

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Rerata Tinggi Eksplan Temulawak setelah Perlakuan

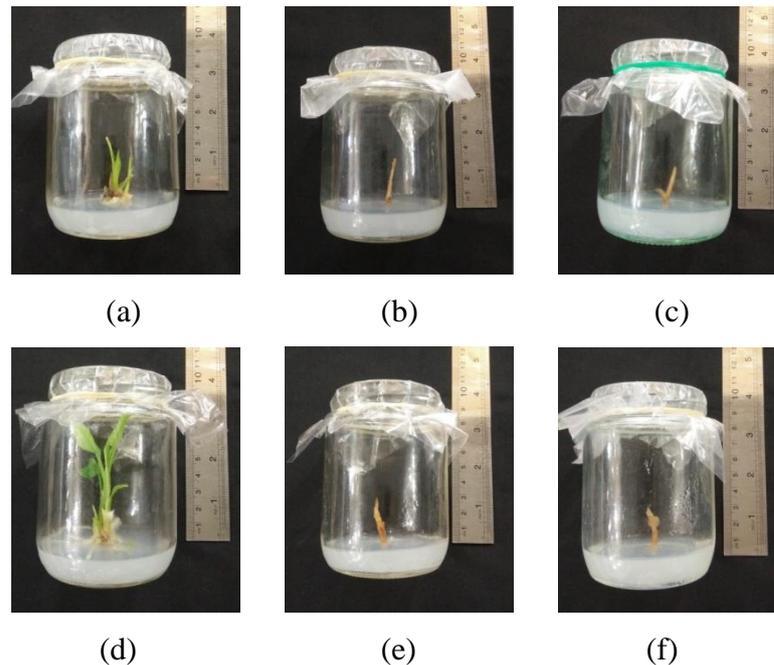
Pengamatan tinggi eksplan temulawak diukur dari permukaan media hingga titik tumbuh eksplan. Berdasarkan hasil analisis ragam (Lampiran 7) dan uji lanjut menggunakan BNT 5% (Tabel 1) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D memberikan hasil rata-rata tinggi eksplan temulawak yang beragam pada umur pengamatan diatas 4 msp (minggu setelah perlakuan).

Tabel 1. Rerata Tinggi Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda

Perlakuan	Rerata Tinggi Eksplan Temulawak (cm) dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
T1	1,22	1,47	1,72	1,98	2,27	a 2,55 b	2,87 b	3,10 b	
T2	1,63	1,78	1,92	2,00	2,00	a 2,00 ab	2,00 a	2,02 a	
T3	1,55	1,68	1,78	1,90	1,95	a 2,07 ab	2,10 a	2,18 a	
T4	1,57	1,98	2,37	2,75	3,15	b 3,50 c	3,87 c	4,25 c	
T5	1,77	1,87	1,98	2,10	2,10	a 2,13 ab	2,17 ab	2,22 a	
T6	1,43	1,43	1,43	1,52	1,57	a 1,57 a	1,57 a	1,60 a	
<b>BNT 5%</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>0,84</b>	<b>0,81</b>	<b>0,82</b>	<b>0,82</b>	

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%; MSP = minggu setelah perlakuan; BNT 5% = beda nyata terkecil taraf 5%; tn = tidak berbeda nyata.

Hasil analisis ragam pada minggu ke 1-4 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D tidak berpengaruh terhadap rerata tinggi eksplan temulawak. Sedangkan hasil analisis ragam pada minggu ke 5-8 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D mempengaruhi pertumbuhan tinggi eksplan temulawak (Tabel 1). Hasil rerata tinggi eksplan pada 5-8 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata tertinggi dibandingkan perlakuan lain yaitu perlakuan T1, T2, T3, T5, dan T6.



Gambar 2. Tinggi eksplan temulawak (a) T1 (UB2 kontrol), (b) T2 (UB2 2,4-D 1 ppm), (c) T3 (UB2 2,4-D 2 ppm), (d) T4 (UB3 kontrol), (e) T5 (UB3 2,4-D 1 ppm), dan (f) T6 (UB3 2,4-D 2 ppm)

Berdasarkan hasil rerata tinggi eksplan (Tabel 1) pada 5 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda nyata dengan T4 dan T6. Perlakuan T2, T3 dan T5 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata dengan T1 maupun T6. Sedangkan T6 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda dengan T1 dan T4.

Hasil rerata tinggi eksplan pada 6 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda nyata dengan T4 dan T6. Perlakuan T2, T3 dan T5 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata dengan T1 maupun T6. Sedangkan T6 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda dengan T1 dan T4.

Hasil rerata tinggi eksplan pada 7 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. T1 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda

dengan T2, T3, T4, dan T6. Perlakuan T2, T3, T5 dan T6 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata. Perlakuan T5 tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya yaitu T1 maupun T2, T3, dan T6. Sedangkan T6 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda dengan T1 dan T4.

Hasil rerata tinggi eksplan pada 8 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni dengan rerata 4,17 cm. T1 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda nyata dengan T2, T3, T4, T5 dan T6. Perlakuan T2, T3, T5 dan T6 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang tidak berbeda nyata. Sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan T6 yakni dengan rerata 1,60 cm pada akhir pengamatan (8 msp).

#### **4.1.2 Jumlah Daun Eksplan Temulawak setelah Perlakuan**

Pengamatan jumlah daun eksplan temulawak diukur dengan menghitung jumlah daun yang telah membuka sempurna eksplan. Berdasarkan hasil analisis ragam (Lampiran 8) dan uji lanjut menggunakan BNT 5% (Tabel 2) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D memberikan hasil rata-rata tinggi eksplan temulawak yang beragam pada umur pengamatan diatas 6 msp (minggu setelah perlakuan).

Hasil analisis ragam pada minggu ke 1-6 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D tidak berpengaruh terhadap rerata jumlah daun eksplan temulawak. Sedangkan hasil analisis ragam pada minggu ke 7-8 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D mempengaruhi rerata jumlah daun eksplan temulawak (Tabel 2).

