

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

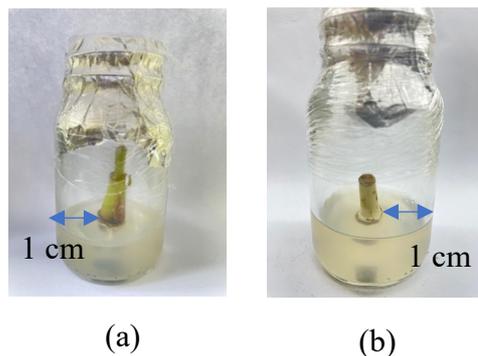
4.1. Kondisi Umum Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan Sistem Pertanian Terpadu (SITANDU). Temperatur suhu ruangan selama penelitian berkisar 20-24⁰C. Penyinaran cahaya menggunakan lampu TL selama 24 jam/hari. Bahan tanam (eksplan) yang digunakan untuk penelitian berasal dari Bogor. Bahan tanam yang digunakan berasal dari luar sehingga perlu dilakukan sterilisasi pada bahan tanam, baik sterilisasi luar maupun sterilisasi dalam. Eksplan yang digunakan berasal dari bonggol pisang yang dipotong menjadi ukuran 8-10 cm (Gambar 3) dan diinisiasi sebelum dimasukkan ke media perlakuan. Tanaman yang sudah melalui tahap sterilisasi lalu diinisiasi menggunakan media MS0. Eksplan yang telah melalui tahap sterilisasi akan berwarna putih dan mengalami perubahan warna menjadi hijau pada 1 minggu setelah dimasukkan pada media MS 0.



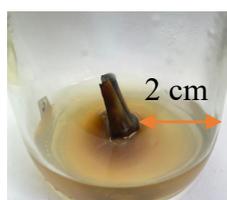
Gambar 3. Bonggol Pisang Varietas Mas Kirana (a), Pisang Varietas Tanduk (b)

Eksplan yang sudah melalui tahap sterilisasi lalu dipotong dengan ukuran 5 cm dan ditanam dengan media MS0 selama masa inisiasi (1 MST) dapat dilihat pada (Gambar 4), lalu dipindahkan pada media perlakuan. Inisiasi dilakukan untuk melihat pertumbuhan tanaman dan berfungsi untuk mengetahui apakah hasil inisiasi terkena jamur atau bakteri agar saat penanaman media tanam dapat mengurangi resiko kontaminasi.



Gambar 4. Inisiasi Eksplan Pisang Varietas Mas Kirana / Bahan tanam sumber eksplan Pisang Varietas Mas Kirana (a), Eksplan Varietas Tanduk (b)

Eksplan yang dipindahkan ke media perlakuan dibelah menjadi 2, sehingga 1 eksplan yang telah diinisiasi untuk 2 media perlakuan. Pada penanaman pertumbuhan eksplan pisang mulai terlihat sekitar 2 MST, ditandai dengan perubahan warna eksplan dari putih kekuningan menjadi kehijauan dan eksplan yang mati ditandai dari perubahan warna putih kekuningan menjadi kecoklatan kemudian mati. Pada 2 MST mulai terlihat kultur yang terkontaminasi serta *browning* dan terus berlangsung sampai 12 MST, eksplan yang terkena *browning* sebesar 38,91%, eksplan yang terkena kontaminasi sebesar 33,35%, dan eksplan yang mengalami kematian 58,33%. *Browning* pada kultur terjadi pada beberapa perlakuan, terutama perlakuan varietas Tanduk yang menyebabkan kematian pada tanaman tersebut (Gambar 5).



Gambar 5. *Browning* Pada Eksplan Pisang Varietas Tanduk

Kontaminasi tersebut disebabkan oleh bakteri. Kontaminasi bakteri dapat diketahui dengan terlihatnya lapisan seperti lendir di sekitar dan bawah kultur, serta ditepi media. Selain terjadinya kontaminasi pada tanaman, terdapat kematian pada tanaman yang ditandai dengan warna eksplan kecoklatan yang disebabkan oleh senyawa fenol yang bersifat berlebihan pada eksplan tersebut.

Browning merupakan peristiwa pencoklatan pada eksplan atau tanaman. Menurut Syabana *et al.*, (2015), senyawa fenol yang berlebihan akan bersifat racun yang dapat merusak jaringan eksplan dan akhirnya menyebabkan kematian pada eksplan. Disamping terjadinya kontaminasi dan *browning* pada tanaman, terdapat kendala yaitu eksplan yang ditanam mengalami stagnasi. Stagnasi merupakan suatu keadaan eksplan dimana eksplan tersebut tidak mati tetapi tidak tumbuh dari mulai tanam sampai kurun waktu tertentu. Pada penelitian ini, jumlah eksplan yang mengalami stagnasi sebanyak 5 eksplan. Stagnasi pada eksplan diduga karena faktor dari media dan eksplan yang digunakan. Hal ini sejalan dengan pendapat Arimarsetiowati (2012) yang menyatakan bahwa media dapat menjadi penyebab terjadinya stagnasi pertumbuhan, karena dari kondisi media suatu sel atau tidak terdorong melakukan proses pembelahan. Selain media, faktor lain yang menyebabkan stagnasi pada eksplan diduga yaitu umur eksplan yang digunakan.



Gambar 6. Munculnya Tunas Baru pada Varietas Mas Kirana pada 2 MST

Pertumbuhan tanaman yang hidup akan terlihat berwarna hijau dan memunculkan bakal tunas baru (Gambar 6) yang terus berkembang menjadi tunas. Tunas yang muncul diawali dengan dimulainya pembengkakan pada tunas dan muncul bintik tunas. Bintik tunas berkembang dan membentuk kubah lalu muncul daun primordial. Pada beberapa eksplan pisang terdapat pertumbuhan tidak langsung yang ditandai adanya munculnya nodul. Berdasarkan 12 kombinasi perlakuan yang digunakan memiliki pengaruh yang berbeda mulai dari muncul tunas, tinggi tunas, jumlah tunas, dan jumlah daun.

4.2. Hasil dan Pembahasan

Hasil dari rekapitulasi sidik ragam perlakuan varietas pisang dan konsentrasi TDZ terhadap inisiasi tunas pisang disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil rekapitulasi sidik ragam pada Tabel 2. Menunjukkan bahwa perlakuan varietas memberikan pengaruh sangat nyata terhadap tinggi tunas 4 MST – 12 MST, jumlah daun 12 MST, waktu muncul tunas, dan jumlah tunas 4 MST – 12 MST. Pada perlakuan konsentrasi TDZ memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tanaman 8 MST – 12 MST dan Jumlah tunas 8 MST. Konsentrasi TDZ memberikan pengaruh sangat nyata terhadap jumlah daun 4 MST dan jumlah tunas 12 MST. Terdapat interaksi antara perlakuan varietas pisang dengan konsentrasi TDZ pada tinggi tanaman 8 MST – 12 MST dan jumlah tunas 8 MST – 12 MST.

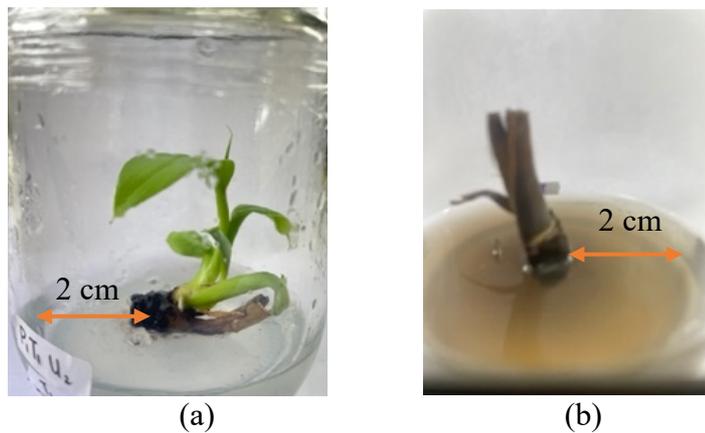
Tabel 2. Rekapitulasi Sidik Ragam Respons Pengaruh Varietas Tanaman Pisang Mas Kirana (*Musa acuminata* C.) dan Tanduk (*Musa paradisiaca* L.) Terhadap Perlakuan Tingkat Konsentrasi Thidiazuron (TDZ)

