

**PERTUMBUHAN PLANLET PISANG RAJA BULU PADA BERBAGAI
PENCAHAYAAN DI RUANG INKUBASI DAN PENGGUNAAN MACAM
ZAT PENCEGAH PENCOKLATAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Disusun Oleh:
Utami Setyawati
134140133**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN"
YOGYAKARTA
2019**

HALAMAN JUDUL

**PERTUMBUHAN PLANLET PISANG RAJA BULU PADA BERBAGAI
PENCAHAYAAN DI RUANG INKUBASI DAN PENGGUNAAN MACAM
ZAT PENCEGAH PENCOKLATAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Skripsi disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian dari Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta

**Disusun oleh :
Utami Setyawati
134140133**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL “VETERAN”
YOGYAKARTA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian : Pertumbuhan Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai
Pencahayaannya Di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam
Zat Pencegah Pencoklatan Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Utami Setyawati

Nomor Mahasiswa : 134140133

Jurusan : Agroteknologi

Tanggal Ujian : 15 Maret 2019

Menyetujui:

	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I Ir. Ari Wijayani, M.P.		22/3-2019
Pembimbing II Endah Wahyurini, S.P., M.Si.		22/3/19
Penelaah I Ir. Ami Suryawati, M.P.		19/3/19
Penelaah II Endah Budi Irawati, S.P., M.P.		20-3-2019

Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta

Dekan Fakultas Pertanian

Partoyo, S.P., M.P., Ph.D.

Tanggal :

**PERTUMBUHAN PLANLET PISANG RAJA BULU PADA BERBAGAI
PENCAHAYAAN DI RUANG INKUBASI DAN PENGGUNAAN MACAM
ZAT PENCEGAH PENCOKLATAN SECARA *IN VITRO***

Disusun oleh : Utami Setyawati (134140133)

Dibimbing oleh : Ir. Ari Wijayani, M.P. dan Endah Wahyurini, S.P., M.Si.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan terhadap pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro* serta menentukan interaksi paling baik antara pencahayaan ruang inkubasi dengan macam zat pencegah pencoklatan pada pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta pada bulan Juni – Agustus 2018. Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan laboratorium yang disusun dengan Rancangan *Split Plot* dua faktor. Faktor pertama sebagai *main plot* adalah pencahayaan ruang inkubasi yaitu dengan cahaya selama 90 hari, tanpa cahaya selama 90 hari, tanpa cahaya pada 45 hari pertama, dan tanpa cahaya pada 45 hari terakhir. Faktor kedua sebagai *sub plot* adalah zat pencegah pencoklatan yaitu thidiazuron, arang aktif, dan vitamin C. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analisis of Varian*) pada jenjang nyata 5% dan apabila terdapat beda nyata dilakukan dengan Uji Jarak Berganda Duncan atau *Duncan’s Multiple Range Test* (DMRT) pada jenjang 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan paling baik yaitu kombinasi semua tingkat pencahayaan dan vitamin C 0,88 mg/l terlihat pada parameter tingkat pencoklatan. Perlakuan pencahayaan 45 hari pertama memberikan hasil paling bagus pada hal persentase hidup, tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun, panjang akar, dan bobot segar. Perlakuan vitamin C 0,88 mg/l memberikan hasil paling bagus pada hal persentase hidup, tinggi planlet, jumlah tunas, panjang akar, jumlah akar, bobot segar, dan bobot kering.

Kata Kunci : *in vitro*, pencahayaan, pencoklatan, pisang raja bulu.

THE GROWTH OF “PISANG RAJA BULU” PLANLETS IN VARIOUS LIGHTING IN THE INCUBATION ROOM AND THE USE OF VARIOUS TYPES OF BROWNING PREVENTION AGENTS BY *IN VITRO*.

Compiled by: Utami Setyawati (134140133)

Supervised by: Ir. Ari Wijayani, M.P. and Endah Wahyurini, S.P., M.Sc.

ABSTRACT

The aims of this research were to determine the lighting of incubation rooms and browning prevention agents on the growth of “Pisang Raja Bulu” planlets by *in vitro* and determine whether there is a best interaction between the incubation rooms lighting and the type of browning prevention agents in the growth of “Pisang Raja Bulu” planlets that plants *in vitro*. This research was conducted in the Biotechnology laboratory of the Faculty of Agriculture, UPN "Veteran" Yogyakarta on June - August 2018. The research method was a laboratory experiment method compiled with the Split Plot Design of two factors. The first factor as a main plot is the incubation room lighting, which is with light for 90 days, without light for 90 days, without light in the first 45 days, and without light in the last 45 days. The second factor as a sub plot is browning prevention agents, named thidiazuron, activated charcoal, and vitamin C. Each combination of treatments was repeated 3 times. The data were analyzed using ANOVA (Analysis of Variants) at a real level of 5% and if there were significant differences performed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at 5% level. The result showed that there was the best combinations of treatments that is all combination of lighting and vitamin C 0,88 mg / l in terms of browning. The first 45 days lighting treatment gave the best result on the percentage of life, plantlet height, number of shoots, number of leaves, root length, and fresh weight. The treatment of vitamin C 0.88 mg / l gave the best result on the percentage of life, plantlet height, number of shoots, root length, number of roots, fresh weight, and dry weight.

Keywords: *in vitro*, lighting, browning, raja bulu banana.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan untuk memperoleh gelar Sarjana dalam kurikulum Fakultas Pertanian, Jurusan Agroteknologi. Selain itu juga bertujuan untuk menambah wawasan atau pengetahuan khususnya penyusun dan pembaca pada umumnya.

Pada kesempatan ini, penyusun mengucapkan terimakasih kepada:

1. Partoyo, S.P., M.P., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian UPN “Veteran Yogyakarta
2. Ir. Ellen Rosyelina S., M.P. selaku Ketua Jurusan Agroteknologi.
3. Ir. Ari Wijayani, M.P. selaku pembimbing I yang telah membantu dalam penyusunan laporan penelitian ini.
4. Endah Wahyurini, S.P., M.Si. selaku pembimbing II yang telah membantu dalam penyusunan laporan penelitian ini.
5. Ir. Ami Suryawati, M.P. selaku penelaah I.
6. Endah Budi Irawati, S.P., M.P. selaku penelaah II.
7. Bapak Marsimin dan Ibu Ratinah, orang tua tercinta serta keluarga yang telah memberi dukungan dan doa yang amat besar.
8. Heru Handoyo Kurniawan, Prahesti, Pratiwi dan teman-teman laboratorium Bioteknologi yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
9. Teman-teman agroteknologi terkhusus angkatan 2014.

Penyusun menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu, penyusun mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Yogyakarta, Maret 2019

Penyusun

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
E. Kerangka Pemikiran.....	6
F. Hipotesis.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Pisang Raja Bulu	8
B. Pencahayaan	10
C. Thidiazuron (TDZ).....	12
D. Arang Aktif	14
E. Vitamin C	15
F. Pencoklatan	16

BAB III. METODE PENELITIAN	18
A. Tempat dan Waktu Penelitian	18
B. Bahan dan Alat	18
C. Metode Penelitian.....	18
D. Pelaksanaan Penelitian	19
E. Variabel Pengamatan	22
F. Analisis Data	24
BAB IV. HASIL DAN ANALISIS HASIL.....	25
A. Persentase Hidup Planlet (%).....	25
B. Tinggi Planlet (cm)	26
C. Jumlah Tunas (buah)	27
D. Jumlah Daun (helai)	28
E. Panjang Akar (cm)	29
F. Jumlah Akar (buah).....	30
G. Tingkat Pencoklatan.....	31
H. Bobot Segar (g)	33
I. Bobot Kering (g)	34
BAB V. PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN	35
A. Pembahasan.....	35
B. Kesimpulan	41
C. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Rerata Presentase Hidup Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (%).....	26
2. Rerata Tinggi Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (cm).....	27
3. Rerata Jumlah Tunas Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (buah).....	28
4. Rerata Jumlah Daun Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (helai).....	29
5. Rerata Panjang Akar Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (cm).....	30
6. Rerata Jumlah Akar Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST (buah).....	31
7. Rerata Tingkat Pencoklatan Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara <i>In Vitro</i> Umur 90 HST	32

8. Rerata Bobot Segar Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara *In Vitro* Umur 90 HST (g)..... 33
9. Rerata Bobot Kering Planlet Pisang Raja Bulu Pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi Dengan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan Secara *In Vitro* Umur 90 HST (g)..... 34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
I. Tata Letak Percobaan.....	49
II. Tata Letak Botol.....	50
III. Bahan dan Cara Kerja Penelitian.....	51
IV. Contoh Perhitungan Parameter Jumlah Tunas.....	53
V. Contoh Perhitungan Parameter Tingkat Pencoklatan.....	58
VI. Sidik Ragam Persentase Hidup Planlet.....	64
VII. Sidik Ragam Tinggi Planlet.....	64
VIII. Sidik Ragam Jumlah Tunas.....	64
IX. Sidik Ragam Jumlah Daun.....	65
X. Sidik Ragam Panjang Akar.....	65
XI. Sidik Ragam Jumlah Akar.....	65
XII. Sidik Ragam Tingkat Pencoklatan.....	66
XIII. Sidik Ragam Bobot Segar.....	66
XIV. Sidik Ragam Bobot Kering.....	66
XV. Lampiran Gambar.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I0P1, I0P2, dan I0P3 pada Umur 90 HST.....	67
2. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I1P1, I1P2, dan I1P3 pada Umur 90 HST.....	67
3. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I2P1, I2P2, dan I2P3 pada Umur 90 HST.....	68
4. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I3P1, I3P2, dan I3P3 pada Umur 90 HST.....	68
5. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I0P1, I1P1, I2P1 dan I3P1 pada Umur 90 HST.....	69
6. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I0P2, I1P2, I2P2, dan I3P2 Pada Umur 90 HST.....	69
7. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I0P3, I1P3, I2P3, dan I3P3 Pada Umur 90 HST.....	70
8. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 10.....	70
9. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 15.....	70
10. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 20.....	71
11. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 25.....	71
12. Pembuatan Media MS.....	71
13. Sterilisasi Media.....	71

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kebutuhan akan buah pisang ini meningkat dari tahun ke tahun, dan tingginya kebutuhan itu sudah tentu harus diimbangi dengan peningkatan produksi. Menurut Kementerian Pertanian dalam BPSP (Badan Pusat Statistika Pertanian) (2015), di mana produksi buah pisang di Indonesia dari tahun 2010 sampai 2013 yaitu 5.755.073 ton, 6.132.695 ton, 6.189.043 ton, dan 6.279.279 ton, namun permintaan ekspor yang tinggi harus perlu diatasi oleh para produsen buah pisang di Indonesia. Pisang Raja Bulu banyak diminati oleh masyarakat. Hal ini disebabkan karena pisang Raja Bulu merupakan pisang bergenom AAB yang tahan terhadap penyakit, toleran terhadap lingkungan, dan dapat dimanfaatkan untuk perbaikan kualitas dan kuantitas.

Perbanyakan pisang biasanya dilakukan dengan menggunakan anakan-yang tumbuh disekitar induk tanaman. Selain itu, juga bisa dengan teknik kultur jaringan (Eriansyah *et al.*, 2014). Kultur jaringan adalah teknik memperbanyak tanaman di dalam botol kultur yang ditanam pada media bernutrisi lengkap dan dilakukan dalam kondisi aseptik. Keuntungan mengembangbiakan tanaman secara kultur jaringan adalah menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, dapat dilakukan setiap waktu dan tidak bergantung musim. Keberhasilan kultur

jaringan dapat dipengaruhi oleh komposisi media tanam, jenis eksplan, dan cara sterilisasi.

Salah satu kendala yang dihadapi dalam memperbanyak tanaman secara kultur jaringan adalah masih tingginya tingkat pencoklatan pada fase inisiasi. Pencoklatan umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi ketika eksplan dilukai, yang biasanya disebabkan oleh aktivasi dari enzim *Polyphenol oxidase* (PPO). Seperti diketahui, perubahan permeabilitas membran menyebabkan pelepasan enzim dan substrat pada sitosol yang memicu pigmentasi atau pencoklatan (Mellidou *et al.*, 2014).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi pencoklatan, antara lain adalah modifikasi pencahayaan ruang inkubasi dan penggunaan zat pencegah pencoklatan. Pencahayaan di ruang inkubasi mempengaruhi keberhasilan suatu kultur. Cahaya, terutama panjang gelombang, kerapatan flux, dan fotoperiodesitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan morfogenesis tanaman kultur *in vitro*. Pada intensitas cahaya rendah maka aktivitas enzim *Polyphenol oxidase* (PPO) akan berkurang. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Admojo dan Indrianto (2016) pada kultur Daun Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg) menunjukkan perlakuan perendaman eksplan dalam asam askorbat yang diinkubasi di ruang gelap selama 35 hari penelitian dan dengan kombinasi subkultur berulang menunjukkan tidak terjadi pencoklatan hingga 50% dari total jumlah eksplan.

Menurut pendapat Sari *et al.*, (2015) bahwa thidiazuron memiliki kemampuan untuk menginduksi kemunculan tunas karena thidiazuron mampu mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi lebih aktif. Guo *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa thidiazuron berperan menstimulasi produksi sitokinin endogen sel. Selain itu, dikarenakan konsentrasi sitokinin eksogen yang ditambahkan ke dalam media kultur lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi auksin endogen yang dihasilkan oleh eksplan. Berdasarkan pernyataan Zulkarnain (2011) bahwa interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penelitian Karyanti (2017) menunjukkan grafik pertumbuhan anggrek *V. douglas* naik secara signifikan pada minggu akhir pengamatan dengan perlakuan 0,5 mg/l TDZ, hal ini diduga karena konsentrasi 0,5 mg/l pada TDZ merupakan konsentrasi yang tepat untuk pertumbuhan anggrek *V. douglas*.

Menurut Kumar *et al.*, (2005) arang aktif tidak hanya menstimulasi difusi nutrisi, gas dan respirasi dari tunas tapi juga dapat menyerap eksudat yang tidak penting misalnya 5-hydroxymethylfurfural dan senyawa fenolik berbahaya lainnya. Nisyawati dan Kariyani (2013) mengungkapkan bahwa pada tanaman pisang Barangan penambahan 2 g/l arang aktif mampu memicu eksplan untuk menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan dengan penambahan 0,5 dan 1 g/l arang aktif.