Berdasarkan hasil transformasi rerata jumlah daun eksplan (tabel 2) pada 7 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah daun eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata tinggi eksplan yang berbeda nyata dengan T2, T3, T4, T5, dan T6. Sedangkan perlakuan T2, T3, T5, dan T6 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Rerata Jumlah Daun Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda

Perlakuan	Rerata Jumlah Daun Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>T1</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,90 b	1,00 b
<b>T2</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a	0,71 a
<b>T3</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a	0,90 ab
<b>T4</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	1,15 c	1,39 c
<b>T5</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a	0,71 a
<b>T6</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a	0,71 a
<b>BNT 5%</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>0,17</b>	<b>0,27</b>

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%; MSP = minggu setelah perlakuan; BNT 5% = beda nyata terkecil taraf 5%; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ( $\sqrt{x + 0,5}$ ) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji merupakan data hasil transformasi.

Hasil rerata jumlah daun eksplan temulawak pada 8 MSP menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah daun eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni dengan rerata 1,50. Perlakuan T1 berbeda nyata dengan perlakuan T2, T4, T5, dan T6. Perlakuan T2 tidak berbeda nyata dengan T3, T5, dan T6 namun berbeda nyata dengan T1 dan T4. Perlakuan T3 tidak berbeda nyata dengan T1, T2, T5, dan T6. Sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan T2, T5 dan T6 yaitu tidak muncul daun hingga akhir pengamatan (8 msp).

#### 4.1.3 Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak setelah Perlakuan

Pengamatan jumlah tunas eksplan temulawak diukur dengan menghitung jumlah tunas yang muncul pada eksplan. Berdasarkan hasil analisis ragam (Lampiran 9) dan uji lanjut menggunakan BNT 5% (Tabel 3) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D memberikan hasil rata-rata tinggi eksplan temulawak yang beragam pada umur pengamatan 8 msp (minggu setelah perlakuan).

Hasil analisis ragam pada minggu ke 1-7 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D tidak berpengaruh terhadap rerata jumlah tunas eksplan temulawak. Sedangkan hasil analisis ragam pada minggu ke 8 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D mempengaruhi rerata jumlah tunas eksplan temulawak (Tabel 3).

Tabel 3. Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda

Perlakuan	Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>T1</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,80	0,80 a
<b>T2</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a
<b>T3</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,80 a
<b>T4</b>	0,71	0,80	0,80	0,88	0,88	1,04	1,15	1,24 b
<b>T5</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a
<b>T6</b>	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71 a
<b>BNT 5%</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>0,30</b>

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%; MSP = minggu setelah perlakuan; BNT 5% = beda nyata terkecil taraf 5%; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ( $\sqrt{x + 0,5}$ ) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji merupakan data hasil transformasi.

Berdasarkan hasil transformasi rerata jumlah tunas eksplan (Tabel 3) pada 8 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah tunas eksplan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni dengan rerata 1,17. Serta perlakuan T1, T2, T3, T5, dan T6 tidak menunjukkan hasil yang berbeda pada pengamatan jumlah tunas eksplan temulawak. Serta hasil terendah pada pengamatan jumlah tunas eksplan temulawak terdapat pada perlakuan T2, T5, dan T6 yaitu tidak muncul tunas hingga akhir pengamatan (8 msp).

#### 4.1.4 Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak setelah Perlakuan

Pengamatan jumlah akar eksplan temulawak diukur dengan menghitung jumlah akar yang muncul pada eksplan. Berdasarkan hasil analisis ragam

(Lampiran 10) dan uji lanjut menggunakan BNT 5% (Tabel 4) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D memberikan hasil rata-rata tinggi eksplan temulawak yang beragam pada umur pengamatan diatas 2 msp (minggu setelah perlakuan).

Tabel 4. Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda

Perlakuan	Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak da dalam Berbagai Konsentrasi 2,4-D pada Umur Pengamatan yang Berbeda							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>T1</b>	0,71	0,98	1,21 b	1,39 b	1,51 b	1,56 b	1,76 b	1,82 b
<b>T2</b>	0,71	0,71	0,71 a					
<b>T3</b>	0,71	0,71	0,71 a					
<b>T4</b>	0,71	0,98	1,05 b	1,41 b	1,58 b	1,77 b	1,91 b	2,04 b
<b>T5</b>	0,71	0,71	0,71 a					
<b>T6</b>	0,71	0,71	0,71 a					
<b>BNT 5%</b>	<b>tn</b>	<b>tn</b>	<b>0,27</b>	<b>0,26</b>	<b>0,22</b>	<b>0,25</b>	<b>0,26</b>	<b>0,20</b>

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%; MSP = minggu setelah perlakuan; BNT 5% = beda nyata terkecil taraf 5%; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ( $\sqrt{x + 0,5}$ ) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji merupakan data hasil transformasi.

Hasil analisis ragam pada minggu ke 1-2 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D tidak berpengaruh terhadap rerata jumlah akar eksplan temulawak. Sedangkan hasil analisis ragam pada minggu ke 3-8 msp menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D mempengaruhi rerata jumlah akar eksplan temulawak (Tabel 4).

Berdasarkan hasil transformasi rerata jumlah akar eksplan (Tabel 4) pada 3 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T1 dan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4

menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T5 dan T6.

Hasil rerata rerata jumlah akar eksplan pada 4 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T1 dan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T5 dan T6.

Hasil rerata jumlah akar eksplan pada 5 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T1 dan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T5 dan T6.

Hasil rerata jumlah akar eksplan pada 6 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T1 dan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T5 dan T6.

Hasil rerata jumlah akar eksplan pada 7 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T1 dan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T5 dan T6.