No	Parameter Pengamatan	Umur Tanaman (MST)	Perlakuan			KK (%)
			Varietas (P)	Konsentrasi TDZ (T)	Interaksi (P*T)	
1	Waktu Muncul Tunas		**	tn	tn	10,85 ^b
2	Tinggi Tunas	4 MST	**	tn	tn	18,34 ^a
		8 MST	**	*	*	27,29 ^a
		12 MST	**	*	*	12,10 ^b
3	Jumlah Tunas	4 MST	**	tn	tn	22,50 ^a
		8 MST	**	*	*	24,39 ^a
		12 MST	**	**	**	23,72 ^a
4	Jumlah Daun	4 MST	tn	**	**	11,72 ^a
		8 MST	tn	tn	tn	29,09 ^a
		12 MST	**	tn	tn	10,85 ^b

Keterangan :

- * : Berpengaruh nyata pada $\alpha = 5\%$.
- ** : Berpengaruh sangat nyata pada $\alpha = 5\%$.
- tn : Berpengaruh tidak nyata
- KK : Koefisien Keragaman
- MST : Minggu Setelah Tanam
- ^a : Hasil transformasi dengan rumus $\sqrt{x + 0,5}$
- ^b : Hasil transformasi sebanyak 2 kali dengan rumus $\sqrt{x + 0,5}$

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan respon yang bervariasi pada parameter pengamatan waktu muncul tunas diamati pada 1 MST – 12 MST. Pada parameter tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah daun diamati 4, 8, 12 MST, parameter warna eksplan, persentase *browning*, persentase eksplan berakar, persentase eksplan hidup, dan persentase eksplan terkontaminasi diamati pada 12 MST. Eksplan yang ditanam pada 12 kombinasi perlakuan yang berbeda, pada minggu ke-2 sudah dapat dilihat perubahan dimana eksplan menunjukkan munculnya tunas, pembengkakan pada eksplan hingga penambahan tinggi tunas dan adanya kontaminasi serta *browning* pada eksplan. Pengamatan selanjutnya terlihat bahwa proses regenerasi eksplan memberikan hasil yang berbeda-beda, beberapa eksplan tersebut mengalami pertumbuhan yang baik dan beberapa eksplan mengalami penghambatan pertumbuhan yang disebabkan terjadinya *browning* sehingga menyebabkan beberapa eksplan mati.



Gambar 7. Pertumbuhan Eksplan Hidup Varietas Mas Kirana (a), Pertumbuhan Eksplan Mati Varietas Tanduk (b)

Salah satu ciri bahwa tanaman eksplan hidup yaitu memiliki ciri-ciri warna hijau terdapat tunas, daun, cabang dan akar seperti pada (Gambar 7a) sedangkan tanaman yang mati (Gambar 7b) memiliki ciri-ciri warna coklat, warna coklat kekuningan muncul disebabkan sel tanaman yang akan mati karena bekas luka potongan dan sulitnya untuk tanaman beradaptasi pada media baru yang diberikan. Pernyataan diatas sesuai dengan penelitian Nisa (2005) bahwa warna coklat menandakan sintesis senyawa fenolik, dimana sel mengalami cekaman luka pada jaringan bekas potongan selain cekaman dari medium.

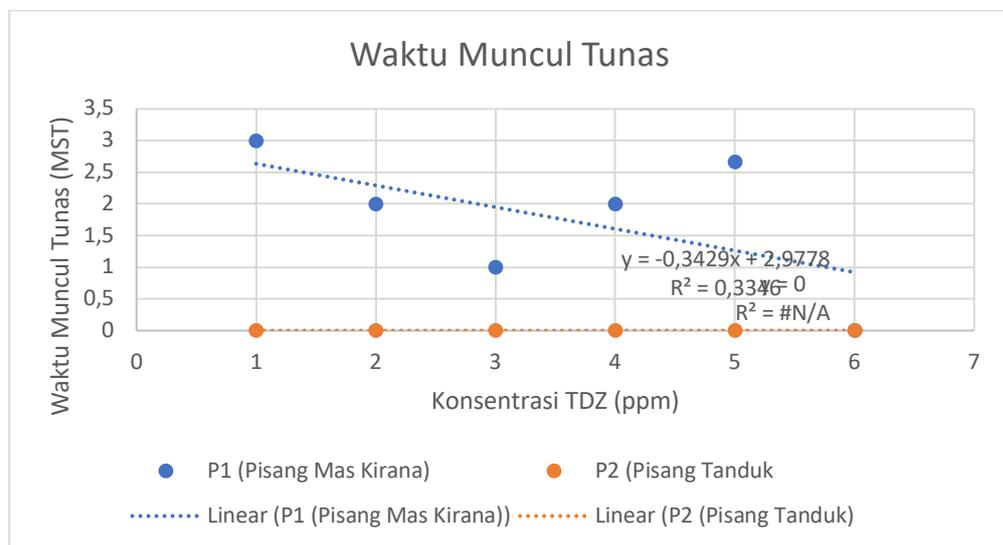
Selain itu penggunaan media dasar MS dengan penambahan TDZ membantu pertumbuhan tanaman pisang karena memiliki unsur hara makro dan mikro serta zat perangsang tumbuh, vitamin yang tinggi di dalamnya sehingga memberikan pengaruh baik bagi pertumbuhan tanaman pisang Mas Kirana. Dalam literatur Putri (2018) media MS merupakan media yang sangat kompleks terdiri dari unsur-unsur makro, mikro vitamin dan asam amino. MS digunakan sebagai media dasar yang mengandung unsur hara esensial, sumber energi, dan vitamin yang dapat menunjang kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan optimal dari tanaman. Zat pengatur tumbuh yang diberikan juga memiliki peranan dalam menyokong pertumbuhan eksplan.

Hal ini berbanding terbalik terhadap pertumbuhan tanaman pisang Tanduk, eksplan pisang Tanduk memberikan respon pertumbuhan yang baik pada minggu 1-2 MST, pada minggu selanjutnya eksplan pisang Tanduk terkena kontaminasi dan *browning* yang menyebabkan eksplan tersebut mati. Hal ini sejalan dengan pendapat Satria (2020) bahwa eksplan tanaman tergantung dari genotipe asal eksplan, varietas dan spesies. Pengaruh genotipe ini umumnya berhubungan erat dengan faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan seperti kebutuhan nutrisi.

4.2.1. Waktu Muncul Tunas

Data pengamatan waktu muncul tunas pisang Mas Kirana dan Tanduk terhadap pemberian konsentrasi TDZ secara *in vitro* pada umur 12 MST dapat dilihat pada Lampiran 9. Dari hasil sidik ragam menunjukkan berpengaruh sangat nyata pada faktor varietas dan tidak berpengaruh nyata pada konsentrasi TDZ begitu juga halnya interaksi kedua perlakuan menunjukkan hasil yang berpengaruh tidak nyata. Muncul tunas tercepat pada perlakuan P₁T₂ yaitu 1 MST. Muncul tunas dengan perlakuan penambahan TDZ 0,2 ppm lebih cepat dibandingkan dengan pemberian TDZ konsentrasi lain. Menurut Rodinah (2018) bahwa cepatnya pembentukan tunas juga disebabkan karena eksplan yang digunakan adalah bonggol pisang, dimana pada bonggol sudah ada calon mata tunas yang dapat tumbuh sebagai bibit dengan ciri bentuknya bulat, warnanya lebih bening dari

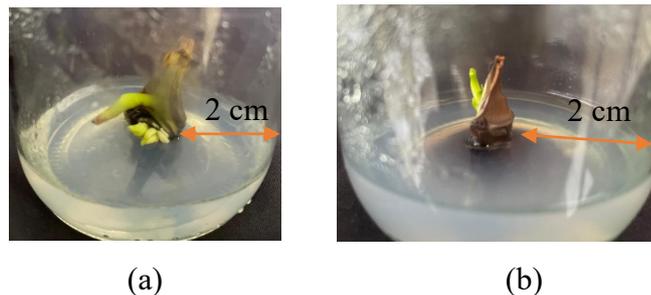
daging bonggol. Penambahan ZPT jenis sitokinin yaitu *Thidiazuron* (TDZ) memiliki efektifitas yang tinggi dalam regenerasi tanaman, TDZ akan stabil dan lebih aktif pada konsentrasi rendah daripada jenis sitokinin yang lain. Pemberian ZPT harus dibarengi dengan konsentrasi yang tepat untuk menunjang pertumbuhan tanaman sehingga tidak memberikan dampak negatif terhadap tanaman. Hal ini sejalan dengan pendapat Oktavianus *et al.*, (2021) menyatakan dampak negatif penggunaan TDZ adalah menyebabkan tanaman *hyperhydricity*/verifikasi yaitu malformasi fisiologis, morfologi daun abnormal, tunas pendek dan masalah terhadap perpanjangan dan perakaran tunas.



