4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1. Estimasi jumlah kromosom yang terindikasi mengalami penambahan

Kromosom yang didokumentasikan merupakan kromosom yang mengalami fase metafase dan memiliki sebaran baik, kromosom kemudian dihitung dan diestimasi jumlahnya. Estimasi jumlah kromosom yang terindikasi mengalami penambahan dijabarkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Estimasi Jumlah Kromosom yang Terindikasi Mengalami Penambahan

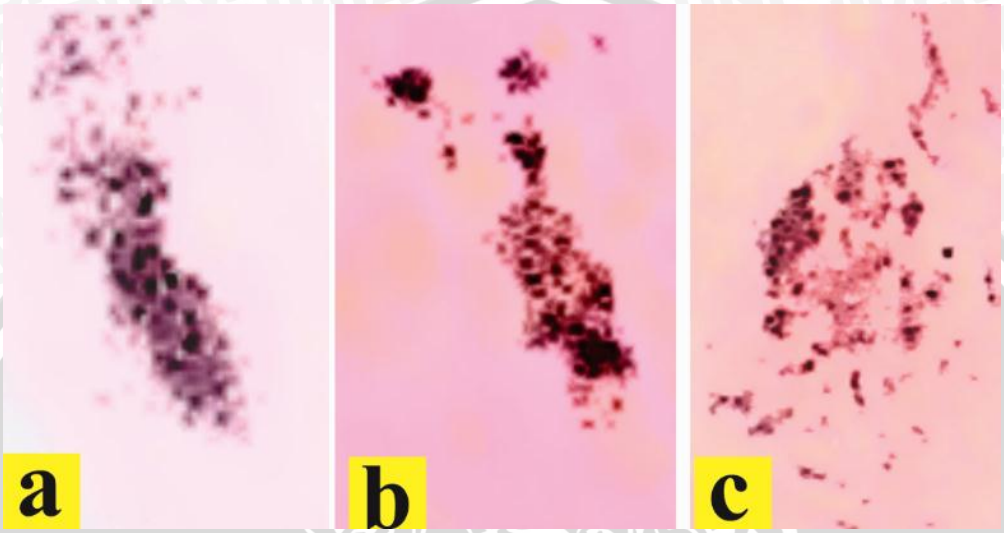
Perlakuan	Estimasi Jumlah Kromosom
UB_2D_0	3n= 53±10
UB_2D_1	-
UB_2D_2	3n= 63±1
UB_2D_3	3n= 84±13
UB_2D_4	-
UB_3D_0	3n= ±63
UB_3D_1	3n= 84±12
UB_3D_2	3n= 94±32
UB_3D_3	-
UB_3D_4	-

Keterangan: - = tidak diketahuinya jumlah kromosom karena keseluruhan eksplan yang diamati mengalami kematian

Berdasarkan Tabel 2 diketahui hanya beberapa kromosom yang dapat diamati dikarenakan terdapat beberapa sampel yang mengalami kematian sehingga jumlah kromosom tidak dapat diestimasi. Sampel yang mengalami kematian pada temulawak klon Jember (UB_2) yaitu perlakuan UB_2D_1 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 1 ppm) dan UB_2D_4 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 5 ppm). Sedangkan pada temulawak klon Pasuruan, eksplan yang mengalami kematian yaitu perlakuan UB_3D_3 (temulawak klon Pasuruan dengan 2,4-D 4 ppm) dan UB_3D_4 (temulawak klon Pasuruan dengan 2,4-D 5 ppm).

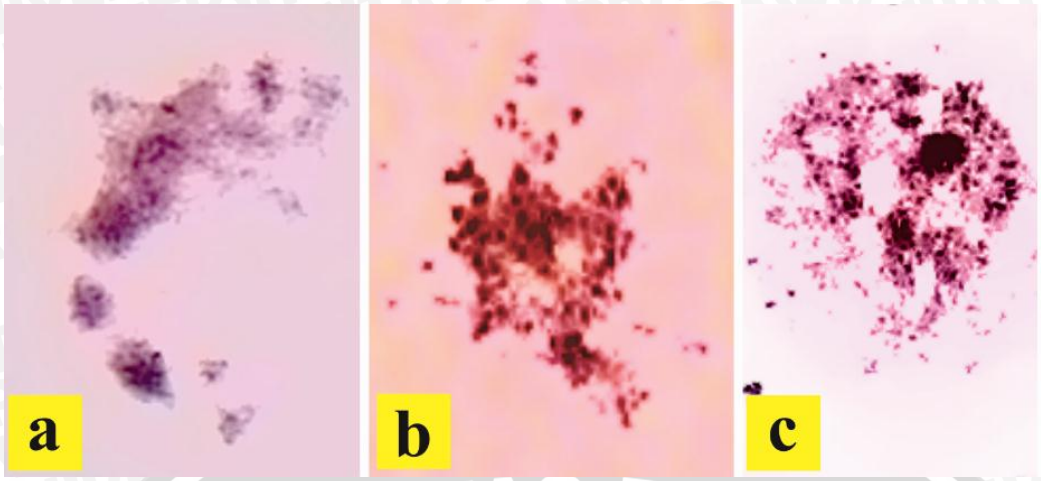
Jumlah kromosom yang telah didokumentasi kemudian dihitung dan diestimasi jumlahnya kemudian dicatat dengan format penulisan yaitu 3n= jumlah kromosom yang sebarannya jelas±jumlah kromosom yang kurang jelas atau diduga menumpuk. Penghitungan jumlah kromosom dilakukan dengan bantuan aplikasi Coreldraw X7 dengan cara membuat replika sebaran kromosom dari sampel yang diamati sesuai dengan hasil dokumentasi. Warna kromosom pada replika sebaran

kromosom (Lampiran 4) diberikan warna yang berbeda, dimana kromosom dengan warna hitam merupakan kromosom yang jelas pewarnaannya atau tidak menumpuk dan kromosom dengan warna putih merupakan kromosom yang kurang jelas atau diduga menumpuk. Hasil pengamatan jumlah kromosom ditampilkan pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 6. Kromosom Temulawak Klon Jember (keterangan: a) Kromosom perlakuan UB_2D_0 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 0 ppm), 3n= 53±10; b) Kromosom perlakuan UB_2D_2 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 2 ppm), 3n= 63±1; c) Kromosom perlakuan UB_2D_3 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 4 ppm), 3n= 84±13)

Hasil pengamatan terhadap kromosom temulawak klon Jember menunjukkan bahwa kromosom pada perlakuan UB_2D_0 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 0 ppm) memiliki jumlah 3n= 53±10 (Gambar 6a), sedangkan pada perlakuan UB_2D_2 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 2 ppm) memiliki kisaran jumlah kromosom 3n= 63±1 (Gambar 6b), dan perlakuan UB_2D_3 (temulawak klon Jember dengan 2,4-D 4 ppm) memiliki kisaran jumlah kromosom 3n= 84±13 (Gambar 6c). Temulawak klon Pasuruan perlakuan UB_3D_0 (temulawak klon Pasuruan dengan 2,4-D 0 ppm) menunjukkan hasil jumlah kromosom yang sama dengan perlakuan kontrol pada temulawak klon Jember yaitu 3n= ±63 (Gambar 7a), sedangkan pada perlakuan UB_3D_1 (temulawak klon Pasuruan dengan 2,4-D 1 ppm) diketahui kisaran jumlah kromosom yaitu 3n= 84±12 (Gambar 7b), dan pada perlakuan UB_3D_2 (temulawak klon Pasuruan dengan 2,4-D 2 ppm) memiliki kisaran kromosom berjumlah 3n= 94±32 (Gambar 7c).