Hasil rerata jumlah akar eksplan pada 8 msp menunjukkan hasil bahwa perlakuan T4 dan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang tidak berbeda nyata dan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yakni dengan rerata berturut-turut 2,04 dan 1,82. Perlakuan T1 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda nyata dengan T2 dan T3. Perlakuan T4 menunjukkan hasil rerata jumlah akar eksplan yang berbeda

nyata dengan T5 dan T6. Sedangkan hasil rendah terdapat pada perlakuan T2, T3, T5, dan T6 yakni dengan rerata 0,71 pada akhir pengamatan (8 msp).

#### 4.1.5 Stomata Eksplan Temulawak

Pengamatan stomata eksplan temulawak diamati dengan mengambil daun yang terbentuk dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400X. Berdasarkan hasil pengamatan pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D memberikan hasil rata-rata jumlah, diameter, dan kerapatan stomata yang beragam pada akhir pengamatan (8 msp).

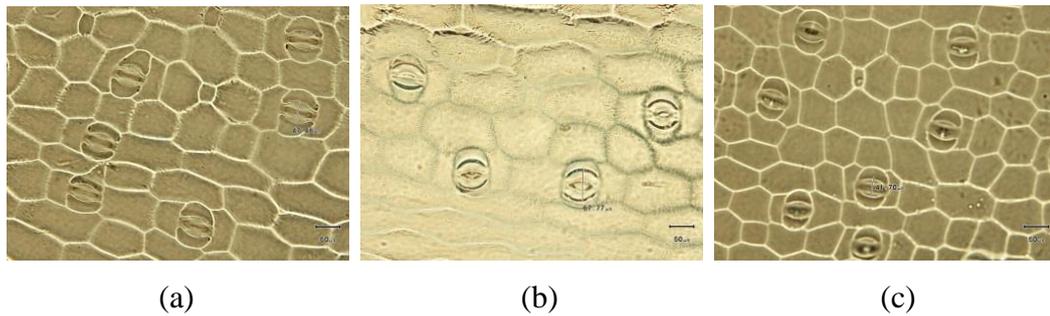
Tabel 5. Stomata Eksplan Temulawak pada 8 Minggu Setelah Perlakuan

Perlakuan	Jumlah Stomata	Rerata Jumlah Stomata	Diameter Stomata ( $\mu\text{m}$ )	Kerapatan Stomata ( $\text{stomata.mm}^{-2}$ )
T1	30,00	6,00	47,46	17,00
T2	00,00	0,00	00,00	00,00
T3	22,00	4,40	67,77	12,00
T4	31,00	6,20	41,70	17,00
T5	00,00	0,00	00,00	00,00
T6	00,00	0,00	00,00	00,00

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm.

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah stomata eksplan temulawak 8 msp (Tabel 5) pada kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D didapatkan hasil tertinggi pada perlakuan T4 yakni 31 stomata dengan rerata 6,2 stomata. Pada perlakuan T1 didapatkan hasil sebesar 30 dengan rerata 6 stomata. Serta perlakuan T3 memiliki hasil sebesar 22 stomata dengan rerata 4,4 stomata. Sedangkan pada perlakuan lainnya yakni T2, T5, dan T6 tidak didapatkan hasil karena eksplan yang masih belum memunculkan daun hingga akhir pengamatan (8 msp).

Hasil pengamatan diameter stomata eksplan temulawak 8 msp (Tabel 5) pada kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D didapatkan hasil diameter terbesar pada perlakuan T3 yakni 66,77  $\mu\text{m}$ . Pada perlakuan T1 didapatkan hasil sebesar 47,46  $\mu\text{m}$ . Serta perlakuan T4 didapatkan hasil sebesar 41,77  $\mu\text{m}$ . Sedangkan pada perlakuan lainnya yakni T2, T5, dan T6 tidak didapatkan hasil karena eksplan yang masih belum memunculkan daun hingga akhir pengamatan (8 msp).



Gambar 3. Pengamatan stomata eksplan temulawak (a) T1 (UB2 kontrol), (b) T3 (UB2 2,4-D 2 ppm), dan (c) T4 (UB3 kontrol)

Hasil pengamatan kerapatan stomata eksplan temulawak 8 msp (Tabel 5) pada kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D didapatkan hasil kerapatan pada perlakuan T1 dan T4 yakni 17 stomata.mm<sup>-2</sup>. Serta perlakuan T3 memiliki hasil lebih renggang sebesar 12 stomata.mm<sup>-2</sup>. Sedangkan pada perlakuan lainnya yakni T2, T5, dan T6 tidak didapatkan hasil karena eksplan yang masih belum memunculkan daun hingga akhir pengamatan (8 msp).