Penggunaan vitamin C (*L-Ascorbic acid*) merupakan antioksidan yang biasa digunakan dalam kultur jaringan. Penambahan vitamin C dalam media MS dapat mencegah akumulasi senyawa fenol yang menyebabkan warna jaringan berubah menjadi coklat. Aplikasi vitamin C dilakukan untuk mengatasi pencoklatan jaringan target setelah kokultivasi dengan *Agrobacterium*, karena vitamin C dikenal sebagai antioksidan kuat yang dapat mencegah pencoklatan sekaligus dapat menstimulasi terjadinya organogenesis, embriogenesis somatik dan pertumbuhan tunas dalam mikropropagasi pada beragam spesies tanaman (Dan, 2008).

B. Identifikasi Masalah

Permasalahan yang dihadapi dalam perbanyakan tanaman pisang secara kultur jaringan adalah masih tingginya tingkat pencoklatan pada fase inisiasi. Upaya dalam mencegah pencoklatan yaitu pemberian macam zat pencegah pencoklatan dan pencahayaan ruang inkubasi.

Atas dasar ini dan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya timbul permasalahan sebagai berikut :

1. Kombinasi perlakuan mana yang paling baik antara pencahayaan ruang inkubasi dengan macam zat pencegah pencoklatan pada pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*?
2. Macam pencahayaan mana yang paling efektif untuk mencegah pencoklatan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*?
3. Macam zat pencegah pencoklatan mana yang paling tepat digunakan untuk mencegah pencoklatan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan kombinasi perlakuan yang paling baik antara pencahayaan ruang inkubasi dengan macam zat pencegah pencoklatan pada pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*.
2. Menentukan pencahayaan yang paling efektif untuk mencegah pencoklatan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*.
3. Menentukan zat pencegah pencoklatan yang paling baik untuk mencegah pencoklatan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*.

D. Kegunaan Penelitian

1. Memberikan pengetahuan dan wawasan kepada masyarakat tentang cara perbanyak tanaman pisang raja bulu secara *in vitro*.
2. Memberikan pengetahuan tentang pengaruh pencahayaan ruang inkubasi dan berbagai macam zat pencegah pencoklatan yang tepat untuk mencegah pencoklatan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*.
3. Hasil penelitian dapat menentukan komposisi optimal dari zat pencegah pencoklatan sehingga mampu menurunkan intensitas pencoklatan dan meningkatkan jumlah planlet pisang raja bulu secara *in vitro*.
4. Hasil penelitian dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dan acuan dalam penelitian selanjutnya.

E. Kerangka Pemikiran

Perbanyak tanaman pisang Raja bulu dalam produksi besar dapat menggunakan teknik kultur jaringan. Terdapat kendala dalam perbanyak tanaman menggunakan teknik kultur jaringan, salah satunya yaitu tingginya tingkat pencoklatan pada fase inisiasi.

Pencahayaan di ruang inkubasi mempengaruhi keberhasilan suatu kultur, terutama intensitas pencahayaan. Cahaya berpengaruh pada pertumbuhan dan morfogenesis tanaman saat dikulturkan. Pada kultur daun Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg) menunjukkan perlakuan penyimpanan eksplan di ruang gelap selama 35 hari tidak terjadi pencoklatan Admojo dan Indrianto (2016).

Thidiazuron (TDZ) sendiri merupakan jenis sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan. Diduga penggunaan TDZ memicu inisiasi lebih cepat dibandingkan penyebaran senyawa fenolik yang terjadi pada eksplan. Hal ini terbukti pada penelitian Mayasari (2015) penggunaan thidiazuron (TDZ) 0,5 mg/l dapat meningkatkan jumlah tunas.

Arang aktif memiliki peran menstimulasi difusi nutrisi, gas dan respirasi dari tunas. Arang aktif menyerap senyawa toksik dalam media dan merangsang pengakaran. Penambahan arang aktif dapat meningkatkan pertumbuhan *seedling* anggrek *Phalaenopsis*. Vitamin C dalam media MS dapat mencegah akumulasi senyawa fenol yang menyebabkan warna jaringan berubah menjadi coklat. Penelitian diharapkan dapat menurunkan intensitas pencoklatan pada planlet pisang Raja Bulu secara *in vitro*.

F. Hipotesis

Diduga penyimpanan eksplan di ruang inkubasi tanpa cahaya selama 90 hari dan pemberian vitamin C menunjukkan tidak terjadi pencoklatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pisang Raja Bulu

1. Deskripsi Pisang Raja Bulu

Pisang Raja Bulu merupakan varietas pisang unggulan kota Yogyakarta dan merupakan koleksi tanaman Keraton, namun karena lahan yang ada di dalam Keraton dipergunakan untuk keperluan lain, maka pisang tersebut dikembangkan di luar Keraton yaitu di Kebun Plasma Nutfah Pisang Yogyakarta di bawah Dinas Pertanian Kota Yogyakarta. Pisang Raja Bulu memiliki keunggulan yaitu memiliki kandungan pati resisten atau serat. Kandungan pati resisten atau serat pada Pisang Raja Bulu ini jugalebih tinggi daripada pisang lainnya seperti Pisang Tanduk, Ambon, Janten ataupun Kepok (Musita, 2009). Bagi kesehatan serat ini berfungsi untuk mengontrol berat badan atau kegemukan (obesitas), penanggulangan penyakit diabetes, mencegah penyakit gastrointestinal dengan memperlancar pencernaan, mencegah kanker usus besar dan mengurangi tingkat kolesterol (Santoso, 2011).

Tanaman pisang Raja Bulu merupakan golongan genom AAB (*Musa Acuminata*), di mana tanaman bergenom AAB tahan terhadap penyakit, toleran terhadap lingkungan, dapat dimanfaatkan untuk perbaikan kualitas dan kuantitas. Tanaman pisang raja bulu mempunyai keunggulan pertumbuhan yang lebih cepat, tanamannya tidak terlalu tinggi, pohon besar,

berbunga lebih cepat dibandingkan pisang raja lainnya, pembungaan terjadi setelah berumur 8 bulan, tangkai tandan pendek, bunga besar, jumlah sisir 8 sampai 12 sisir per tandan. Buah pisang raja bulu merupakan pisang raja termanis diantara pisang raja jenis lainnya (Anonim, 2010).

2. Kultur *In Vitro* Pisang Raja Bulu

Kultur jaringan dalam bahasa asing disebut sebagai *tissue culture*, *weefsel cultures* atau *gewebe culture*. Usaha pengembangan tanaman dengan kultur jaringan merupakan usaha perbanyakan vegetatif tanaman yang masih baru. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun dan mata tunas. Bagian-bagian tersebut kemudian ditumbuhkan dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril. Teknik kultur jaringan dicirikan dengan kondisi ruang yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol. Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu aplikasi bioteknologi tanaman dimana budidaya tanaman dikerjakan secara *in vitro* (dalam wadah tertutup atau dalam botol).

Teknik kultur jaringan biasanya menggunakan media MS (*Murasighe and Skoog*). Menurut Bhojwani and Razdan (1983), media MS (*Murasighe and Skoog*) merupakan media dasar yang mengandung unsur hara esensial, sumber energi, dan vitamin yang dapat menunjang kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan optimal dari tanaman. Dalam kultur jaringan sering dijumpai adanya respon eksplan terhadap formulasi media (Lestari *et al.*, 2013). Menurut Guswira (2005), daya hidup yang baik disebabkan karena eksplan yang digunakan berasal dari jaringan meristem tunas yang bersifat meristematis, jaringannya masih muda dan sel-selnya aktif membelah.

B. Pencahayaan

Upaya mengatasi pencoklatan pada kultur tanaman dapat dilakukan antara lain dengan penambahan senyawa antioksidan seperti asam askorbat, modifikasi lingkungan kultur dengan menempatkan dalam ruang gelap total, subkultur berulang atau pencelupan dalam cairan seperti arang aktif dan sukrosa. Penyimpanan kultur dalam ruang gelap dan subkultur secara cepat setiap minggu lebih efektif dalam mencegah *browning* dibandingkan dengan perlakuan tunggal (Corduk dan Aki, 2011). Aktivitas enzim, biosintesis, dan oksidasi fenol akan meningkat dengan adanya cahaya (Creasy, 1968).

Cahaya terutama gelombang cahaya, kerapatan flux, dan fotoperiodesitas mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis tanaman pada suatu kultur *in vitro*. Pentingnya cahaya dikultur jaringan adalah pada fotomorfogenesis (George dan Sherrington, 1984). Mekanisme cahaya mempengaruhi

pertumbuhan kultur yaitu cahaya yang diterima oleh pigmen fitokrom ditranslasikan ke dalam metabolisme hormon. Riboflavin, yaitu pigmen penerima cahaya biru memiliki kepekaan terhadap fotooksidasi IAA.

Pengaruh gelombang cahaya bervariasi berdasarkan spesies tanaman dan tipe jaringan yang dikulturkan. Cahaya putih biasanya menghambat pembentukan tunas adventif (Pierik, 1997). Cahaya merah secara nyata dapat meningkatkan pemanjangan batang (Appelgren, 1991). Tingginya kerapatan flux dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan planlet *Fragaria* dan *Asparagus* (Laforge *et al.*, 1991). Pada sejumlah penelitian berbagai varietas tanaman, kadar kerapatan flux pada tahap pemanjangan pucuk dan pengakaran yang optimal yaitu $20-50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dari lampu berwarna putih. Fotoperiodesitas yang dibutuhkan pada kultur *in vitro* yaitu 14-16 jam per hari.

Pencoklatan jaringan kemungkinan akan berkurang atau dapat dihindari apabila biakan baru disimpan di ruang gelap sampai 14 hari sebelum ditransfer ke ruangan dengan intensitas cahaya rendah (500-1000 lux). Pencoklatan dari isolasi potongan batang *Phalaenopsis* telah berhasil ditanggulangi dengan mengkulturkan eksplan selama 2 minggu pertama dalam ruang gelap dengan suhu 26°C . Setelah itu kultur dipindah ke ruang terang dengan suhu 22°C (Pieper dan Zimmer, 1976).

Cahaya dapat mempengaruhi perkembangan tumbuhan secara *in vitro* dan *in vivo*. Keadaan suatu kultur dipengaruhi oleh fotoperioditas, kualitas dan intensitas cahaya. Cahaya mempengaruhi pengaturan produksi bahan metabolit dalam kultur jaringan, termasuk metabolit primer seperti enzim, karbohidrat,

lipida dan asam amino sedangkan metabolit sekunder seperti antosianin, flavonol dan karotenoid. Penelitian yang telah dilakukan oleh Muslihatin (2009) membuktikan intensitas cahaya 20 dan 10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ berpengaruh terhadap pertambahan tinggi plantlet sagu yaitu (0.15) dan (0.14), sedangkan tinggi terkecil pada 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{detik}$ (0.07) cm (Ariani, *et al.*, 2013).

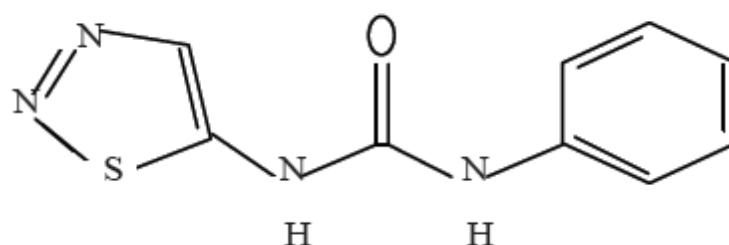
Menurut Gautheret (1955) intensitas cahaya yang rendah dapat merangsang zat tumbuh endogen untuk bekerja lebih aktif dalam melakukan proses pertumbuhan dan perkembangan akar. Hasil pengukuran ruang kultur menunjukkan bahwa suhu rata-rata selama penelitian sekitar 21-23°C. Umumnya temperatur yang digunakan dalam kultur *in vitro* lebih tinggi dari kondisi suhu *in vivo*. Tujuannya adalah untuk mempercepat pertumbuhan dan morfogenesis eksplan. Stroberi dapat tumbuh optimum dengan suhu ruang kultur berkisar 24-25°C. Pada suhu ruang kultur dibawah optimum, pertumbuhan eksplan lebih lambat, namun pada suhu diatas optimum pertumbuhan tanaman juga terhambat akibat tingginya laju respirasi eksplan (Zulkarnain, 2009).

C. Thidiazuron (TDZ)

TDZ (Thidiazuron) atau *N-phenyl-N'-1-2-3,-thidiazol-5-ylurea* merupakan sitokinin tipe urea yang memiliki aktivitas lebih kuat dibanding tipe purin atau adenine. Penggunaan konsentrasi kurang dari 0,1 μM , TDZ (Thidiazuron) menghasilkan proliferasi tunas aksilar lebih baik. TDZ (Thidiazuron) lebih ekonomis jika dibandingkan dengan penggunaan BAP, karena konsentrasi yang digunakan untuk multiplikasi tunas dengan TDZ

(Thidiazuron) sangat kecil. TDZ (Thidiazuron) memiliki efektivitas yang lebih baik namun di Indonesia relatif sulit diperoleh dan harganya relatif mahal.

Bobot molekul TDZ (Thidiazuron) yaitu 220,25 dengan rumus molekul $C_9H_8N_4OS$ dan rumus bangun TDZ (Thidiazuron) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumus bangun Thidiazuron (TDZ)

Pisang 'Raja Bulu' merupakan pisang yang bergenom AAB, respon multiplikasi tunasnya lebih rendah terhadap penambahan ZPT dari pada respon pisang yang bergenom AAA dengan penambahan ZPT yang serupa. Hal ini disebabkan pada pisang AAB *in vivo*, pertumbuhan tunas aksilar dihalangi oleh tingginya dominansi apikal sehingga *sucker* pisang AAA tumbuh lebih baik dari pada pisang AAB.