Gambar 7. Kromosom Temulawak Klon Pasuruan (keterangan: a) Kromosom perlakuan UB_3D_0 (temulawak klon Pasuruan tanpa ZPT), 3n= ±63; b) Kromosom perlakuan UB_3D_1 (temulawak klon Pasuruan dengan BA 3 ppm + 2,4-D 1 ppm), 3n= 84±12; c) Kromosom perlakuan UB_3D_2 (temulawak klon Pasuruan dengan BA 3 ppm + 2,4-D 2 ppm), 3n= 94±32)

4.1.2. Panjang tunas eksplan temulawak pada fase induksi poliploid dan fase setelah induksi poliploid

Tinggi tunas temulawak diukur dari permukaan media hingga titik tumbuh tunas. Hasil analisis ragam menunjukkan tidak adanya interaksi yang nyata antara klon temulawak dengan 2,4-D dalam mempengaruhi tinggi tanaman setiap minggunya. Data rerata panjang tunas selama 28 hari induksi poliploid ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Panjang Tunas Temulawak pada Fase Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Panjang Tunas Temulawak (cm) pada Fase Induksi Poliploid (MSI)			
	1	2	3	4
Klon temulawak				
Jember (UB_2)	1,89 b	2,13 b	2,32 b	2,93
Pasuruan (UB_3)	1,62 a	1,84 a	1,93 a	2,10
BNT 5%	0,23	0,26	0,34	tn
Konsentrasi 2,4-D				
0 ppm (D_0)	2,81 b	3,63 b	4,02 b	4,43 b
1 ppm (D_1)	1,36 a	1,44 a	1,52 a	1,58 a
2 ppm (D_2)	1,63 a	1,72 a	1,79 a	1,83 a
4 ppm (D_3)	1,55 a	1,61 a	1,66 a	1,75 a
5 ppm (D_4)	1,42 a	1,52 a	1,59 a	1,63 a
BNT 5%	0,36	0,42	0,53	0,49

Keterangan: Bilangan yang didampingi notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; tn= tidak berbeda nyata; MSI = Minggu Setelah Induksi

Hasil pengamatan pada Tabel 3 secara terpisah menunjukkan bahwa hasil analisis ragam klon temulawak terhadap panjang tunas (Lampiran 5) pada umur 1-3 MSI menunjukan berbeda nyata dengan hasil panjang tunas tertinggi pada perlakuan temulawak klon Jember (UB_2) dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan temulawak klon Pasuruan (UB_3) berdasarkan uji BNT 5%. Sedangkan secara terpisah, berdasarkan hasil uji lanjut diketahui bahwa perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm)/kontrol berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain terhadap panjang tunas dan menunjukkan hasil panjang tunas tertinggi pada umur 1-4 MSI.

Penambahan panjang tunas temulawak yang diberi perlakuan kombinasi ZPT menunjukkan hasil yang lambat dibandingkan dengan perlakuan kontrol, oleh karena itu untuk mengetahui pertumbuhan eksplan setelah induksi poliploid dilakukan pengamatan panjang tunas yang dipindahkan dalam media MS dengan BA 5 ppm yang selanjutnya akan disebut fase setelah induksi poliploid. Pengamatan pada fase setelah induksi poliploid dilakukan selama 8 minggu sehingga didapatkan hasil pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Panjang Tunas Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Panjang Tunas Temulawak (cm) pada Fase Setelah Induksi Poliploid (MSI)							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Klon temulawak								
Jember (UB_2)	2,64 b	2,79	3,02	3,25	3,47	3,61 b	3,83	4,03
Pasuruan (UB_3)	2,22 a	2,43	2,62	2,79	2,99	3,08 a	3,26	3,41
BNT 5%	0,72	tn	tn	tn	tn	0,48	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D								
0 ppm (D_0)	5,23 b	5,91 b	6,75 b	7,59 b	8,43 b	8,83 b	9,59 b	10,21 b
1 ppm (D_1)	1,62 a	1,65 a	1,70 a	1,73 a	1,78 a	1,83 a	1,91 a	1,97 a
2 ppm (D_2)	1,85 a	1,92 a	1,98 a	2,04 a	2,08 a	2,13 a	2,17 a	2,27 a
4 ppm (D_3)	1,78 a	1,84 a	1,88 a	1,93 a	1,98 a	2,03 a	2,07 a	2,11 a
5 ppm (D_4)	1,68 a	1,74 a	1,78 a	1,82 a	1,88 a	1,91 a	1,98 a	2,05 a
BNT 5%	0,51	0,63	0,72	0,75	0,79	0,77	0,92	1,05

Keterangan: Bilangan yang didampingi notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; tn= tidak berbeda nyata; MSI = Minggu Setelah Induksi

Tetap tidak terjadi interaksi antara klon dengan 2,4-D dalam mempengaruhi panjang tunas pada fase setelah induksi poliploid (Lampiran 5). Hasil pengamatan pada Tabel 4 secara terpisah menunjukkan bahwa panjang terbaik diperoleh pada perlakuan temulawak klon Jember (UB_2) dan berbeda nyata dibandingkan dengan

perlakuan temulawak klon Pasuruan (UB_3), sedangkan pada perlakuan konsentrasi 2,4-D menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 0 ppm (D_0) menunjukkan hasil panjang tunas tertinggi dan berbeda nyata dari keseluruhan perlakuan.

Berdasarkan hasil pada Tabel 3 dan Tabel 4 diketahui bahwa secara terpisah panjang tunas yang mengalami penambahan terbaik setiap minggunya pada eksplan temulawak klon Jember (UB_2) untuk perlakuan faktor pertama dan perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/ kontrol) untuk perlakuan faktor ke dua. Penambahan panjang tunas jaga cenderung lambat pada perlakuan selain kontrol.

4.1.3. Jumlah tunas temulawak pada fase induksi poliploid dan fase setelah induksi poliploid

Pengamatan jumlah tunas temulawak dilakukan dengan menghitung jumlah tunas baru yang muncul dari pangkal tunas induk. Berdasarkan hasil analisis ragam terhadap jumlah tunas (Lampiran 6) diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang diberikan.

