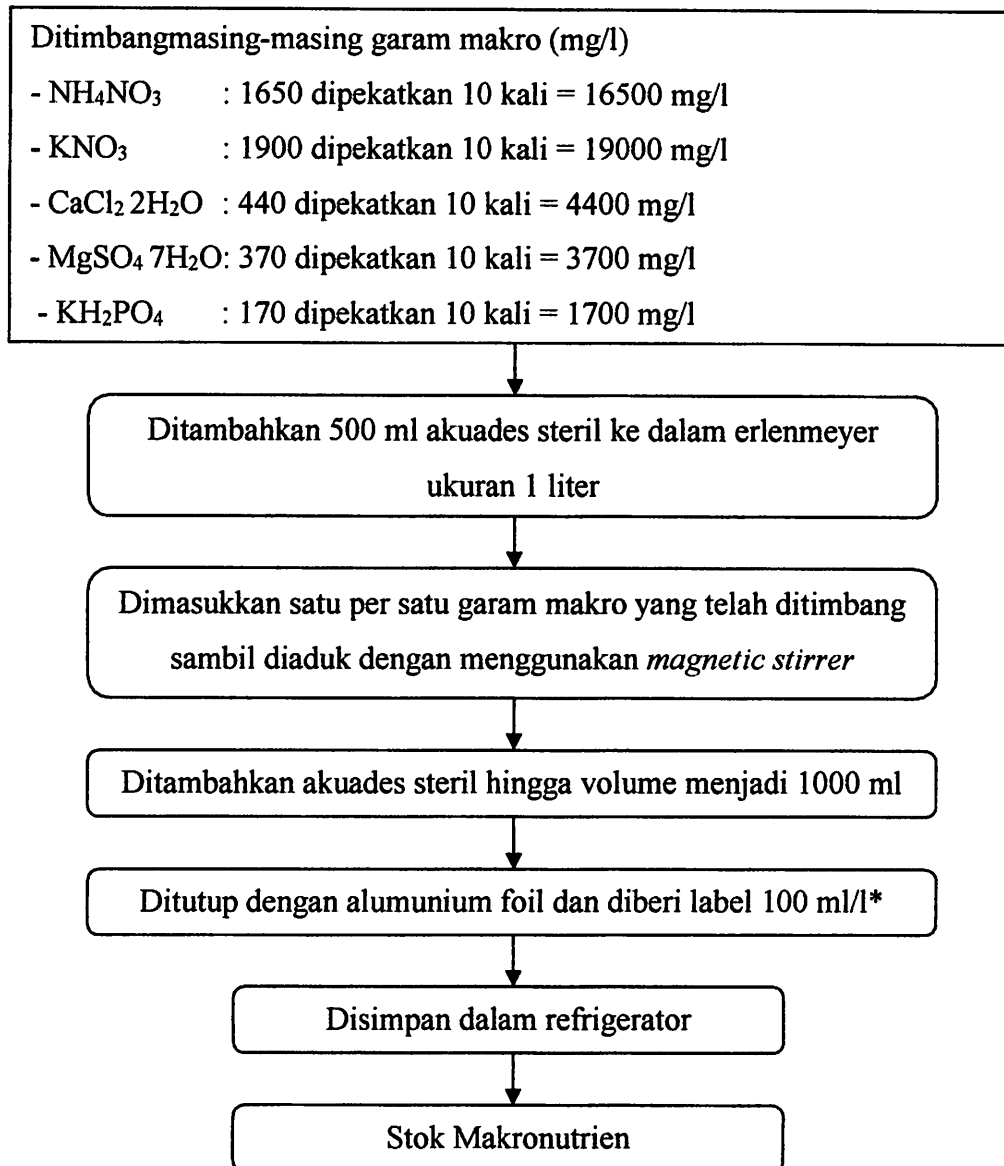
e. Volume Kalus 6 Minggu Setelah Tanam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Perlakuan	6	0,1478	0,0246	2,67	<i>tn</i>	3,09	5,07
Galat	11	0,1017	0,0092				
Total	17	0,2495				KK = 84,07%	

tn) = Berbeda tidak nyata

Lampiran 5. Pembuatan Larutan Stok pada Media Dasar MS

a. Stok Makronutrien



Catatan:

