

LAMPIRAN



Lampiran 1.

Data jumlah tunas stevia

Tabel 05. Pertambahan jumlah tunas stevia dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Kombinasi Perlakuan	Jumlah tunas Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
N0B0	8	8	6	22	7.33
N0B1	9	8	9	26	8.67
N0B2	8	9	10	27	9.00
N0B3	11	13	7	31	10.33
N0B4	6	13	16	35	11.67
N1B0	8	6	10	24	8.00
N1B1	10	12	11	33	11.00
N1B2	9	13	15	37	12.33
N1B3	14	12	13	39	13.00
N1B4	19	16	14	49	16.33
N2B0	4	9	4	17	5.67
N2B1	8	13	9	30	10.00
N2B2	12	14	13	39	13.00
N2B3	11	13	14	38	12.67
N2B4	16	15	21	52	17.33
N3B0	6	3	5	14	4.67
N3B1	10	10	13	33	11.00
N3B2	11	13	14	38	12.67
N3B3	15	11	13	39	13.00
N3B4	22	15	10	47	15.67
Jumlah total				670	

Sumber : data primer Nur Hidayati, 2001

A. Perhitungan ANOVA jumlah tunas

Jumlah ulangan (n) = 3

Jumlah perlakuan (a) = 4x5 = 20

Derajat bebas (db) :

$$\text{db total} = (a \cdot n) - 1 = 60 - 1 = 59$$

$$\text{db perlakuan} = a - 1 = 19$$

$$\text{db NAA} = 3$$

$$\text{db BAP} = 4$$

$$\text{db innteraksi} = 3 \times 4 = 12$$

$$\text{db galat} = a (n - 1) = 40$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= (670)^2 / 60 = 44890 / 60 \\ &= 7481.66 \end{aligned}$$

Jumlah Kuadrat (JK) :

$$\begin{aligned} \# \text{ JK Total (JKT)} &= (8^2 + 8^2 + \dots + 10^2) - \text{FK} \\ &= 8390 - 7481.66 = 908.34 \\ \\ \# \text{ JK Perlakuan} &= \frac{(22^2 + 26^2 + 27^2 + \dots + 47^2)}{3} - \text{FK} \\ &= 8116 - 7481.66 = 634.34 \\ \\ \# \text{ JK Perlakuan NAA} &= \frac{(141^2 + 182^2 + 176^2 + 171^2)}{3 \times 5} - \text{FK} \\ &= 7548.133 - 7481.66 \\ &= 66.47 \\ \\ \# \text{ JK Perlakuan BAP} &= \frac{(77^2 + 122^2 + 141^2 + 147^2 + 183^2)}{3 \times 4} - \text{FK} \\ &= 7982.66 - 7481.66 \\ &= 501.00 \\ \\ \# \text{ JK Interaksi N x B} &= 634.34 - 66.47 - 501.00 \\ &= 66.87 \\ \\ \# \text{ JK Galat} &= 908.34 - 634.34 \\ &= 274 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah (KT) :

$$\begin{aligned} \# \text{ KT Perlakuan} &= \text{JK perlakuan} / \text{db perlakuan} = 634.34 / 19 \\ &= 33.386 \\ \\ \# \text{ KT NAA} &= \text{JK NAA} / \text{db NAA} = 66.47 / 3 \\ &= 22.156 \\ \\ \# \text{ KT BAP} &= \text{JK BAP} / \text{db BAP} = 501.00 / 4 \\ &= 125.25 \\ \\ \# \text{ KT Interaksi N XB} &= 66.87 / 12 \\ &= 5.572 \\ \\ \# \text{ KT GALAT} &= 274 / 40 \\ &= 6.850 \\ \\ \text{F Hitung Perlakuan} &= \text{KTP} / \text{KTG} = 33.386 / 6.85 \\ &= 4.874 \\ \\ \text{F Tabel (19, 40)} &= 1.92 - 1/5 (1.92 - 1.84) \\ &= 1.904 \end{aligned}$$

Tabel 06. Sidik ragam pertambahan jumlah tunas stevia dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	19	634.34	33.386	4.874*	1.904
NAA	3	66.47	22.156	3.234*	2.840
BAP	4	501.00	125.250	18.284*	2.610
Interaksi NAAxBAP	12	66.87	5.572	0.813 ^{tn}	2.000
Galat	40	274.00	6.850		
Total	59	908.34			