TDZ (Thidiazuron) berperan dalam merangsang organogenesis eksplan (regenerasi tunas) dan regenerasi tanaman (Yusnita, 2003). Diduga penggunaan TDZ (Thidiazuron) memicu inisiasi lebih cepat dibandingkan penyebaran senyawa fenolik yang terjadi pada eksplan, sehingga sel-sel yang ada dapat berfungsi normal Detty *et al.*, (2015). Guo *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa thidiazuron berperan menstimulasi produksi sitokinin endogen sel. Arinaitwe *et*

al. (2000) mengatakan bahwa proliferasi dan multiplikasi eksplan dipengaruhi oleh tipe sitokinin yang digunakan, konsentrasi, dan karakter kultivar pisang. Sedangkan menurut Faisal and Anis (2006), TDZ (Thidiazuron) merupakan hormon terbaik dalam multiplikasi tunas.

Berdasarkan pernyataan Zulkarnain (2011) bahwa interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Thidiazuron merupakan sitokinin yang sebaiknya digunakan dalam konsentrasi yang rendah. Farhani *et al.*, (2008), menyatakan bahwa TDZ (Thidiazuron) dengan konsentrasi tinggi dapat menurunkan jumlah tunas. Selain itu, Razani *et al.*, (2012) menyatakan bahwa pada konsentrasi TDZ (Thidiazuron) yang tinggi akan banyak menghasilkan tunas abnormal.

D. Arang Aktif

Arang aktif adalah suatu karbon yang mempunyai kemampuan daya serap yang baik terhadap anion, kation, dan molekul dalam bentuk senyawa organik dan anorganik, baik berupa larutan maupun gas. Beberapa bahan yang mengandung banyak karbon dan terutama yang memiliki pori dapat digunakan untuk membuat arang aktif. Pembuatan arang aktif dilakukan melalui proses aktivasi arang dengan cara fisika atau kimia di dalam retort. Perbedaan bahan baku dan cara aktivasi yang digunakan dapat menyebabkan sifat dan mutu arang aktif berbeda pula. Arang aktif digunakan di bidang pertanian meningkatkan keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan dan kesuburan media tanaman serta mencegah pembusukan akar. Menurut Kumar *et al.*, (2005) arang aktif tidak hanya menstimulasi difusi nutrisi, gas dan respirasi

dari tunas tapi juga dapat menyerap eksudat yang tidak penting misalnya 5-hydroxymethylfurfural dan senyawa fenolik berbahaya lainnya.

E. Vitamin C

Vitamin adalah bahan organik bagian dari enzim atau kofaktor yang esensial untuk fungsi metabolik (Lieberman dan Bruning, 1990). Vitamin diperlukan tanaman untuk pertumbuhan jaringan. Tanaman biasanya menghasilkan vitamin dengan sendirinya, tetapi dalam kultur jaringan vitamin harus ditambahkan pada media sebagai penyedia sumber vitamin yang sangat dibutuhkan tanaman untuk perkembangan jaringan tanaman.

Untuk mengatasi gejala pencoklatan, penambahan vitamin C telah dilaporkan sangat efektif pada berbagai kultur. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan yang mengikat senyawa racun sehingga menjadi tidak berbahaya. Adanya vitamin C sebagai antioksidan kuat (Dan, 2008) mencegah terjadinya oksidasi tersebut sehingga juga mencegah pencoklatan. Tanpa vitamin C, pencoklatan tersebut menyebabkan rendahnya jumlah protokorm hijau yang dihasilkan setelah proses seleksi karena protokorm sudah mati sebelum proses seleksi berakhir. Hal ini dipertegas dengan pernyataan bahwa vitamin C sangat efektif pada berbagai kultur, antara lain pada tanaman pisang Cavendish (Ko *et al.*, 2009) dan tanaman *Faba beans* (*Vicia faba*) (Rabha *et al.*, 2008). Vitamin C pada konsentrasi tertentu dapat mengatasi gejala pencoklatan pada tanaman kultur jaringan (Taji *et al.*, 1997). Secara umum, Taji *et al.*, (1997) menganjurkan penggunaan vitamin C pada skala medium 0,88 ppm.

F. Pencoklatan

Reaksi pencoklatan terdiri dari 2 jenis yaitu reaksi pencoklatan enzimatis dan non-enzimatis. Reaksi pencoklatan non-enzimatis terjadi karena adanya reaksi antara gula pereduksi (terutama α -D-glukosa) dengan gugus amin bebas dari asam amino, bagian protein atau senyawa lain yang mengandung gugus amin (Kusnandar, 2011). Menurut Bastos *et al.*, (2012) reaksi pencoklatan non-enzimatis dipengaruhi oleh oksigen, asam amino, pH, suhu, dan *water activity* (aw). *Water activity* (aw) adalah rasio antara tekanan uap air dalam bahan dengan tekanan uap murni pada suhu yang sama. *Polifenol oksidase* (PPO) EC 1.14.18.1 adalah suatu enzim yang termasuk pada golongan *oksidoreduktase* yang mengkatalisis proses hidrosilasi senyawa monofenol menjadi senyawa difenol, kemudian dilanjutkan dengan mengkatalisis proses oksidasi difenol menjadi kuinon. Senyawa kuinon yang terbentuk sangat reaktif sehingga akan mengalami reaksi polimerisasi menghasilkan pigmen merah, coklat dan hitam yang disebut pigmen melanin.

Pada kondisi normal, polifenol yang merupakan substrat bagi reaksi pencoklatan dan enzim baik PPO (*Polifenol oksidase*) maupun POD menempati bagian sel yang berbeda. Polifenol ditemukan di bagian vakuola sel sedangkan PPO (*Polifenol oksidase*) dan POD berlokasi di sitoplasma. Reaksi pencoklatan akan terjadi manakala substrat dan enzim bercampur dan melibatkan oksigen dalam reaksinya. Pengirisan, pengupasan, tumbukan dan pembusukan merupakan beberapa proses yang memicu dimulainya reaksi pencoklatan. Untuk menghindari fenomena ini, beberapa metode dilakukan diantaranya

dengan menonaktifkan enzim atau dengan menambahkan agen anti pencoklatan yang dapat menghindari terjadinya kontak antara enzim dengan substrat (Ioannou dan Ghoul, 2013).

Cara penonaktifan PPO (*Polifenol oksidase*) bisa dilakukan didasarkan pada mekanisme reaksi pencoklatan misalnya, melalui penghilangan oksigen yang reaktan dalam reaksi pencoklatan, denaturasi protein enzim, melindungi interaksi dengan gugus prostetik tembaga dan interaksi dengan senyawa fenolik ataupun quinon (Mesquita dan Queiroz, 2013). Proses pencoklatan menurut George dan Sherrington (1984) dapat ditanggulangi dengan beberapa cara, antara lain: menghilangkan senyawa fenolik, memodifikasi potensial redoks, menghambat aktivasi enzim fenol oksidase, serta menurunkan aktivitas fenolase dan ketersediaan substrat. Senyawa fenol dapat dikurangi dengan melakukan pencucian. Eksplan yang diisolasi dapat direndam dalam air steril selama 2-3 jam sebelum ditanam pada medium. Selain itu, solusi untuk mengurangi pencoklatan dapat menggunakan arang aktif, cysteine, asam askorbat, PVP (*polyvinylpyrrolidone*), dan silver nitrate (Dwipayana *et al.*, 2016).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta pada bulan Juni – Agustus 2018.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah eksplan pisang raja bulu, media MS (*Murhasige and Skoog*), thidiazuron, arang aktif, vitamin C, agar bubuk, akuades steril, alkohol 70%, HCl 1 N, KOH 1 N, spiritus, *aluminium foil*, kertas label, kertas payung, plastik wrap, tissue, dan bayclin.

Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet (LAF)*, *hand sprayer*, gelas beker, lampu bunsen, petridish, pinset, *skapel*, pisau *blade*, autoklaf, kompor gas, botol kultur, gunting, gelas ukur, batang pengaduk, timbangan analitik, panci, kamera, *hot plate magnetic stirrer*, pH *stick*, lemari pendingin, masker, sarung tangan, penggaris, dan rak kultur.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian merupakan percobaan laboratorium yang disusun dengan Rancangan *Split Plot* dua faktor yaitu pencahayaan ruang inkubasi sebagai *main plot* dan zat pencegah pencoklatan sebagai *sub plot*.

Sebagai *main plot* adalah pencahayaan ruang inkubasi yang terdiri atas 4 aras, yaitu :

- I0 = Dengan cahaya selama 90 hari
- I1 = Tanpa cahaya selama 90 hari
- I2 = Tanpa cahaya pada 45 hari pertama
- I3 = Tanpa cahaya pada 45 hari terakhir

Sebagai *sub plot* adalah zat pencegah pencoklatan yang terdiri atas 3 aras, yaitu :

- P1 = Thidiazuron (TDZ) 0,5 mg/l
- P2 = Arang aktif 1 mg/l
- P3 = Vitamin C 0,88 mg/l

Dari kedua faktor tersebut maka diperoleh 12 kombinasi perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali dan setiap satuan percobaan terdiri atas 6 botol, setiap botol berisi 1 planlet, sehingga planlet seluruhnya $4 \times 3 \times 3 \times 6 = 216$ planlet. Jumlah tanaman sampel adalah 3 planlet.

D. Pelaksanaan Penelitian

a. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan seperti petridish, gelas ukur, pinset, pisau *blade*, botol kultur, sendok, dan yang lainnya dicuci dengan detergen sampai bersih dan dibilas dengan air mengalir beberapa kali kemudian dikeringanginkan. Botol kultur yang telah ditutup *aluminium foil* disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C tekanan 15 psi dan lama sterilisasi 45 menit. Petridish, pinset, pisau *blade*, dan sendok dibungkus

dengan kertas payung kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 56°C yang diletakkan di atas botol kultur setelah selesai disterilisasi selanjutnya dimasukkan ke dalam oven untuk penyimpanan. *Laminar Air Flow* (LAF) sebelum digunakan disterilisasi dengan sinar ultra violet selama 24 jam, kemudian disemprot dengan alkohol 96% dan dibiarkan selama beberapa menit.

b. Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok yaitu dengan menimbang bahan-bahan kimia, hara makro, hara mikro, serta ZPT sesuai komposisi media MS untuk dibuat larutan stok. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades dan diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer*, kemudian dimasukkan ke dalam botol yang diberi label pada tiap botolnya (sesuai dengan perlakuan) dan disimpan dalam lemari pendingin.

c. Persiapan Media MS (Murashige dan Skoog)

Pembuatan media MS (Murashige dan Skoog) 1 liter adalah dengan memasukkan 250 ml akuades ke dalam beker glass volume 1 liter, kemudian diaduk di atas *hot plate magnetic stirrer*. Menambahkan 5 ml stok makronutrien, 5 ml stok mikronutrien, 5 ml stok besi, 4 ml stok vitamin. Kemudian menambahkan 0,5 mg/l thidiazuron, 1,00 mg/larang aktif, dan 0,88 ppm vitamin C pada masing-masing perlakuan. Menambahkan akuades sampai mendekati volume 1000 ml, kemudian mengukur pH 5,7 – 5,8. Apabila pH kurang dari 5,7 memberikan tambahan KOH 1 N hingga pH sesuai, apabila pH lebih dari 5,7 memberikan HCl 1 N hingga pH sesuai.

Menambahkan akuades hingga volume 1000 ml, kemudian memasukkan agar-agar sebanyak 8 gram dan memasaknya hingga larutan tersebut mendidih. Larutan yang sudah mendidih dimasukkan ke dalam botol kultur, kemudian menutupnya menggunakan *aluminium foil*, dan disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 35 menit. Setelah disterilisasi, kemudian didinginkan dan ditunggu selama 7 hari sehingga media siap digunakan.

d. Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Penanaman diawali dengan mendekatkan mulut botol kultur pada lampu bunsen. Selama penanaman mulut botol kultur harus berada dekat pada lampu bunsen guna mencegah kontaminasi. Eksplan yang dipilih yaitu yang sehat dan muda. Eksplan ditanam di LAF dengan memisahkan satu per satu propagul lalu disterilisasi dengan membakar eksplan di atas lampu bunsen kurang lebih 5 detik. Eksplan ditanam pada media dan ditanam 1 eksplan dalam setiap botol kultur dengan ukuran ± 3 cm. Eksplan ditanam secara vertikal. Botol-botol kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan dan tanggal penanaman. Setelah selesai botol ditempatkan di ruang inkubasi sesuai perlakuan.

e. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan untuk meminimalisasi resiko kontaminasi dengan cara menyemprotkan alkohol 70% dengan *hand sprayer* ke botol-

botol kultur setiap 2 hari sekali serta mengeluarkan botol-botol kultur yang terkontaminasi dari ruang inkubasi. Botol-botol planlet yang terkontaminasi jamur dan bakteri dapat dilihat dengan ciri-ciri adanya selaput benang halus dan berlendir yang harus segera dikeluarkan dari ruang inkubator dan segera dicuci agar tidak menyebar ke planlet-planlet yang tidak terkontaminasi di dalam botol lain.

E. Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu :

1) Persentase Hidup Planlet (%)

Pengamatan persentase tanaman hidup dilakukan 12 minggu setelah tanam, persentase hidup dihitung dengan rumus :

$$\text{Persentase hidup} = \frac{\text{Jumlah planlet yang hidup}}{\text{Jumlah planlet keseluruhan}} \times 100 \%$$

2) Tinggi planlet (cm)

Tinggi planlet diamati dengan mengukur tanaman sampel dengan menggunakan penggaris, diukur dari pangkal batang hingga ujung daun tertinggi. Pengamatan tinggi planlet dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

3) Jumlah tunas (buah)

Jumlah tunas dihitung dengan cara menghitung jumlah tunas per planlet yang tumbuh, minimal panjang tunas ± 5 mm. Data yang diperoleh merupakan rata-rata dari tunas pada 3 tanaman sampel. Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian yaitu 12 minggu setelah penanaman.

4) Jumlah daun (helai)

Jumlah daun diamati dengan menghitung jumlah daun yang terbentuk pada planlet yang telah mencapai 2 mm dari tangkai daun. Pengamatan jumlah daun 12 minggu setelah penanaman.