#### 4.1.6 Jaringan Pembuluh Angkut Eksplan Temulawak

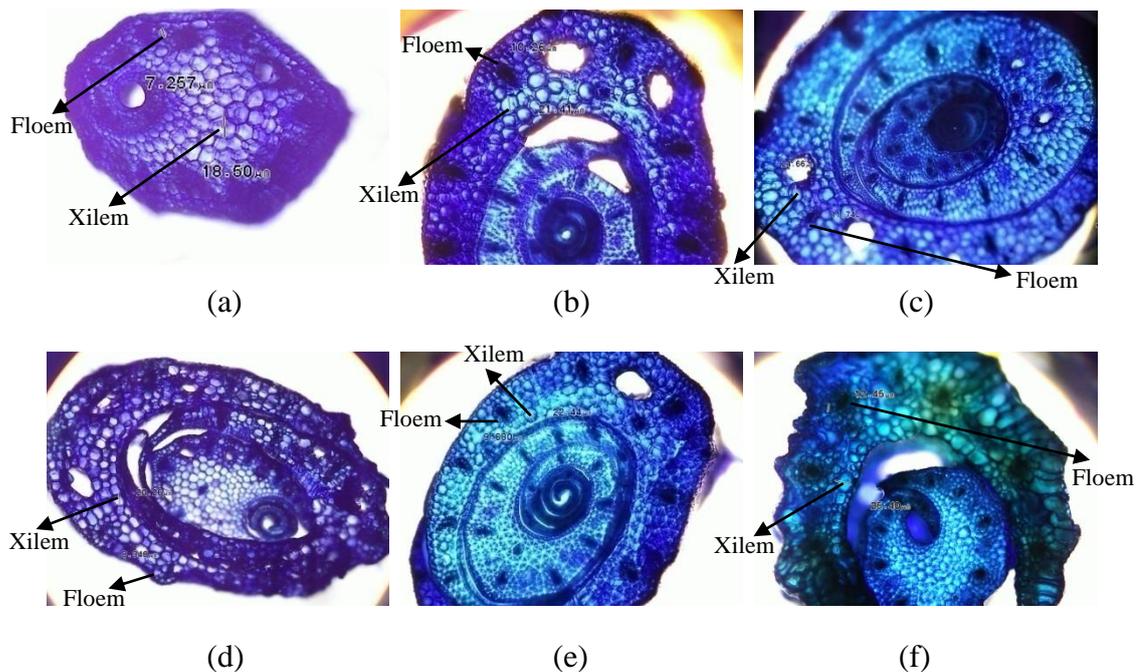
Pengamatan jaringan pembuluh eksplan temulawak diamati dengan mengambil batang yang dipotong tipis dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 40X. Berdasarkan pengamatan menggunakan mikroskop, kombinasi perlakuan klon dan konsentrasi 2,4-D menunjukkan hasil pengukuran diameter jaringan pembuluh yakni xilem dan floem yang beragam pada masing-masing perlakuan.

Tabel 6. Diameter Jaringan Pembuluh Angkut Eksplan Temulawak pada 8 Minggu Setelah Perlakuan

Perlakuan	Diameter Xilem (µm)	Diameter Floem (µm)
T1	18,50	7,26
T2	21,41	10,26
T3	24,66	11,74
T4	20,26	8,35
T5	22,44	9,68
T6	25,40	12,45

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm.

Berdasarkan hasil pengamatan diameter xilem eksplan temulawak 8 msp (Tabel 6) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D didapatkan hasil yang beragam. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin besar diameter xilem pada masing-masing klon. Perlakuan T6 merupakan perlakuan dengan diameter xilem terbesar yakni sebesar 25,40  $\mu\text{m}$  sedangkan perlakuan T1 memiliki diameter xilem terkecil yakni 18,50.



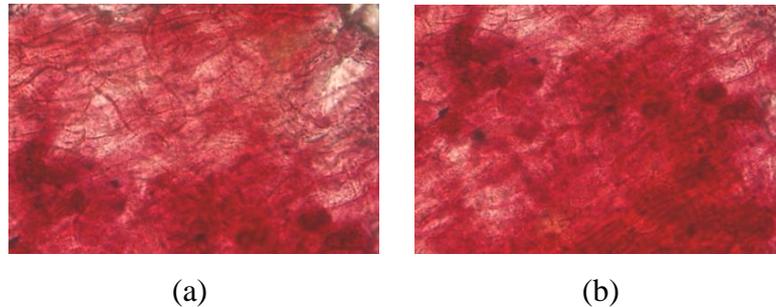
Gambar 4. Jaringan pembuluh angkut eksplan temulawak (a) T1 (UB2 kontrol), (b) T2 (UB2 2,4-D 1 ppm), (c) T3 (UB2 2,4-D 2 ppm), (d) T4 (UB3 kontrol), (e) T5 (UB3 2,4-D 1 ppm), (f) T6 (UB3 2,4-D 2 ppm)

Hasil pengamatan diameter floem eksplan temulawak 8 msp (Tabel 6) pada kombinasi perlakuan klon temulawak dan konsentrasi 2,4-D didapatkan hasil yang beragam. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin besar diameter floem pada masing-masing klon. Perlakuan T6 merupakan perlakuan dengan diameter floem terbesar yakni sebesar 12,45  $\mu\text{m}$  sedangkan perlakuan T1 memiliki diameter xilem terkecil yakni 7,26.

#### 4.1.7 Pendugaan Kromosom

Pengamatan pendugaan kromosom eksplan temulawak diamati dengan mengambil akar yang muncul dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 1000X. Berdasarkan pengamatan menggunakan mikroskop, kombinasi perlakuan

klon dan konsentrasi 2,4-D menekan pertumbuhan eksplan temulawak pada masing-masing klon. Sehingga pada perlakuan dengan penambahan 2,4-D tidak terdapat akar yang muncul hingga akhir pengamatan yang digunakan sebagai bahan pengamatan kromosom. Sehingga hanya perlakuan T1 (UB2 kontrol) dan T4 (UB3 kontrol) yang dapat diamati kromosomnya (Gambar 5).