Gambar 8. Grafik Waktu Muncul Tunas Pisang Yang Diberi Perlakuan Jenis Varietas Dan Konsentrasi TDZ

Gambar 8. menunjukkan hasil bahwasanya grafik pertumbuhan waktu muncul tunas pada varietas Mas Kirana semakin tinggi konsentrasi TDZ maka pertumbuhan waktu muncul tunas semakin menurun. Pada varietas Tanduk tidak terdapat pertumbuhan waktu muncul tunas. Hal ini diduga perbedaan varietas menyebabkan perbedaan respon pada kedua varietas tersebut sehingga TDZ belum dapat menunjang pertumbuhan tanaman pisang secara optimal disamping itu, pertumbuhan pada pisang Tanduk yang telah mengalami pelukaan memiliki sifat asam fenolik yang lebih tinggi yang menyebabkan belum adanya pertumbuhan optimal dan interaksi antara varietas dan konsentrasi TDZ yang ditambahkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Silvina (2007) pertumbuhan dan organogenesis sangat

tergantung pada interaksi antara hormon endogen dan eksogen yang ditambahkan ke dalam media. Keseimbangan ZPT eksogen dan endogen dengan konsentrasi yang sesuai dapat menunjang pembelahan sel. Selain itu, Isnaeni (2008) menyatakan semakin tinggi konsentrasi TDZ yang diberikan mengurangi tinggi tanaman. Hal ini disebabkan karena TDZ lebih berfungsi dalam proses pembelahan sel dan memacu inisiasi.



(a) (b)
Gambar 9. Pertumbuhan Tidak Langsung Varietas Mas Kirana (a), Pertumbuhan Langsung Varietas Mas Kirana (b)

Tunas pisang yang terbentuk pada penelitian ini terjadi melalui dua cara, yaitu terbentuk secara langsung yang ditandai dengan terbentuknya tunas pada permukaan bonggol (organogenesis langsung) dan terbentuk secara tidak langsung ditandai dengan terbentuknya nodul (organogenesis tidak langsung) (Gambar 9). Menurut Noviana (2014) bahwa proses pembentukan tunas secara kultur *in vitro* pada tanaman pisang dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Hal ini sesuai dengan pendapat Isda (2020) bahwa eksplan yang menunjukkan respons organogenesis secara tidak langsung dan langsung mengalami pertumbuhan yang diawali dengan terjadinya perubahan warna pada eksplan yaitu perubahan warna pada titik tumbuh eksplan yang awalnya putih berubah menjadi hijau dan kemudian terjadinya pembengkakan pada bekas pelukaan dan merekah, selanjutnya akan terbentuk nodul pada pembentukan tunas tidak langsung yang akan berdiferensiasi menjadi tunas, sedangkan organogenesis tunas langsung membentuk kuncup tunas tanpa melalui pembentukan nodul yang kemudian berkembang menjadi tunas dewasa.

4.2.2. Tinggi Tunas

Data pengamatan tinggi tunas pisang Mas Kirana dan Tanduk terhadap pemberian konsentrasi TDZ secara *in vitro* pada umur 4 MST, 8 MST dan 12 MST dapat dilihat pada Lampiran 10. Dari hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh sangat nyata pada tinggi tanaman 4 MST – 12 MST pada faktor varietas. Faktor konsentrasi TDZ menunjukkan berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman 8 MST – 12 MST begitu juga halnya interaksi kedua perlakuan menunjukkan interaksi berpengaruh nyata pada 8 MST – 12 MST. Pada 4 MST menunjukkan berpengaruh tidak nyata pada faktor konsentrasi dan interaksi. Data pengamatan sidik ragam tinggi tunas pisang terhadap jenis varietas pisang dan konsentrasi TDZ dapat dilihat pada Tabel 3.

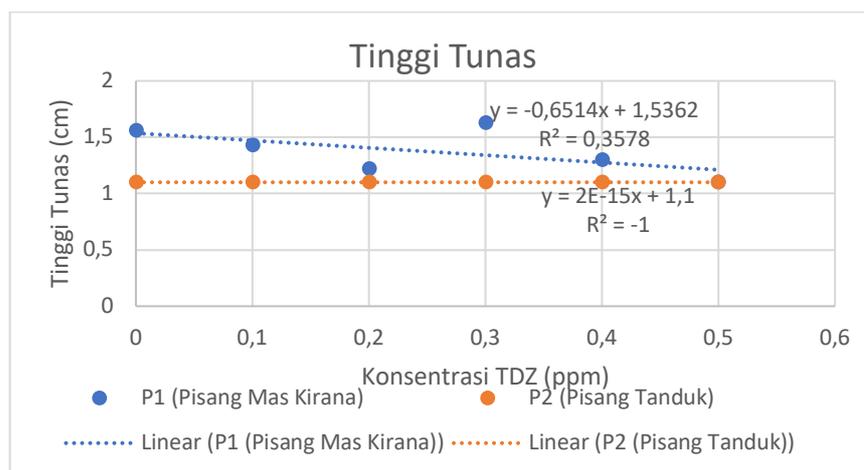
Tabel 3. Rata-Rata Tinggi Tunas Pisang yang diberi Perlakuan Jenis Varietas dan Konsentrasi TDZ

Umur Tanaman (MST)	Varietas Pisang	Konsentrasi TDZ (ppm)						Rata-Rata
		0 (T ₀)	0,1 (T ₁)	0,2 (T ₂)	0,3 (T ₃)	0,4 (T ₄)	0,5 (T ₅)	
.....cm.....								
4 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,10	1,04	0,84	1,13	0,88	0,79	0,96a
	Tanduk (P ₂)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71b
Rata-Rata		0,90	0,87	0,77	0,92	0,79	0,75	
8 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,64Aa	1,39Ab	0,91Ad	1,57Aa	1,11Ac	0,71Ae	1,22
	Tanduk (P ₂)	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ab	0,71Ab	0,71Ab	0,71Ab	0,71
Rata-Rata		1,17	1,05	0,81b	1,14	0,91	0,71	
12 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,56Aa	1,43Ab	1,22Ad	1,63Aa	1,30Ac	1,10Ae	1,38
	Tanduk (P ₂)	1,10Ba	1,10Ba	1,10Ba	1,10Ba	1,10Ba	1,10Aa	1,10
Rata-rata		1,33	1,27	1,16	1,37	1,20	1,10	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama atau diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Data hasil transformasi sebanyak 2x dengan rumus $\sqrt{x + 0,5}$.

Berdasarkan Tabel 3. dapat dijelaskan bahwa varietas Mas Kirana yang diberi penambahan konsentrasi 0 ppm tidak berbeda dengan konsentrasi 0,3 ppm dan

berbeda nyata pada konsentrasi lain (0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm dan 0,5 ppm). Sedangkan, varietas Tanduk konsentrasi 0 ppm tidak berbeda dengan konsentrasi 0,1 ppm dan berbeda nyata pada konsentrasi lain (0,1 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm dan 0,5 ppm). Tinggi tunas pada umur 4 MST belum menunjukkan adanya interaksi hal ini diduga karena konsentrasi TDZ belum bekerja secara optimal sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memberikan respon interaksi antar perlakuan. Nilai rata-rata tinggi tanaman yang tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan P₁T₃ yaitu 1,13 cm (4 MST), 1,57 cm (8 MST) dan 1,63 cm (12 MST) dan P₁T₀ yaitu 1,10 cm (4 MST), 1,64 cm (8 MST) dan 1,56 (12 MST). Rataan tertinggi pada kedua perlakuan ini diduga karena zat pengatur yang ditambahkan seimbang dengan varietas Mas Kirana sehingga memacu pertumbuhan tinggi tunas yang lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan varietas Tanduk dan konsentrasi TDZ lainnya. Pernyataan ini sesuai dengan Bella (2016) menyatakan bahwa pengaruh konsentrasi menjadi faktor utama dalam kegiatan perbanyakan tersebut untuk mendapatkan tingkat persentase eksplan menghasilkan tunas yang optimal. Selain itu, Isnaeni (2008) menyatakan semakin tinggi konsentrasi TDZ yang diberikan mengurangi tinggi tanaman. Hal ini disebabkan karena TDZ lebih berfungsi dalam proses pembelahan sel dan memacu inisiasi.



