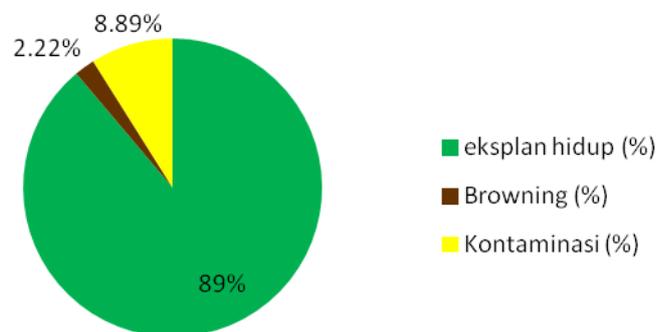


IV. HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi persentase eksplan hidup, persentase eksplan *browning*, persentase eksplan kontaminasi, pertambahan tinggi tunas, pertambahan jumlah daun dan jumlah tunas.

A. Persentase Eksplan Hidup, *Browning* dan Kontaminasi

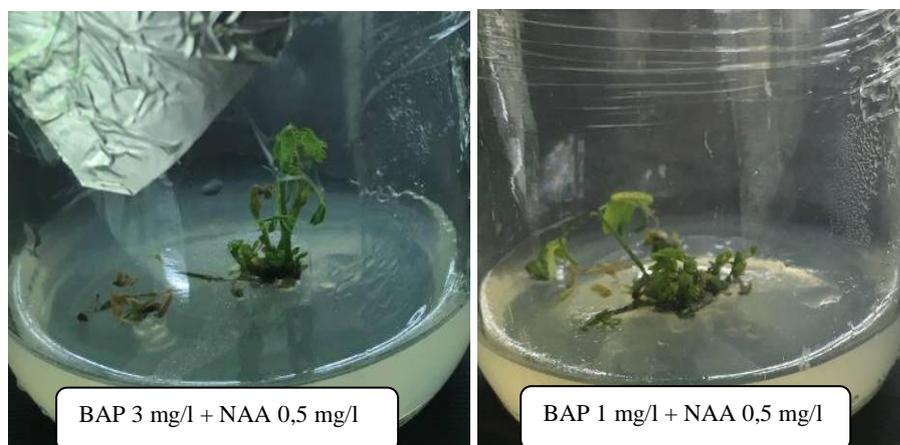
Salah satu faktor penting dalam keberhasilan kultur *in vitro* yaitu kondisi yang aseptik (bebas dari kontaminasi mikroorganisme), *browning*, dan tingkat hidupnya eksplan. Kontaminasi eksplan dapat berasal dari jamur dan bakteri yang terdapat pada eksplan maupun lingkungan saat penanaman. *Browning* dapat disebabkan oleh senyawa fenol yang teroksidasi ketika sel tanaman dilukai. Eksplan dapat dikatakan hidup apabila eksplan dapat tumbuh membentuk akar maupun tunas baru atau tidak mengalami kontaminasi dan tidak mengalami *browning* permanen. Berdasarkan hasil pengamatan persentase eksplan hidup keseluruhan mencapai 89%, *browning* 2,22%, dan kontaminasi sebesar 8,89% sebagaimana tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Persentase Eksplan Hidup, *browning* dan Kontaminasi

Persentase eksplan hidup merupakan kemampuan eksplan untuk dapat tumbuh pada suatu medium perlakuan dalam kultur *in vitro*. Pengamatan persentase eksplan hidup dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah eksplan yang dapat tumbuh pada media dan perlakuan yang diberikan.

Berdasarkan Gambar 5, rerata persentase eksplan hidup yaitu 89%. Persentase eksplan hidup yang tinggi pada penelitian ini dikarenakan eksplan yang digunakan merupakan eksplan yang sudah steril, sehingga hanya terdapat sedikit eksplan yang mengalami *browning* dan rendahnya kontaminasi akibat jamur dan bakteri. Selain itu, eksplan yang digunakan merupakan tunas aksiler dengan jaringan yang masih muda. Jaringan muda pada tunas memiliki daya regenerasi yang lebih tinggi dibandingkan jaringan tanaman yang tua karena sel-sel pada jaringan muda lebih aktif membelah diri serta relatif mengandung sedikit fenolik dan kontaminan. Eksplan dapat dikatakan hidup apabila tidak mengalami kontaminasi atau jika mampu membentuk akar baru maupun tunas dan tidak mengalami *browning* permanen (Supriyadi, 2014). Eksplan hidup disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Eksplan hidup *C. calothyrsus* pada minggu ke-8 setelah tanam

Hasil pengamatan terhadap persentase eksplan *browning* disajikan pada

Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi BAP dan NAA terhadap Persentase Eksplan *Browning* Tanaman *C. calothyrsus* Pada Minggu ke-8

Perlakuan	Persentase Eksplan <i>Browning</i> (%)
BAP 0 mg/l + NAA 0 mg/l	20%
BAP 1 mg/l + NAA 0,1 mg/l	0%
BAP 2 mg/l + NAA 0,1 mg/l	0%
BAP 3 mg/l + NAA 0,1 mg/l	0%
BAP 4 mg/l + NAA 0,1 mg/l	0%
BAP 1 mg/l + NAA 0,5 mg/l	0%
BAP 2 mg/l + NAA 0,5 mg/l	0%
BAP 3 mg/l + NAA 0,5 mg/l	0%
BAP 4 mg/l + NAA 0,5 mg/l	0%
Rata-rata	2,22%

Persentase eksplan *browning* menunjukkan eksplan yang ditanam mengalami perubahan warna dari hijau menjadi coklat dan tidak adanya pertumbuhan pada eksplan. *Browning* dapat terjadi karena eksplan yang digunakan berasal dari jaringan tanaman berkayu dan tanaman yang mengandung banyak zat ekstraktif berupa alkaloid. Pencoklatan umumnya merupakan tanda adanya kemunduran fisiologis pada eksplan, kemudian eksplan biasanya akan mati.

