

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Kebun Benih Hortikultura Salaman Magelang pada bulan Mei sampai Desember 2004.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Botol kultur dan penutupnya, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, skalpel, pinset, *Laminar Air Flow*, alat timbang, lemari pendingin, pipet, pengaduk, autoklaf, lampu spiritus, oven, penyemprot alkohol, pengukur pH, rak kultur, termometer, higrometer dan sikat.

##### 3.2.2 Bahan

Eksplan mata tunas kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe), HCl dan NaOH 1 N, medium MS (lampiran 1), akuades, alkohol 70%, bayclin, agar, gula, arang aktif, NAA, BAP, deterjen, kertas label, tissue, aluminium foil, plastik parafilm.

#### 3.3 Cara Kerja

##### 1. Sterilisasi Alat

- Sebelum digunakan, alat-alat dari gelas dan logam disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17 psi selama 30 menit.

- Untuk alat-alat dari logam dan cawan petri, sebelum disterilisasi dengan autoklaf dibungkus dahulu dengan kertas, baru disterilisasi dengan autoklaf.

## 2. Pembuatan Media Kultur

- Untuk membuat 1 liter media kultur, diambil larutan MS sesuai lampiran 1, ditambah gula 40 gram, BAP 4 ppm, NAA 0,5 ppm dan dicampur dengan akuades hingga volume menjadi 1 liter (Gunawan, 1995).
- Keasaman media diatur pada pH 5,8 dengan menggunakan pH meter dan dengan cara penambahan NaOH atau HCl 1N.
- Medium ditambah agar 7 g.
- 1 liter media dibagi menjadi 5 bagian, masing-masing bagian ditambah arang aktif sesuai perlakuan, yaitu:
  - (P0) penambahan arang aktif 0 g/l
  - (P1) penambahan arang aktif 1 g/l
  - (P2) penambahan arang aktif 2 g/l
  - (P3) penambahan arang aktif 3 g/l
  - (P4) penambahan arang aktif 4 g/l
- Medium dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian diangkat dan masing-masing perlakuan dimasukkan ke botol kultur serta ditutup dengan penutup botol kultur.
- Masing-masing perlakuan dengan 4 kali ulangan

### 3. Sterilisasi Media

- Media disterilisasi dengan cara diautoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17 psi selama 25 menit.

### 4. Sterilisasi Ruang Tanam

- Permukaan *Laminar Air Flow* disemprot dengan alkohol 70%, kemudian disterilisasi dengan sinar UV selama 1 jam.

### 5. Persiapan dan Sterilisasi Eksplan

- Rimpang kunyit putih diletakkan pada tempat yang lembab selama 1-4 minggu agar tumbuh mata tunas.
- Rimpang kunyit putih dicuci dengan deterjen dan air bersih.
- Rimpang diambil mata tunasnya dengan menyertakan 0.5 cm rimpang di sampingnya.
- Kulit rimpang dibersihkan, kemudian eksplan direndam dalam deterjen selama 30 menit.
- Eksplan dibawa ke LAF dan direndam dalam Bayclin 10%, 5%, 2,5% masing-masing selama 30 menit, 20 menit dan 10 menit.
- Eksplan direndam dalam betadin selama 5 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril 2 kali masing-masing 5 menit.

### 6. Penanaman dan Pemeliharaan Eksplan

- Eksplan ditanam di *Laminar Air Flow* secara aseptis dan diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 24-26°C dengan penyinaran 10 jam perhari.

## 7. Pengamatan

- Pengamatan dilakukan setiap hari selama  $\pm 1$  bulan.

### 3.4 Parameter

Parameter utama yang diamati adalah :

#### 1. Persentase eksplan yang mengalami pencoklatan.

Dilakukan dengan menghitung jumlah eksplan yang mengalami pencoklatan dibandingkan total eksplan tiap perlakuan tiap ulangan dikalikan 100 %.

$$\text{Persentase Pencoklatan} = \frac{x}{n} \times 100 \%$$

#### 2. Berat basah eksplan.

Dilakukan dengan cara menimbang eksplan dalam keadaan masih segar.

#### 3. Berat kering eksplan.

Dilakukan dengan cara mengeringkan eksplan selama 19 jam dan suhu 80°C sampai didapatkan berat yang konstan.

#### 4. Jumlah Tunas.

Dihitung setelah dipanen.

Parameter pendukung yang diamati adalah faktor lingkungan , meliputi

1. Suhu (°C)
2. Kelembaban (%).

### 3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi arang aktif yang terdiri dari 5 faktor yaitu :

(P0) penambahan arang aktif 0 g/l

(P1) penambahan arang aktif 1 g/l

(P2) penambahan arang aktif 2 g/l

(P3) penambahan arang aktif 3 g/l

(P4) penambahan arang aktif 4 g/l

(George and Sherrington 1984).

Tiap perlakuan mempunyai 4 sampel. Masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova pada taraf signifikansi 95% dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf signifikansi 95% (Steel and Torrie, 1993).