Gambar 10. Grafik Tinggi Tunas Pisang Yang Diberi Perlakuan Jenis Varietas Dan Konsentrasi TDZ Pada 12 MST

Berdasarkan Gambar 10. menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan tinggi tunas apabila konsentrasi yang digunakan semakin tinggi pada varietas Mas

Kirana. Sedangkan, varietas Tanduk menunjukkan pertumbuhan yang sama terhadap setiap konsentrasinya yang berbeda-beda hal ini disebabkan tidak adanya muncul tunas sehingga tidak terdapat pertumbuhan tinggi tunas. Pertumbuhan tinggi tunas pisang yang tumbuh dalam satu botol kultur menunjukkan pertumbuhan yang tidak seragam, tunas ada yang tumbuh sempurna dan ada yang tidak menunjukkan laju regenerasi dalam pertumbuhannya. Tidak adanya pertumbuhan tinggi pada varietas Tanduk diduga karena tingginya konsentrasi *Thidiazuron* yang diberikan sehingga menghambat pertumbuhan tinggi tunas. Menurut Ramesh *et al.*, (2014) menyatakan tinggi tanaman diduga dipengaruhi oleh jumlah tunas yang muncul, sehingga semakin sedikit tunas yang muncul, maka tinggi tanaman semakin meningkat, dan sebaliknya, hal ini karena energi yang dibutuhkan untuk pemanjangan tunas digunakan untuk pembentukan calon tunas lainnya, maka dari itu tinggi tunas dapat mengalami penghambatan. Penyebab lainnya juga diakibatkan dari penambahan tunas mikro baru sehingga pertumbuhan dan perkembangan eksplan dipusatkan pada tunas mikro tersebut. Selain itu menurut pendapat Strosse *et al.*, (2004) Proses proliferasi tunas dan perpanjangan dipengaruhi oleh sitokinin dan konsentrasi yang digunakan.

4.2.3. Jumlah Tunas

Data pengamatan jumlah tunas pisang Mas Kirana dan Tanduk terhadap pemberian konsentrasi TDZ secara *in vitro* pada umur 4 MST, 8 MST dan 12 MST dapat dilihat pada Lampiran 11. Dari hasil sidik ragam bahwa jumlah tunas menunjukkan pengaruh sangat nyata pada faktor varietas 4 MST – 12 MST. Faktor konsentrasi TDZ menunjukkan berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman 8 MST dan berpengaruh sangat nyata pada 12 MST, begitu juga halnya interaksi kedua perlakuan menunjukkan pengaruh nyata pada 8 MST dan berpengaruh sangat nyata pada 12 MST. Data pengamatan sidik ragam jumlah tunas pisang terhadap jenis varietas pisang dan konsentrasi TDZ dapat dilihat pada Tabel 4.

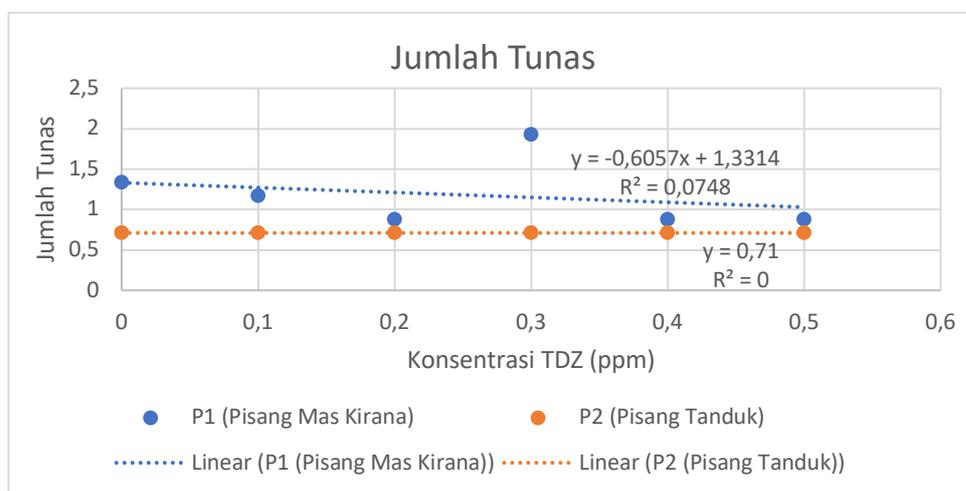
Tabel 4. Rata-Rata Jumlah Tunas Pisang yang Diberi Perlakuan Konsentrasi TDZ pada Varietas Pisang Tanduk

Umur Tanaman (MST)	Varietas Pisang	Konsentrasi TDZ (ppm)						Rata-Rata
		0 (T ₀)	0,1 (T ₁)	0,2 (T ₂)	0,3 (T ₃)	0,4 (T ₄)	0,5 (T ₅)	
.....buah.....								
4 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,22	1,05	0,88	1,44	0,88	0,88	1,06a
	Tanduk (P ₂)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71b
	Rata-Rata	0,97	0,88	0,79	1,07	0,79	0,79	
8 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,22Ab	1,17Ab	0,88Ac	1,64Aa	0,88Ac	0,88Ac	1,11
	Tanduk (P ₂)	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71
	Rata-Rata	0,97	0,94	0,79	1,17	0,79	0,79	
12 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,34Ab	1,17Ac	0,88Ad	1,93Aa	0,88Ad	0,88Ad	1,18
	Tanduk (P ₂)	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71Ba	0,71
	Rata-rata	1,03	0,94	0,79	1,32	0,79	0,79	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama atau diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Data hasil transformasi sebanyak 2x dengan rumus $\sqrt{x + 0,5}$.

Berdasarkan Tabel 4. dapat dilihat bahwa jumlah tunas terbanyak pada varietas Mas Kirana dibandingkan dengan varietas Tanduk. Jumlah tunas tertinggi pada 4 MST dengan penambahan konsentrasi TDZ 0,3 ppm yaitu 1,07. Perlakuan varietas pisang dengan konsentrasi TDZ berpengaruh nyata pada 8 MST dan berpengaruh sangat nyata pada 12 MST. Tabel 5. menunjukkan jumlah tunas umur 8 MST dan 12 MST varietas Mas Kirana berbeda nyata dengan varietas Tanduk. Sedangkan pada varietas Mas Kirana yang diberi penambahan konsentrasi 0,3 ppm memberikan pengaruh berbeda nyata dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, dan varietas Tanduk memberikan pengaruh tidak berbeda nyata pada seluruh perlakuan TDZ. Jumlah tunas pada umur 4 MST belum menunjukkan adanya interaksi antara varietas dengan konsentrasi TDZ diduga karena konsentrasi TDZ belum bekerja secara optimal sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memberikan respon interaksi antar perlakuan. Pertumbuhan dua varietas pisang yang menghasilkan jumlah tunas tertinggi terdapat pada Pisang Mas Kirana yang ditambahkan 0,3 ppm rata-rata 1,44. Pemberian tingkat konsentrasi yang tepat dapat memicu adanya interaksi antara pertumbuhan jumlah tunas pada varietas

pisang. Hal ini didukung oleh George *et al.*, (2008) bahwa pemberian sitokinin dengan konsentrasi rendah dapat memberikan respon pertumbuhan tunas aksilar maupun tunas adventif karena kandungan sitokinin endogen sudah mencukupi. Aplikasi pemberian sitokinin tunggal mampu menghasilkan tunas yang maksimal, namun pada konsentrasi tertentu akan menghasilkan kelainan pada tunas yang diperoleh. Hal ini sesuai dengan pendapat Prasiwi dan Wardiyati (2018) menyebutkan bahwa pemberian TDZ dengan konsentrasi terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan karena penggunaan TDZ pada konsentrasi tinggi berperan sebagai herbisida.



Gambar 11. Grafik Jumlah Tunas Pisang Yang Diberi Perlakuan Jenis Varietas Dan Konsentrasi TDZ Pada 12 MST

Berdasarkan Gambar 11. Dapat dilihat bahwa grafik memberikan respon pertumbuhan yang berbeda-beda, semakin bertambahnya tingkat konsentrasi maka pertumbuhan jumlah tunas semakin menurun. Pertumbuhan varietas pisang Tanduk tidak memberikan respon yang baik. Penambahan TDZ tidak memberikan pengaruh baik dalam menginduksi tunas. Hal ini diduga tingkat konsentrasi yang tinggi menyebabkan adanya penghambatan pertumbuhan eksplan. Menurut Elma *et al.*, (2017) menyatakan bahwa pengaruh konsentrasi sitokinin yang tinggi mengalami persentase eksplan bertunas yang cenderung rendah serta dapat menghambat pemanjangan jaringan meristem dan pembentukan tanaman baru (*plantlet*). TDZ merupakan jenis sitokinin yang dapat menginduksi tunas. Hal ini sesuai dengan pendapat Wardiyati (2018) bahwa *Thidiazuron* merupakan salah satu sitokinin tipe

phenylurea sintetik yang memiliki kemampuan lebih baik dalam menginduksi tunas diantara sitokinin lain seperti *zeatin*, *benzylaminopurine*, dan kinetin.