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 7, persentase eksplan *browning* pada penelitian ini yaitu sebesar 20% dengan rerata presentase eksplan *browning* 2,22% hanya terjadi pada perlakuan medium tanpa ZPT (BON0). *Browning* pada perlakuan medium tanpa ZPT dapat terjadi karena kandungan senyawa fenol pada eksplan teroksidasi ketika sel dilukai. Ketika sel dilukai, tidak adanya zat pengatur tumbuh yang ditambahkan akan mengakibatkan eksplan yang terluka tidak dapat

menyerap zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang berperan dalam pembelahan dan pemanjangan sel, sehingga tidak terjadi pembelahan sel baru akibatnya eksplan menjadi *browning*. Hal ini didukung oleh George dan Sherrington (1984) bahwa beberapa macam tanaman khususnya tanaman tropika mempunyai kandungan senyawa fenol yang tinggi yang teroksidasi ketika sel dilukai atau terjadi *senesens*. Akibatnya jaringan yang diisolasi menjadi coklat atau kehitaman dan gagal tumbuh. Pencoklatan jaringan terjadi karena aktivitas enzim oksidase yang mengandung tembaga seperti polifenol oksidase dan tirosinase (Hutami, 2008) yang dilepaskan atau disintesis dan tersedia pada kondisi oksidatif ketika jaringan dilukai. Pengamatan eksplan *browning* meliputi keseluruhan eksplan yang berwarna coklat. Kerusakan jaringan yang terlalu besar akibat pelukaan pada saat inokulasi dapat memacu aktivitas *fenilalanin amonialiase* (FAL) yang nantinya akan memproduksi senyawa fenolik (Putri, 2015). Eksplan *browning* disajikan pada Gambar 7.



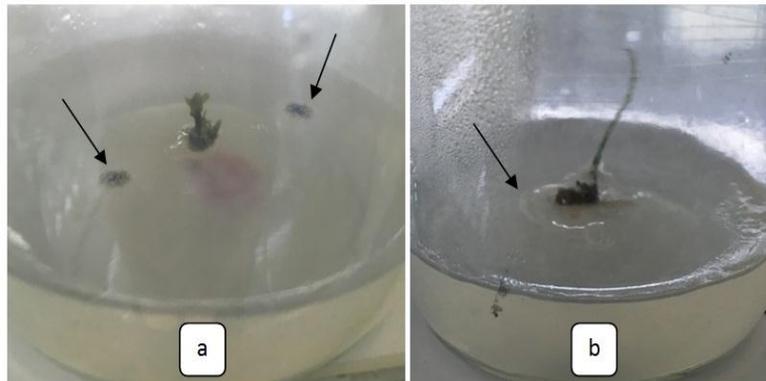
Gambar 7. Eksplan *C. calothyrsus* mengalami *browning*

Peristiwa *browning* mulai terlihat pada minggu ke-2 (dua) setelah inokulasi dan berlanjut pada minggu berikutnya. *Browning* seperti pada Gambar 7, ditandai dengan perubahan warna eksplan menjadi coklat. Gejala pencoklatan

pada kultur apabila dibiarkan terlalu lama maka menyebabkan kematian eksplan.

Kontaminasi merupakan tumbuhnya mikroba yang tidak dikehendaki (kontaminan) pada eksplan atau media kultur *in vitro*. Pada kebanyakan tanaman secara *in vitro*, adanya kontaminasi dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan menjadi terhambat atau bahkan menyebabkan eksplan mati jika eksplan tidak segera dipindah. Persentase eksplan kontaminasi menunjukkan tingkat kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri pada eksplan yang ditanam. Tujuan pengamatan pada parameter ini yaitu untuk mengetahui tingkat kontaminasi pada eksplan dan sumber kontaminannya.