Keterangan : * berbeda nyata
^{tn} berbeda tidak nyata

Kesimpulan :

- Ada pengaruh perlakuan NAA terhadap pertambahan jumlah tunas stevia
- Ada pengaruh perlakuan BAP terhadap pertambahan jumlah tunas stevia
- Tidak ada interaksi antara kedua perlakuan terhadap pertambahan jumlah tunas stevia

Perhitungan Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% terhadap pertambahan jumlah tunas stevia untuk perlakuan BAP

1. Urutan nilai tengah perlakuan menaik

<u>B0</u>	<u>B1</u>	<u>B2</u>	<u>B3</u>	<u>B4</u>
6.4175	10.1675	11.7500	12.2500	15.2500

2. Perhitungan galat baku nilai tengah perlakuan:

$$Sy \sqrt{KTG/nBAP} = \sqrt{6.85/3 \times 4}$$

$$= 0.755$$

3. Perhitungan wilayah nyata terpendek untuk berbagai wilayah :

<u>P</u>	rp 5% (P, 40)	RP = rp 5% x Sy
2	2.86	2.159
3	3.01	2.273
4	3.10	2.340
5	3.17	2.393

4. Selisih nilai tengah yang dihasilkan dibandingkan dengan nilai RP dari RP terbesar ke terkecil

Tabel 07. Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% pada perlakuan BAP terhadap penambahan jumlah tunas stevia

Selisih nilai tengah	B0 6.4175	B1 10.1675	B2 11.7500	B3 12.2500	B4 15.2500
B0 6.4175	-	3.75*	5.33*	5.83*	8.83*
B1 10.1675		-	1.582	2.08	5.08*
B2 11.7500			-	0.50	3.30*
B3 12.2				-	3.00*
B4 15.2500					-

Keterangan : * Rata-rata yang berbeda nyata

Kesimpulan:

<u>B0</u>	<u>B1</u>	<u>B2</u>	<u>B3</u>	<u>B4</u>
6.4175	10.1675	11.7500	12.2500	15.2500
a	b	b	b	c

Perhitungan Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% terhadap penambahan jumlah tunas stevia untuk perlakuan NAA

1. Urutan nilai tengah perlakuan menaik

<u>N0</u>	<u>N1</u>	<u>N2</u>	<u>N3</u>
9.400	11.402	11.734	12.132

2. Perhitungan galat baku nilai tengah perlakuan:

$$S_y = \sqrt{KTG/nNAA} = \sqrt{6.85/3 \times 5} = 0.675$$

3. Perhitungan wilayah nyata terpendek untuk berbagai wilayah :

<u>P</u>	rp 5% (P, 40)	RP = rp 5% x Sy
2	2.86	1.932
3	3.01	2.032
4	3.10	2.092

5. Selisih nilai tengah yang dihasilkan dibandingkan dengan nilai RP dari RP terbesar ke terkecil

Tabel 08. Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% pada perlakuan NAA terhadap penambahan jumlah tunas stevia

Selisih nilai tengah	N0 9.400	N3 11.402	N 2 11.734	N1 12.132
N0 9.400	-	2.002*	2.334*	2.732*
N3 11.402		-	0.332	0.730
N2 11.734			-	0.398
N1 12.132				-

Keterangan : * Rata-rata yang berbeda nyata

Kesimpulan:

<u>N0</u>	<u>N1</u>	<u>N2</u>	<u>N3</u>
9.400	12.132	11.734	11.402
P	q	q	q



*Lampiran 2.***Data jumlah daun stevia**

Tabel 09. Pertambahan Jumlah daun stevia dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Kombinasi Perlakuan	Jumlah daun (helai) Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
N0B0	64	36	50	150	50.00
N0B1	63	54	67	184	61.33
N0B2	50	62	56	168	56.00
N0B3	73	71	65	209	69.67
N0B4	72	53	105	230	76.67
N1B0	55	43	56	154	51.33
N1B1	53	74	63	190	63.33
N1B2	74	81	76	231	77.00
N1B3	85	87	72	244	81.33
N1B4	70	80	87	237	79.00
N2B0	40	62	51	153	51.00
N2B1	71	78	71	220	73.33
N2B2	84	81	79	244	81.33
N2B3	77	85	84	246	82.00
N2B4	87	79	93	259	86.33
N3B0	42	37	40	119	39.67
N3B1	76	73	74	223	74.33
N3B2	53	97	98	248	82.67
N3B3	89	78	71	238	79.33
N3B4	128	58	95	281	93.67
Jumlah total				4228	