Pertumbuhan jumlah tunas pisang Mas Kirana lebih mendominasi dibandingkan dengan pisang Tanduk, perbedaan kedua varietas memberikan respon berpengaruh nyata hal ini diduga adanya perbedaan genetik serta faktor dari eksplan sehingga memberikan respon yang bermacam-macam. Hal ini sesuai dengan pendapat Astutik (2008) bahwa perbedaan genetik dari varietas pisang menyebabkan perbedaan kemampuan eksplan dalam memproduksi tunas. Perbedaan genetik menyebabkan perbedaan proses metabolisme khususnya sintesa zat pengatur tumbuh di dalam jaringan tanaman, sehingga menyebabkan perbedaan tanggap masing-masing varietas terhadap penambahan hormon eksogen yang terkandung. Dan sejalan dengan penelitian Oktavianus *et al.*, (2021) menyatakan bahwa rendahnya pertumbuhan eksplan membentuk tunas diduga karena eksplan sangat bergantung dengan faktor endogen (pencahayaan, kelembapan, suhu ruangan) eksplan itu sendiri, selain itu terjadi peranan zat pengatur tumbuh bila kondisi fisiologi eksplan dalam keadaan prima.

4.2.4. Jumlah Daun

Data pengamatan jumlah daun pisang Mas Kirana dan Tanduk terhadap pemberian konsentrasi TDZ secara *in vitro* pada umur 4 MST, 8 MST dan 12 MST dapat dilihat pada Lampiran 12. Dari hasil analisis sidik ragam bahwa jumlah daun menunjukkan pengaruh sangat nyata pada faktor varietas 12 MST. Data pengamatan sidik ragam jumlah daun pisang terhadap jenis varietas pisang dan konsentrasi TDZ dapat dilihat pada Tabel 5. Faktor konsentrasi TDZ menunjukkan berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tanaman 12 MST dan berpengaruh tidak nyata pada 8 MST – 12 MST, begitu juga halnya interaksi kedua perlakuan menunjukkan pengaruh sangat nyata pada 4 MST dan berpengaruh tidak nyata pada 8 MST – 12 MST.

Berdasarkan Tabel 5. dapat dijelaskan bahwa jumlah daun pisang umur 4 MST varietas Mas Kirana berbeda nyata pada varietas Tanduk. Kedua varietas memberikan respon tidak berpengaruh nyata terhadap penambahan konsentrasi

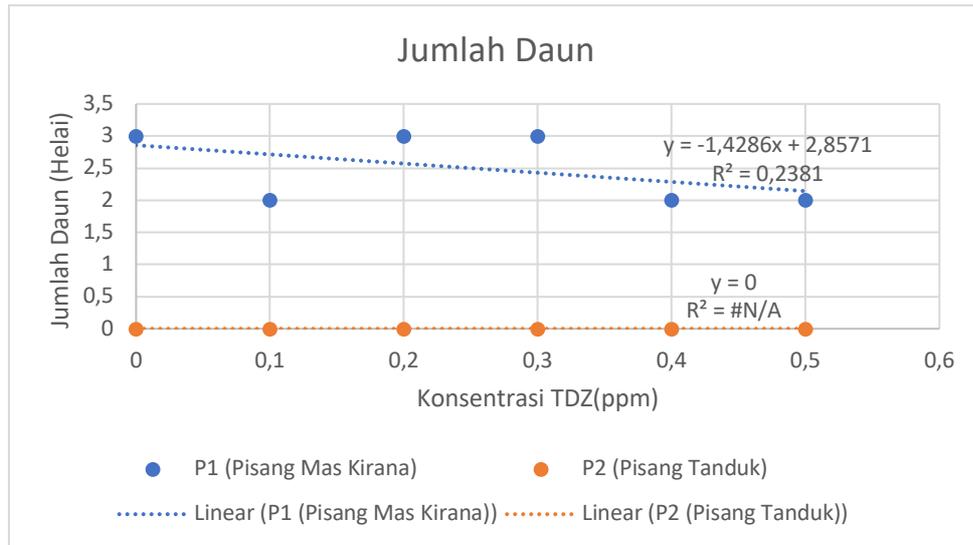
TDZ 0 ppm – 0,5 ppm. Sementara itu, jumlah daun umur 8 MST dan 12 MST menunjukkan tidak adanya interaksi antara perlakuan varietas dengan perlakuan konsentrasi TDZ.

Tabel 5. Rata-Rata Jumlah Daun Pisang yang Diberi Perlakuan Konsentrasi TDZ pada Varietas Pisang Tanduk

Umur Tanaman (MST)	Varietas Pisang	Konsentrasi TDZ (ppm)						Rata- Rata
		0 (T ₀)	0,1 (T ₁)	0,2 (T ₂)	0,3 (T ₃)	0,4 (T ₄)	0,5 (T ₅)	
.....cm.....								
4 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,05Aa	0,71Ab	0,71Ab	0,71Ab	0,71Ab	0,71Ab	0,76
	Tanduk (P ₂)	0,71Aa	0,71Aa	0,71Aa	0,71Aa	0,71Aa	0,71Aa	0,71
	Rata-Rata	0,88	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	
8 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,05	0,88	0,71	1,10	0,71	0,71	0,86
	Tanduk (P ₂)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
	Rata-Rata	0,88	0,79	0,71	0,90	0,71	0,71	
12 MST	Mas Kirana (P ₁)	1,36	1,25	1,10	1,43	1,10	1,10	1,22a
	Tanduk (P ₂)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10b
	Rata-rata	1,23	1,17	1,10	1,26	1,10	1,10	

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama atau diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%. Data hasil transformasi sebanyak 2x dengan rumus $\sqrt{x + 0,5}$.

Pada 12 MST perlakuan varietas menunjukkan pengaruh sangat nyata. Jumlah daun terbanyak pada perlakuan P₁T₀ yaitu 1,05 (4 MST), 1,05 (8 MST) dan 1,36 (12 MST) dan P₁T₃ yaitu 0,71 (4 MST), 1,10 (8 MST) dan 1,43 (12 MST). Pertumbuhan jumlah daun diiringi dengan pertumbuhan tunas. Penggunaan sitokinin jenis TDZ dengan konsentrasi yang lebih tinggi menghasilkan rata-rata jumlah daun yang relatif rendah. Menurut Triharyanto (2018) keberhasilan kultur jaringan ditandai dengan laju pertumbuhan yang meningkat, seiring dengan pertumbuhan planlet maka akan terjadi proses organogenesis. Pada kultur jaringan, kemunculan daun terjadi setelah terbentuknya tunas pada eksplan.



Gambar 12. Grafik Jumlah Daun Pisang Yang Diberi Perlakuan Jenis Varietas Dan Konsentrasi TDZ Pada 12 MST

Berdasarkan Gambar 12. menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan jumlah daun pisang apabila konsentrasi yang digunakan semakin tinggi pada varietas Mas Kirana. Sedangkan, varietas Tanduk menunjukkan pertumbuhan yang sama terhadap setiap konsentrasinya yang berbeda-beda hal ini disebabkan tidak adanya muncul tunas sehingga tidak terdapat pertumbuhan tinggi tunas, jumlah tunas dan jumlah daun pada tanaman. Pertumbuhan jumlah daun juga diiringi dengan pertumbuhan tunas pada eksplan, Jumlah daun pisang Mas Kirana menghasilkan rata-rata yang lebih unggul dibandingkan dengan pisang Tanduk. Hal ini diduga perbedaan genetik mempengaruhi respon pertumbuhan tanaman dan tidak adanya pertumbuhan tunas pada pisang Tanduk. Hal ini sesuai dengan pendapat Demissie (2013) jumlah daun dipengaruhi oleh jumlah tunas yang muncul, sehingga semakin sedikit tunas yang muncul, maka jumlah daun yang terbentuk akan semakin banyak dan sebaliknya.