Tabel 5. Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid (MSI)			
	1	2	3	4
Klon temulawak				
Jember (UB_2)	0,03	0,07	0,10 a	0,13 a
Pasuruan (UB_3)	0,13	0,20	0,33 b	0,47 b
BNT 5%	tn	tn	0,11	0,13
Konsentrasi 2,4-D				
0 ppm (D_0)	0,17	0,33	0,75 b	1,00 b
1 ppm (D_1)	0,08	0,08	0,08 a	0,17 a
2 ppm (D_2)	0,17	0,17	0,17 a	0,25 a
4 ppm (D_3)	0,00	0,08	0,08 a	0,08 a
5 ppm (D_4)	0,00	0,00	0,00 a	0,00 a
BNT 5%	tn	tn	0,17	0,20

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Hasil pengamatan pada Tabel 5 secara terpisah menunjukkan bahwa analisis ragam yang menunjukkan hasil berbeda nyata hanya pada pada umur 3-4 MSI pada kedua faktor (Lampiran 6). Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% diperoleh jumlah tunas tertinggi pada perlakuan temulawak klon Pasuruan (UB_3) dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan temulawak klon Jember (UB_2). Sedangkan hasil uji lanjut perlakuan konsentrasi 2,4-D secara terpisah, menunjukkan bahwa

perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/ kontrol) berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain dan menunjukkan hasil penambahan jumlah tunas tertinggi pada umur 3-4 MSI.

Tabel 6. Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Tunas Eksplan Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid (MSI)							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Klon temulawak								
Jember (UB_2)	0,20 a	0,33 a	0,57 a	0,60 a	0,63 a	0,73 a	0,80	0,90
Pasuruan (UB_3)	0,50 b	0,77 b	0,90 b	1,00 b	1,03 b	1,10 b	1,13	1,17
BNT 5%	0,15	0,14	0,12	0,12	0,13	0,13	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D								
0 ppm (D_0)	1,25 b	2,25 b	3,17 b	3,50 b	3,67 b	4,08 b	4,33 b	4,67 b
1 ppm (D_1)	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a	0,17 a
2 ppm (D_2)	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a
4 ppm (D_3)	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,08 a
5 ppm (D_4)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
BNT 5%	0,23	0,22	0,20	0,19	0,20	0,21	0,24	0,26

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Berdasarkan hasil pengamatan selama 8 minggu pada eksplan temulawak yang dipindahkan dalam media MS dengan BA 5 ppm (Tabel 6), diketahui bahwa tetap tidak terjadi interaksi antara klon dengan 2,4-D dalam mempengaruhi jumlah tunas. Hasil pengamatan pada Tabel 6 secara terpisah menunjukkan hasil analisis ragam perlakuan klon temulawak terhadap jumlah tunas (Lampiran 6) saat fase setelah induksi poliploid yang berbeda nyata pada umur 5-10 MSI dengan jumlah tunas teringgi diperoleh perlakuan temulawak klon Pasuruan (UB_3) dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan temulawak klon Jember (UB_2). Sedangkan uji lanjut perlakuan konsentrasi 2,4-D secara terpisah menunjukkan bahwa perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/kontrol) menghasilkan jumlah tunas tertinggi dan berbeda nyata dari keseluruhan perlakuan.

Berdasarkan hasil pada Tabel 5 dan Tabel 6 diketahui bahwa secara terpisah jumlah tunas yang mengalami penambahan terbaik setiap minggunya yaitu eksplan temulawak klon Pasuruan (UB3) untuk perlakuan faktor pertama dan perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/ kontrol) untuk perlakuan faktor ke dua. Akan tetapi berdasarkan

kedua tabel tidak ditemukan adanya interaksi antara kedua faktor baik pada fase induksi poliploid maupun fase setelah insuksi poliploid dan penambahan jumlah tunas cenderung lambat dan bahkan tidak bertambah pada perlakuan selain kontrol.

4.1.4. Jumlah daun temulawak pada fase induksi poliploid dan fase setelah induksi poliploid

Daun temulawak yang diamati adalah daun temulawak yang telah membuka sempurna. Berdasarkan hasil pengamatan jumlah daun pada fase induksi poliploid diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang diberikan pada umur 2-3 MSI (Tabel 7) dan terjadi interaksi yang nyata pada saat umur 4 MSI (Tabel 8).

Tabel 7. Rerata Jumlah Daun Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Daun Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid (MSI)	
	2	3
Klon temulawak		
Jember (UB_2)	0,07	0,20
Pasuruan (UB_3)	0,03	0,17
BNT 5%	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D		
0 ppm (D_0)	0,25	0,92 b
1 ppm (D_1)	0,00	0,00 a
2 ppm (D_2)	0,00	0,00 a
4 ppm (D_3)	0,00	0,00 a
5 ppm (D_4)	0,00	0,00 a
BNT 5%	tn	0,10

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Hasil pengamatan pada Tabel 7 secara terpisah menunjukkan bahwa analisis ragam menunjukkan hasil berbeda nyata hanya pada pada umur 3 MSI untuk faktor konsentrasi 2,4-D (Lampiran 7). Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% diketahui bahwa penambahan jumlah daun tertinggi diperoleh pada perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/ kontrol) dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain pada umur 3 MSI. Sedangkan pada umur 4 MSI terjadi interaksi antara klon temulawak dengan perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D (Tabel 8).

Tabel 8. Rerata Jumlah Daun Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid pada umur 4 MSI

Perlakuan	Konsentrasi 2,4-D				
	D_0	D_1	D_2	D_3	D_4
Klon temulawak					
Jember (UB_2)	1,50 b	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Pasuruan (UB_3)	0,83 b	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
BNT 5%			0,13		

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar (√x+0,5) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Berdasarkan data pada Tabel 8 diketahui bahwa terjadi interaksi dan pengaruh nyata pada perlakuan klon temulawak dengan perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D, dimana pada temulawak klon Jember jumlah daun tertinggi diperoleh pada perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/kontrol) dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Serupa dengan data jumlah daun temulawak klon Pasuruan, dimana jumlah tertinggi diperoleh pada perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/kontrol) dan berbeda nyata dari perlakuan lainnya.