Sumber : data primer Nur Hidayati, 2001

Cara perhitungan ANOVA jumlah daun analog dengan lampiran 1

Tabel 10. Sidik ragam pertambahan jumlah daun stevia dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	19	12061.59	634.820	3.637*	1.904
- NAA	3	1359.066	453.022	2.5956 ^{tn}	2.840
- BAP	4	9163.932	2290.983	13.1263*	2.610
- Interaksi NAAxBAP					
Galat	12	1538.604	128.217	0.7346 ^{tn}	2.000
Total	40	6981.32	174..533		
	59	19072.93			

Keterangan : * berbeda nyata
^{tn} berbeda tidak nyata

Kesimpulan :

- Perlakuan NAA tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah daun
- Perlakuan BAP berpengaruh terhadap peningkatan jumlah daun
- Interaksi antara kedua perlakuan tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah daun

Cara perhitungan uji lanjut terhadap jumlah daun analog lampiran 1

Tabel 11. Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% pada perlakuan BAP terhadap pertambahan jumlah daun stevia

Selisih nilai tengah	B0 48.00	B1 68.083	B2 74.250	B3 78.083	B4 83.9175
B0 48.00	-	20.083*	26.25*	30.083*	35.917*
B1 68.083		-	6.167	10.000	15.834*
B2 74.250			-	3.833	9.667
B3 78.083				-	5.834
B4 83.9175					-

Keterangan : * Rata-rata yang berbeda nyata

Lampiran 3.**Data Berat Basah**

Tabel 12. berat basah akhir tunas stevia pada berbagai perlakuan konsentrasi NAA dan BAP

Kombinasi Perlakuan	Berat basah akhir tunas (g)		
	Ulangan		
	1	2	3
N0B0	0.4166	0.4989	0.4814
N0B1	0.9006	0.7237	0.9032
N0B2	0.6699	1.1576	0.9013
N0B3	0.7382	1.2075	1.3350
N0B4	0.5258	1.1148	1.9670
N1B0	0.4769	0.3832	0.5799
N1B1	0.9182	0.8068	0.8709
N1B2	0.2779	1.5738	0.7475
N1B3	0.2792	1.5039	1.3643
N1B4	0.9974	1.5315	1.2668
N2B0	0.4974	0.5319	0.4665
N2B1	1.3105	0.8976	0.7124
N2B2	1.0176	0.6264	1.1976
N2B3	0.9116	1.0638	1.0177
N2B4	0.8149	1.3597	1.2495
N3B0	0.5613	0.4776	1.4128
N3B1	0.9128	1.2453	0.9497
N3B2	1.3948	1.5616	1.0958
N3B3	0.8663	1.2460	1.1834
N3B4	1.8021	1.3792	1.6597

Sumber : data primer Nur Hidayati, 2001

Keterangan :

- ◆ Perhitungan berat basah awal dilakukan pada saat eksplan diambil dari tanaman induk
- ◆ perhitungan berat basah akhir dilakukan pada saat pemanenan tunas yaitu setelah masa inkubasi selama 4 minggu.

Tabel 13. Pertambahan berat basah tunas stevia dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Kombinasi Perlakuan	Pertambahan Berat basah (g) Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
N0B0	0.3803	0.4626	0.4451	1.288	0.43
N0B1	0.8642	0.6874	0.8669	2.4185	0.81
N0B2	0.6336	1.1213	0.8650	2.6199	0.87
N0B3	0.7019	1.1712	1.2987	3.1718	1.06
N0B4	0.4895	1.0785	1.9307	3.4987	1.17
N1B0	0.4406	0.347	0.5436	1.3312	0.44
N1B1	0.8819	0.7705	0.8346	2.4870	0.83
N1B2	0.2416	1.5375	0.7112	2.4903	0.83
N1B3	0.2429	1.4676	1.3280	3.0385	1.48
N1B4	0.9611	1.4952	1.2305	3.6868	1.23
N2B0	0.4611	0.4952	0.4302	1.3865	0.46
N2B1	1.2742	0.8613	0.6761	2.8116	0.94
N2B2	0.9813	0.5901	1.1613	2.7328	0.91
N2B3	0.8753	1.0275	0.9814	2.8842	0.96
N2B4	0.7786	1.3234	1.2132	3.3152	1.11
N3B0	0.5250	0.4413	1.3765	2.3428	0.78
N3B1	0.8765	1.2095	0.9134	2.9994	1.00
N3B2	1.3585	1.5253	1.0235	3.9073	1.30
N3B3	0.8300	1.2097	1.1471	3.1868	1.06
N3B4	1.7658	1.3429	1.6234	4.7321	1.58
Jumlah total				56.3293	