*) 100 ml/l larutan stok makronutrien yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

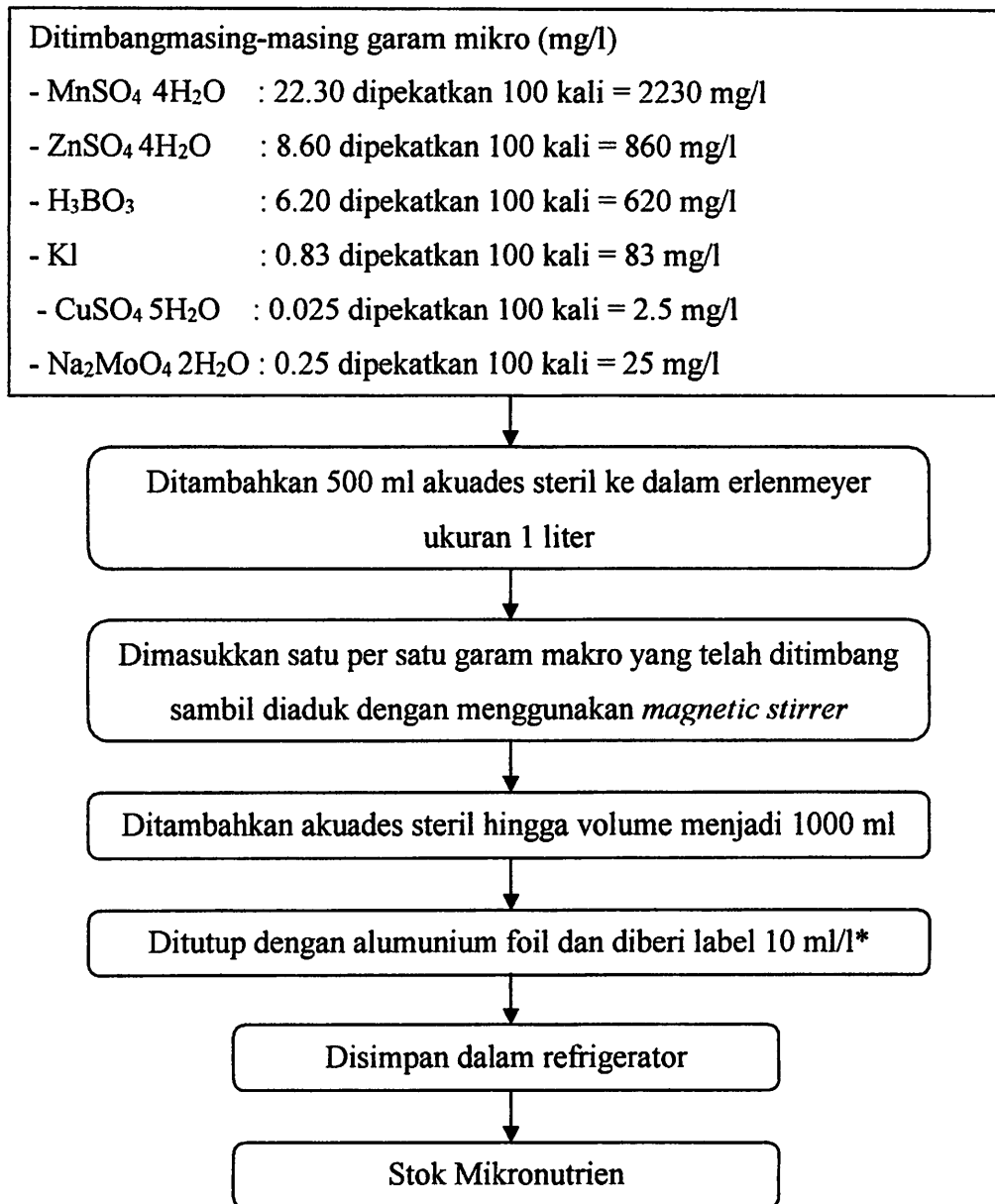
= $\frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (10 kali)}}$