Tabel 9. Rerata Jumlah Daun Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Daun Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid (MSI)							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Klon temulawak								
Jember (UB_2)	0,37	0,53	0,90	1,00	1,47	1,73	2,10	2,23
Pasuruan (UB_3)	0,27	0,37	0,70	1,03	1,5	1,83	2,13	2,37
BNT 5%	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D								
0 ppm (D_0)	1,58 b	2,25 b	4,00 b	5,08 b	7,42 b	8,92 b	10,58 b	11,5 b
1 ppm (D_1)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
2 ppm (D_2)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
4 ppm (D_3)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
5 ppm (D_4)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
BNT 5%	0,14	0,13	0,15	0,25	0,40	0,46	0,53	0,57

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar (√x+0,5) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Berdasarkan hasil pengamatan selama 8 minggu pada eksplan temulawak yang dipindahkan dalam media MS dengan BA 5 ppm (Tabel 9), diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon dengan 2,4-D dalam mempengaruhi jumlah tunas selama fase setelah induksi poliploid. Hasil pengamatan pada Tabel 9 secara terpisah menunjukkan hasil analisis ragam terhadap jumlah daun (Lampiran 8) saat

fase setelah induksi poliploid yang berbeda nyata hanya pada perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D pada umur 5-12 MSI dan menunjukkan tidak nyata pada perlakuan klon temulawak pada umur yang sama. Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% secara terpisah terhadap perlakuan konsentrasi 2,4-D menunjukkan bahwa perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/kontrol) menunjukkan hasil jumlah tunas tertinggi dan berbeda nyata dari keseluruhan perlakuan.

Berdasarkan ketiga tabel (Tabel 7-Tabel 9) jika dilakukan perbandingan dapat diketahui bahwa interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D hanya terjadi pada fase induksi poliploid pada umur 4 MSI. Penambahan rerata jumlah daun eksplan temulawak setiap minggunya hanya terjadi pada perlakuan kontrol (klon temulawak dengan 2,4-D 0 ppm) pada masing-masing klon.

4.1.5. Jumlah akar temulawak pada fase induksi poliploid dan fase setelah induksi poliploid

Jumlah akar temulawak diamati dengan cara menghitung jumlah akar eksplan temulawak baik yang melekat pada media MS maupun yang muncul pada permukaan media. Jumlah akar yang diperoleh kemudian direrata sehingga diperoleh rerata jumlah akar pada Tabel 10 dan Tabel 11.

Tabel 10. Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid (MSI)		
	2	3	4
Klon temulawak			
Jember (UB_2)	0,03	0,20	0,33
Pasuruan ($UB_{3)}$)	0,10	0,27	0,50
BNT 5%	tn	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D			
0 ppm (D_0)	0,33 b	1,17 b	2,08 b
1 ppm (D_1)	0,00 a	0,00 a	0,00 a
2 ppm (D_2)	0,00 a	0,00 a	0,00 a
4 ppm (D_3)	0,00 a	0,00 a	0,00 a
5 ppm (D_4)	0,00 a	0,00 a	0,00 a
BNT 5%	0,11	0,24	0,26

Keterangan : Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli

Berdasarkan hasil pengamatan selama fase induksi poliploid, diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dalam mempengaruhi jumlah akar eksplan temulawak (Lampiran

8). Hasil pengamatan pada Tabel 10 secara terpisah menunjukkan bahwa perlakuan klon temulawak tidak berbeda nyata dalam mempengaruhi jumlah akar berdasarkan analisis ragam. Sedangkan Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% diketahui bahwa penambahan jumlah akar eksplan temulawak tertinggi diperoleh pada perlakuan D_0 (2,4-D 0 ppm/ kontrol) dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lain pada umur 2-4 MSI.

Tabel 11. Rerata Jumlah Akar Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid

Perlakuan	Rerata Jumlah Akar Eksplan Temulawak pada Fase Setelah Induksi Poliploid (MSI)							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Klon temulawak								
Jember (UB_2)	0,53	0,80	0,80	1,77	2,00	2,20	2,40	2,6
Pasuruan (UB_3)	0,77	1,33	1,83	2,43	2,87	3,07	3,23	3,5
BNT 5%	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D								
0 ppm (D_0)	3,17 b	4,75 b	6,00 b	9,08 b	10,42 b	11,42 b	12,17 b	13,33 b
1 ppm (D_1)	0,00 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,42 a	0,42 a	0,42 a	0,42 a
2 ppm (D_2)	0,00 a	0,25 a	0,25 a	0,50 a	0,67 a	0,67 a	0,83 a	0,83 a
4 ppm (D_3)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a
5 ppm (D_4)	0,08 a	0,08 a	0,08 a	0,42 a	0,42 a	0,42 a	0,42 a	0,42 a
BNT 5%	0,30	0,33	0,43	0,51	0,51	0,53	0,57	0,59

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data ditransformasi menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis

Berdasarkan hasil pengamatan selama 8 minggu pada eksplan temulawak yang dipindahkan dalam media MS dengan BA 5 ppm (Tabel 11), diketahui bahwa tetap tidak terjadi interaksi antara klon dengan 2,4-D dalam mempengaruhi jumlah akar. Hasil pengamatan pada Tabel 11 secara terpisah menunjukkan hasil analisis ragam terhadap jumlah akar (Lampiran 8) saat fase setelah induksi poliploid yang berbeda nyata hanya pada perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D pada umur 5-12 MSI. Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% secara terpisah terhadap perlakuan konsentrasi 2,4-D menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D 0 ppm (D_0) menunjukkan hasil jumlah akar tertinggi dan berbeda nyata dari keseluruhan perlakuan.

Berdasarkan perbandingan kedua tabel dapat diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dalam mempengaruhi jumlah akar eksplan temulawak dan juga diketahui bahwa secara terpisah penambahan rerata jumlah akar yang paling signifikan pada eksplan kedua

klon temulawak setiap minggunya terjadi pada perlakuan D_0 (konsentrasi 2,4-D 0 ppm/kontrol).

4.1.6. Warna eksplan tunas temulawak selama induksi poliploid

Perbedaan warna eksplan tunas temulawak pada masing-masing klon temulawak ditunjukkan pada Tabel 12.

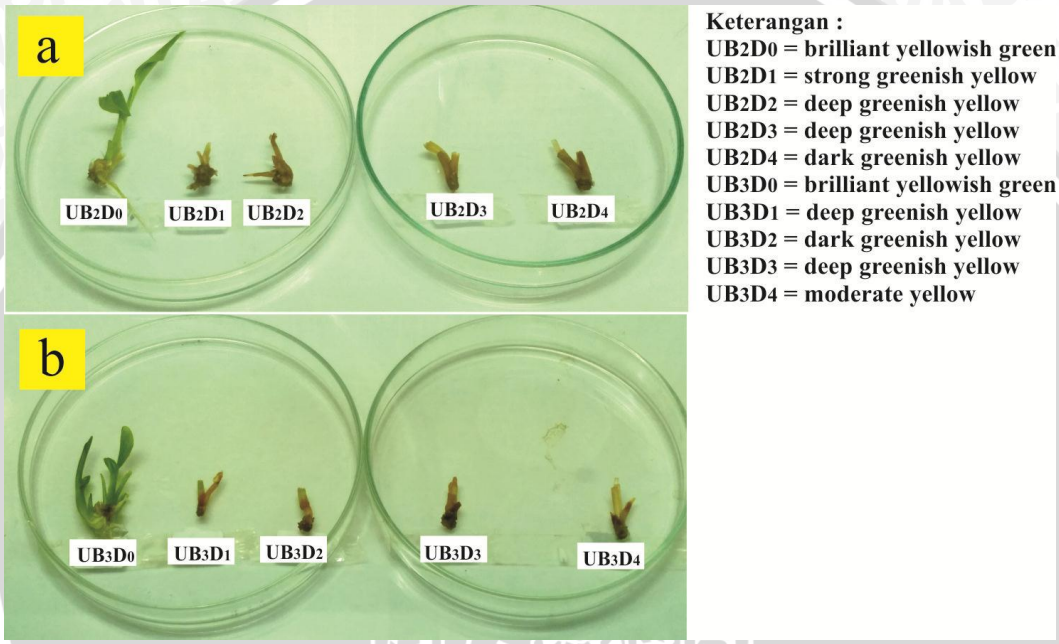
Tabel 12. Warna Eksplan dan Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid

Perlakuan	Warna Eksplan dan Eksplan Temulawak pada Fase Induksi Poliploid (MSI)			
	1	2	3	4
UB_2D_0	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green
UB_2D_1	Light yellowish green	Brilliant greenish yellow	Strong greenish yellow	Strong greenish yellow
UB_2D_2	Brilliant greenish yellow	Strong greenish yellow	Deep greenish yellow	Deep greenish yellow
UB_2D_3	Light yellowish green	Deep greenish yellow	Deep greenish yellow	Deep greenish yellow
UB_2D_4	Brilliant yellowish green	Light yellowish green	Strong greenish yellow	Dark greenish yellow
UB_3D_0	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green	Brilliant yellowish green
UB_3D_1	Strong greenish yellow	Strong greenish yellow	Strong greenish yellow	Deep greenish yellow
UB_3D_2	Brilliant greenish yellow	Strong greenish yellow	Strong greenish yellow	Dark greenish yellow
UB_3D_3	Brilliant yellowish green	Deep greenish yellow	Deep greenish yellow	Deep greenish yellow
UB_3D_4	Brilliant yellowish green	Strong greenish yellow	Moderate yellow	Moderate yellow

Keterangan : MSI = Minggu Setelah Induksi

Pengamatan warna eksplan tunas temulawak dilakukan setiap minggunya selama 4 minggu induksi poliploid dengan *Colour Chart* Royal Horticultural Society (RHS). Berdasarkan hasil pengamatan warna tunas temulawak selama induksi poliploid (Tabel 12) diketahui bahwa terjadi perubahan warna tunas pada eksplan yang diberi perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D. Respon perubahan warna eksplan untuk setiap perlakuan berbeda-beda setiap minggunya. Pada perlakuan kontrol (UB_2D_0 dan UB_3D_0) warna eksplan cenderung stabil dari awal induksi poliploid hingga akhir induksi poliploid. Sedangkan pada perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D terlihat perubahan warna eksplan hampir setiap minggunya. Warna eksplan awal sebelum induksi poliploid adalah warna hijau kekuningan terang (*brilliant yellowish green*) namun pada umur 1 MSI terdapat perlakuan yang menunjukkan perbedaan warna yaitu pada perlakuan UB_2D_1 (klon

Jember dengan 2,4-D 1 ppm + BA 3 ppm), UB_2D_3 (klon Jember 4 ppm + BA 3 ppm), dan UB_3D_1 (klon Pasuruan dengan 2,4-D 1 ppm + BA 3 ppm). Kemudian pada umur 2 MSI hingga 4 MSI diketahui bahwa warna eksplan pada seluruh perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D menghasilkan respon warna eksplan yang berbeda dari warna eksplan sebelum induksi poliploid. Kenampakan warna yang berbeda-beda sesuai dengan respon eksplan terhadap pemberian berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang berbeda-beda ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Perbandingan Warna Eksplan Tunas Temulawak (keterangan: a: Perbandingam warna eksplan masing-masing perlakuan temulawak klon Jember (UB_2); b: Perbandingan warna eksplan masing-masing perlakuan temulawak klon Pasuruan (UB_3))

Berdasarkan pengamatan menggunakan *color chart Royal Horticultural Society* (RHS) diketahui bahwa eksplan tunas temulawak yang diberi perlakuan dengan 2,4-D mengalami perubahan warna dibandingkan dengan perlakuan tanpa 2,4-D. Berdasarkan Gambar 8 diketahui bahwa warna eksplan yang diberi perlakuan dengan 2,4-D cenderung kehilangan warna hijau aslinya dan berubah menjadi berwarna kuning kecoklatan dan intensitas warna kuning kecoklatan tersebut cenderung berbeda pada masin-masing klon temulawak. Temulawak klon Jember (Gambar 8a) menunjukkan respon dimana semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan maka semakin berwarna hijau gelap eksplannya. Berbeda dari klon Jember, temulawak klon Pasuruan (Gambar 8b) menunjukkan bahwa semakin

tinggi taraf 2,4-D yang diberikan pada eksplan maka semakin kekuningan warna eksplannya.

4.1.7. Persentase eksplan yang membentuk kalus, rerata waktu inisiasi kalus dan warna kalus

Pengamatan persentase eksplan yang membentuk kalus dan warna kalus diamati pada tahap induksi setelah induksi poliploid selama 8 minggu. Hasil pengamatan persentase eksplan yang membentuk kalus dan waktu inisiasi kalus ditampilkan pada Tabel 13.

Tabel 13. Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus (%) dan Waktu Inisiasi Kalus (MSI) selama Fase Setelah Induksi Poliploid

Perlakuan	Persentase Eksplan yang Membentuk Kalus (%)	Waktu Insisasi Kalus (MSI)
Klon temulawak		
Jember (UB_2)	10,00	0,83
Pasuruan ($UB_{3)}$	23,33	1,77
BNT 5%	tn	tn
Konsentrasi 2,4-D		
0 ppm (D_0)	0,00 a	2,17
1 ppm (D_1)	25,00 a	3,08
2 ppm (D_2)	41,67 b	0,67
4 ppm (D_3)	8,33 a	0,58
5 ppm (D_4)	8,33 a	1,30
BNT 5%	0,85	tn

Keterangan: Bilangan yang didampingi dengan notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNT 5%; MSI = Minggu Setelah Induksi; tn = tidak berbeda nyata; Data persentase ekplan membentuk kalus ditransformasi menggunakan transformasi arcsin ($\sin^{-1}(\sqrt{x+0,5})$) dan data waktu inisiasi kalus menggunakan transformasi akar ($\sqrt{x+0,5}$) untuk keperluan analisis statistik; Data yang tersaji berikut merupakan data asli.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 13 diketahui bahwa subkultur eksplan ke dalam media MS BA 5 ppm berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus pada perlakuan perbedaan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D namun tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan konsentrasi 2,4-D yang diberikan (Lampiran 9). Secara terpisah berdasarkan hasil persentase eksplan yang membentuk kalus tertinggi diperoleh pada perlakuan D_2 (2,4-D 2 ppm) yaitu sebanyak 41,67% dan berpengaruh nyata terhadap keseluruhan perlakuan. Waktu inisiasi kalus yang muncul antar perlakuan juga berbeda, namun berdasarkan analisis ragam pengaruh antar perlakuan terhadap inisiasi kalus tidak berbeda nyata (Lampiran 10).