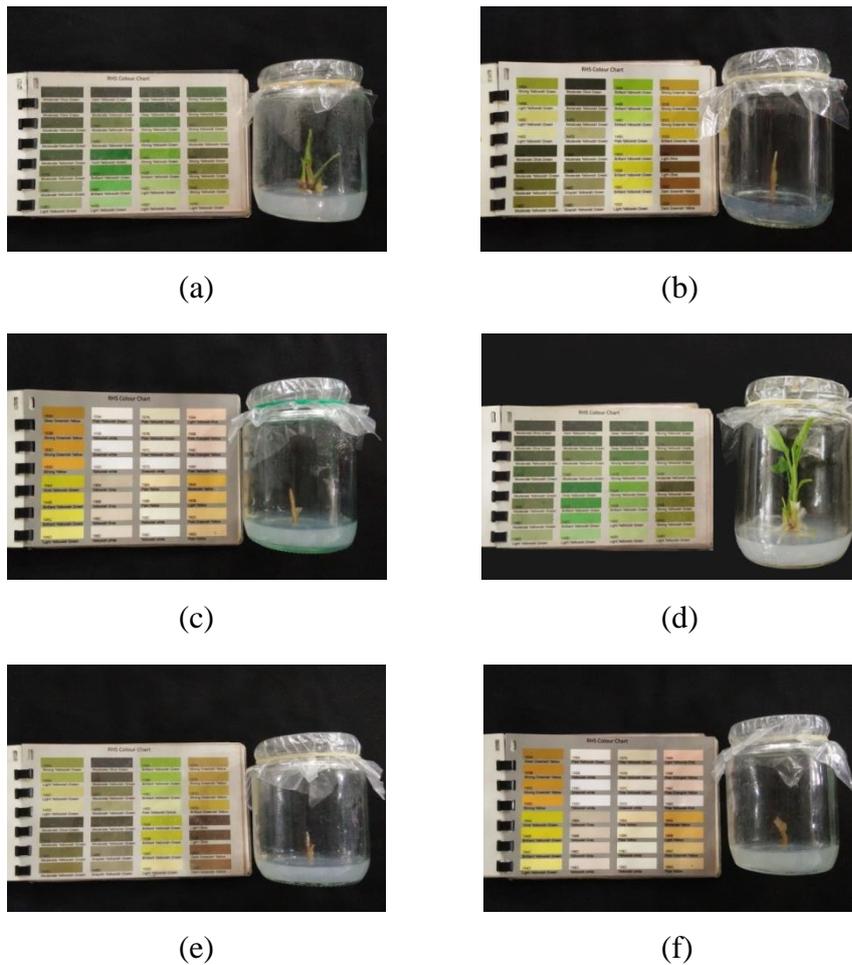


Gambar 5. Pengamatan kromosom eksplan temulawak, tetapi sel-sel yang mengalami mitosis tidak ditemukan (a) T1 (UB2 kontrol) dan (b) T4 (UB3 kontrol)

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa pada semua perlakuan hanya terlihat lapisan sel-sel kromosom yang terdapat pada ujung akar, namun sel-sel yang mengalami mitosis tidak ditemukan. Dengan tidak ditemukannya sel yang mengalami mitosis, maka perhitungan jumlah kromosom tidak berhasil dilakukan.

#### 4.1.8 Warna Eksplan Temulawak setelah Perlakuan

Berdasarkan pengamatan menggunakan *Color Chart Royal Horticultural Society* (RHS) diketahui bahwa eksplan temulawak pada masing-masing perlakuan mengalami perbedaan warna (Tabel 5). Warna eksplan dengan perlakuan 2,4-D memiliki warna yang lebih pucat dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Eksplan bagian atas menunjukkan warna cenderung kuning sampai kehijauan yang lebih terang-pucat dibandingkan dengan eksplan bagian bawah seperti yang terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Warna eksplan temulawak (a) T1 (UB2 kontrol), (b) T2 (UB2 2,4-D 1 ppm), (c) T3 (UB2 2,4-D 2 ppm), (d) T4 (UB3 kontrol), (e) T5 (UB3 2,4-D 1 ppm), (f) T6 (UB3 2,4-D 2 ppm)

Perlakuan T1 memiliki warna eksplan hijau kekuningan cemerlang – hijau kekuningan terang, T2 memiliki warna eksplan hijau kekuningan terang – kuning kehijauan gelap, T3 memiliki warna eksplan kuning – sangat kuning kehijauan, T4 memiliki warna eksplan hijau kekuningan terang – hijau kekuningan kuat, T5 memiliki warna eksplan kuning kehijauan cemerlang – kuning kehijauan gelap dan T6 memiliki warna eksplan kuning– kuning kehijauan gelap.

Tabel 7. Warna Eksplan Temulawak pada 8 Minggu Setelah Perlakuan

Perlakuan	Atas	Bawah
T1	142 B (Brilliant Yellowish Green)	144 D (Light Yellowish Green)
T2	150 D (Light Yellowish Green)	152 D (Dark Greenish Yellow)
T3	160 A (Moderate Yellow)	153 A (Deep Greenish Yellow)
T4	144 D (Light Yellowish Green)	141 C (Strong Yellowish Green)
T5	151 D (Brilliant Greenish Yellow)	152 D (Dark Greenish Yellow)
T6	160 A (Moderate Yellow)	153 A (Deep Greenish Yellow)

Keterangan : T1 = klon Jember (UB2) tanpa perlakuan; T2 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T3 = klon Jember (UB2) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm; T4 = klon Pasuruan (UB3) tanpa perlakuan; T5 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 1 ppm; T6 = klon Pasuruan (UB3) dengan perlakuan 2,4-D 2 ppm ; Atas = eksplan bagian atas; Bawah = eksplan bagian bawah.

#### 4.1.9 Keragaman dan Heritabilitas

Berdasarkan perhitungan dengan rumus keragaman dan heritabilitas pada masing-masing parameter pengamatan pada minggu terakhir pengamatan (8 msp) diketahui hasil pada (Tabel 7).

Tabel 8. Keragaman dan Heritabilitas

Parameter	$\sigma^2g$	$\sigma^2e$	$\sigma^2p$	KKG	Ket	KKF	Ket	$h^2$	Ket
Tinggi Tanaman	2,98	0,21	3,05	11%	Rendah	11%	Rendah	0,98	Tinggi
Jumlah Akar	1,22	0,01	1,22	6%	Rendah	6%	Rendah	1,00	Tinggi
Jumlah Daun	0,24	0,02	0,25	3%	Rendah	3%	Rendah	0,97	Tinggi
Jumlah Tunas	0,16	0,03	0,17	3%	Rendah	3%	Rendah	0,94	Tinggi

Keterangan:  $\sigma^2g$  = ragam genotip;  $\sigma^2e$  = ragam lingkungan;  $\sigma^2p$  = ragam fenotip; KKG = koefisien keragaman genetik; KKF = koefisien keragaman fenotip;  $h^2$  = heritabilitas.