5) Panjang akar (cm)

Panjang akar diukur dari pangkal akar sampai ujung akar dengan menggunakan penggaris. Pengamatan dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

6) Jumlah akar (buah)

Jumlah akar diamati dengan cara menghitung total akar dalam setiap planlet yang tumbuh. Pengamatan dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

7) Tingkat Pencoklatan

Tingkat Pencoklatan dilihat pada planlet dengan kriteria berikut :

- 10 : tidak ada pencoklatan
- 15 : pencoklatan kurang dari $\frac{1}{3}$ bagian
- 20 : pencoklatan $\frac{1}{3}$ – $\frac{2}{3}$ bagian
- 25 : pencoklatan lebih dari $\frac{2}{3}$ bagian

Ciri-ciri hidup planlet yaitu akar, batang dan daun tidak mengalami kebusukan, daunnya tidak mengalami keguguran, dan planlet masih bisa beregenerasi. Pengamatan dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

8) Bobot segar (g)

Bobot segar diamati dengan cara menimbang tanaman sampel dengan timbangan analitik setelah dibersihkan dari media yang menempel. Pengamatan dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

9) Bobot kering (g)

Bobot kering merupakan berat seluruh tanaman setelah dioven dengan suhu 80°C sampai beratnya konstan. Penimbangan dilakukan pada sampel dengan menggunakan timbangan analitik. Pengamatan dilakukan 12 minggu setelah penanaman.

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analisis of Varian*) pada jenjang nyata 5% dan apabila terdapat beda nyata dilakukan dengan Uji Jarak Berganda Duncan atau *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada jenjang 5%.

BAB IV

HASIL DAN ANALISIS HASIL

Data hasil pengamatan meliputi parameter persentase hidup planlet, tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun, panjang akar, jumlah akar, pencoklatan, bobot segar, dan bobot kering. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati, data dianalisis keragamannya menggunakan sidik ragam pada taraf 5%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) pada jenjang nyata 5%. Hasil analisis keragaman dan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) terangkum sebagai berikut :

A. Persentase Hidup Planlet (%)

Hasil sidik ragam persentase hidup planlet (%) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran VI. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan menunjukkan tidak ada pengaruh nyata pada parameter persentase hidup planlet (%). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antara kedua perlakuan. Rerata persentase hidup planlet (%) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Persentase Hidup Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (%).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0) Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	100,00	100,00	100,00	100,00 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2) Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	100,00	100,00	100,00	100,00 a
Rerata	100,00 p	100,00 p	100,00 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 1 menunjukkan bahwa persentase hidup planlet tidak ada beda nyata antar perlakuan, demikian juga dengan zat pencegah pencoklatan tidak ada beda nyata antar perlakuan.

B. Tinggi Planlet (cm)

Hasil sidik ragam tinggi planlet (cm) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran VII. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap tinggi planlet (cm). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antara kedua perlakuan. Rerata tinggi planlet (cm) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Tinggi Planlet Pisang Raja Bulupada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (cm).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	9,08	10,68	9,43	9,73 b
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	8,54	6,61	13,79	9,65 b
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	9,74	12,26	14,81	12,27 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	9,72	10,13	14,99	11,61 a
Rerata	9,27 q	9,92 q	13,26 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) nyata lebih tinggi tinggi planletnya dibandingkan perlakuan cahaya 90 hari (I0) dan tanpa cahaya 90 hari (I1). Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) nyata lebih tinggi tinggi planletnya dibandingkan perlakuan thidiazuron 0,5 mg/l (P1) dan arang aktif 1 mg/l (P2).

C. Jumlah Tunas (buah)

Hasil sidik ragam jumlah tunas (buah) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran VIII. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas (buah). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata jumlah tunas (buah) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Jumlah Tunas Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (buah).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	2,00	1,89	2,89	2,26 a
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	1,89	1,44	1,67	1,67b
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	1,67	1,33	2,11	1,70 b
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	2,89	1,22	2,33	2,15 a
Rerata	2,11 pq	1,47 q	2,25 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan cahaya 90 hari (I0) dan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) nyata lebih banyak jumlah tunasnya dibandingkan perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 90 hari (I1). Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) dan thidiazuron 0,5 mg/l (P1) nyata lebih banyak jumlah tunasnya dibandingkan pemberian arang aktif 1 mg/l (P2).

D. Jumlah Daun (helai)

Hasil sidik ragam jumlah daun (helai) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran IX. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap jumlah daun (helai). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata jumlah daun (helai) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Jumlah Daun Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (helai).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	2,11	3,44	2,89	2,81 a
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	2,00	2,44	1,78	2,07 c
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	2,00	2,67	2,00	2,22 bc
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	2,67	3,22	2,22	2,70 ab
Rerata	2,19 q	2,94 p	2,22 pq	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan cahaya 90 hari (I0) nyata lebih banyak jumlah daunnya dibandingkan perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 90 hari (I1), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3). Pada perlakuan arang aktif 1 mg/l (P2) nyata lebih banyak jumlah daunnya dibandingkan perlakuan thidiazuron 0,5 mg/l (P1), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3).

E. Panjang Akar (cm)

Hasil sidik ragam panjang akar (cm) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran X. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap panjang akar (cm). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata panjang akar (cm) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Panjang AkarPlanlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (cm).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	10,78	13,94	13,26	12,66b
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	9,24	8,04	14,50	10,60b
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	10,39	11,06	14,16	11,87b
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	14,46	11,61	20,77	15,61 a
Rerata	11,22 q	11,16 q	15,67 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) nyata lebih panjang panjang akarnya dibandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) nyata lebih panjang panjang akarnya dibandingkan perlakuan lainnya.

F. Jumlah Akar (buah)

Hasil sidik ragam jumlah akar (cm) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran XI. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap jumlah akar (buah). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata jumlah akar (buah) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Jumlah Akar Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (buah).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	2,67	3,78	4,11	3,30 b
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	3,33	2,67	3,56	3,07 b
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	6,00	4,33	5,00	5,07 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	3,33	2,78	4,89	3,67 b
Rerata	3,83 pq	3,39 q	4,39 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) nyata paling banyak jumlahnya dibandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) nyata paling banyak jumlahnya dibandingkan perlakuan arang aktif 1 mg/l (P2), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan thidiazuron 0,5 mg/l (P1).

G. Tingkat Pencoklatan

Hasil sidik ragam tingkat pencoklatan pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran XII. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan berpengaruh nyata terhadap tingkat pencoklatan. Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata tingkat pencoklatan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Tingkat Pencoklatan Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST.

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	10,00 b	10,00 b	10,00 b	10,00
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	10,00 b	13,33 a	10,00 b	11,11
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	12,22 ab	12,22 ab	10,00 b	11,48
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	13,33 a	10,00 b	10,00 b	11,11
Rerata	11,39	11,39	10,00	(+)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (+) menunjukkan ada interaksi.

Tabel 7 menunjukkan bahwa kombinasi seluruh tingkat pencahayaan dan vitamin C 0,88 mg/l, yang diikuti dengan kombinasi perlakuan cahaya 90 hari dan thidiazuron 0,5 mg/l, cahaya 90 hari dan arang aktif 1 mg/l, tanpa cahaya 90 hari dan thidiazuron 0,5 mg/l, tanpa cahaya 45 hari pertama dan arang aktif 1 mg/l nyata lebih baik tingkat pencoklatannya dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

H. Bobot Segar (g)

Hasil sidik ragam bobot segar (g) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran XIII. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi tidak ada pengaruh nyata sedangkan perlakuan zat pencegah pencoklatan ada pengaruh nyata terhadap bobot segar (g). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata bobot segar (g) dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Bobot Segar Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (g).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	3,12	3,82	4,65	3,86 a
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	4,13	2,63	5,48	4,08 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	3,38	3,87	6,24	4,49 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	4,17	3,87	5,91	4,65 a
Rerata	3,70 q	3,55 q	5,57 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 8 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan ruang inkubasi tidak ada beda nyata antar perlakuan, sedangkan pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l(P3) nyata paling tinggi bobot segarnya dibandingkan perlakuan lainnya.

I. Bobot Kering (g)

Hasil sidik ragam bobot kering (g) pada pertumbuhan planlet pisang Raja Bulu disajikan pada lampiran XIV. Perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan ada pengaruh nyata terhadap bobot kering (g). Dari hasil sidik ragam dapat dilihat bahwa tidak terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Rerata bobot kering (g) dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Rerata Bobot Kering Planlet Pisang Raja Bulu pada Berbagai Pencahayaan di Ruang Inkubasi dan Penggunaan Macam Zat Pencegah Pencoklatan secara *In Vitro* Umur 90 HST (g).

Perlakuan	Thidiazuron 0,5 mg/l (P1)	Arang Aktif 1 mg/l (P2)	Vitamin C 0,88 mg/l (P3)	Rerata
Cahaya 90 Hari (I0)	1,35	1,39	1,55	1,43 a
Tanpa Cahaya 90 Hari (I1)	1,39	1,30	1,56	1,42 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Pertama (I2)	1,37	1,56	1,63	1,52 a
Tanpa Cahaya 45 Hari Terakhir (I3)	1,40	1,49	1,59	1,50 a
Rerata	1,38 q	1,44 pq	1,58 p	(-)

Keterangan : Rerata perlakuan yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Tabel 9 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan ruang inkubasi tidak ada beda nyata antar perlakuan. Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) nyata lebih tinggi bobot keringnya dibandingkan perlakuan thidiazuron 0,5 mg/l (P1), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan arang aktif 1 mg/l (P2).

BAB V

PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN

A. Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis keragaman pada jenjang nyata 5% menunjukkan ada interaksi antara perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan pada parameter pencoklatan. Pada perlakuan pencahayaan ruang inkubasi menunjukkan ada pengaruh nyata pada parameter tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun. Pada perlakuan zat pencegah pencoklatan menunjukkan ada pengaruh nyata pada parameter jumlah tunas dan jumlah akar.

Pada parameter persentase hidup planlet menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan tidak ada pengaruh nyata. Hal ini menunjukkan bahwa planlet pisang Raja Bulu mampu hidup pada berbagai pencahayaan ruang inkubasi dan media perlakuan. Menurut Arianyet *al.*, (2013) cahaya dapat mempengaruhi perkembangan tumbuhan secara *in vitro* dan *in vivo*. Menurut Winata (1998) kondisi planlet yang mempengaruhi keberhasilan teknik kultur jaringan adalah jenis planlet, ukuran, umur, fase fisiologis jaringan dan kondisi lingkungan yang aseptik.

Pada parameter tinggi planlet menunjukkan bahwa perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) menghasilkan tinggi planlet yang lebih baik dibandingkan dengan cahaya 90 hari (I0) dan tanpa cahaya 90 hari (I1). Hal ini disebabkan karena planlet pisang raja bulu yang tidak dinaungi cahaya pada 45 hari pertama sudah mengalami diferensiasi sel, sehingga

jaringan meristem akan terus membelah dengan sendirinya, sedangkan planlet yang tidak dinaungi cahaya pada 45 hari terakhir memiliki jaringan meristem yang muda sehingga cahaya mempercepat pemanjangan koleoptil. Selain itu dengan intensitas cahaya yang cukup maka suhu ruang kultur menjadi optimum. Menurut Zulkarnain (2009), pada suhu ruang kultur di bawah optimum pertumbuhan planlet lebih lambat dan pada suhu di atas optimum pertumbuhan planlet juga terhambat akibat tingginya laju respirasi planlet.

Penggunaan vitamin C itamin c 0,88 mg/l (P3) menghasilkan tinggi planlet paling bagus. Hal ini dikarenakan vitamin C mendorong pembelahan sel meristem dan mengandung senyawa kalium (K) yang dapat diserap tanaman dalam bentuk K^+ yang berfungsi untuk meningkatkan daya tahan tanaman dan memperkuat tubuh tanaman Salisbury dan Ross (1995). Hal ini dipertegas oleh pendapat Lieberman dan Bruning (1990) vitamin C diperlukan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman yang terdapat pada batang tanaman.

Pada parameter jumlah tunas perlakuan cahaya 90 hari (I0) dan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) menghasilkan tunas yang lebih banyak dibandingkan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 90 hari (I1). Hal ini disebabkan karena cahaya mampu menginduksi percepatan pembelahan sel sehingga menginisiasi munculnya tunas, serta meregulasi jumlah tunas aksiler melalui reseptor kriptokrom. Menurut Hunter dan Burritt (2004) cahaya menginisiasi pembelahan sel pada daerah meristem yang selanjutnya menginisiasi pembentukan tunas.

Penggunaan vitamin C 0,88 mg/l (P3) menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan thidiazuron 0,5 mg/l(P1) dan arang aktif 1 mg/l (P2). Hal ini disebabkan karena vitamin C sebagai antioksidan kuat yang dapat menstimulasi terjadinya organogenesis, embriogenesis somatik, pertumbuhan tunas dan mampu merangsang sintesis protein sehingga memacu pembelahan sel dan diferensiasi sel menuju pembentukan tunas.

Pada parameter jumlah daun perlakuan cahaya 90 hari (I0) dan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) menghasilkan jumlah daun lebih banyak dibandingkan tanpa cahaya 45 hari pertama (I2) dan tanpa cahaya 90 hari (I1). Hal ini disebabkan karena planlet yang dinaungi cahaya pada awal penanaman akan mengalami proses fotosintesis secara optimal. Cahaya berperan dalam proses pembentukan klorofil daun yang berkaitan dengan proses fotosintesis. Apabila intensitas cahaya banyak, maka hasil fotosintat tinggi, sehingga laju pembentukan daun tinggi. Penggunaan arang aktif 1 mg/l(P2) menghasilkan jumlah daun tertinggi dibandingkan dengan vitamin C 0,88 mg/l (P3) dan thidiazuron 0,5 mg/l (P1). Hal ini disebabkan karena arang aktif 1 mg/l sudah cukup untuk menyerap senyawa fenolik sehingga pertumbuhan tanaman baik dan jumlah daun yang dihasilkan tinggi.

Pada parameter panjang akar perlakuan tanpa cahaya 45 hari terakhir (I3) menghasilkan panjang akar terbaik. Hal ini disebabkan karena cahaya yang diterima planlet merangsang auksin endogen yang berperan dalam akar dan pada kondisi gelap 45 hari terakhir intensitas cahaya yang rendah sehingga sel-sel akar akan lebih aktif membelah yang menyebabkan pertumbuhan akar menjadi lebih

baik. Menurut Widiastoety dan Marwoto (2004), intensitas cahaya rendah dapat mempercepat inisiasi akar.

Penggunaan vitamin C 0,88 mg/l (P3) menghasilkan akar terpanjang. Hal ini disebabkan karena vitamin C merupakan bagian dari enzim yang berfungsi dalam proses metabolik yang mempengaruhi perkembangan jaringan tanaman (Lieberman dan Bruning, 1990).