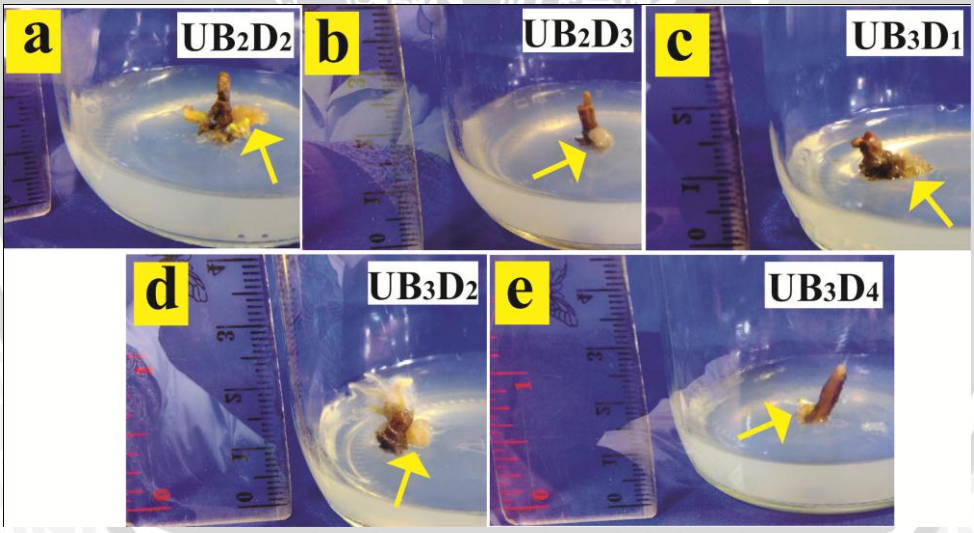
Pengamatan terhadap warna kalus juga dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap warna kalus yang muncul. Pengamatan warna kalus dilakukan pada akhir fase setelah induksi poliploid yaitu pada umur 12 MSI. Hasil pengamatan terhadap warna kalus ditampilkan pada Tabel 14.

Tabel 14. Warna Kalus pada Umur 12 MSI

Perlakuan	Warna Kalus pada Umur 12 MSI
UB_2D_0	-
UB_2D_1	-
UB_2D_2	Light yellowish green
UB_2D_3	Pale yellow
UB_2D_4	-
UB_3D_0	-
UB_3D_1	Light yellowish green
UB_3D_2	Light yellowish green
UB_3D_3	-
UB_3D_4	Light yellowish green

Keterangan: MSI = Minggu Setelah Induksi

Berdasarkan Tabel 14, diketahui bahwa warna kalus yang muncul cenderung sama yaitu berwarna hijau kekuningan terang kecuali pada perlakuan UB_2D_3 yang menunjukkan warna kuning pucat (Gambar 9). Dokumentasi terhadap eksplan yang tidak membentuk kalus dilampirkan pada Lampiran 11.



Gambar 9. Eksplan temulawak yang membentuk kalus (keterangan: a) Kalus perlakuan UB_2D_2 (temulawak klon Jember dengan BA 3 ppm + 2,4-D 2 ppm), b) Kalus perlakuan UB_2D_3 (temulawak klon Jember dengan BA 3 ppm + 2,4-D 4 ppm), c) Kalus perlakuan UB_3D_1 (temulawak klon Pasuruan dengan BA 3 ppm + 2,4-D 1 ppm), d) Kalus perlauan UB_3D_2 (temulawak klon Jember dengan BA 3 ppm + 2,4-D 2 ppm), e) Kalus perlakuan UB_3D_4 (temulawak klon Jember dengan BA 3 ppm + 2,4-D 5 ppm))

4.2. Pembahasan

4.2.1. Pengaruh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap jumlah kromosom temulawak

Teknik preparasi untuk pengamatan kromosom menetukan hasil citra kromosom yang diamati. Hal yang perlu diperhatikan sebelum dan saat preparasi diantaranya yaitu bahan yang digunakan, waktu fiksasi, dan metode squashing yang digunakan. Bahan yang digunakan sebagai objek pengamatan jumlah kromosom pada penelitian ini adalah ujung akar atau kalus yang berasal dari eksplan yang dikulturkan secara *in vitro* baik eksplan kontrol maupun eksplan perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian Winarto (2011) tehadap kromosom eksplan *Anthurium* menggunakan 3 sampel yang berasal dari 3 organ tanaman yang berbeda yaitu pada akar, kalus, dan pucuk tunas diperoleh hasil yang baik pada kromosom akar dan kalus namun diantara keduanya kromosom yang berasal dari akar yang memiliki citra paling jelas dengan persentase kromosom yang dapat dihitung sebanyak 30%.

Waktu fiksasi eksplan yang akan diamati juga perlu diperhatikan untuk mengoptimalkan munculnya tahap mitosis pada preparat yang diamati (Lestari, 2012; Daryono, Rahma, Purnomo, dan Sudarsono, 2012). Waktu fiksasi antara kedua klon temulawak yang diamati berbeda-beda, pada temulawak klon Jember waktu fiksasi yang baik berkisar pada pukul 09.00-10.30, sedangkan pada temulawak klon Pasuruan waktu fiksasi yang baik berkisar antara pukul 10.30-11.30. Perbedaan waktu yang berbeda antara kedua klon meskipun keduanya berasal dari spesies yang sama juga terjadi pada penelitian Daryono *et al*. (2012) terhadap kromosom tiga varietas jahe dimana meskipun berasal dari genus yang sama namun waktu mitosis masing-masing varietas jahe berbeda-beda.

Hasil dokumentasi kromosom yang terlampir (Gambar 6 dan Gambar 7) merupakan hasil pembelahan mitosis pada tahap metafase karena pada fase tersebut kromosom nampak lebih tebal (Suryo, 2007). Berdasarkan hasil perhitungan terhadap kromosom temulawak diketahui bahwa terjadi penambahan jumlah kromosom (ploidi) pada kedua klon temulawak yang diberi perlakuan kombinasi ZPT dibandingkan dengan kontrol. Jumlah kromosom yang bertambah pada perlakuan yang diberikan 2,4-D membuktikan bahwa selain berfungsi sebagai herbisida, 2,4-D terbukti mampu meningkatkan jumlah kromosom. Jumlah

kromosom temulawak kontrol (UB_2D_0 dan UB_3D_0) yang diamati telah sesuai dengan jumlah kromosom temulawak dalam pernyataan Syukur dan Sastrosumarjo (2015) yaitu 3n= 63. Berdasarkan hasil dokumentasi juga diketahui bahwa terdapat kecenderungan peningkatan jumlah kromosom seiring dengan peningkatan konsentrasi 2,4-D yang diberikan pada kedua klon tersebut, namun respon penambahan jumlah kromosom setiap klon temulawak berbeda terhadap perlakuan yang diberikan. Terdapat kendala dalam penghitungan kromosom dikarenakan tidak meratanya sebaran kromosom temulawak, sehingga kegiatan penghitungan kromosom menggunakan bantuan aplikasi sehingga diperoleh gambar sebaran kromosom seperti yang terlampir pada Lampiran 4.