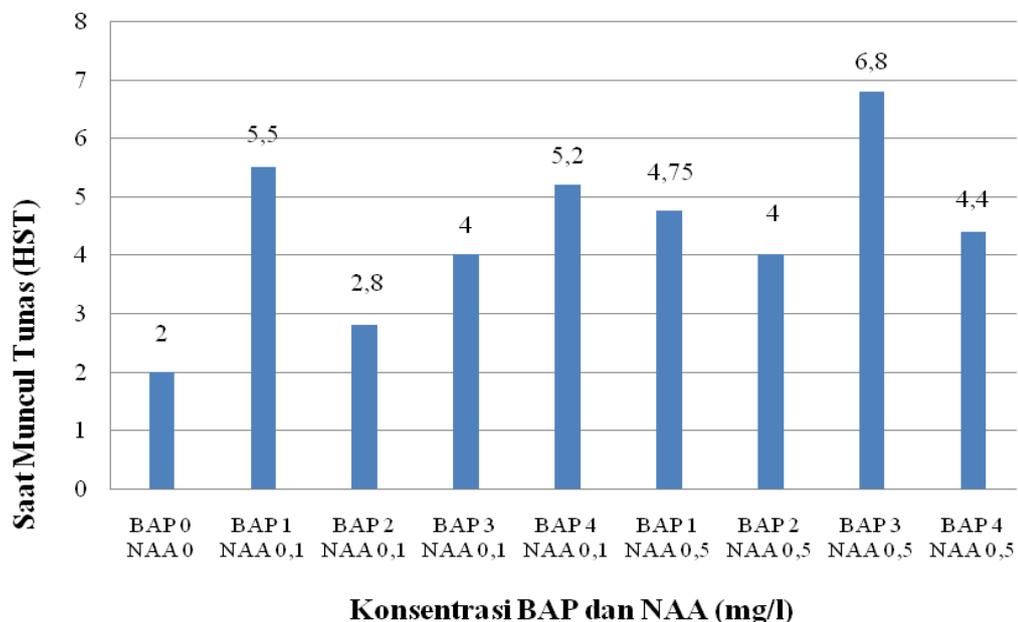
Berdasarkan Gambar 5, rerata persentase eksplan kontaminasi sebesar 8,89%. Kontaminasi disebabkan oleh adanya jamur dan bakteri pada media maupun eksplan. Kontaminasi yang disebabkan jamur ditandai dengan adanya miselium berwarna putih, abu abu, dan hitam yang tumbuh di sekitar eksplan. Kontaminasi yang disebabkan bakteri dapat dilihat dengan adanya lendir berwarna putih keruh di sekitar eksplan. Kontaminasi dapat terjadi saat penanaman eksplan maupun pada saat subkultur. Tingkat kontaminasi eksplan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media tanam, lingkungan kerja, asal eksplan khususnya yang berasal dari lapangan, dan pekerjaan yang kurang teliti. Menurut Odutayo dkk., (2007), terdapat hubungan antara ruang laboratorium dengan sumber-sumber kontaminan. Bakteri dan jamur banyak terdapat pada dinding, meja, jendela, dan alat pendingin laboratorium. Selain itu tangan manusia juga mengandung 34–46% sumber kontaminan. Kontaminasi jamur dan bakteri pada eksplan *C. calothyrsus* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kontaminasi (a) jamur dan (b) bakteri pada eksplan *C. calothyrsus* yang mulai terlihat pada minggu ke-3 setelah tanam

B. Saat Muncul Tunas

Terbentuknya tunas pada eksplan menunjukkan keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi pada medium kultur *in vitro*. Saat muncul tunas diamati dengan melihat hari saat pertama kali tunas muncul pada eksplan. Hasil pengamatan saat muncul tunas disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Pengaruh BAP dan NAA terhadap saat muncul tunas eksplan *C. calothyrsus*.

Berdasarkan Gambar 9, dapat diketahui bahwa zat pengatur tumbuh BAP dan NAA dapat menginduksi terbentuknya tunas *C. calothyrsus*. Semua perlakuan dapat menginduksi tunas *C. calothyrsus* pada umur kurang dari 7 HST. Rerata saat tunas muncul tercepat pada perlakuan medium tanpa ZPT (BON0) yaitu pada hari ke-2. Hal ini diduga karena adanya kandungan nutrisi pada medium serta adanya hormon sitokinin dan auksin endogen pada eksplan *C. calothyrsus* sudah mampu mendorong pembentukan tunas lebih cepat namun tunas yang muncul tidak sebanyak perlakuan yang ditambahkan zat pengatur tumbuh. Rerata saat tunas muncul paling lama pada perlakuan BAP 3 mg/l + NAA 0,5 mg/l yaitu pada hari ke-6,8. Kecepatan pertumbuhan yang berbeda-beda pada eksplan dikarenakan adanya interaksi antara hormon endogen eksplan dengan penambahan hormon eksogen. Keseimbangan konsentrasi auksin dan sitokinin yang ditambahkan dalam media ini mengakibatkan proses fisiologis dalam eksplan dapat berlangsung efektif dalam memacu awal pertumbuhan tunas. Selain itu, kecepatan eksplan *C. calothyrsus* bertunas dipengaruhi oleh kemampuan masing-masing eksplan dalam menyerap zat pengatur tumbuh dan nutrisi yang terdapat dalam media.

C. Pertambahan Tinggi Tunas

Pembentukan tunas dalam kultur *in vitro* menjadi salah satu parameter keberhasilan dalam kultur *in vitro*. Tinggi tunas merupakan ukuran tanaman yang diamati sebagai indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter pengaruh perlakuan yang diberikan. Tinggi tunas dapat bertambah karena pembelahan sel

maupun pemanjangan sel sebagai respon sel terhadap keberadaan ZPT dalam media tanam. Pengukuran tinggi tunas dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan yang diberikan terhadap tinggi tunas. Hasil analisis pertambahan tinggi tunas *C. calothyrsus* minggu ke-8 setelah inokulasi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Pertambahan Tinggi Tunas Tanaman *C. calothyrsus* (cm) pada Minggu ke-8 setelah Tanam

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		Rerata
	0,1	0,5	
1	0,30	0,90	0,60a
2	1,22	1,36	1,29a
3	0,30	1,20	0,68a
4	1,35	0,52	0,88a
Rerata	0,78p	0,97p	(-)
Perlakuan vs kontrol			
Perlakuan			0,88 p
Kontrol			0,025 q

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom atau baris menunjukkan tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf kesalahan $\alpha=5\%$; (-) tidak ada interaksi antara perlakuan penggunaan BAP dan konsentrasi NAA terhadap tinggi tunas. *; data ditransformasi menggunakan transformasi akar.