Sumber : data primer Nur Hidayati, 2001

Cara perhitungan ANOVA berat basah analog dengan lampiran 1

Tabel 14. Sidik ragam pertambahan berat basah tunas dengan perlakuan NAA dan BAP pada berbagai konsentrasi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	19	4.638	0.244	2.05*	1.904
- NAA	3	0.847	0.282	2.37 ^{tn}	2.840
- BAP	4	3.457	0.864	7.26*	2.610
- InteraksiNAAxBAP	12	0.334	0.028	0.23 ^{tn}	2.000
Galat	40	4.766	0.119		
Total	59	9.404			

Keterangan : * berbeda nyata
^{tn} berbeda tidak nyata

Kesimpulan :

Perlakuan NAA tidak berpengaruh terhadap pertambahan berat basah tunas

Perlakuan BAP berpengaruh terhadap pertambahan berat basah tunas

Interaksi antara kedua perlakuan tidak berpengaruh terhadap pertambahan berat basah tunas

Cara perhitungan uji lanjut berat basah analog dengan lampiran 1

Tabel 15. Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5% pada perlakuan BAP terhadap pertambahan berat basah tunas stevia

Selisih nilai tengah	B0 0.5275	B1 0.895	B2 0.977	B3 1.14	B4 1.273
B0 0.5275	-	0.3675*	0.4025*	0.6125*	0.7450*
B1 0.5275		-	0.0825	0.245	0.3775*
B2 0.977			-	0.1625	0.295*
B3 1.14				-	0.1325
B4 1.273					-

Keterangan : * Rata-rata yang berbeda nyata

Lampiran 4

Tabel 16. Formulasi dasar garam-garam mineral Murashige dan Skoog

	Nama Kemikalia	Rumus Kimia	Kadar / lt
A	Makronutrien		
	Amonium Nitrat	NH_4NO_3	1,65 g
	Kalium Nitrat	KNO_3	1,90 g
	Kalsium Klorida dihidrat	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,44 g
	Magnesium Sulfat 7 hidrat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,37 g
	Kalium Dihidrogen Fosfat	KH_2PO_4	0,17 g
B	Sumber Besi ***		
	Ferro Sulfat 7 hidrat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8 mg
	Di - natrium EDTA **	Na_2EDTA	37,3 mg
C	Mikronutrien		
	Asam Borat	H_3BO_3	6,20 mg
	Mangan Sulfat 4 hidrat	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3 mg
	Seng Sulfat 4 hidrat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8,60 mg
	Kalium Iodida	KJ	0,83 mg
	Natrium Molibdat dihidrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25 mg
	Kupri Sulfat 5 hidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg
	Kobalt Klorida 6 hidrat	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg
D	Vitamin		
	Niacin		25 mg
	Glisin		100 mg
	Pyridoxin.HCl		25 mg
	Thiamin		5 mg
	Myo - inositol		10 mg
	Sukrosa		30000 mg
Agar		8000 mg	

** EDTA singkatan Etilen - Diamin - Tetra - Asetat

*** Umumnya ditambahkan dari larutannya yang lebih pekat

Larutan persediaan besi di simpan dalam botol berwarna (Wetherell, 1982)

*Lampiran 5**Pembuatan Larutan Stok Medium MS***A. Pembuatan stok makronutrien**

- Untuk membuat larutan stok makro dengan 20 kali konsentrasi, maka semua unsur-unsur makro nutrien ditimbang dengan masing-masing dikalikan 20.
- Unsur-unsur tersebut dilarutkan dengan aquadest steril satu persatu, kemudian baru dicampur dengan unsur makro yang lain, dimasukkan ke dalam gelas piala sambil diaduk ditambah aquadest hingga volume larutan 1000 ml
- Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian diberi label makronutrien 20 kali, 50 ml/liter.
- Untuk membuat 1 liter medium maka diperlukan 50 ml larutan stok makro.