Berdasarkan perhitungan estimasi jumlah kromosom kedua klon temulawak (Tabel 2) diketahui bahwa respon jumlah kromosom temulawak klon Jember (UB_2) yang baik yaitu pada pemberian 2,4-D dalam konsentrasi berkisar antara 2-4 ppm dengan hasil estimasi jumlah kromosom tertinggi pada perlakuan UB_2D_3 (klon Jember dengan 2,4-D 4 ppm + BA 3 ppm) dengan estimasi jumlah kromosom 3n= 84±13, sedangkan pada temulawak klon Pasuruan (UB_3) berkisar antara 1-2 ppm, dimana estimasi jumlah kromosom tertinggi pada perlakuan UB_3D_2 (klon Pasuruan dengan 2,4-D 2 ppm + BA 3 ppm) yaitu 3n= 94±32. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian terhadap *Artemisia cina* dimana konsentrasi 2,4-D 2 mg L^{-1} yang dikombinasikan dengan BA 1 mg L^{-1} mampu menambah jumlah kromosom *Artemisia cina* menjadi tetrapoloid, 2n=4x=36 (Herawati *et al*, 2015). Menurut Suryo (2007), salah satu kemungkinan terjadinya poliploidisasi pada tumbuhan yaitu dikarenakan sel-sel reproduktif tanaman mengalami pembelahan yang tidak teratur yang mengakibatkan kromosom tidak memisah secara sempurna saat anafase sehingga jumlah kromosom menjadi berlipat ganda.

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa 2,4-D dalam konsentrasi tertentu mampu memberikan pengaruh terhadap jumlah kromosom kedua klon temulawak yang diamati. Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) merupakan senyawa auksin sintetik yang memiliki fungsi sebagai mutagen kimia disamping fungsinya utamanya sebagai herbisida (anonymous[a], 2004; Enan, 2009; Kumar, 2010). 2,4-D dapat mempengaruhi jumlah kromosom karena salah satu mekanisme kerja 2,4-D dalam jaringan tanaman yaitu menghambat beberapa reaksi

kimia, mengikat enzim, dan menggangu reaksi enzim, dan mempengaruhi struktur DNA terutama adenin-guanin (Bukowska, 2005; Enan 2009). Perubahan struktur DNA dapat mempengaruhi kromosom karena pada dasarnya kromosom tersusun atas DNA (Suryo, 2007). Pengaruh lain dari 2,4-D terhadap kromosom tanaman yaitu dapat mengakibatkan penggumpalan kromosom sehingga kromosom terlihat berumpun, melekat satu sama lain, dan susah untuk menyebar contohnya pada kromosom bawang merah dalam penelitian Grant, 1978 (*dalam* Enan, 2009).

4.2.2. Pengaruh asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap pertumbuhan eksplan temulawak

Pemberian perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang tergolong tinggi pada penelitian ini bertujuan untuk mencari konsentrasi 2,4-D yang optimum namun tetap tidak mengganggu pertumbuhan atau menyebabkan kematian bagi eksplan. Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa tidak terjadi interaksi antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang diberikan terhadap parameter pertumbuhan yang diamati, namun secara terpisah pemberian berbagai taraf konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kedua klon temulawak. Berdasarkan hasil diketahui bahwa dari 10 perlakuan yang diamati hanya perlakuan kontrol (2,4-D 0 ppm) saja yang menunjukkan pertumbuhan yang baik sedangkan perlakuan yang diberi berbagai konsentrasi 2,4-D mengalami penghambatan pertumbuhan. Fakta tersebut membuktikan bahwa keseluruhan konsentrasi 2,4-D dalam perlakuan tergolong dalam konsentrasi tinggi sehingga tidak mampu mengoptimalkan pertumbuhan eksplan pada medium kultur dan bahkan memberikan efek herbisida yaitu menghambat pertumbuhan eksplan

Pengaruh 2,4-D sebagai herbisida sebagai penghambat pertumbuhan eksplan dibuktikan dari hasil pengamatan terhadap keseluruhan perlakuan diketahui bahwa perlakuan yang diberikan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D tidak dapat membentuk planlet baik pada fase induksi poliploid (1-4 MSI) maupun pada fase setelah induksi poliploid (5-12 MSI). Pada fase induksi poliploid hanya tinggi tunas dan jumlah tunas yang bertambah setiap minggunya, namun jumlah daun dan jumlah akar tidak. Sedangkan pada fase setelah induksi poliploid, tinggi tunas, jumlah tunas, dan jumlah akar mengalami penambahan namun tidak dengan jumlah daun. Penambahan jumlah akar yang hanya muncul pada fase setelah induksi poliploid

kemungkinan disebabkan oleh pengaruh 2,4-D yang lebih dominan dibandingkan BA saat inkubasi pada saat fase induksi poliploid sehingga terjadi penghambatan pembentukan akar. 2,4-D memberikan efek menghambat akar secara tidak langsung yaitu dengan memicu senyawa etilen secara berlebih dimana salah satu fungsi senyawa etilen tersebut yang mengakibatkan terhambatnya pemanjangan akar (Gardner *et al.*, 2008; Yoo, Cho, dan Sheen, 2009). Pengaruh 2,4-D dalam memicu senyawa etilen yang mampu mempengaruhi pemanjangan akar sejalan dengan hasil penelitian Anderson dan Brewer (1992) terhadap respon bunga matahari yang diberikan perlakuan berbagai taraf 2,4-D dan penelitian Alarcon, Lloret, dan Salguero (2014) terhadap akar jagung.

Perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang lebih terhambat pertumbuhannya dibandingkan dengan perlakuan kontrol (2,4-D 0 ppm) menandakan bahwa 2,4-D dalam konsentrasi tinggi terbukti memberikan efek toksik (herbisida) yang berpengaruh nyata terhadap kedua klon temulawak yang diamati. Fakta tersebut diduga dikarenakan auksin endogen dalam tunas temulawak cukup tinggi sehingga saat diberikan penambahan auksin eksogen justru menghambat pertumbuhan tunas tersebut (Gardner *et al.*, 2008). Tingginya auksin endogen pada eksplan juga dibuktikan dari jumlah akar temulawak kontrol (2,4-D 0 ppm) yang menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak meskipun tidak diberikan tambahan auksin eksogen pada media perbanyakan.