Hasil analisis pada Tabel 4 dan Lampiran 5 menunjukkan tidak ada interaksi antara perlakuan BAP dan NAA. Hal ini menunjukkan penggunaan berbagai konsentrasi BAP dan NAA tidak saling mempengaruhi satu sama lain terhadap pertambahan tinggi tunas eksplan tanaman *C. calothyrsus*.

Lampiran 5 dan Tabel 4 menunjukkan terdapat beda nyata antara perlakuan penambahan BAP dan NAA dengan kontrol terhadap pertambahan tinggi tunas. Hal ini karena adanya pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin eksogen mampu memacu proses pembelahan dan pemanjangan sel pada

eksplan. Sementara perlakuan kontrol tanpa zat pengatur tumbuh eksplan hanya dapat memanfaatkan adanya sitokinin dan auksin endogen dalam eksplan untuk pertumbuhannya tanpa adanya pemberian sitokinin dan auksin eksogen, sehingga pertumbuhan eksplan pada media yang diberi perlakuan lebih baik dibandingkan dengan kontrol.

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), perlakuan pemberian sitokinin pada media berpengaruh terhadap pembelahan sel dan induksi organ serta perkembangannya sedangkan auksin mempengaruhi pemanjangan suatu sel dengan cara mengaktifkan beberapa enzim yang dapat menurunkan pH pada dinding sel. Pemberian auksin dapat meningkatkan sintesis enzim ATP-ase sehingga H^+ akan dipompa keluar, peristiwa ini mengakibatkan lingkungan menjadi asam. Pada kondisi asam enzim-enzim yang dapat memotong ikatan antara dinding sel akan teraktifkan, diantaranya yaitu glukonase yang akan menghidrolisis rantai utama hemiselulosa, *xylosidase* bekerjasama dengan *endo-1,4- β -xylanase* yang berperan memecah xilan menjadi xilosa dalam rantai cabang dari rantai utama *xyloglucan*, transglikosidase yang dapat memotong dan menggabungkan selulase, dan pektinase yang akan menghidrolisis rantai penyusun pektin. Proses ini menyebabkan pelonggaran dinding sel, sehingga air dapat masuk dan tekanan turgor akan naik. Tekanan turgor yang naik akan menyebabkan sel mengembang dan apabila pengembangan sel berlangsung searah misalnya ke arah vertikal akan menyebabkan pemanjangan sel (Taiz dan Zeiger, 1998).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 1,38 dan F. tabel 2,91 yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki pengaruh yang sama terhadap tinggi tunas eksplan *C. calothyrsus* karena nilai F. tabel lebih besar dibandingkan F. hitung. Tabel 4 menunjukkan perlakuan BAP 2 mg/l menghasilkan rerata pertambahan tinggi tunas yang cenderung paling tinggi (1,29 cm) walaupun tidak berbeda nyata dengan perlakuan BAP 1, BAP 3 dan BAP 4 mg/l pada eksplan *C. calothyrsus* yang dihasilkan selama 8 MST (Minggu Setelah Tanam). Hal ini diduga karena adanya kandungan sitokinin endogen yang cukup tinggi pada eksplan yang ditanam, sehingga penambahan BAP dengan konsentrasi rendah sudah mampu merangsang tanaman untuk pemanjangan tunas. Lakitan (1996) menyatakan bahwa pemanjangan batang tidak membutuhkan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi atau membutuhkan sitokinin eksogen dalam konsentrasi yang rendah, karena kandungan sitokinin endogen sudah mencukupi. Akibatnya penambahan sitokinin eksogen tidak lagi berpengaruh bahkan dapat menghambat pertumbuhan karena konsentrasi sitokinin menjadi ekksesif (supra optimal).