Koefisien keragaman genetik (KKG) dan koefisien keragaman fenotip (KKF) menunjukkan nilai yang rendah pada semua parameter pengamatan. Nilai KKG dan KKF berkisaran antara 3-11%. Nilai KKG dan KKF temulawak UB2 dan UB3 berada dibawah 25% yang termasuk dalam kategori rendah. Sehingga didapatkan KKG dan KKF yang sempit (keragaman bernilai rendah) pada semua karakter. Nilai KKG tertinggi terdapat pada parameter tinggi tanaman dan terendah terdapat pada parameter jumlah daun dan jumlah tunas. Serta nilai KKF tertinggi terdapat pada parameter tinggi tanaman dan terendah terdapat pada jumlah tunas.

Heritabilitas pada temulawak UB2 dan UB3 menunjukkan nilai yang tinggi pada seluruh parameter pengamatan. Nilai heritabilitas berkisar antara 0,94-1,00 yang termasuk dalam kategori tinggi. Nilai heritabilitas tertinggi terdapat pada parameter jumlah akar dan terendah terdapat pada parameter jumlah tunas.

## **4.2 Pembahasan**

### **4.2.1 Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Morfologi Eksplan Temulawak**

Pemberian berbagai konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) pada eksplan temulawak klon Jember (UB2) dan Pasuruan (UB3) bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi yang tepat untuk meningkatkan keragaman pertumbuhan dan jumlah kromosom. 2,4-D merupakan salah satu auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* (Zulkarnain, 2009). 2,4-D secara eksogen akan mempengaruhi kadar auksin endogen, pemberian ZPT pada konsentrasi tertentu akan menstimulasi pertumbuhan, karena merubah level hormon endogen (Wattimena, 2001 *dalam* Lestari, Nurhidayati, dan Nurfadilah, 2013). Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa pemberian 2,4-D pada semua konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman temulawak klon UB2 dan UB3. Pengaruh pemberian 2,4-D menekan pertumbuhan temulawak baik UB2 maupun UB3. Hal ini dapat dilihat dari hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa pertumbuhan eksplan temulawak klon Jember (UB2) dan Pasuruan (UB3) dengan perbedaan pemberian konsentrasi 2,4-D (0, 1, dan 2 ppm) mampu menekan pertumbuhan temulawak kedua klon. Eksplan temulawak UB2 dan UB3 dengan perlakuan 2,4-D baik 1 maupun 2 ppm mengalami penghambatan pertumbuhan.

Berdasarkan hasil pengamatan tinggi eksplan didapatkan hasil tertinggi pada perlakuan kontrol tanaman temulawak UB2 (T1) dan UB3 (T4) dibandingkan perlakuan lain dengan penambahan 2,4-D 1 dan 2 ppm pada kedua klon temulawak. Hal ini dapat dilihat pada hasil bahwa temulawak UB3 kontrol menghasilkan tinggi eksplan tertinggi. Sedangkan pada perlakuan 2,4-D 1 dan 2 ppm baik temulawak UB2 dan UB3 terjadi penghambatan pertumbuhan. Menurut Abidin (1983) 2,4-D mampu memicu senyawa etilen secara berlebih. Salah satu fungsi etilen adalah menghambat perpanjangan batang dan akar (Wereing dan

Phillips, 1970 *dalam* Abidin, 1983). Sehingga adanya senyawa etilen yang berlebih pada perlakuan 2,4-D konsentrasi 1 dan 2 ppm menghambat pertumbuhan tinggi eksplan temulawak pada kedua klon.

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah daun (tabel 2) didapatkan hasil bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D menghambat pembentukan daun. Hingga minggu ke 8 setelah perlakuan (Tabel 3), hanya eksplan temulawak UB2 dan UB3 tanpa penambahan 2,4-D dan UB2 dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 2 ppm yang mampu memunculkan daun namun pada perlakuan lain belum memunculkan daun pada kedua klon. Hasil penelitian Andaryani (2010) pada penelitian jarak pagar diketahui bahwa hanya pada perlakuan BAP 1 ppm dan BAP 1,5 ppm tanpa penambahan 2,4-D yang mampu memunculkan akar. Hal ini diduga karena eksplan mengalami dediferensiasi akibat 2,4-D. Menurut Yusnita (2004) *dalam* Andaryani, sel-sel tanaman pada tahap induksi akan mengalami dediferensiasi yang merupakan proses perubahan sel-sel eksplan yang sebelumnya sudah terspesialisasi untuk membentuk organ-organ tanaman seperti akar dan daun atau tunas menjadi tidak lagi terspesialisasi. Sedangkan pada pemberian 2,4-D 2 ppm pada temulawak UB2 (Jember) mampu memunculkan daun dibandingkan perlakuan lainnya, hal ini karena karakter temulawak UB2 yang lebih adaptif pada media tanam. Berdasarkan penelitian Wardiyati (2012) disebutkan bahwa temulawak UB2 lebih adaptif apabila ditanam pada lingkungan yang tepat. Sedangkan temulawak UB3 merupakan klon yang paling stabil pada lingkungan yang berbeda.

Hasil pengamatan jumlah tunas didapatkan bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D menghambat pembentukan tunas. Hingga minggu ke 8 setelah perlakuan (Tabel 3), eksplan dengan pemberian 2,4-D 1 dan 2 ppm, belum memunculkan tunas pada kedua klon. Terhambatnya kemunculan tunas merupakan salah satu akibat dari perlakuan 2,4-D yang mampu memicu senyawa etilen sehingga mengakibatkan terhambatnya tunas pada penambahan 2,4-D konsentrasi 1 dan 2 ppm. Pierik (1997) menganjurkan untuk membatasi penggunaan 2,4-D pada kultur *in vitro* karena meningkatkan kemungkinan terjadi mutasi genetik serta menghambat fotosintesis tanaman. Hal ini didukung pula dengan pernyataan Hariyanti *et al.* (2004) *dalam* Andaryani (2010) bahwa

meningkatnya pemberian auksin eksogen, maka semakin meningkat pula pengaruh hambatannya terhadap waktu pembentukan tunas.