4.2.5. Warna Eksplan

Pengamatan warna eksplan dilakukan pada saat 12 MST yang dilakukan dengan cara visual. Pengamatan dilakukan berdasarkan buku *Munsell Colour Chart for Plant Tissue*. Warna eksplan pada saat penanaman berwarna putih kekuningan sampai dengan warna hijau. Perubahan warna yang terjadi pada eksplan

berhubungan dengan adanya jaringan yang aktif membelah serta adanya *browning* dan kontaminasi. Berikut merupakan data warna eksplan pisang yang disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6. Warna Eksplan Pisang pada 12 MST

No	Perlakuan	Warna Eksplan	Gambar Eksplan	Gambar <i>Munsell Colour Chart</i>
1	P1T0U1	8/8 Y (<i>Yellow</i>)		
2	P1T0U2	7/6 MYG (<i>Moderate Yellow Green</i>)		
3	P1T0U3	7/8 SYG (<i>Strong Yellow Green</i>)		
4	P1T1U1	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
5	P1T1U2	7/8 SYG (<i>Strong Yellow Green</i>)		
6	P1T1U3	8/4 PY (<i>Pale Yellow</i>)		
7	P1T2U1	8/2 PY (<i>Pale Yellow</i>)		
8	P1T2U2	8/2 PY (<i>Pale Yellow</i>)		
9	P1T2U3	7/4 PY (<i>Pale Yellow</i>)		

10	P1T3U1	7/8 SYG (<i>Strong Yellow Green</i>)		
11	P1T3U2	7/8 SYG (<i>Strong Yellow Green</i>)		
12	P1T3U3	7/6 MYG (<i>Moderate Yellow Green</i>)		
13	P1T4U1	7/4 MYG (<i>Moderate Yellow Green</i>)		
14	P1T4U2	7/6 MYG (<i>Moderate Yellow Green</i>)		
15	P1T4U3	8/2 PY (<i>Pale Yellow</i>)		
16	P1T5U1	7/4 MYG (<i>Moderate Yellow Green</i>)		
17	P1T5U2	7/2 LG (<i>Light Grey</i>)		
18	P1T5U3	7/8 SYG (<i>Strong Yellow Green</i>)		
19	P2T0U1	6/2 LOG (<i>Light Olive Grey</i>)		
20	P2T0U2	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		

21	P2T0U3	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
22	P2T1U1	6/6 OY (<i>Olive Yellow</i>)		
23	P2T1U2	6/6 OY (<i>Olive Yellow</i>)		
24	P2T1U3	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
25	P2T2U1	6/6 OY (<i>Olive Yellow</i>)		
26	P2T2U2	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
27	P2T2U3	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
28	P2T3U1	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
29	P2T3U2	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
30	P2T3U3	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
31	P2T4U1	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
32	P2T4U2	5/4 O (<i>Olive</i>)		

33	P2T4U3	6/2 LOG (<i>Light Olive Grey</i>)		
34	P2T5U1	5/2 OG (<i>Olive Grey</i>)		
35	P2T5U2	5/4 O (<i>Olive</i>)		
36	P2T5U3	5/4 O (<i>Olive</i>)		

Berdasarkan data pada Tabel 6. dapat diketahui bahwa kombinasi perlakuan varietas pisang dan konsentrasi TDZ memberikan pengaruh terhadap warna eksplan pisang. Dari seluruh perlakuan, warna eksplan pisang Mas Kirana didominasi dengan warna *Strong Yellow Green* dan warna eksplan pisang Tanduk didominasi dengan warna *Olive Grey* selain itu, warna lain yang tampak pada eksplan yaitu *Yellow*, *Light Olive Grey*, *Olive Yellow*, *Moderate Yellow Green*, *Light Olive Grey*.

Eksplan pisang Tanduk memiliki dominasi warna coklat yang disebabkan oleh jaringan yang terluka sehingga menyebabkan *browning* dan eksplan pisang Mas Kirana memiliki dominasi warna hijau. Hal ini sesuai dengan pendapat Budi (2020) bahwa perubahan warna terjadi karena keluarnya senyawa yang berasal dari jaringan terluka. Menurut Hayati (2021) bahwa warna hijau yang muncul pada tunas juga disebabkan karena adanya kandungan klorofil. Klorofil memiliki peran paling penting diantara pigmen yang ada dan memungkinkan terjadinya fotosintesis. Klorofil merupakan pigmen yang memberi warna hijau pada tanaman. Perbedaan warna dapat disebabkan beberapa faktor antara lain: pigmentasi, intensitas cahaya dan sumber eksplan dari bagian tanaman yang berbeda.

Perubahan warna disebabkan karena adanya pertumbuhan eksplan dari mulai 1 MST - 12 MST, perubahan warna eksplan yang memiliki warna hijau menandakan adanya pertumbuhan yang baik pada tanaman yang disebabkan adanya perkembangan klorofil. Hal ini sejalan dengan pendapat Marlin (2012) bahwa pertumbuhan eksplan dapat dilihat dari adanya perubahan warna, pembengkakan

eksplan, hingga akhirnya pembentukan eksplan serta adanya respon perubahan warna yang terjadi pada eksplan diduga sebagai tanggapan terhadap rangsangan cahaya yang diberikan dan berkembangnya klorofil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Prashariska *et al.*, (2021) bahwa eksplan berwarna hijau menandakan sel menuju kedewasaan, warna kuning diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder, sedangkan warna coklat diduga karena adanya aktivitas metabolit sehingga menghasilkan fenol dan fenol tersebut mengalami oksidasi. Menurut Parveen *et al.*, (2010) pemberian konsentrasi TDZ dapat meningkatkan kandungan klorofil pada kultur *in vitro*. Cortleven *et al.*, (2015) menyatakan bahwa sitokinin tidak mutlak diperlukan, tetapi merupakan modulator sintesis klorofil dan kloroplas pada tanaman sehingga pemberian sitokinin dapat mempengaruhi jumlah kloroplas.

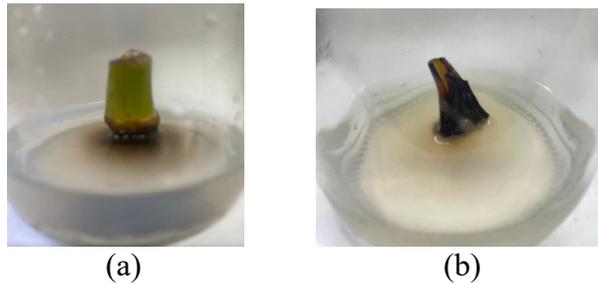
4.2.6. Persentase *Browning*

Respon awal dari jaringan adalah membesarnya eksplan yang dikulturkan pada bagian yang telah terluka, pembengkakan pada eksplan karena eksplan memiliki cadangan makanan untuk pertumbuhannya. Pada awal penanaman eksplan berwarna putih kekuningan lalu mengalami perubahan warna. Eksplan yang dikulturkan secara *in vitro* menunjukkan perubahan setelah beberapa hari ditanam pada media, perubahan warna dari putih kehijauan menjadi kecoklatan yang menandakan bahwa eksplan mengalami pencoklatan (*browning*) hal ini disebabkan oleh adanya pelukaan pada tanaman dan adanya asam fenolik. Hal ini sesuai dengan pendapat Hutami (2008) aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga seperti polifenol oksidase dan tirosinase yang dilepaskan atau disintesis dan tersedia pada kondisi oksidatif ketika jaringan dilukai. Selain itu, Onuoha *et al.*, (2011) juga menjelaskan bahwa pada jaringan pisang mengandung komponen enzim-enzim fenolik terutama enzim polifenol oksidase yang secara alami merupakan fito-auksin yang penting pada pisang. Berikut merupakan data Persentase *Browning* eksplan yang disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Persentase *Browning* Eksplan Pisang

Perlakuan	Jumlah Eksplan yang Diamati	Jumlah Eksplan yang <i>Browning</i>	Persentase <i>Browning</i> (%)
P1T0	3	1	2,78%
P1T1	3	1	2,78%
P1T2	3	0	0
P1T3	3	0	0
P1T4	3	0	0
P1T5	3	1	2,78%
P2T0	3	0	0
P2T1	3	2	5,56%
P2T2	3	2	5,56%
P2T3	3	3	8,33%
P2T4	3	2	5,56%
P2T5	3	2	5,56%
Total	36	14	38,91%

Berdasarkan Tabel 7. persentase *browning* yang terjadi pada varietas Mas Kirana sebesar 8,34%, pada varietas Tanduk 30,57%. Terjadi perubahan warna mencoklat pada eksplan tidak berarti matinya jaringan, karena jaringan masih menunjukkan pertambahan ukuran, diduga perubahan warna tersebut disebabkan oleh keluarnya senyawa-senyawa dari jaringan eksplan yang terluka selanjutnya berubah warna yang disebut dengan *browning*/pencoklatan. Menurut Setiado *et al.*, (2018) *browning* ditandai dengan perubahan warna eksplan dan media menjadi coklat di sekitar tepi jaringan eksplan yang mengalami pelukaan saat proses inokulasi. *Browning* disebabkan oleh senyawa fenol yang timbul akibat stress mekanik dari pelukaan pada waktu proses isolasi eksplan dari tanaman induk. Menurut Edhi (2013) bahwa senyawa fenol tersebut bersifat toksik, menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan jaringan eksplan. *Browning* disebabkan oleh dua hal yaitu *browning* pada eksplan dan *browning* pada media (Gambar 13).