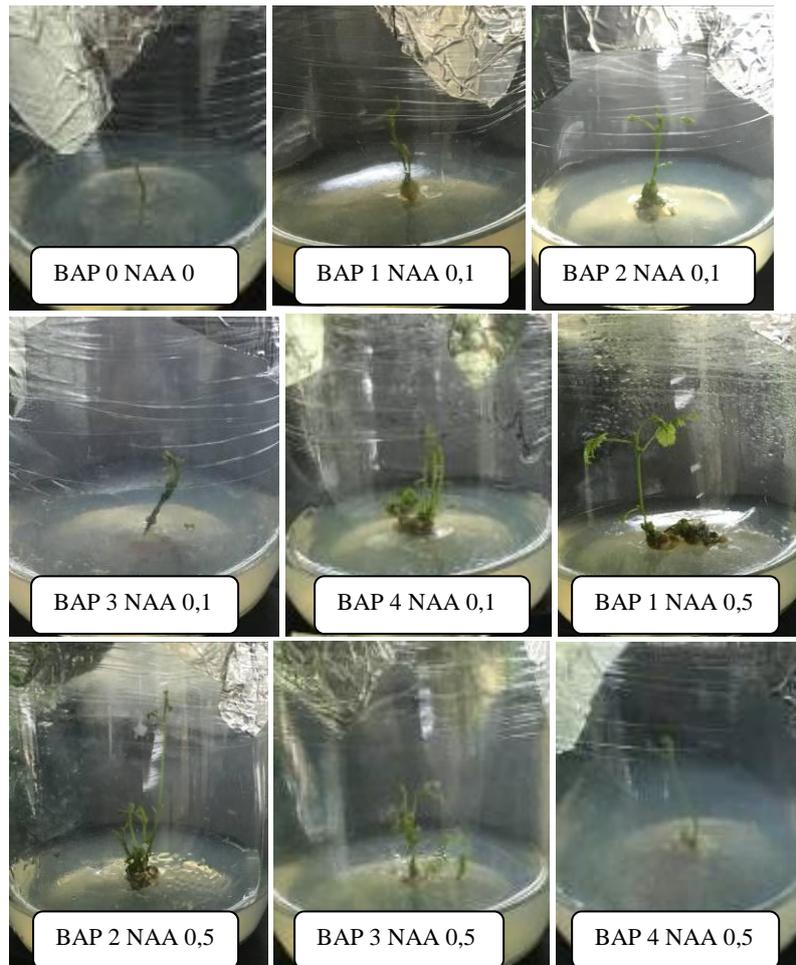
Penggunaan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l dan 0,5 mg/l juga menunjukkan tidak ada pengaruh nyata terhadap selisih tinggi tunas antar perlakuan pada eksplan *C. calothyrsus* yang dihasilkan selama 8 MST (Minggu Setelah Tanam). Dari hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 0,49 dan F. tabel 4,16 yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki pengaruh yang sama terhadap tinggi tunas eksplan *C. calothyrsus*. Hasil rerata menunjukkan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l cenderung

menghasilkan pertambahan tinggi tunas yang paling tinggi (0,97cm), dibandingkan dengan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l. Hal ini diduga karena kandungan endogen auksin dalam eksplan sudah tinggi, sehingga pemberian auksin eksogen dapat menghambat pemanjangan tunas.

Respon auksin berhubungan dengan konsentrasinya. Konsentrasi yang tinggi bersifat menghambat karena adanya persaingan di dalam penempatan pada kedudukan sel penerima. Jumlah auksin yang berlebihan akan ikut tergabung dalam sel penerima yang akan berakibat kerja hormon tersebut tidak efektif (Dixon, 1985). Hasil ini menunjukkan bahwa inisiasi tunas terhambat jika auksin dalam media kultur terlalu banyak (Nisa dan Rodinah, 2005). Faktor lain adalah bahwa penambahan sitokinin pada media yang diikuti penambahan auksin pada media kultur maka akan menghambat inisiasi tunas (Collin dan Edwards, 1998). Setelah mencapai kadar optimal, peningkatan konsentrasi sitokinin dan auksin menghambat pertumbuhan (Aryani, 2013). Selain itu, pengamatan yang relatif singkat menjadi salah satu faktor penyebab perlakuan ini tidak berpengaruh nyata, eksplan belum menunjukkan adanya pertumbuhan yang signifikan.

Hasil pengamatan pada 1 MST (Minggu Setelah Tanam) menunjukkan adanya pertumbuhan tunas yang mulai berkembang membentuk pucuk dan kalus pada pangkal eksplan yang menyentuh media, namun dalam penelitian ini kalus dihilangkan agar terjadi organogenesis langsung serta pertumbuhan kalus tidak diinginkan. Seperti yang disampaikan oleh Gunawan (1987) bahwa interaksi dan perimbangan atas pemberian zat pengatur tumbuh dan hormon endogen yang diproduksi oleh tanaman akan menentukan perkembangan suatu kultur. Pemberian

sitokinin dapat memacu induksi pucuk suatu eksplan. Akan tetapi pada kasus-kasus tertentu pemberian sitokinin dapat meningkatkan konsentrasi hormon auksin sehingga memacu pertumbuhan kalus pada eksplan. Pertambahan tinggi tunas semua perlakuan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengaruh penambahan BAP dan NAA (mg/l) terhadap tinggi tunas *C. calothyrsus* pada minggu ke-8 setelah tanam.

D. Pertambahan Jumlah Daun

Daun merupakan pusat terjadinya fotosintesis yang merupakan sumber energi bagi tanaman, semakin banyak daun diharapkan pertumbuhan tanaman akan semakin baik. Jumlah daun merupakan jumlah keseluruhan daun yang tumbuh pada seluruh perlakuan yang diuji. Pengamatan jumlah daun dilakukan

untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diujikan terhadap pertambahan jumlah daun. Jumlah daun dipengaruhi oleh adanya penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media. Pengukuran jumlah daun dilakukan dengan menghitung daun majemuk yang tumbuh pada seluruh eksplan *C. calothyrsus*. Daun merupakan organ vegetatif, yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh kandungan nitrogen (NH_4NO_3 , NH_2PO_4 , dan NH_2SO_4) dalam media. Hasil analisis pertambahan jumlah daun minggu ke-8 setelah inokulasi disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Pertambahan Jumlah Daun Tanaman *C. calothyrsus* pada Minggu ke-8 setelah Tanam