Hasil pengamatan jumlah akar (tabel 4) didapatkan hasil bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D menghambat pembentukan akar. Kombinasi perlakuan klon temulawak tanpa 2,4-D yang mampu menumbuhkan akar sedangkan perlakuan lainnya dengan pemberian 2,4-D 1 dan 2 ppm tidak mampu memunculkan akar hingga akhir pengamatan (8 msp). Hal ini juga dapat dilihat pada penelitian Andaryani (2010) bahwa hanya eksplan jarak pagar dengan perlakuan tanpa 2,4-D dengan penambahan BAP 1 ppm yang mampu menumbuhkan akar. Menurut Abidin (1983) 2,4-D sebagai auksin sintesis mampu memicu senyawa etilen yang menghambat perpanjangan batang dan akar (Wereing dan Phillips, 1970 *dalam* Abidin, 1983). Sehingga adanya senyawa etilen yang berlebih pada perlakuan 2,4-D konsentrasi 1 dan 2 ppm menghambat pertumbuhan akar eksplan temulawak pada kedua klon.

Perhitungan koefisien keragaman genetik dan koefisien keragaman fenotipe pada penelitian ini didapatkan hasil yang rendah pada semua parameter pengamatan baik tinggi eksplan, jumlah akar, jumlah daun, serta jumlah tunas yang dihitung pada 8 msp. Nilai koefisien keragaman genetik dan koefisien keragaman fenotipe yang didapatkan berkisar antara 3-11%. Hal ini menunjukkan bahwa koefisien keragaman genetik dan koefisien keragaman fenotipe yang rendah karena berada  $\leq 25\%$ . Nilai KKG dan KKF rendah menunjukkan karakter yang diamati memiliki keragaman yang sempit dan penampilan yang seragam (Sari, Damanhuri, dan Respatijarti, 2014). Sehingga pada penelitian ini didapatkan bahwa KKG dan KKF yang rendah pada temulawak UB2 dan UB3 yang menunjukkan keragaman yang sempit serta penampilan yang seragam.

Berbanding terbalik dengan nilai KKG dan KKF yang rendah, nilai heritabilitas pada penelitian ini masuk dalam kategori tinggi karena memiliki nilai yang tinggi yakni sekitar 0,94-1,00. Elrod dan Stansfield (2002) menyebutkan kriteria nilai duga heritabilitas dalam arti luas adalah tinggi ( $h^2 \geq 0,50$ ), sedang ( $0,20 \leq h^2 < 0,50$ ), dan rendah ( $h^2 < 0,20$ ). Karakter yang mempunyai nilai heritabilitas tinggi menunjukkan bahwa faktor genetik tanaman lebih dominan terhadap karakter yang ditampilkan tanaman karena faktor genetiknya memberi

sumbangan yang lebih besar daripada faktor lingkungan dan seleksi terhadap karakter ini dapat dimulai pada generasi awal (Rachmadi *et al.* (1990) *dalam* Wicaksana (2001) *dalam* Lestari dan Nugraha (2007)). Sesuai dengan pernyataan ini, maka didapatkan hasil bahwa faktor genetik pada penelitian ini lebih dominan terhadap penampilan karakter tanaman dibandingkan dengan faktor lingkungannya.

Pemberian 2,4-D juga mempengaruhi warna eksplan temulawak pada kedua klon. Warna yang didapatkan cenderung lebih pucat dibandingkan dengan perlakuan kontrol UB2 dan UB3. Warna eksplan yang dihasilkan cenderung memiliki warna lebih kuning. Hal ini merupakan akibat dari adanya efek *senescence* dari penambahan auksin, yakni mempengaruhi perubahan pigmentasi warna hijau berubah menjadi warna kuning (Abidin, 1983). *Senescence* yang dialami oleh temulawak UB2 dan UB3 perlakuan 2,4-D 1 dan 2 ppm dialami oleh seluruh organ tumbuh, sehingga warna eksplan cenderung berwarna kekuningan hingga kecoklatan (*browning*). Warna kecoklatan (*browning*) merupakan akibat adanya metabolisme senyawa fenol bersifat toksik, yang sering terangsang akibat proses sterilisasi eksplan, yang menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian jaringan (Yusnita (2004) *dalam* Andaryani (2010)).

#### **4.2.2 Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Terhadap Anatomi Eksplan Temulawak**

Berdasarkan hasil pengamatan diameter stomata didapatkan hasil bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D meningkatkan besar diameter stomata. Hal ini dapat terlihat pada hasil pengamatan (Tabel 5) bahwa diameter stomata temulawak UB2 dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 2 ppm lebih besar yakni sebesar 67,77  $\mu\text{m}$  dibandingkan UB2 dan UB3 tanpa perlakuan (kontrol) memiliki diameter yang lebih kecil yakni sebesar 47,46  $\mu\text{m}$  dan 41,70  $\mu\text{m}$ . Sedangkan pada perlakuan lainnya tidak memunculkan daun sehingga tidak dapat dilakukan pengamatan stomata. Pada hasil ini, temulawak UB2 dengan penambahan 2,4-D 2 ppm yang diharapkan telah terjadi poliploidisasi memiliki diameter stomata yang lebih lebar dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

Serta pada pengamatan diameter xilem dan floem juga didapatkan hasil bahwa semakin meningkatnya pemberian konsentrasi 2,4-D maka semakin

meningkat pula diameter xilem dan floem pada kedua klon temulawak. Diameter xilem terbesar terdapat pada perlakuan T6 (UB3 dengan penambahan 2,4-D 2 ppm) yakni sebesar 25,40  $\mu\text{m}$  sedangkan perlakuan T1 (UB2 kontrol) memiliki diameter xilem terkecil sebesar 18,50  $\mu\text{m}$ . Serta pada pengamatan diameter floem, perlakuan T6 (UB3 dengan penambahan 2,4-D 2 ppm) memiliki diameter terbesar yakni 12,45  $\mu\text{m}$  serta T1 (UB2 kontrol) memiliki diameter floem terkecil yakni 7,26  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan hasil ini, temulawak kedua klon dengan penambahan 2,4-D 2 ppm yang diharapkan telah terjadi poliploidisasi memiliki diameter xilem dan floem yang lebih lebar dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan 2,4-D. Hal ini sesuai dengan Suryo (2007) bahwa tanaman poliploid yang memiliki jumlah kromosom lebih banyak dibandingkan tanaman diploid, yang menyebabkan bagian-bagian tanaman menjadi lebih kekar, sel-sel semakin besar, inti sel juga lebih besar, pembuluh pengangkut berdiameter lebih besar, serta stomata yang lebih besar.