Pada parameter jumlah akar tanpa cahaya 45 hari pertama (I2), menghasilkan jumlah akar terbanyak. Hal ini disebabkan karena intensitas cahaya yang rendah pada 45 hari pertama dapat merangsang auksin endogen untuk bekerja lebih aktif, di mana auksin menginisiasi pemanjangan sel dengan cara mempengaruhi elastisitas dinding sel, auksin memacu protein tertentu yang ada di membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H^+ ke dinding sel. Ion H^+ mengaktifkan enzim tertentu sehingga sel memanjang akibat air yang masuk secara osmosis. Sel terus tumbuh dengan mensintesis kembali material dinding sel dan sitoplasma. Hal tersebut mengakibatkan sel memanjang dan vakuola yang besar dapat menyimpan cadangan makanan sehingga meningkatkan jumlah akar (Darmawan dan Baharsjah, 2010).

Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) menunjukkan jumlah akar tertinggi. Hal ini dikarenakan vitamin C merupakan bagian dari kofaktor yang esensial untuk fungsi metabolik, sehingga jaringan pada akar tanaman mengalami perkembangan (Lieberman dan Bruning, 1990).

Pada parameter pencoklatan kombinasi perlakuan terjadi interaksi antara perlakuan pencahayaan ruang inkubasi dan zat pencegah pencoklatan. Pada perlakuan I0P1, I0P2, I0P3, I1P1, I1P3, I2P3, I3P2, dan I3P3 tidak terjadi pencoklatan. Hal ini disebabkan karena cahaya 90 hari dan thidiazuron 0,5 mg/l (I0P1) dapat memicu inisiasi lebih cepat dibandingkan penyebaran senyawa fenolik, sehingga sel-sel yang ada dapat berfungsi normal (Detty *et al.*,2015). Kombinasi perlakuan cahaya 90 hari dan arang aktif 1 mg/l (I0P2) tidak terjadi pencoklatan karena senyawa fenolik dapat diserap maksimal oleh arang aktif. Kombinasi perlakuan cahaya 90 hari dan vitamin C 0,88 mg/l (I0P3) tidak terjadi pencoklatan karena vitamin C dapat menghambat melisiskan quinon yang merupakan hasil oksidasi fenol.

Kombinasi perlakuan tanpa cahaya 90 hari dan thidiazuron 0,5 mg/l (I1P1) tidak terjadi pencoklatan karena dalam kondisi gelap aktivitas senyawa fenol dapat terhambat dan memicu inisiasi lebih cepat daripada penyebaran senyawa fenol. Kombinasi perlakuan tanpa cahaya 90 hari dan vitamin C 0,88 mg/l (I1P3) tidak terjadi pencoklatan karena aktivitas senyawa fenol terhambat pada suhu minimum dan vitamin C sebagai antioksidan yang kuat mencegah oksidasi fenol (Dan, 2008). Kombinasi perlakuan tanpa cahaya 45 hari pertama dan vitamin C 0,88 mg/l (I2P3) tidak terjadi pencoklatan karena cahaya mempengaruhi pengaturan bahan metabolit dan vitamin C sebagai antioksidan kuat dapat menyerap senyawa racun. Kombinasi perlakuan tanpa cahaya 45 hari terakhir dan arang aktif 1 mg/l (I3P2) tidak terjadi pencoklatan karena aktivitas senyawa fenol terhambat pada kondisi pencahayaan optimum dan arang aktif 1 mg/l mampu

menyerap senyawa fenol. Kombinasi perlakuan tanpa cahaya 45 hari terakhir dan vitamin C 0,88 mg/l (I3P3) tidak terjadi pencoklatan karena aktivitas senyawa fenol terhambat pada kondisi pencahayaan optimum dan vitamin C sebagai antioksidan kuat dapat menyerap senyawa racun.

Pada parameter bobot segar perlakuan pencahayaan ruang inkubasi seluruh perlakuan tidak ada beda nyata. Hal ini dikarenakan pencahayaan ruang inkubasi tidak mempengaruhi proses fotosintesis dari masing-masing planlet, sehingga fotosintat yang dihasilkan masing-masing planlet dan air yang disimpan dalam sel sama. Pada perlakuan vitamin C 0,88 mg/l (P3) menghasilkan bobot segar tanaman tertinggi. Hal ini disebabkan karena vitamin C mudah larut dalam air dan cepat diserap oleh tanaman, sehingga kandungan fenol yang terdapat pada planlet pisang raja bulu dapat dikurangi, akibatnya pertumbuhan dan perkembangan tanaman menjadi lebih baik dan proses fotosintesis menghasilkan fotosintat secara optimal.

Pada parameter bobot kering perlakuan pencahayaan ruang inkubasi seluruh perlakuan tidak ada beda nyata. Hal ini dikarenakan pencahayaan ruang inkubasi tidak mempengaruhi proses fotosintesis dari masing-masing planlet, sehingga fotosintat yang dihasilkan masing-masing planlet dan air yang disimpan dalam sel sama. Menurut Gardner *et al.*, (1991) bahwa bobot kering tanaman merupakan hasil dari proses penumpukan bahan kering hasil fotosintesis.

Penggunaan vitamin C 0,88 mg/l (P3) dan arang aktif 1 mg/l (P2) menghasilkan bobot kering yang lebih tinggi dibandingkan dengan thidiazuron 0,5 mg/l (P1). Hal ini disebabkan karena vitamin C mampu menghambat reaksi

pencoklatan, sehingga proses fotosintesis berjalan optimal dan menghasilkan fotosintat yang maksimal, sedangkan thidiazuron 0,5 mg/l (P1) merupakan sitokinin yang mampu memacu perkembangan organ tanaman seperti kuncup, batang dan daun, sehingga energi yang dihasilkan planlet tinggi. Menurut Hendarini (2004) bobot kering merupakan gambaran energi yang dihasilkan planlet, semakin banyak energi yang dihasilkan planlet, maka semakin tinggi pula bobot kering yang dihasilkan.

B. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat interaksi antara pencahayaan ruang inkubasi dengan macam zat pencegah pencoklatan pada pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro*. Kombinasi perlakuan semua tingkat pencahayaan dan vitamin C 0,88 mg/l memberikan tingkat pencoklatan yang lebih rendah.
2. Pencahayaan yang paling efektif untuk pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro* adalah pencahayaan selama 45 hari pertama pada parameter persentase hidup, tinggi planlet, jumlah tunas, jumlah daun, panjang akar, dan bobot segar.
3. Zat pencegah pencoklatan yang paling baik untuk pertumbuhan planlet pisang raja bulu secara *in vitro* adalah vitamin C 0,88 mg/l pada parameter persentase hidup, tinggi planlet, jumlah tunas, panjang akar, jumlah akar, bobot segar, dan bobot kering.

C. Saran

1. Untuk mencegah pencoklatan pada planlet pisang raja bulu dapat menggunakan zat pencegah pencoklatan vitamin C 0,88 mg/l pada pencahayaan ruang inkubasi gelap.
2. Perlunya penelitian lebih lanjut dengan tingkat pencahayaan ruang inkubasi yang berbeda untuk mencegah pencoklatan planlet pisang jenis lainnya secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Admojo, L., dan A. Indrianto 2016. Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg) Pb 330. *Jurnal Penelitian Karet*, 34 (1) : 25-34.
- Agrawal, S. 1988. Shoot Tip Culture of Pepper for Micropropagation. *Curr. Sci.* 57 : 1347 – 1349.
- Anonim. 2010. Usulan Pelepasan Varietas Pisang Raja Bagus (*Musa paradisiacal* L.). Yogyakarta: Pemerintah Kota Yogyakarta Dinas Perindustrian Perdagangan Koperasi dan Pertanian UPT Pelayanan Pertanian. Kebun Plasma Nutfah Pisang Yogyakarta.
- Appelgren, M. 1991. Effect of Light Quality on Stem Elongation of Pelargonium In Vitro. *Scientia Horticulturae* 45.
- Ariany, S. P., S. Nirwan, dan S. Abdul. 2013. Pengaruh Kuantitas Cahaya terhadap Pertumbuhan dan Kadar Antosianin Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) secara In Vitro. *e-J. Agrotekbis 1* (5) : 413 – 420.
- Arinaitwe, G., P. R, Rubaihayo and M. J. S, Magambo. 2000. Proliferation Rate Effects of Cytokinins on Banana (*Musa* spp.) cultivars. *Journal Scientia Horticulture* 86 : 13-21.
- Badan Pusat Statistika Pertanian (BPSP). 2015. Data Hortikultura : Kementrian Pertanian. Tersedia online di http://aplikasi.pertanian.go.id/bdsp/hasil_kom.asp. Diakses pada 22 Januari 2018.
- Bahri, S. 2010. Klorofil. *Jurnal Ilmiah Sains* (11) : 166 – 173.
- Bastos, D. M., Monaro, E., Siguemoto, E. and Sefora, M., 2012. Maillard Reaction Products in Processed Food : Pros and Cons. *Food Industrial Process-Methods and Equipment*, pp. 281-301.
- Bhojwani, S.S and Razdan, M.K.. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice*. Elsevier. Amsterdam.
- Corduk, N., dan C. Aki. 2011. Inhibition of Browning Problem During Micropropagation of *Sideritis Trojana* Bornm an Endemic Medicinal Herb of Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, 16 (6), 6760-6765. Diakses tanggal 17 Oktober 2017 dari www.researchgate.net/publication/259378783

- Creasy, L.L. 1968. The Increase in Phenylalanine Ammonialyase Activity in Strawberry Leaf Disks and Its Correlation With Flavonoid Synthesis. *Phytochem* 7 : 441-446.
- Dan, Y. 2008. Biological Functions of Antioxidants in Plant Transformation In Vitro Cell. Dev . *Biol,-Plant* 44 : 149-161.
- Darmawan, J. dan J. Baharsjah. 2010. Dasar-Dasar Fisiologi Tanaman. Buku Suryandaru Utama. Semarang. 75p.
- Detty., Suwirmen., dan N. Nasir. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) dan Arang Aktif pada Sub Kultur Tunas Pisang Kepok Hijau (*Musa paradisiaca* L.). *Biologia Plantarum* 50 (3): 437-440.
- Dwipayana, G. A. Jelantik, H. Yuswanti dan I. A. Mayun. 2016. Induksi Kalus Stroberi (*Fragaria* Spp.) Melalui Aplikasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat secara In Vitro. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. Vol. 5, No. 3: 310-321.
- Eriansyah M, Susiyanti dan Y. Putra. 2014. Pengaruh Pemotongan Eksplan dan Pemberian Beberapa Konsentrasi Air Kelapa terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Pisang Ketan (*Musa paradisiaca*) secara In Vitro. *Agrologia* 3 (1) : 54-61.
- Faisal, M. and M. Anis. 2006. Thidiazuron Induced High Frequency Axillary Shoot Multiplication in *Psoralea corylifolia*. *Biologia Plantarum* 50 (3): 437-440.
- Farhani, F., H. Aminpoor, M. Sheidai, Z. Noormohammadi, dan M.H. Mazinani. 2008. An Improved System for In Vitro Propagation of Banana (*Musa acuminata* L.) Cultivars. *Asian Journal of Plant Science* 7 (1): 116-118.
- Gardner, F.P., R. B. Pearce., and R. L. Mitchell. 1991. Physiology of Crop Plants. *Jurnal Ilmu Pertanian* (10) : 17 – 25. Diterjemahkan oleh H. Susilo. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Gautheret, R. J. 1955. The Nutrition of Plant Tissue Culture. *Annu Rev. Plant Physiol* 6:433-77.
- George, E. F., M. A. Hall, dan Geert-Jan De Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. *Journal Edition. Volume 1. Springer. Dordrecht*. 205—227.

- George, E.F. dan P.D. Sherrington 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Hand Book and Directory of Comercial Laboratories. Eastern Press, Reading, Berks. England. p. 9-449.
- Guo B, B.H. Abbasi, A. Zeb, L.L. Xu dan Y.H. Wei. 2011. Thiadiazuron: A Multi-Dimensional Plant Growth Regulator. *Afr J Biotechnol* 10:8984-9000. doi: 10.5897/AJB11.636
- Guswira, E.D. 2005. Kultur Tunas Pisang Raja Serai pada Medium Murashige-Skoog (MS). *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)* 6 (1) – Februari 2018 : 1-5.
- Handayani, E. 2012. Pertumbuhan Tanaman Buah Naga (*Hylocereus undatus*) pada Cara Tanam Berbeda secara In Vitro. *Jurnal Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako, Palu.*
- Heddy, S. 1991. Hormon Tumbuhan. Jakarta : CV Rajawali.
- Hendarini, S. 2004. Pengaruh Dosis Pupuk Nitrogen terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Mentimun. Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Hunter, D.C., dan D.J. Burritt. 2004. Light Quality Influences Adventitious Shoot Production from Cotyledon Explanlts of Lettuce (*Lactuca sativa* L). *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant*, 40 : 215 – 220.
- Ioannou, I. dan M. Ghoul. 2013. Prevention of Enzymatic Browning in Fruit and Vegetables. *European Scientific Journal*, 9 (30), 310-341.
- Karyanti. 2017. Pengaruh Beberapa Jenis Sitokinin pada Multiplikasi Tunas Anggrek Vanda Douglas secara In Vitro. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia 2017*, 4 (1) : 36-43.
- Kasutjaningati, R. Poerwanto, N. Khumaida dan D. Efendi. 2010. Kemampuan Pecah Tunas dan Berbiak Mother Plant Pisang Raja Bulu (AAB) dan Pisang Tanduk (AAB) dalam Medium Inisiasi In Vitro. *Jurnal Agriplus* 20 : 09-16.
- Kasutjaningati, R. Poerwanto, Widodo, N. Khumaida dan D. Efendi. 2011. Pengaruh Media Induksi terhadap Multiplikasi Tunas dan Pertumbuhan Planlet Pisang Raja Bulu (AAB) dan Pisang Tanduk (AAB) pada Berbagai Media Multiplikasi. *J Agron Indonesia* 39 (3) : 180-187