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		Rerata
	0,1	0,5	
1	1,40	2,60	2,00a
2	2,20	3,00	2,60a
3	1,75	4,33	2,86a
4	2,50	1,80	2,11a
Rerata	1,94p	2,78p	(-)
Perlakuan vs kontrol			
Perlakuan			2,25p
Kontrol			1,25p

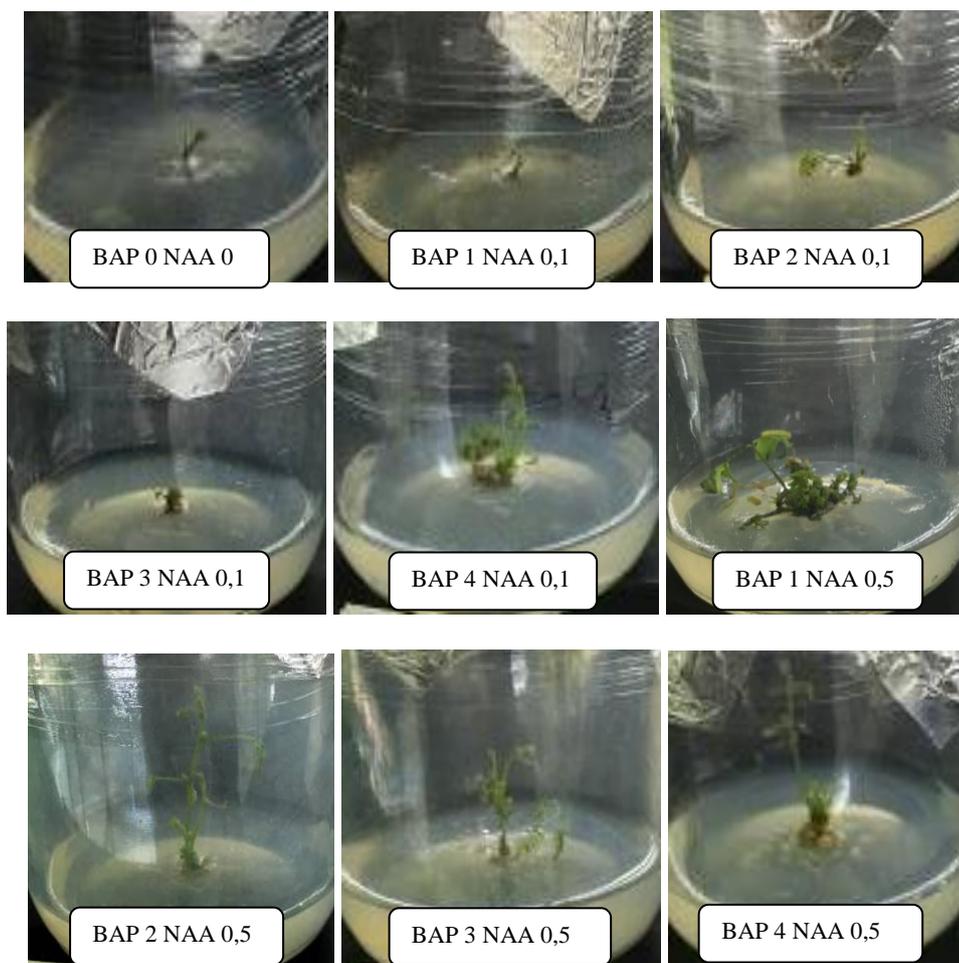
Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom atau baris menunjukkan tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf kesalahan $\alpha=5\%$; (-) tidak ada interaksi antara perlakuan penggunaan BAP dan konsentrasi NAA terhadap jumlah daun. *; data ditransformasi menggunakan transformasi akar.

Hasil analisis pada Tabel 5 dan Lampiran 5 menunjukkan tidak ada interaksi dan tidak ada pengaruh nyata antara perlakuan BAP dan NAA terhadap pertambahan jumlah daun. Lampiran 5 menunjukkan tidak ada beda nyata antara kombinasi perlakuan BAP dan NAA dengan kontrol terhadap pertambahan jumlah daun.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa perlakuan BAP tidak berpengaruh nyata terhadap selisih jumlah daun. Dari hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 0,97 dan F. tabel 2,91 yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki pengaruh yang sama dalam penambahan jumlah daun eksplan *C. calothyrsus* karena nilai F. tabel lebih besar dibandingkan F. hitung. Berdasarkan Tabel 5 perlakuan BAP 3 mg/l menghasilkan rerata penambahan jumlah daun yang cenderung paling banyak (2,86 daun) walaupun tidak berbeda nyata dengan perlakuan BAP 1, BAP 2 dan BAP 4 mg/l. Hal ini diduga karena eksplan telah mengandung hormon sitokinin endogen yang mampu merangsang pembentukan daun dari tunas aksiler tanpa pengaruh tambahan hormon dari luar. Seperti yang ditegaskan dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Mervat dkk., (2009) bahwa ketepatan ZPT yang ditambahkan sangat penting dalam organogenesis dan hal ini berkaitan dengan interaksi ZPT yang digunakan dengan zat-zat endogen yang terdapat dalam jaringan tumbuhan.