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah stomata didapatkan hasil bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D menghambat pembentukan daun juga menghambat terbentuknya stomata. Hal ini dapat terlihat pada hasil pengamatan (Tabel 5) bahwa jumlah stomata temulawak UB2 dan UB3 kontrol memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan UB2 dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 2 ppm. Sedangkan pada perlakuan lainnya tidak memunculkan daun sehingga tidak dapat dilakukan pengamatan stomata. Hasil pengamatan kerapatan stomata didapatkan hasil bahwa pemberian auksin eksogen 2,4-D meningkatkan besar kerapatan stomata. Hal ini dapat terlihat pada hasil pengamatan (Tabel 5) bahwa kerapatan stomata temulawak UB2 dengan pemberian konsentrasi 2,4-D 2 ppm lebih renggang dibandingkan UB2 dan UB3 kontrol memiliki diameter yang lebih rapat. Sedangkan pada perlakuan lainnya tidak memunculkan daun sehingga tidak dapat dilakukan pengamatan stomata. Penjelasan sebelumnya menyebutkan bahwa tanaman poliploid memiliki ukuran sel yang lebih besar dibandingkan tanaman diploid, termasuk diameter stomatanya. Ukuran diameter stomata ini mempengaruhi jumlah dan kerapatan stomata. Semakin besar diameter stomata maka jumlah stomata juga akan semakin berkurang sehingga menyebabkan kerapatannya pun juga semakin renggang apabila dibandingkan dengan tanaman

diploid. Menurut Dewi, Kriswiyanti, dan Sutara (2015) ukuran stomata mempengaruhi densitas stomata, semakin besar ukuran stomata maka nilai densitasnya akan semakin kecil, demikian juga sebaliknya.

Berdasarkan pengamatan kromosom menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000X, kombinasi perlakuan klon temulawak dengan konsentrasi 2,4-D mampu menekan pertumbuhan akar eksplan temulawak pada masing-masing klon. Sehingga pada perlakuan dengan penambahan 2,4-D tidak terdapat akar yang muncul hingga akhir pengamatan yang digunakan sebagai bahan pengamatan kromosom. Sehingga hanya perlakuan T1 (UB2 kontrol) dan T4 (UB3 kontrol) yang dapat diamati kromosomnya. Berdasarkan metode pengamatan terhadap jumlah kromosom pada akar eksplan temulawak yang terbentuk pada masing-masing perlakuan sulit untuk membentuk lapisan tipis untuk pengamatan kromosom temulawak. Sehingga menyebabkan perhitungan jumlah kromosom tidak berhasil dilakukan. Selain itu, ketidakberhasilan dalam menghitung jumlah kromosom dikarenakan oleh siklus mitotik masih dalam stadium istirahat (interfase) yang menyebabkan membrane inti tidak nampak jelas jika sebuah sel diamati dengan mikroskop cahaya (Suryo, 2007).

Perhitungan kromosom dapat dilakukan berdasarkan tahapan yang terjadi saat pembelahan sel secara mitosis yang meliputi tahapan profase, anaphase, metaphase, dan telofase. Ketidakberhasilan penghitungan jumlah kromosom tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pemilihan bahan yang akan diamati, waktu pemotongan eksplan yang akan diamati dan metode yang digunakan. Menurut Winarto (2011) tidak semua jenis akar yang dihasilkan pada kultur in vitro tunas menghasilkan pewarnaan yang optimal dan penghitungan jumlah kromosom yang tepat. Akibatnya proses fiksasi, maserasi sel hingga pewarnaan akar tidak berjalan dengan baik. Preparat tetap tebal dan sulit membentuk lapisan tipis saat ditekan sehingga fase-fase pembelahan mitosis tidak dapat terlihat secara jelas. Setiap tumbuhan memiliki jam biologi yang mengatur waktu optimum pembelahan mitosis (Johansen, 1940 dalam Setyawan dan Sutikno, 2000). Pada umumnya tumbuhan melakukan pembelahan sel pada pagi hari. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Setyawan dan Sutikno (2000) mengenai kariotype kromosom pada *Allium sativum* dan *Pisum sativum*, terdapat

kendala dalam menentukan waktu yang pembelahan sel yang tepat. Pemotongan akar untuk pengamatan kromosom pada *Allium sativum* dilakukan setiap 30 menit sekali dan dibuat preparat dengan metode squash semi permanen, diperoleh waktu pembelahan optimum jam 09.00. Pengamatan dilakukan pagi hari mulai jam 08.00-13.00. Sementara dilakukan prosedur yang sama pada *Pisum sativum*, namun karena tidak diperoleh waktu pembelahan optimum, maka prosedur ini diulangi lagi pada malam hari mulai jam 20.00-01.30 dan diperoleh waktu pembelahan optimum jam 22.00. Sehingga, pembelahan sel pada tiap jenis tanaman memiliki waktu optimum yang berbeda termasuk juga pada temulawak. Umur eksplan juga mempengaruhi keberhasilan pengamatan kromosom. Eksplan yang muda akan membentuk akar yang merupakan jaringan meristem memiliki kepekaan terhadap perpanjangan dan pembelahan sel (Netting, 2000 dalam Lapanjang *et al.*, 2008). Sehingga eksplan muda lebih baik digunakan sebagai bahan pengamatan jumlah kromosom dibandingkan eksplan tua.