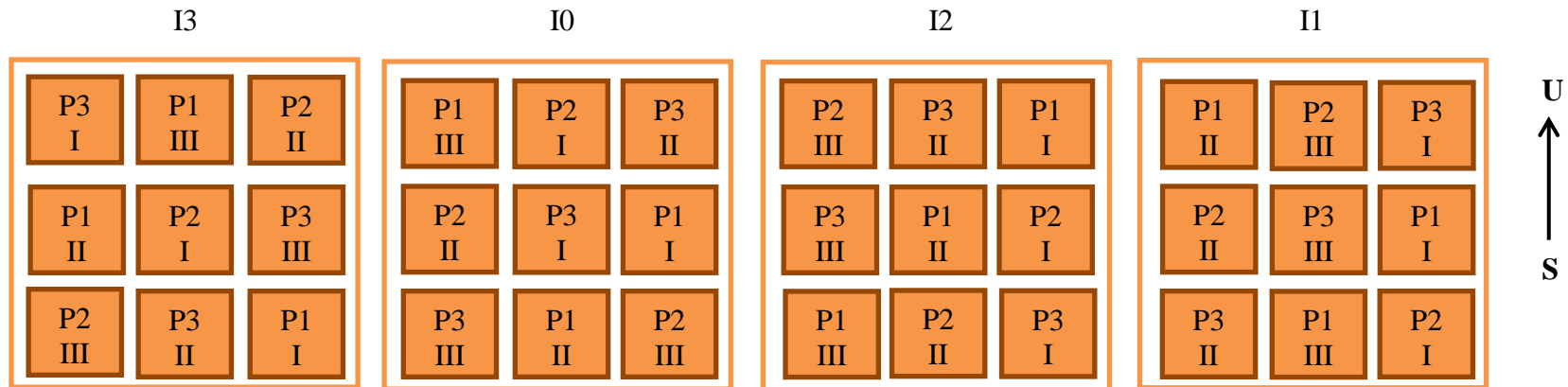
- Kasutjaningati., dan D. Boer. 2013. Mikropropagasi Pisang Mas Kirana (*Musa acuminata* L.) Memanfaatkan BAP dan NAA secara In Vitro. *Jurnal Agroteknos* 3 (1): 60-64.
- Ko, W. H., C. L. Chen dan C. P. Chao. 2009. Control of Lethal Browning of Tissue Culture Plantlets of Cavendish Banana cv. Formosana with Ascorbic Acid. *Journal Biomedical and Life Sciences*. Vol.96 (2) : 137-141.
- Kumar, M.B.A., V. Vakeswaran, V. Krisnasami. 2005. Enhancement of Synthetic Seed Conversion to Seedling in hybrid Rice. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 81 : 97-100.
- Kurniati, N. 2012. Zat Pengatur Tumbuh. Tanijogonegoro.com. Diakses pada Tanggal 12 November, 2014.
- Kusnandar, F., 2011. Kimia Pangan : Komponen Makro. Jakarta: Dian Rakyat.
- Laforge, F. *et al.* 1991. Effect of Light Intensity and CO₂ Enrichment During In Vitro Rooting on Subsequent Growth of Plantlets of Strawberry, Raspberry, and Asparagus in Acclimatisation. *Scientia Horticulturae* 47.
- Lestari, E.G., M.R. Suhartanto, A. Kurniawati dan S. Rahayu. 2013. Inisiasi Tunas Ganda Tanaman Manggis Malinau Melalui Kultur In Vitro untuk Perbanyak Klonal. *J. Agron.Indonesia*. 41 (1): 40-46.
- Lieberman, S. dan N. Bruning. 1990. *The Real Vitamin and Mineral Book*. Avery Group. New York.
- Mayasari. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron dengan dan Tanpa Benziladenin terhadap Perbanyak Tunas Pisang Kepok Kuning dan Embrio Pisang Raja Bulu secara In Vitro. *Jurnal Fakultas Pertanian*. Universitas Lampung : 53-58.
- Mellidou, I., K. Buts, D. Hatoum, Q. T. Ho, J. W. Johnston, C. B. Watkins, R. J. Schaffer, N. E. Gapper, J. J. Giovannoni, D. R. Rudell, M. L. A. T. M. Hertog dan B. M. Nicolai. 2014. Transcriptomic Events Associated with Internal Browning of Apple During Postharvest Storage . *BMC Plant Biology*, 14, 328 (17p). doi:10.1186/s12870-014-0328-x
- Mesquita, V.L.V. dan C. Queiroz. 2013. Enzymatic Browning, *Biochemistry of Foods*, 3rd Ed, Editor Eskin, N.A.M. and Shahidi, F., Academic Press, Amsterdam, 387-418.

- Musita, N. 2009. Kajian Kandungan dan Karakteristik Pati Resisten dari Berbagai Varietas Pisang. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian 14* : 68-79.
- Muslihatin, W. 2009. Pertumbuhan dan Keragaan Planlet Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb) pada Medium dengan Berbagai Sumber Karbohidrat dan Intensitas Cahaya yang Berbeda. -*J. Agrotekbis 1* (5) : 413 – 420.
- Nisyawati dan K. Kariyani. 2013. Effect of Ascorbic Acid, Activated Charcoal and Light Duration on Shoot Regeneration of Banana Cultivar Barangan (*Musa acuminata* L.) In Vitro Culture. *IJRRAS Vol.15*.
- Pieper, W. and K. Zimmer. 1976. Clonal Propagation of *Phalaenopsis* In Vitro. *Acta. Hort. 64*:21-23.
- Pierik, R.L.M. 1971. Plant Tissue Culture as Motivation for The Symposium. Wageningen : Vennman and Zonen.
- Rabha, A., N. Hakam., M. Labhilili dan S.M. Udupa. 2008. Use of an Adsorbent and Antioxidants to Reduce the Effects of Leached Phenolis in In Vitro Planlet Regeneration of Faba Beans. *African Journal of Biotechnology. Vol.7* (8) : 997-1002.
- Razani, M., N.A. Shahrudin, S. Subramaniam dan M. Mahmood. 2012. Effects of Tdz on Morphological and Biochemical Changes of Banana Plantlets (*Musa* spp.) Cultivar Mas Cultured in Temporary Immersion Bioreactor System. Malaysia : Dept. of Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Universitas Putra Malaysia, International Banana Symposium.
- Salisbury, F.B dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 3. Lukman, D.R dan Sumarjono, penerjemah. ITB. Bandung.
- Santoso, A. 2011. *Serat Pangan (Dietary Fiber) dan Manfaatnya Bagi Kesehatan*. Unwidha Klaten. *Magistra 75* : 35 – 40.
- Sari D.I., Suwirman, dan N. Nasir. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) dan Arang Aktif pada Sub Kultur Tunas Pisang Kepok Hijau (*Musa paradisiaca* L.). *Online Journal Natural Sci 4* : 280-289
- Staden, J.V., E. Zazimalova, E. F. George. 2008. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. In: *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd Edition. Springer. Dordrecht. 205—226.
- Sundari, D dan Komari. 2010. Formulasi Selai Pisang Raja Bulu dengan Tempe dan Daya Simpannya. *PGM 33* (1): 93-101

- Taji, M., W.A. Dodd dan R.R. Williams. 1997. *Plant Tissue Culture Practice*. 3rd Ed. University of New England Printery, Armidale. NSW, Australia.
- Triyani S., Yusnita, dan Rugayah. 2014. Pengaruh Benziladenin dan Thidiazuron terhadap Multiplikasi Tunas Pisang Raja Bulu (Genom AAB) In Vitro. *Jurnal Fakultas Pertanian*. Universitas Lampung : 1-15.
- Widiastoety, D., dan B. Martowo. 2004. Pengaruh Berbagai Sumber Arang dalam Media Kultur In Vitro terhadap Pertumbuhan Plantlet Oncidium. *Jurnal Hortikultura Vol.14* (1) 2004 : 1-4. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Ragunan Pasar Minggu, Jakarta.
- Winata, L. 1998. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. IPB Gogor.
- Yulianti, D. 2004. Induksi Tunas Eksplan Daun *Begonia scottii* Tebbit dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi Kinetin dan BAP pada Medium Murashige dan Skoog. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)* 6 (1) – Februari 2018 : 1-5.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien*. Agromedia. Jakarta. 103 hlm.
- Yusnita, E. Danial dan D. Hapsoro. 2015. In Vitro Shoot Regeneration of Indonesian Bananas (*Musa spp.*) cv. Ambon Kuning and Raja Bulu, Plantlet Acclimatization and Field Performance. *Agrivita Journal Agric Sci* 37 (1) : 51-58. Doi: <http://dx.doi.org/10.17503/agrivita.v37i1.438>. Diakses pada tanggal 08 januari 2018 pukul 23.10 WIB.
- Zulkarnain, H. 2009. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Cetakan Pertama. Jakarta: Bumi Aksara.
- Zulkarnain, H. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara, Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran I. Tata Letak Percobaan



Keterangan :

Main Plot (I) :

I1 = Tanpa cahaya selama 90 hari

I2 = Tanpa cahaya pada 45 hari pertama

I3 = Tanpa cahaya pada 45 hari terakhir

I0 = Dengan cahaya selama 90 hari

Sub Plot (P) :

P1 = Thidiazuron (TDZ) 0,5 mg/l

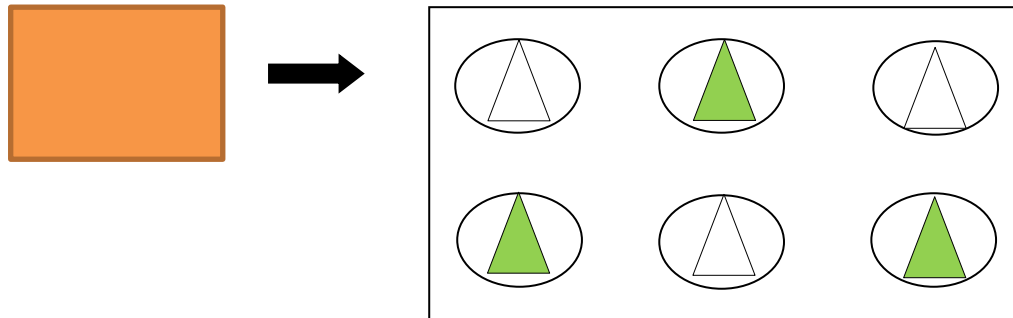
P2 = Arang aktif 1 mg/l

P3 = Vitamin C 0,88 mg/l

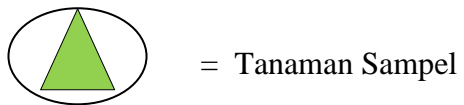
I, II, III = Ulangan

Lampiran II. Tata Letak Botol

Dalam satu kali ulangan terdapat 6 botol kultur :



Keterangan :