= $\frac{1000 \text{ ml}}{10}$

= 100 ml/l

= 100 ml/l

b. Stok Mikronutrien



Catatan:

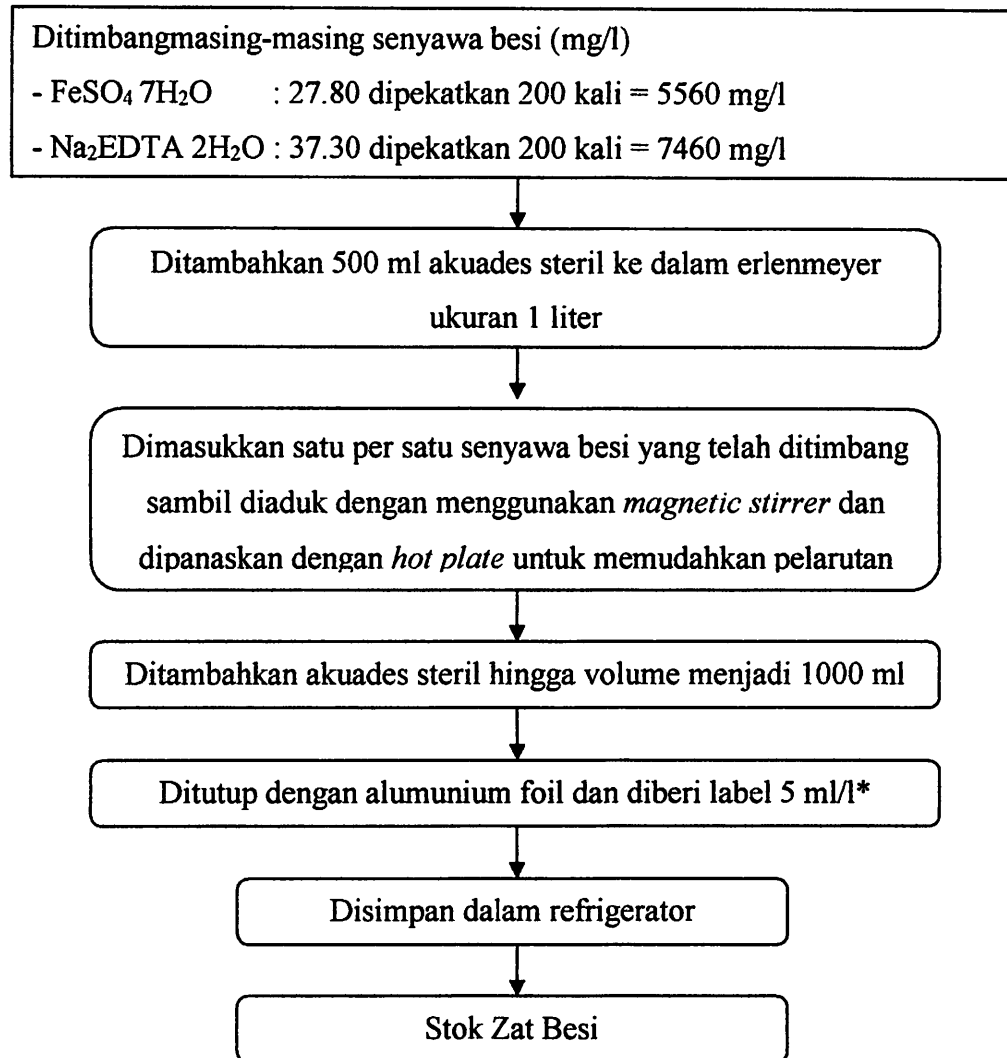
*) 10 ml/l larutan stok mikronutrien yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

= $\frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (100 kali)}}$

= $\frac{1000 \text{ ml}}{100}$

= 10 ml/l

c. Stok Zat Besi



Catatan:

*) 5 ml/l larutan stok zat besi yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