Gambar 13. *Browning* Pada Media Varietas Mas Kirana (a), *Browning* Pada Eksplan Varietas Tanduk (b).

Kultur bonggol pisang Mas Kirana yang mengalami *browning* tetap hidup dan mengalami pertumbuhan karena tingkat *browning*-nya tidak menghambat pertumbuhan eksplan. Hal tersebut disebabkan oleh tingkat konsentrasi dari kombinasi ZPT yang digunakan dapat menunjang eksplan tetap hidup, berbanding terbalik pada tanaman pisang varietas Tanduk, adanya *browning* menghambat pertumbuhan eksplan sehingga menimbulkan kematian pada eksplan tersebut. Hal ini diduga pisang Tanduk memiliki asam fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan pisang Mas Kirana, terlihat pada Gambar 14(a). memiliki warna yang lebih pekat pada bagian lapisan terluar dan pada bagian yang telah dipotong memiliki warna terlihat terang dibandingkan dengan warna eksplan pada pisang Tanduk yang sedikit lebih gelap terlihat pada Gambar 14(b).



Gambar 14. Eksplan Pisang Mas Kirana (a), Eksplan Pisang Tanduk (b)

Menurut pendapat Purita (2017) *planlet* yang demikian mengalami mati fisiologis, yang diawali dengan pencoklatan (*browning*). *Browning* merupakan suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang sering kali membuat pertumbuhan dan perkembangan *planlet* terhambat dan mengakibatkan kematian pada jaringan. Berdasarkan pendapat Sadat (2017) bahwasanya sintesis senyawa fenolik yang menutupi permukaan eksplan berasal dari bagian tanaman yang

mengalami luka, apabila keadaan ini terus berlangsung maka senyawa yang terakumulasi pada media dapat menyebabkan penyerapan unsur-unsur hara oleh eksplan terganggu sehingga menghambat pertumbuhan eksplan.

Browning menyebabkan perubahan warna eksplan dan warna media, perubahan warna media yang awalnya bening menjadi keruh lalu seiring berjalannya waktu media menjadi warna coklat. Perubahan warna media terlihat jelas pada media yang terkena *browning* baik pada varietas Tanduk dan Mas Kirana, warna pada media Mas Kirana memiliki warna coklat lebih terang dibandingkan dengan warna media pada varietas Tanduk yang berwarna coklat pekat. Hal ini diperkuat dengan pendapat Robbiani (2010) bahwa peristiwa pencoklatan ini merupakan suatu proses perubahan adaptif bagian tanaman akibat adanya pengaruh seperti respon dari bekas perlukaan pada eksplan. Terjadinya pencoklatan pada jaringan karena aksi oksidasi polifenol yang disintesis akibat dari oksidasi jaringan ketika terluka. Menurut *Wati et al.*, (2020) bahwa pelukaan eksplan mengakibatkan terjadinya enzim dan substrat keluar dari sel kemudian terjadi ikatan antara hidrogen dengan protein yang diikuti dengan meningkatnya aktivitas *fenilalanin amonia liase* (FAL) yang memproduksi fenilpropanoid yang menyebabkan adanya pencoklatan. Eksplan yang mati mungkin pula disebabkan karena konsentrasi bahan steril yang dicobakan cukup pekat. Selain itu, proses *browning* (pencoklatan) yang selanjutnya akan mengarah pada kematian eksplan.

4.2.7. Persentase Eksplan Berakar

Pengamatan persentase eksplan berakar dilakukan pada saat umur 12 MST yang dilakukan dengan cara mengamati secara visual. Pada pengamatan selama penelitian berlangsung, beberapa eksplan muncul akar akan terjadi apabila *planlet* sudah menghasilkan tunas dan daun-daun. Berikut merupakan data persentase eksplan berakar yang disajikan dalam Tabel 8.

Berdasarkan Tabel 8. persentase eksplan berakar mencapai 5,56%. Pembentukan akar pada eksplan pisang Mas Kirana dan Tanduk sangat rendah. Rendahnya pembentukan akar pada eksplan diduga penambahan zat pengatur tumbuh jenis sitokinin, sitokinin berfungsi untuk membantu pertumbuhan akar.

Menurut Bella *et al.*, (2016) bahwa media tanpa penambahan sitokinin lebih baik jika dibandingkan dengan media yang mengandung sitokinin untuk pembentukan akar, hal ini karena sitokinin dapat menghambat biosintesis auksin endogen dalam membentuk akar. Prasiwi dan Wardiyati (2018) yang menunjukkan bahwa akar dapat tumbuh dengan baik pada media tanpa penambahan sitokinin. Akar yang tumbuh diduga karena eksplan mengandung auksin endogen yang cukup tinggi.

Tabel 8. Persentase Eksplan Berakar

Perlakuan	Jumlah Eksplan yang Diamati	Jumlah Eksplan yang Berakar	Persentase Browning (%)
P1T0	3	0	0
P1T1	3	1	2,78%
P1T2	3	0	0
P1T3	3	1	2,78%
P1T4	3	0	0
P1T5	3	0	0
P2T0	3	0	0
P2T1	3	0	0
P2T2	3	0	0
P2T3	3	0	0
P2T4	3	0	0
P2T5	3	0	0
Total	36	2	5,56%

Akar yang muncul pada planlet berupa bulu akar yang berbentuk serabut (Gambar 15). Munculnya akar diduga karena penambahan ZPT yang seimbang dengan pertumbuhan tanaman. Hal ini sejalan dengan penelitian Rodinah (2018) bahwa peningkatan konsentrasi *Thidiazuron* dapat meningkatkan konsentrasi etilen yang dapat menghambat pembentukan akar, dengan adanya kalsium berperan dalam pembentukan bulu akar dan pemanjangan akar. Kalsium yang terkandung di dalam bonggol pisang sebanyak 15% dari berat basah bonggol. Keberadaan kalsium ini diduga merangsang pembentukan akar yang lebih cepat.



Gambar 15. Akar Pisang Varietas Mas Kirana

Hal ini sesuai dengan pendapat Lestari (2015) akar dapat tumbuh apabila planlet sudah menghasilkan tunas dan daun-daun baru. Penambahan sitokinin endogen tidak akan berpengaruh bahkan dapat menghambat pertumbuhan akar tanaman sehingga menyebabkan kandungan hormon di dalam organ tanaman melebihi kondisi optimum. Menurut Bhosale *et al.*, (2011) Sitokinin umumnya dikenal untuk mengurangi dominansi meristem apikal dan menginduksi pembentukan tunas adventif dari eksplan meristematis pisang.

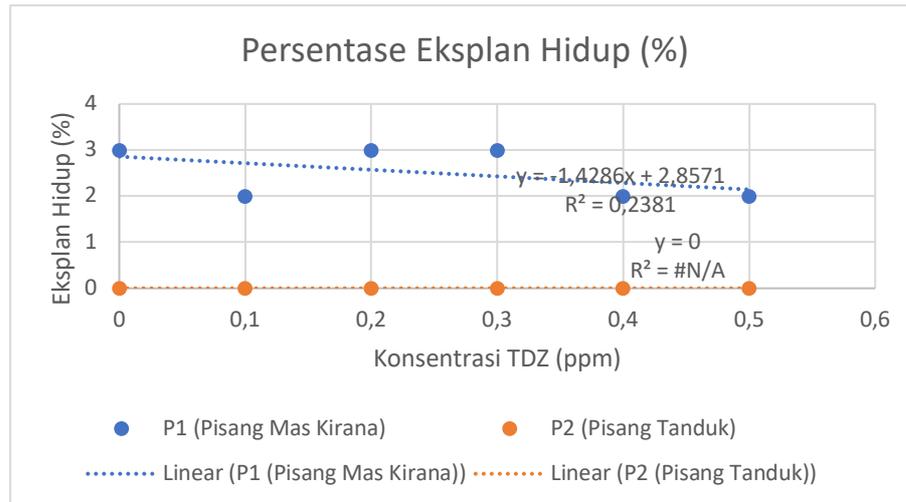
4.2.8. Persentase Eksplan Hidup

Pengamatan persentase eksplan hidup dilakukan pada saat 12 MST yang dilakukan dengan cara mengamati secara visual. Persentase eksplan hidup merupakan kemampuan suatu eksplan untuk tumbuh dan berkembang dalam kultur *in vitro*. Persentase eksplan hidup dapat dipengaruhi oleh persentase eksplan kontaminasi dan *Browning*, tujuan pengamatan persentase eksplan hidup adalah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh sterilisasi eksplan yang digunakan dalam penelitian. Persentase eksplan hidup mencapai 41,67%. Berikut merupakan data persentase eksplan hidup yang disajikan dalam Tabel 9.