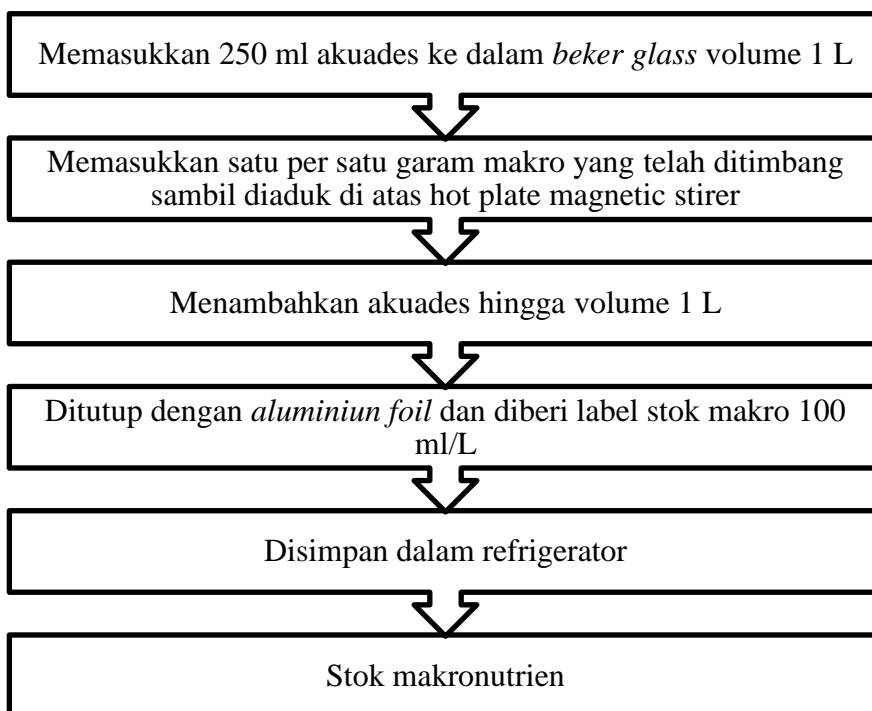


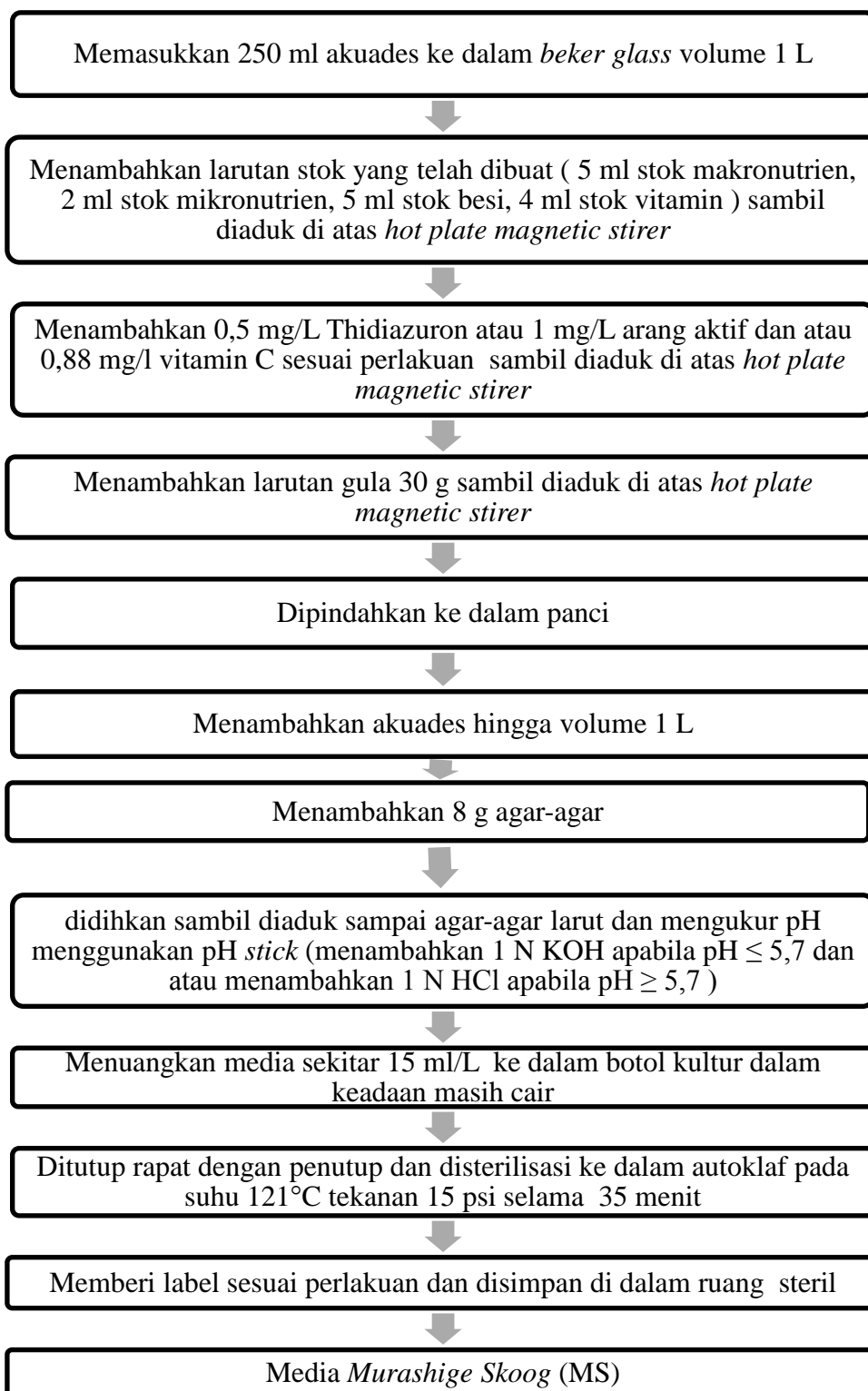
Lampiran III. Bahan dan Cara Kerja Penelitian

1. Komposisi Medium *Murashige and Skoog* (MS)

Komponen	Komposisi (mg/l)
NH ₄ NO ₃	1.650
KNO ₃	1.900
CaCl ₂ 2H ₂ O	440
MgSO ₄ 7H ₂ O	370
H ₂ KO ₄ P	170
Mio Inositol	0,1
Thidiazuron	0,5
Arang aktif	1
Vitamin C	0,88
Vitamin	4 ml/L
Mikro	5 ml/L
Besi	5 ml/L
Gula	30000
Agar-agar	8000
NaOH	1 N
HCl	1 N

2. Pembuatan Larutan Stok Makronutrien



3. Pembuatan Media *Murashige Skoog* (MS)

Lampiran IV. Contoh Perhitungan Parameter Jumlah Tunas

Petak	ULANGAN			Rerata	Total	^2
	1	2	3			
I0P1	2,67	1,33	2,00	2,00	6,00	12,89
I0P2	1,33	2,33	2,33	2,00	6,00	12,67
I0P3	2,33	3,00	3,33	2,89	8,67	25,56
I1P1	2,33	1,67	1,67	1,89	5,67	11,00
I1P2	1,00	2,33	2,00	1,78	5,33	10,44
I1P3	1,67	2,00	1,33	1,67	5,00	8,56
I2P1	1,67	1,33	2,00	1,67	5,00	8,56
I2P2	1,00	2,00	1,00	1,33	4,00	6,00
I2P3	2,00	1,67	2,67	2,11	6,33	13,89
I3P1	3,33	2,00	3,33	2,89	8,67	26,22
I3P2	1,00	1,67	1,00	1,22	3,67	4,78
I3P3	1,67	2,33	3,00	2,33	7,00	17,22
						157,78

Main Plot	Sub Plot	Ulangan			Total	Rerata
		1	2	3		
I0	P1	2,67	1,33	2,00	6,00	2,00
	P2	1,33	2,33	2,33	6,00	2,00
	P3	2,33	3,00	3,33	8,67	2,89
Sub Total		6,33	6,67	7,67		
I1	P1	2,33	1,67	1,67	5,67	1,89
	P2	1,00	2,33	2,00	5,33	1,78
	P3	1,67	2,00	1,33	5,00	1,67
Sub Total		5,00	6,00	5,00		
I2	P1	1,67	1,33	2,00	5,00	1,67
	P2	1,00	2,00	1,00	4,00	1,33
	P3	2,00	1,67	2,67	6,33	2,11
Sub Total		4,67	5,00	5,67		
I3	P1	3,33	2,00	3,33	8,67	2,89
	P2	1,00	1,67	1,00	3,67	1,22
	P3	1,67	2,33	3,00	7,00	2,33
Sub Total		6,00	6,00	7,33		
Total		22,00	23,67	25,67	71,33	

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= \frac{(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c X_{ijk})^2}{\text{r.i.p}} \\
 &= \frac{(71,33^2)}{3 \times 4 \times 3} \\
 &= 141,35
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r X_{ijk}^2 - \text{FK} \\
 &= [(2,67)^2 + \dots + (3,00)^2] - 141,35 = 16,43
 \end{aligned}$$

Tabel Penolong 1 :

Pencapaian	Ulangan			Total
	1	2	3	
I0	6,33	6,67	7,67	20,67
I1	5,00	6,00	5,00	16,00
I2	4,67	5,00	5,67	15,33
I3	6,00	6,00	7,33	19,33
Total	22,00	23,67	25,67	71,33

Tabel Penolong 2 :

Pencapaian	Zat Pencegah Pencoklatan			Total
	P1	P2	P3	
I0	6,00	6,00	8,67	20,67
I1	5,67	5,33	5,00	16,00
I2	5,00	4,00	6,33	15,33
I3	8,67	3,67	7,00	19,33
Total	25,33	19,00	27,00	71,33

$$\begin{aligned}
 \text{JK Blok (U)} &= \frac{\sum_{k=1}^r T_k^2}{\text{i.p}} - \text{FK} \\
 &= \frac{(22,00^2 + 23,67^2 + 25,67^2)}{4 \times 3} - 141,35 \\
 &= 0,56
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK I Total} &= \frac{\sum Y_{ij}^2}{p} - \text{FK} \\
 &= \frac{[(6,33)^2 + \dots + (7,33)^2]}{3} - 141,35 \\
 &= 3,31
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK I} &= \frac{\sum_{i=1}^a T_i^2}{r \cdot p} - \text{FK} \\
 &= \frac{(20,67^2 + 16,00^2 + 15,33^2 + 19,33)^2}{3 \times 3} - 141,35 \\
 &= 2,21
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat I} &= \text{JK I Total} - \text{JK Blok (U)} - \text{JK I} \\
 &= 3,31 - 0,56 - 2,21 \\
 &= 0,55
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK P} &= \frac{\sum_{j=1}^b T_j^2}{r \cdot i} - \text{FK} \\
 &= \frac{(25,33^2 + 19,00^2 + 27,00^2)}{3 \times 4} - 141,35 \\
 &= 2,97
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan Kombinasi} &= \frac{\sum X_{ij}^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(6,00^2 + 6,00^2 + \dots + 7,00^2)}{3} - 141,35 \\
 &= 9,08
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK I x P} &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - (\text{JK I} + \text{JK P}) \\
 &= 9,08 - (2,21 + 2,97) \\
 &= 3,92
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat P} &= \text{JK Total} - (\text{JK Blok (U)} + \text{JK I} + \text{JK Galat I} + \text{JK P} + \text{JK IxP}) \\
 &= 16,43 - (0,56 + 2,21 + 0,55 + 2,97 + 3,92) \\
 &= 6,22
 \end{aligned}$$

Tabel 3.2 Anova

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hit	F tabel 0,05	Ket.
Ulangan	$(r - 1) = 2$	0,56	0,28	0,38	5,14	tn
I	$(i - 1) = 3$	2,21	0,74	8,04	4,76	n
Galat (i)	$(r - 1) \times (i - 1) = 6$	0,55	0,09			
P	$(p - 1) = 2$	2,97	1,48	3,82	3,63	n
i x p	$(i - 1) \times (p - 1) = 6$	3,92	0,65	1,68	2,74	tn
Galat (p)	$i (r - 1) \times (p - 1) = 16$	6,22	0,39			
Total	35	16,43				

Keterangan : n = nyata
tn = tidak nyata

Uji DMRT 5% Jumlah Tunas

Tabel 3.3 Penolong Rerata

Perlakuan	P1	P2	P3	Rerata
I0	2,00	2,00	2,89	2,30
I1	1,89	1,78	1,67	1,78
I2	1,67	1,33	2,11	1,70
I3	2,89	1,22	2,33	2,15
Rerata	2,11	1,58	2,25	(-)

Perlakuan I

1. Data Rerata

I0	I1	I2	I3
2,30	1,78	1,70	2,15

2. Mengurutkan data dari yang terkecil sampai yang terbesar

I1	I2	I3	I0
1,78	1,70	2,15	2,30

$$3. SD = \sqrt{\frac{KTG_i}{r.p}} = \sqrt{\frac{0,09}{3.3}} = 0,101$$

4. Nilai SSR Dari Tabel Duncan 5% (2-4 6 ; 0,05)

	2	3	4
SSR =	3,460	3,586	3,649

5. Nilai SSD (SSR x SD)

SSD =	$\frac{3,460}{0,349}$	$\frac{3,586}{0,362}$	$\frac{3,649}{0,368}$	x SD (0,101)
-------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	--------------

6. Menentukan Garis Bawah pada yang tidak berbeda nyata

SSD		0,349	0,362	0,368	
Perlakuan		I1	I2	I3	I0
Rerata		1,704	1,778	2,148	2,296
I0	2,296	0,593	0,519	0,148	0,000
I3	2,148	0,444	0,370	0,000	a
I2	1,778	0,074	0,000	b	
I1	1,704	0,000	b		

Perlakuan ZPP

1. Data Rerata

P1	P2	P3
2,11	1,58	2,25

2. Mengurutkan data dari yang terkecil sampai yang terbesar

P2	P1	P3
1,58	2,11	2,25

$$3. SD = \sqrt{\frac{KTG p}{r.i}} = \sqrt{\frac{0,39}{3.4}} = 0,180$$

4. Nilai SSR Dari Tabel Duncan 5% (2-3 16 ; 0,05)

	2	3
SSR =	2,998	3,144

5. Nilai SSD (SSR x SD)

$$SSD = \frac{2,998}{0,540} \quad \frac{3,144}{0,566} \quad \times SD (0,180)$$

6. Menentukan Garis Bawah pada yang tidak berbeda nyata

SSD		0,540	0,566	
Perlakuan		P2	P1	P3
Rerata		1,583	2,111	2,250
P3	2,250	0,667	0,139	0,000 p
P1	2,111	0,528	0,000	pq
P2	1,583	0,000		q

Tabel 3.4 Rerata Jumlah Tunas

Perlakuan	P1	P2	P3	Rerata	
I0 (Cahaya 90 Hari)	2,00	1,89	2,89	2,26	a
I1 (Tanpa Cahaya 90 Hari)	1,89	1,44	1,67	1,67	b
I2 (Tanpa Cahaya 90 Hari Pertama)	1,67	1,33	2,11	1,70	b
I3 (Tanpa Cahaya 90 Hari Terakhir)	2,89	1,22	2,33	2,15	a
Rerata	2,11 pq	1,47 q	2,25 p	(-)	

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (-) menunjukkan tidak ada interaksi.

Lampiran V. Contoh Perhitungan Parameter Tingkat Pencoklatan

Petak	ULANGAN			Rerata	Total	^2
	1	2	3			
I0P1	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I0P2	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I0P3	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I1P1	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I1P2	10,00	16,67	13,33	13,33	40,00	555,56
I1P3	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I2P1	10,00	13,33	13,33	12,22	36,67	455,56
I2P2	13,33	13,33	10,00	12,22	36,67	455,56
I2P3	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I3P1	13,33	13,33	13,33	13,33	40,00	533,33
I3P2	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
I3P3	10,00	10,00	10,00	10,00	30,00	300,00
						4400,00

Main Plot	Sub Plot	Ulangan			Total	Rerata
		1	2	3		
I0	P1	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
	P2	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
	P3	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
Sub Total		30,00	30,00	30,00		
I1	P1	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
	P2	10,00	16,67	13,33	40,00	13,33
	P3	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
Sub Total		30,00	36,67	33,33		
I2	P1	10,00	13,33	13,33	36,67	12,22
	P2	13,33	13,33	10,00	36,67	12,22
	P3	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
Sub Total		33,33	36,67	33,33		
I3	P1	13,33	13,33	13,33	40,00	13,33
	P2	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
	P3	10,00	10,00	10,00	30,00	10,00
Sub Total		33,33	33,33	33,33		
Total		126,67	136,67	130,00	393,33	

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c X_{ijk})^2}{r.i.p} \\
 &= \frac{(393,31^2)}{3 \times 4 \times 3} \\
 &= 4297,53
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^r X_{ijk}^2 - FK \\
 &= [(10,00)^2 + \dots + (10,00)^2] - 4297,53 = 102,47
 \end{aligned}$$

Tabel Penolong 1 :

Pencahayaannya	Ulangan			Total
	1	2	3	
I0	30,00	30,00	30,00	90,00
I1	30,00	36,67	33,33	100,00
I2	33,33	36,67	33,33	103,33
I3	33,33	33,33	33,33	100,00
Total	126,67	136,67	130,00	393,33

Tabel Penolong 2 :

Pencahayaannya	Zat Pencegah Pencoklatan			Total
	P1	P2	P3	
I0	30,00	30,00	30,00	90,00
I1	30,00	40,00	30,00	100,00
I2	36,67	36,67	30,00	103,33
I3	40,00	30,00	30,00	100,00
Total	136,67	136,67	120,00	393,33