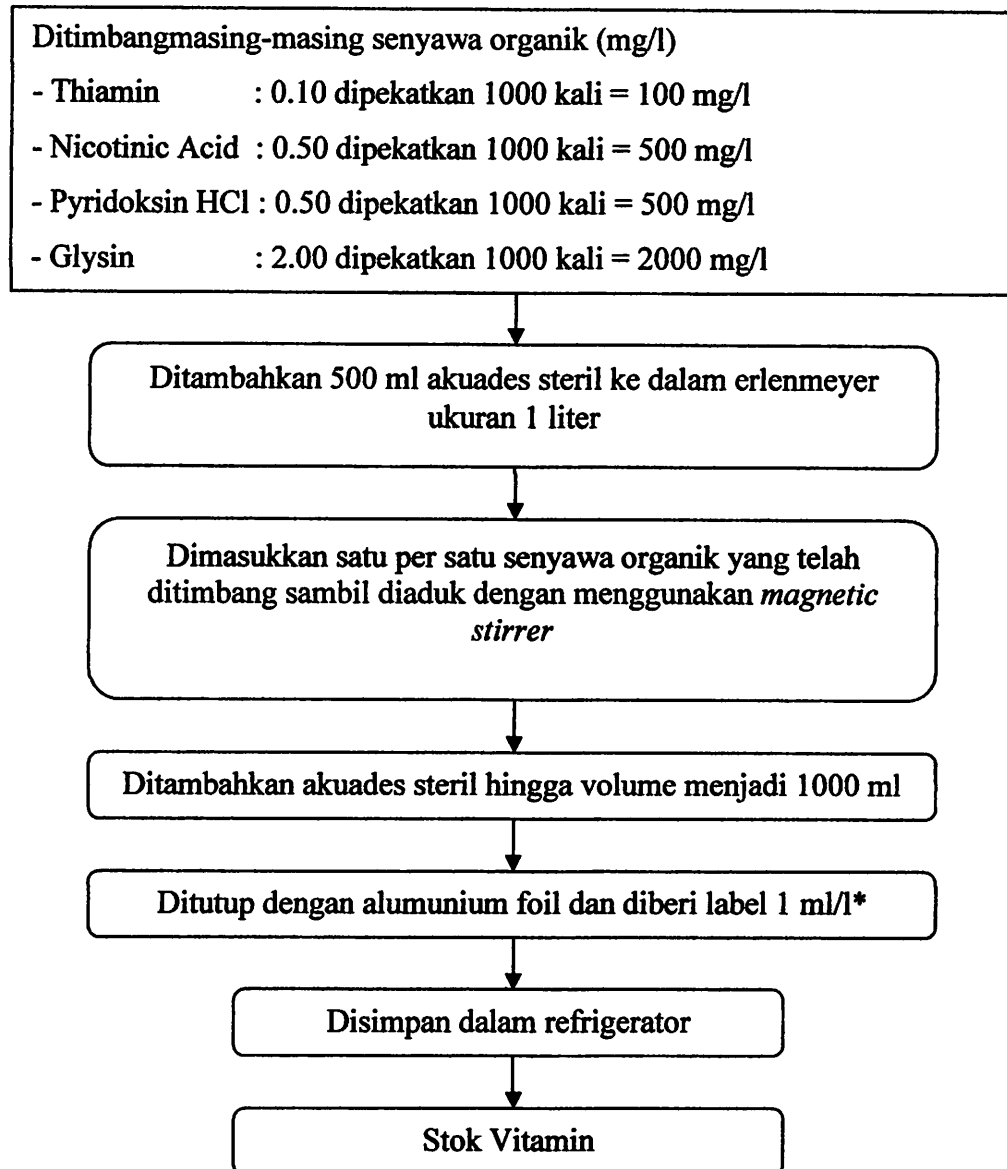
$$= \frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (200 kali)}}$$

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{200}$$

$$= 5 \text{ ml/l}$$

$$= 5 \text{ ml/l}$$

d. Stok Vitamin



Catatan:

*) 1000 ml/l larutan stok vitamin yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

= $\frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (1000 kali)}}$

= $\frac{1000 \text{ ml}}{1000}$

= 1 ml/l

= 1 ml/l