Selama inkubasi baik pada fase induksi poliploid dan setelah induksi poliploid, kedua klon temulawak menunjukkan respon pertumbuhan yang berbeda pada masing-masing parameter pengamatan pertumbuhan.Pada parameter pengamatan panjang tunas, temulawak klon Jember (UB_2) lebih unggul dari temulawak klon Pasuruan (Tabel 2-Tabel 3). Berbeda dengan parameter jumlah tunas, temulawak klon Pasuruan yang lebih unggul dibandingkan dengan temulawak klon Jember (UB_2) (Tabel 4-Tabel 5). Perbedaan respon pertumbuhan tersebut menandakan bahwa masing-masing klon temulawak memberikan respon pertumbuhan yang berbeda terhadap perlakuan yang diberikan meskipun kondisi perlakuan yang diberikan homogen karena faktor genotip juga turut mempengaruhi respon pertumbuhan masing-masing klon. Hasil pengamatan tersebut sejalan dengan hasil penelitian terdahulu dimana varietas tanaman (genotip) yang berbeda

dapat memberikan respon yang berbeda terhadap perlakuan yang diberikan (Muda *et al.*, 2004; Purnamaningsih, 2006; Basri, 2008).

2,4-D yang diaplikasikan pada media juga mempengaruhi perubahan warna eksplan temulawak pada fase induksi poliploid juga menjadi bukti bahwa 2,4-D yang digunakan memberikan efek herbisida (toksik). Terlihat pada Gambar 8, warna eksplan berbeda-beda pada masing-masing perlakuan baik pada klon Jember maupun klon Pasuruan. Perbedaan warna tersebut diduga merupakan respon eksplan terhadap pemberian 2,4-D dalam konsentrasi yang tinggi didukung dengan hasil penelitian sebelumnya terhadap kalus pada tanaman jarak pagar dan temulawak yang juga menunjukkan warna kuning kecoklatan setelah lama diinkubasi didalam media MS dengan konsentrasi 2,4-D yang tinggi (Lizawati, 2012; Waryastuti, 2015). Perubahan warna eksplan menjadi kecoklatan dikarenakan oleh adanya produksi etilen yang berlebih akibat respon pemberian 2,4-D didukung oleh pernyataan Gardner *et al.* (2008) dimana konsentrasi 2,4-D yang diberikan pada tanaman dapat meningkatkan kandungan etilen dalam jaringan sampai 50 kali lipat, dan apabila produksi etilen tinggi maka akan memacu terjadinya *senescence* yang dicirikan dengan terjadinya penurunan kemampuan tumbuh eksplan dan perubahan warna eksplan yang semula hijau menjadi kekuningan (Abidin, 1985).

Fase setelah induksi poliploid menunjukkan pertumbuhan yang lain selain parameter diatas yaitu pembentukan kalus. Tidak terjadi interaksi antara yang nyata antara klon temulawak dengan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D dalam mempengaruhi persentase kalus, namun secara terpisah perlakuan berbagai taraf konsentrasi 2,4-D yang diberikan berpengaruh nyata terhadap persentase kalus yang terbentuk. Kalus yang terbentuk pada fase tersebut hanya berasal dari perlakuan yang diberi perlakuan berbagai taraf 2,4-D saja dan tidak semua eksplan membentuk kalus. Berdasarkan hasil pengamataan dari 10 perlakuan diketahui hanya 5 perlakuan saja yang membentuk kalus dengan persentase pembentukan kalus yang paling tinggi sebesar 41,67% yaitu pada perlakuan D_2 (2,4-D 2 ppm) (Tabel 13). Menurut George (1993) kalus terbentuk sebagai wujud dari respon tanaman terhadap kombinasi ZPT yang diberikan dimana kombinasi ZPT untuk membentuk kalus pada monokotil yaitu konsentrasi auksin yang lebih tinggi

dibandingkan dengan sitokinin. Kalus yang terbentuk selama fase inkubasi setelah induksi poliploid merupakan indikasi bahwa terjadi akumulasi auksin yang tinggi didalam tanaman sehingga meskipun pada media tidak diberikan auksin, eksplan tetap dapat berkembang menjadi kalus. Pemberian 2,4-D pada fase sebelumnya yaitu fase induksi poliploid diduga menjadi salah satu pemicu terbentuknya kalus sebagai indikasi dari salah satu fungsi 2,4-D yaitu memacu terbentuknya kalus (Zulkarnain, 2011). Berdasarkan hasil penelitian Babu *et al.*, 1997 (*dalam* Ravindran *et al.*, 2007) pada tunas kunyit didapatkan hasil bahwa tunas yang ditumbuhkan pada media MS dengan 2,4-D 2 ppm menunjukkan hasil terbentuknya kalus.

Berdasarkan hasil dokumentasi terhadap eksplan temulawak yang membentuk kalus (Gambar 9), warna kalus yang dihasilkan juga berbeda. Warna kalus yang muncul pada beberapa perlakuan cenderung berwarna kuning kehijauan (*light yellowish green*) (Tabel 14). Menurut Fatmawati (2008), warna kalus merupakan indikasi kualitas kalus tersebut, semakin hijau kalus tersebut maka semakin bagus kualitasnya karena menandakan bahwa terdapat banyak kandungan klorofil didalam selnya. Warna kalus pada perlakuan yang diterapkan cenderung berwarna hijau kekuningan cerah (*light yellowish green*) menandakan bahwa kualitas kalus yang muncul cukup baik namun kemungkinan karena masih terdapat akumulasi 2,4-D didalam jaringan tanaman yang menyebabkan kalus ikut berwarna kuning. Pemberian sitokinin dalam media juga berperan terhadap warna kalus dimana sitokinin berperan untuk mengambat proses senescene sel dengan menghambat perombakan butir-butir klorofil dan protein dalam sel (Wattimena, 1991 *dalam* Lizawati, 2012). Berdasarkan fakta tersebut dapat disimpulkan bahwa penambahan sitokinin dengan konsentrasi 5 ppm terbukti lebih mampu menghambat proses *senescene* eksplan tunas temulawak baik pada klon Jember (UB_2) maupun pada klon Pasuruan (UB_3). Kalus pada perlakuan UB_3D_2 (Gambar 9d) menunjukkan aktifitas organogenesis dimana terdapat akar yang muncul dari kalus, hal tersebut berkaitan dengan fungsi auksin sebagai pengatur morfogenesis dimana auksin akan menghambat pembentukan akar dari potongan organ vegetatif tanaman, auksin akan membentuk kalus terlebih dahulu dan kemudian akar akan muncul dari kalus tersebut (Gardner *et al.*,2008).