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Blok (U)} &= \frac{\sum_{k=1}^r T_k^2}{i.p} - FK \\
 &= \frac{(126,67^2 + 136,67^2 + 130,00^2)}{4 \times 3} - 4297,53 \\
 &= 4,32
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ I Total} &= \frac{\sum Y_{ij}^2}{p} - FK \\
 &= \frac{[(30,00)^2 + \dots + (33,33)^2]}{3} - 4297,53 \\
 &= 20,98
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK I} &= \frac{\sum_{i=1}^a T_i^2}{r \cdot p} - \text{FK} \\
 &= \frac{(90,00^2 + 100,00^2 + 103,33^2 + 100,00^2)}{3 \times 3} - 4297,53 \\
 &= 11,11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat I} &= \text{JK I Total} - \text{JK Blok (U)} - \text{JK I} \\
 &= 20,98 - 4,32 - 11,11 \\
 &= 5,56
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK P} &= \frac{\sum_{j=1}^b T_j^2}{r \cdot i} - \text{FK} \\
 &= \frac{(136,67^2 + 136,67^2 + 120,00^2)}{3 \times 4} - 4297,53 \\
 &= 15,43
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan Kombinasi} &= \frac{\sum X_{ij}^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(30,00^2 + 30,00^2 + \dots + 33,33^2)}{3} - 4297,53 \\
 &= 65,43
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK I x P} &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - (\text{JK I} + \text{JK P}) \\
 &= 65,43 - (11,11 + 15,43) \\
 &= 38,89
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat P} &= \text{JK Total} - (\text{JK Blok (U)} + \text{JK I} + \text{JK Galat I} + \text{JK P} + \text{JK IxP}) \\
 &= 102,47 - (4,32 + 11,11 + 5,56 + 15,43 + 38,89) \\
 &= 27,16
 \end{aligned}$$

Tabel 7.2 Anova

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hit	F Tabel 0,05	Ket.
Ulangan	$(r - 1) = 2$	4,32	2,16	0,58	5,14	tn
I	$(i - 1) = 3$	11,11	3,70	4,00	4,76	tn
Galat (i)	$(r - 1) \times (i - 1) = 6$	5,56	0,93			
P	$(p - 1) = 2$	15,43	7,72	4,55	3,63	n
i x p	$(i - 1) \times (p - 1) = 6$	38,89	6,48	3,82	2,74	n
Galat (p)	$i (r - 1) \times (p - 1) = 16$	27,16	1,70			
Total	35	102,47				

Keterangan : n = nyata
tn = tidak nyata

Uji DMRT Perlakuan Interaksi I x P

Tabel 7.3 Tabel Rerata

Perlakuan	P1	P2	P3	Rerata
I0	10,00	10,00	10,00	10,00
I1	10,00	13,33	10,00	11,11
I2	12,22	12,22	10,00	11,48
I3	13,33	10,00	10,00	11,11
Rerata	11,39	11,39	10,00	(+)

Perlakuan I

1. Data Rerata

I0P1	I0P2	I0P3	I1P1	I1P3	I2P3	I3P2	I3P3	I2P1	I2P2	I1P2	I3P1
10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	12,22	12,22	13,33	13,33

2. Mengurutkan data dari yang terkecil sampai yang terbesar

I0P1	I0P2	I0P3	I1P1	I1P3	I2P3	I3P2	I3P3	I2P1	I2P2	I1P2	I3P1
10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	12,22	12,22	13,33	13,33

$$3. \text{SD} = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{1,70}{3}} = 0,752$$

Tabel 7.4 Rerata Pencoklatan

Perlakuan	P1	P2	P3	Rerata
I0 (Cahaya 90 Hari)	10,00 b	10,00 b	10,00 b	10,00
I1 (Tanpa Cahaya 90 Hari)	10,00 b	13,33 a	10,00 b	11,11
I2 (Tanpa Cahaya 90 Hari Pertama)	12,22 ab	12,22 ab	10,00 b	11,48
I3 (Tanpa Cahaya 90 Hari Terakhir)	13,33 a	10,00 b	10,00 b	11,11
Rerata	11,39	11,39	10,00	(+)

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang sama dalam baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Tanda (+) menunjukkan ada interaksi.

Lampiran VI. Sidik Ragam Presentase Hidup Planlet

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	0,00	0,00	0,00 tn	5,14
Pencapaian	3	0,00	0,00	0,00 tn	4,76
Galat (i)	6	0,00	0,00		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	0,00	0,00	0,00 tn	3,63
i x p	6	0,00	0,00	0,00 tn	2,74
Galat (p)	16	0,00	0,00		
Total	35	0,00			

Keterangan : tn : tidak nyata

Lampiran VII. Sidik Ragam Tinggi Planlet

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	19,30	9,65	0,6 tn	5,14
Pencapaian	3	47,68	15,89	14,11 n	4,76
Galat (i)	6	6,76	1,13		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	109,66	54,83	5,59 n	3,63
i x p	6	67,33	11,22	1,14 tn	2,74
Galat (p)	16	156,92	9,81		
Total	35	407,65			

Keterangan : n : nyata

tn : tidak nyata

Lampiran VIII. Sidik Ragam Jumlah Tunas

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	0,56	0,28	0,38 tn	5,14
Pencapaian	3	2,21	0,74	8,04 n	4,76
Galat (i)	6	0,55	0,09		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	2,97	1,48	3,82 n	3,63
i x p	6	3,92	0,65	1,68 tn	2,74
Galat (p)	16	6,22	0,39		
Total	35	16,43			

Keterangan : n : nyata

tn : tidak nyata

Lampiran IX. Sidik Ragam Jumlah Daun

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	0,17	0,09	0,07 tn	5,14
Pencahayaannya	3	3,52	1,17	6,06 n	4,76
Galat (i)	6	1,16	0,19		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	4,34	2,17	3,23 tn	3,63
i x p	6	1,44	0,24	0,36 tn	2,74
Galat (p)	16	10,74	0,67		
Total	35	21,37			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran X. Sidik Ragam Panjang Akar

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	25,75	12,87	0,32 tn	5,14
Pencahayaannya	3	122,36	40,79	10,98 n	4,76
Galat (i)	6	22,29	3,71		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	160,52	80,26	6,19 n	3,63
i x p	6	82,84	13,81	1,07 tn	2,74
Galat (p)	16	207,31	12,96		
Total	35	621,06			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran XI. Sidik Ragam Jumlah Akar

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	7,43	3,72	0,57 tn	5,14
Pencahayaannya	3	19,57	6,52	6,74 n	4,76
Galat (i)	6	5,80	0,97		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	6,02	3,01	2,43 tn	3,63
i x p	6	10,10	1,68	1,36 tn	2,74
Galat (p)	16	19,80	1,24		
Total	35	68,73			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran XII. Sidik Ragam Tingkat Pencoklatan

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	4,32	2,16	0,58 tn	5,14
Pencahayaan	3	11,11	3,70	4,00 tn	4,76
Galat (i)	6	5,56	0,93		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	15,43	7,72	4,55 n	3,63
i x p	6	38,89	6,48	3,82 n	2,74
Galat (p)	16	27,16	1,70		
Total	35	102,47			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran XIII. Sidik Ragam Bobot Segar

Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	2,38	1,19	0,99 tn	5,14
Pencahayaan	3	3,60	1,20	1,64 tn	4,76
Galat (i)	6	4,38	0,73		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	30,41	15,20	29,25 n	3,63
i x p	6	6,62	1,10	2,12 tn	2,74
Galat (p)	16	8,32	0,52		
Total	35	55,69			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran XIV. Sidik Ragam Bobot Kering

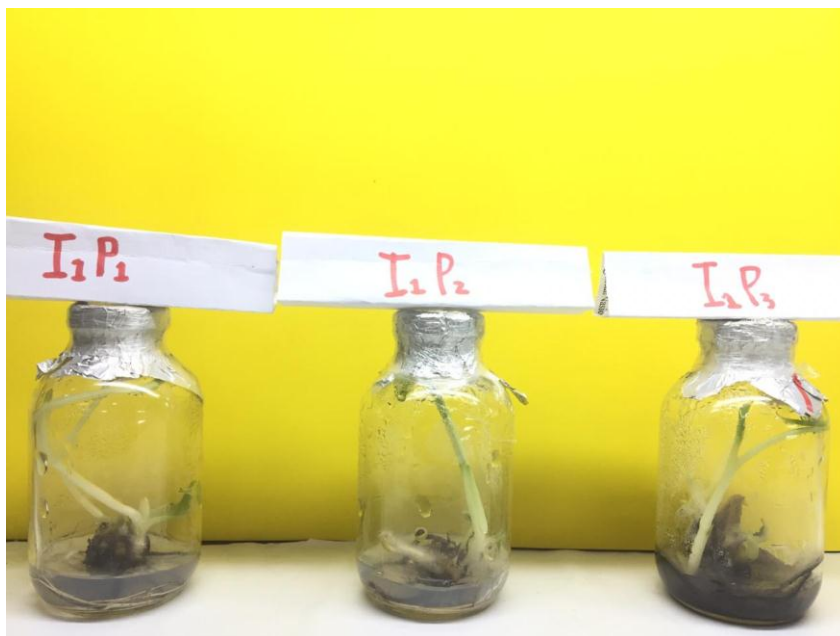
Sumber Keragaman	db	jk	kt	f-hit	f tabel 0,05
Ulangan	2	0,11	0,05	2,44 tn	5,14
Pencahayaan	3	0,07	0,02	0,46 tn	4,76
Galat (i)	6	0,28	0,05		
Zat Pencegah Pencoklatan	2	0,27	0,13	3,01 tn	3,63
i x p	6	0,09	0,01	0,25 tn	2,74
Galat (p)	16	0,71	0,04		
Total	35	1,50			

Keterangan : n : nyata
tn : tidak nyata

Lampiran Gambar



Gambar 1. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan IOP1, IOP2, dan IOP3 pada Umur 90 HST.



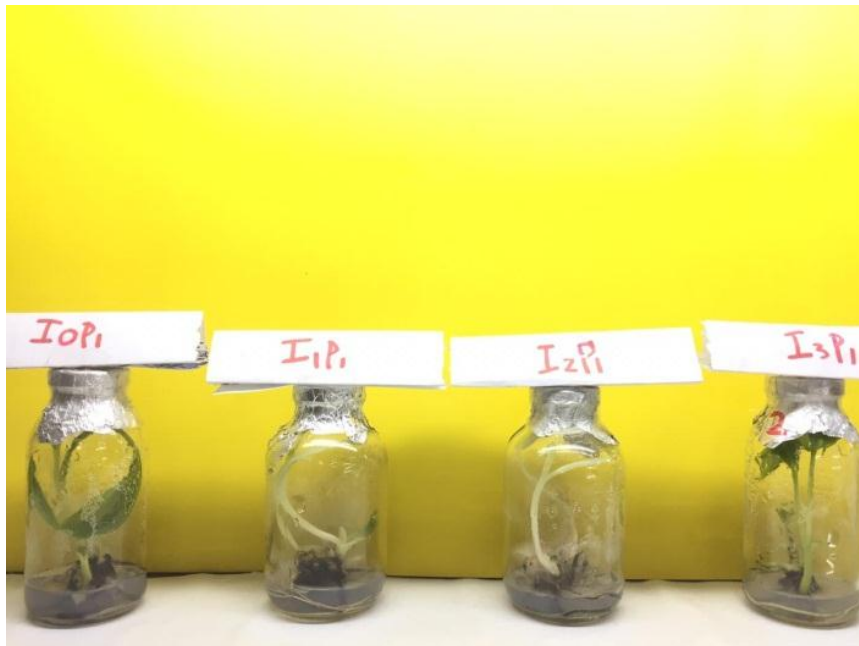
Gambar 2. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I1P1, I1P2, dan I1P3 pada Umur 90 HST.



Gambar 3. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I2P1, I2P2, dan I2P3 pada Umur 90 HST.



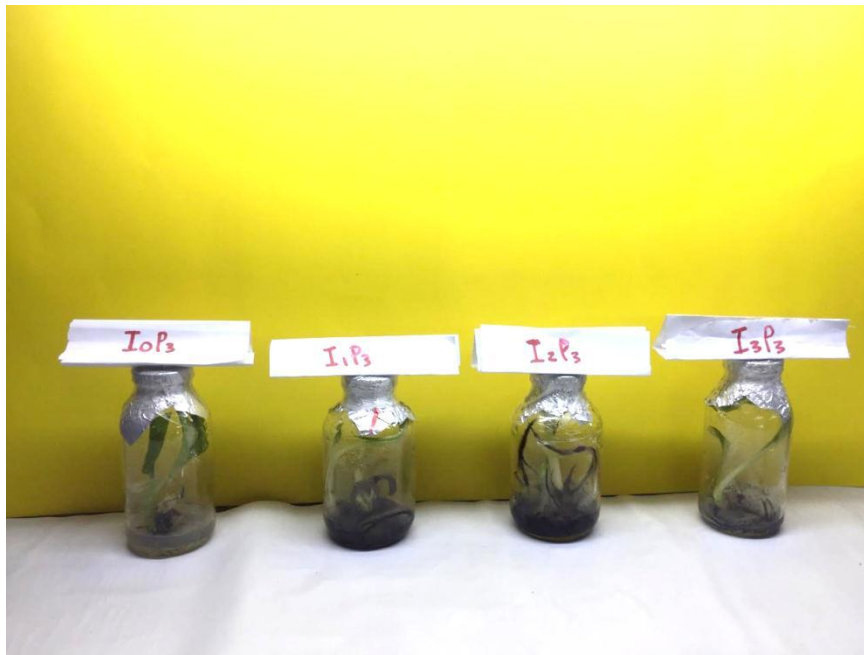
Gambar 4. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I3P1, I3P2, dan I3P3 pada Umur 90 HST.



Gambar 5. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan IOP1, I1P1, I2P1 dan I3P1 pada Umur 90 HST.



Gambar 6. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan IOP2, I1P2, I2P2, dan I3P2 Pada Umur 90 HST.



Gambar 7. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Perlakuan I0P3, I1P3, I2P3, dan I3P3 Pada Umur 90 HST.



Gambar 8. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 10



Gambar 9. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 15



Gambar 10 . Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 20



Gambar 11. Planlet Pisang Raja Bulu dengan Tingkat Pencoklatan Kriteria 25



Gambar 12. Pembuatan Media MS



Gambar 13. Sterilisasi Media