Penggunaan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l, dan 0,5 mg/l memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap selisih jumlah daun antar perlakuan pada eksplan *C. calothyrsus* yang dihasilkan selama 8 MST. Dari hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 3,63 dan F. tabel 4,16 yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang nyata antar perlakuan NAA. Hasil rerata menunjukkan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l cenderung menghasilkan jumlah daun yang paling banyak (2,78 daun), dibandingkan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi auksin maka jumlah daun akan semakin banyak.

Hasil pengamatan menunjukkan rerata jumlah daun awal pada minggu ke-0 yaitu 1 helai kemudian menjadi 2 helai pada minggu ke-8. Kecepatan pertumbuhan jumlah daun berbeda-beda, dimana hal ini disebabkan oleh respon yang berbeda dari masing-masing eksplan. Pertambahan jumlah daun dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Pengaruh penambahan BAP dan NAA (mg) terhadap jumlah daun *C. calothyrsus* pada minggu ke-8 setelah tanam.

E. Jumlah Tunas

Jumlah tunas merupakan pengukuran banyaknya tunas yang tumbuh pada seluruh eksplan yang diujikan. Pengamatan jumlah tunas dilakukan untuk mengetahui kemampuan eksplan dalam membentuk tunas. Perhitungan jumlah

tunas dilakukan pada keseluruhan tunas yang muncul pada eksplan. Hasil analisis pertambahan jumlah tunas minggu ke-8 setelah inokulasi disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Jumlah Tunas Tanaman *C. calothyrsus* pada Minggu ke-8 setelah Tanam

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		Rerata
	0,1	0,5	
1	1,20	2,20	1,70a
2	3,00	3,20	3,10a
3	1,50	3,67	2,43a
4	3,00	2,60	2,78a
Rerata	2,17p	2,83p	(-)
Perlakuan vs kontrol			
Perlakuan			2,30p
Kontrol			0,50q

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom atau baris menunjukkan tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf kesalahan $\alpha=5\%$; (-) tidak ada interaksi antara perlakuan penggunaan BAP dan konsentrasi NAA terhadap jumlah tunas. *; data ditransformasi menggunakan transformasi akar.

Hasil analisis pada Tabel 6 dan Lampiran 5 menunjukkan tidak ada interaksi antara perlakuan BAP dengan NAA terhadap pertambahan jumlah tunas. Hal ini menunjukkan penggunaan berbagai konsentrasi BAP dan NAA tidak saling mempengaruhi satu sama lain terhadap pertambahan jumlah tunas eksplan tanaman *C. calothyrsus* yang dihasilkan selama 8 MST.

Lampiran 5 menunjukkan terdapat beda nyata antara kombinasi perlakuan BAP dan NAA dengan kontrol terhadap pertambahan jumlah tunas. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan BAP dan NAA berpengaruh terhadap jumlah tunas jika dibandingkan dengan kontrol (BAP 0 mg/l dan NAA 0 mg/l). Hal ini dapat dilihat dari Tabel 6, eksplan yang diberi perlakuan memiliki jumlah tunas yang lebih banyak dan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Terbentuknya tunas pada perlakuan tersebut diduga karena adanya penambahan hormon sitokinin dan auksin eksogen pada media MS yang berfungsi dalam pembelahan dan pemanjangan sel, sedangkan pada perlakuan kontrol tanpa zat pengatur tumbuh jumlah tunas yang tumbuh cenderung lebih sedikit dan pendek hal ini diduga terjadi karena tidak adanya penambahan zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin eksogen yang ditambahkan. Seperti dalam pernyataan Lestari (2011) bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tanaman sangat penting, yaitu untuk mengontrol organogenesis dan morfogenesis dalam pembentukan dan perkembangan tunas dan akar.