Tabel 9. Persentase Eksplan Hidup

Perlakuan	Jumlah Eksplan yang Diamati	Jumlah Eksplan yang Hidup	Persentase Eksplan yang Hidup (%)
P1T0	3	3	8,33%
P1T1	3	2	5,56%
P1T2	3	3	8,33%
P1T3	3	3	8,33%
P1T4	3	2	5,56%
P1T5	3	2	5,56%
P2T0	3	0	0
P2T1	3	0	0
P2T2	3	0	0
P2T3	3	0	0
P2T4	3	0	0
P2T5	3	0	0
Total	36	10	41,67%

Berdasarkan Tabel 9. Menunjukkan hasil persentase tumbuh pada eksplan Mas Kirana mencapai 70% dan varietas Tanduk 0%. Pertumbuhan eksplan pisang Mas Kirana mengalami pertumbuhan yang cukup signifikan dibandingkan dengan eksplan pisang Tanduk. Perkembangan eksplan yang hidup ditandai dengan adanya pembengkakan eksplan hingga perubahan warna yang terjadi pada eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Marlin (2012) bahwa pertumbuhan eksplan selama periode kultur memerlukan waktu yang relatif lebih lama. Pertumbuhan eksplan dapat dilihat dari adanya perubahan warna, pembengkakan eksplan, hingga akhirnya pembentukan eksplan. Adanya respon perubahan warna yang terjadi pada eksplan diduga sebagai tanggapan terhadap rangsangan cahaya yang diberikan dan berkembangnya klorofil. Eksplan yang hidup ini mulai berdiferensiasi dengan cara mengelupasnya seludang satu persatu.



Gambar 16. Grafik Persentase Eksplan Hidup

Berdasarkan Gambar 16. Menunjukkan bahwa persentase eksplan hidup pada Mas Kirana lebih tinggi dibandingkan pertumbuhan pisang tanduk, akan tetapi hasil grafik varietas Mas Kirana menunjukkan adanya penurunan pada tingkat konsentrasi TDZ yang lebih tinggi. Pertumbuhan pisang yang mulanya diinisiasi memiliki pertumbuhan 100% hidup, akan tetapi pada saat eksplan memasuki perlakuan dengan dilakukannya pemotongan dibagi dua, pertumbuhan yang terjadi menurun terhadap pisang Tanduk dan pisang Mas Kirana mengalami pertumbuhan yang cukup signifikan. Pisang varietas Tanduk yang dilakukan pemotongan menyebabkan adanya *browning* yang lebih tinggi serta kontaminasi sehingga tidak dapat bertahan hidup. Hal ini diduga nutrisi pada media tidak terserap baik pada eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Isda (2020) perlakuan akibat pemotongan pada eksplan berpengaruh terhadap penyerapan kandungan nutrisi dari media sehingga pemotongan yang tepat untuk jenis eksplan tertentu akan berpengaruh terhadap keberhasilan regenerasi tanaman.

4.2.9. Persentase Eksplan Terkontaminasi

Persentase seluruh eksplan terkontaminasi mencapai 33,35 %. Kontaminasi menjadi salah satu permasalahan yang ada dalam kultur *in vitro*. Kontaminasi merupakan suatu keadaan dimana eksplan yang ditanam mengalami gangguan pada proses pertumbuhan, umumnya disebabkan oleh bakteri dan jamur. Berikut merupakan data persentase kontaminasi eksplan yang disajikan dalam Tabel 10.

Tabel 10. Persentase Kontaminasi Eksplan Pisang

Perlakuan	Jumlah Eksplan yang Diamati	Jumlah Eksplan yang Terkontaminasi	Persentase Kontaminasi (%)
P1T0	3	1	2,78%
P1T1	3	1	2,78%
P1T2	3	2	5,56%
P1T3	3	0	0
P1T4	3	0	0
P1T5	3	1	2,78%
P2T0	3	3	8,33%
P2T1	3	1	2,78%
P2T2	3	1	2,78%
P2T3	3	0	0
P2T4	3	1	2,78%
P2T5	3	1	2,78%
Total	26	12	33,35%

Berdasarkan Tabel 10. Menunjukkan hasil persentase kontaminasi yang terjadi pada varietas Mas Kirana sebesar 13,9% dan varietas Tanduk 19,45%. Berdasarkan Tabel 10. persentase kontaminasi pada seluruh perlakuan mencapai 33,35% yang didominasi oleh kontaminasi bakteri. Munculnya kontaminasi diduga terjadi akibat proses sterilisasi kurang optimal yang disebabkan oleh eksplan, konsentrasi sterilisasi yang digunakan, alat dan media. Hal ini sesuai dengan pernyataan Apriliana (2021) yang menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi kultur jaringan yaitu tingkat steril atau kebersihan alat, media, bahan eksplan dan lingkungan kerja dari mikroorganisme. Agen kontaminan seperti jamur dan bakteri memanfaatkan nutrisi dalam media untuk tumbuh. Media MS menjadi media yang tepat karena mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Oratmangun *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa bakteri dan jamur dapat hidup dengan mengambil nutrisi yang ada pada media MS. Selain kaya akan nutrisi, media kultur jaringan juga lembab hingga cukup untuk kontaminan tumbuh. Mikroorganisme muncul di atas permukaan

media dan tumbuh menyebar hingga seluruh permukaannya tertutup dan dapat mengganggu pertumbuhan eksplan. Menurut Wati *et al.*, (2020) bahwa bakteri yang tumbuh pada media kultur jaringan masuk melalui bekas luka pada potongan eksplan sehingga media dan eksplan mengalami kontaminasi.

Terjadinya kontaminasi dapat disebabkan oleh 2 faktor yaitu eksternal dan internal. Faktor eksternal disebabkan oleh lingkungan, media dan alat, pada faktor internal berasal dari eksplan yang digunakan. Faktor internal penanaman seperti kelelahan yang menyebabkan kurang terjaga kesterilan kondisi lingkungan kerja saat penanaman, sehingga jamur dan bakteri mudah masuk ke dalam botol kultur jaringan. Kontaminasi dapat terjadi disebabkan oleh beberapa faktor antara lain metode sterilisasi, eksplan, suhu dan alat. Hal ini sesuai dengan pendapat Nisa *et al.*, (2018) bahwa kontaminasi pada kultur jaringan dapat disebabkan oleh jamur atau bakteri yang berasal dari beberapa faktor pembawa, antara lain kondisi planlet, lingkungan tempat *transplanting*, peralatan atau orang yang melakukan pekerjaan *transplanting*. Menurut Septiani *et al.*, (2022) bahwa Kontaminan yang masuk dapat hidup dan berkembang biak pada media kultur jaringan sehingga menyebabkan kegagalan kultur jaringan. Pertumbuhan kontaminan juga dipengaruhi oleh suhu. Suhu ideal untuk ruangan kultur jaringan adalah 18-20⁰C. Menurut Apriliyana (2021) menyatakan bahwa media dan eksplan yang kurang steril serta faktor lingkungan lain seperti suhu dapat memicu terjadinya kontaminasi pada kultur jaringan.

Eksplan yang digunakan berasal dari luar sehingga memiliki tingkat terjadinya kontaminasi yang cukup tinggi, maka dari itu perlu dilakukan penggunaan bahan stimulan yang tepat untuk mengurangi terjadinya kontaminasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Rismayani (2010) bahwa eksplan dari lapangan biasanya mengandung banyak kontaminan, debu dan kotoran kotoran, untuk menghilangkan kontaminan tersebut diperlukan bahan sterilisasi misalnya NaClO, hidrogen peroksida, *bromine water and silver nitrat*. Penggunaan bahan sterilan pada sterilisasi eksplan juga harus diperhatikan. Konsentrasi bahan sterilan yang rendah membuat eksplan rentan terhadap patogen, namun semakin tinggi konsentrasi bahan sterilan maka akan menghambat perkembangan jaringan eksplan.



Gambar 17. Kultur Varietas Tanduk Yang Terkontaminasi Bakteri

Jenis kontaminasi yang ditemukan disebabkan oleh bakteri yang menyerang kultur bonggol. Kontaminasi bakteri ditandai dengan adanya lendir pada media dan disekitar potongan eksplan (Gambar 17). Hal ini sesuai dengan pernyataan Setiani *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa kontaminasi bakteri ditandai dengan adanya lendir pada permukaan media. Planlet yang berada di dalam media terkontaminasi bakteri terlihat layu dan lambat laun mengalami kematian. Planlet mati disebabkan oleh aktivitas bakteri yang mengganggu sistem jaringan tanaman sehingga pertumbuhan planlet menjadi terganggu dan mati.