B. Pembuatan stok mikronutrien

- Untuk membuat larutan stok mikro dengan 200 kali konsentrasi, maka semua unsur-unsur mikro nutrien ditimbang dengan masing-masing dikalikan 200.
- Unsur-unsur tersebut dilarutkan dengan aquadest steril satu persatu, kemudian baru dicampur dengan unsur mikro yang lain, dimasukkan ke dalam gelas piala sambil diaduk ditambah aquadest hingga volume larutan 1000 ml
- Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian diberi label mikronutrien 200 kali, 5 ml/liter.
- Untuk membuat 1 liter medium maka diperlukan 5 ml larutan stok mikro.

C. Pembuatan stok vitamin

- Untuk membuat larutan stok vitamin dengan 100 kali konsentrasi, maka semua unsur-unsur vitamin ditimbang dengan masing-masing dikalikan 100.

- Unsur-unsur tersebut dilarutkan dengan sedikit aquadest steril, kemudian setelah larut ditambah aquadest hingga volume larutan 100 ml.
- Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian diberi label vitamin 100 kali, 1 ml/liter.
- Untuk membuat 1 liter medium maka diperlukan 1 ml larutan stok vitamin.

D. Pembuatan stok Fe-EDTA

- Untuk membuat larutan stok Fe-EDTA dengan 50 kali konsentrasi, maka semua unsur-unsur FE-EDTA ditimbang dengan masing-masing dikalikan 50.
- Unsur-unsur tersebut dilarutkan dengan sedikit aquadest steril, kemudian setelah larut ditambah aquadest hingga volume larutan 100 ml
- Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian diberi label Fe-EDTA 50 kali, 2 ml/liter.
- Untuk membuat 1 liter medium maka diperlukan 2 ml larutan stok Fe-EDTA.

E. Pembuatan stok mio-inositol

- Untuk membuat larutan stok mio-inositol dengan 10 kali konsentrasi, maka semua unsur-unsur mio-inositol ditimbang dengan masing-masing dikalikan 10.
- Unsur-unsur tersebut dilarutkan dengan sedikit aquadest steril, kemudian setelah larut ditambah aquadest hingga volume larutan 100 ml
- Botol tersebut ditutup rapat dengan aluminium foil kemudian diberi label mio-inositol 10 kali, 10 ml/liter.
- Untuk membuat 1 liter medium maka diperlukan 10 ml larutan stok mio-inositol.

F. Pembuatan stok NAA

- Untuk membuat larutan stok NAA dengan kepekatan 1 mg/ml sebanyak 100 ml, ditimbang 100 mg bahan dan dilarutkan dengan sedikit aquadest.
- larutan diaduk sambil ditetaskan larutan NaOH 1 N atau dengan larutan alkohol 40% sampai benar-benar larut kemudian ditambah aquadest hingga volume larutan 100 ml
- Untuk membuat 1 liter medium kebutuhan larutan stok hormon tergantung pada perlakuan. Jika perlakuan NAA yang diperlukan adalah 1 ppm maka diperlukan 1 ml larutan stok NAA, jika 2 ppm di perlukan 2 ml larutan stok NAA dan seterusnya.

G. Pembuatan stok BAP

- Untuk membuat larutan stok BAP dengan kepekatan 1 mg/ml sebanyak 100 ml, ditimbang 100 mg bahan dan dilarutkan dengan sedikit aquadest.
- Larutan diaduk sambil ditetesi larutan HCl 1N, lalu dipanaskan sebentar sampai bahan benar-benar larut (jernih), kemudian ditambahkan aquadest sampai volume larutan menjadi 100 ml.
- Untuk membuat 1 liter medium kebutuhan larutan stok hormon tergantung pada perlakuan. Jika perlakuan BAP yang diperlukan adalah 1 ppm maka diperlukan 1ml larutan stok BAP, jika 2 ppm di perlukan 2 ml larutan stok BAP.