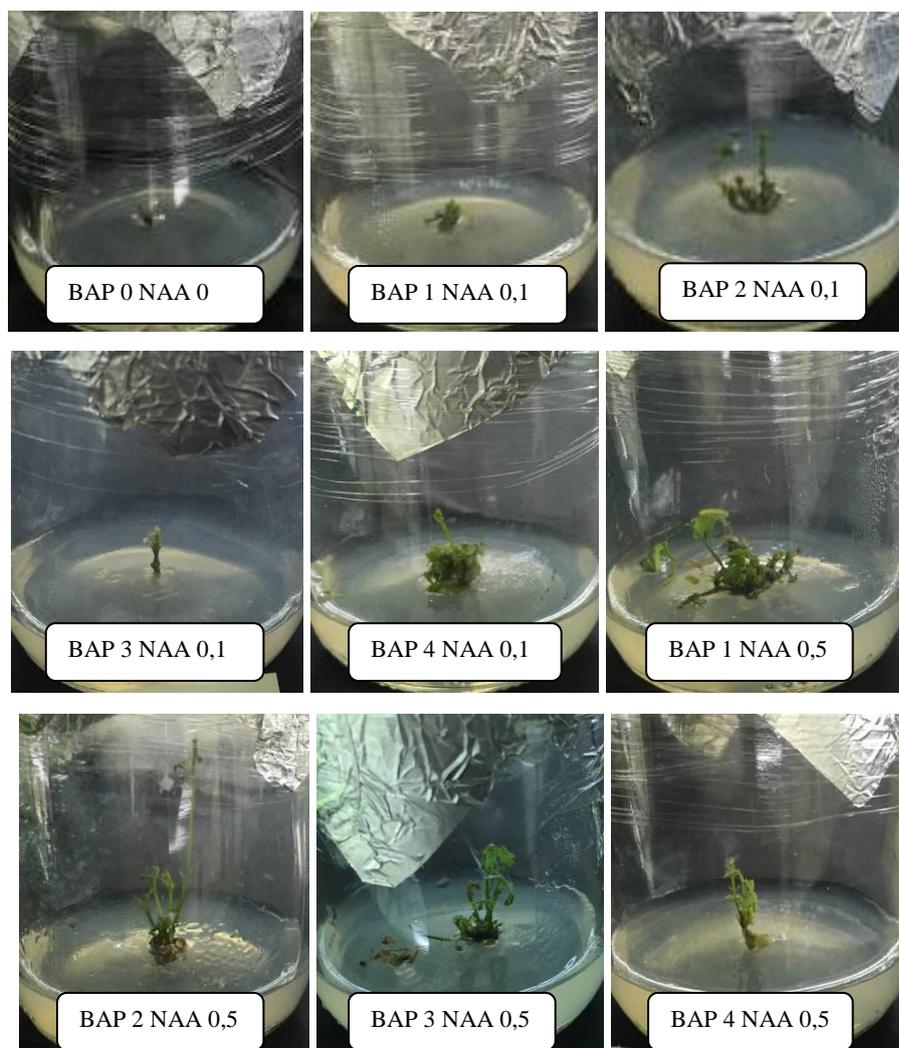
Dari hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 1,92 dan F. tabel 2,91 yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki pengaruh yang sama dalam pembentukan tunas eksplan *C. calothyrsus* karena nilai F. tabel lebih besar dibandingkan F. hitung. Perlakuan BAP 2 mg/l menghasilkan rerata pertambahan jumlah tunas yang cenderung paling banyak (3,10 tunas), meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan BAP 1, BAP 3, dan BAP 4 mg/l. Hal ini diduga karena adanya kandungan sitokinin endogen yang cukup tinggi pada eksplan, sehingga dengan penambahan BAP berkonsentrasi rendah sudah mampu merangsang tanaman untuk menghasilkan tunas yang banyak. Menurut Pierik (1987), pada saat auksin eksogen terus ditambahkan, maka berapapun sitokinin yang ditambahkan tidak cukup mampu untuk merangsang inisiasi tunas pada eksplan secara *in vitro*. Penurunan jumlah tunas terjadi pada penambahan BAP diatas 2 mg/l, diduga karena penambahan BAP 2 mg/l sudah mencapai kadar optimal sehingga peningkatan konsentrasi BAP dapat

menurunkan jumlah tunas. Hal ini sejalan dengan penelitian Norrizah dkk., (2012) yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi BAP justru tidak meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk karena setelah mencapai kadar optimal, peningkatan kadar BAP menghambat pertumbuhan tunas.

Penggunaan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l, dan 0,5 mg/l juga menunjukkan tidak ada pengaruh nyata terhadap selisih jumlah tunas antar perlakuan pada eksplan *C. calothyrsus* yang dihasilkan selama 8 MST. Dari hasil analisis sidik ragam pada lampiran 5 diperoleh nilai F. hitung sebesar 2,07 dan F. tabel 4,16 yang menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki pengaruh yang sama dalam pembentukan tunas eksplan *C. calothyrsus*. Hasil rerata menunjukkan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l cenderung menghasilkan jumlah tunas yang paling banyak (2,83 tunas), dibandingkan dengan perlakuan NAA dengan konsentrasi 0,1 mg/l. Auksin dan sitokinin yang tinggi akan membentuk tunas lebih sedikit, sedangkan penambahan auksin yang rendah dan penambahan sitokinin yang tinggi mampu membentuk tunas lebih banyak. Pertumbuhan eksplan ditandai dengan kenaikan volume yang bersifat *irreversible* (tidak dapat berbalik) seperti memanjangnya batang, akar dan sebagainya. Proses pertumbuhan melibatkan aktivitas pembelahan sel, pembesaran sel dan pemanjangan sel yang didapat dari sejumlah hormon. Sebagaimana dinyatakan oleh Sjahril (2011) bahwa sitokinin berperan dalam merangsang pertumbuhan tunas atau multiplikasi.

Hasil pengamatan secara umum menunjukkan bahwa perlakuan yang menghasilkan jumlah tunas sedikit memberikan panjang tunas yang lebih tinggi, sedangkan perlakuan yang menghasilkan tunas terbanyak memberikan tunas yang

lebih pendek. Menurut Lisan (2005), perbedaan tinggi tunas disebabkan unsur-unsur hara dan vitamin yang terdapat pada media terbagi untuk tunas-tunas yang tumbuh sehingga jumlah tunas yang banyak menyebabkan tinggi tunas terhambat. Selain itu, pembentukan tunas dapat terjadi karena adanya aktivitas pembelahan sel oleh sitokinin. Pemberian sitokinin (BAP) dalam konsentrasi yang rendah dapat meningkatkan tinggi tanaman sedangkan pemberian BAP dalam konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan jumlah tunas. Pertambahan jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Pengaruh penambahan BAP dan NAA (mg/l) terhadap jumlah tunas *C. calothyrsus* pada minggu ke-8 setelah tanam.