

### **III. METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan studi pembiakan *in vitro* tanaman pisang yang terdiri dari 2 percobaan yaitu:

1. Pengaruh konsentrasi BA dan varietas pisang (Ambon Kuning dan Raja Bulu) terhadap perbanyakan propagul *in vitro*.
2. Pengaruh campuran media tanam dan pemupukan terhadap keberhasilan aklimatisasi dan pertumbuhan bibit pisang Ambon Kuning.

#### **3.1 Percobaan I: Pengaruh Konsentrasi BA dan Varietas Pisang terhadap Perbanyakan Propagul *in Vitro***

##### *3.1.1 Tempat dan Waktu*

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Mei 2012 sampai dengan Mei 2013.

##### *3.1.2 Eksplan dan Sterilisasi Eksplan*

Tanaman yang digunakan pada percobaan ini adalah tanaman pisang Ambon Kuning dan Raja Bulu. Eksplan yang digunakan adalah mata tunas yang diambil

dari bonggol. Eksplan dipotong membentuk kubus dengan ukuran 2 cm x 2 cm x 2,5 cm. Eksplan direndam dalam larutan 150 mg/l asam askorbat dan 50 mg/l asam sitrat selama 30 menit. Kemudian eksplan disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam larutan pemutih *Bayclin* 50% dan ditambah 1—2 tetes larutan Tween 20 kemudian dikocok menggunakan *shaker* selama 30 menit. Eksplan lalu diperkecil ukurannya menjadi 1 cm x 1 cm x 1,5 cm. Selanjutnya eksplan direndam sambil dikocok lagi dalam larutan 15% *Bayclin* selama 10 menit, lalu dibilas dengan air steril sebanyak minimal tiga kali.

### 3.1.3 Media Kultur

Media prekondisi dan media kultur yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog, 1962). Komponen media prekondisi adalah garam-garam MS, 30 g/l sukrosa, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, dan 1 mg/l benziladenin (BA). Pematat media digunakan 7 g/l agar-agar .

Komponen media perlakuan sama dengan media prekondisi, kecuali bahwa konsentrasi BA yang digunakan adalah sesuai dengan perlakuan percobaan yaitu: MS + BA 2,5 mg/l, MS + BA 5 mg/l dan MS + BA 7,5 mg/l.

Tingkat keasaman media prekondisi dan media perlakuan diatur tingkat keasamannya menjadi 5,8 menggunakan pH meter dengan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kgf/cm<sup>2</sup> selama 15 menit.

#### 3.1.4 Rancangan Percobaan

30

Percobaan dilaksanakan dengan Rancangan Teracak Sempurna (RTS) dengan perlakuan yang disusun secara faktorial (3x2). Faktor pertama adalah berbagai konsentrasi benziladenin (BA) yaitu 2,5 mg/l; 5,0 mg/l; dan 7,5mg/l. Faktor kedua adalah varietas pisang, yaitu Ambon Kuning dan Raja Bulu. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Setiap satu unit percobaan terdiri dari 3 botol kultur yang masing-masing berisi satu eksplan. Data yang diperoleh dianalisis ragam dan apabila hasil uji F nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT 5%.

#### 3.1.5 Penanaman Eksplan dan Subkultur

Penanaman eksplan steril dan subkultur dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC) dengan kondisi aseptik. Setelah 10 hari di media prekondisi, eksplan kemudian dipindahkan ke media kultur sesuai dengan perlakuan pada masing-masing percobaan. Pencacahan mata tunas dilakukan agar mata tunas terbelah dan menghasilkan lebih dari satu mata tunas serta menekan dominansi apikal.

Eksplan lalu disubkultur sesuai ke media perlakuan yang baru setiap 4 minggu. Eksplan yang telah memiliki tunas dipisahkan dan masing-masing ditanam pada botol yang terpisah agar mengalami multiplikasi.

Kultur diinkubasikan dalam ruang kultur pada suhu  $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan pencahayaan dari lampu fluoresens (TL) berintensitas 1000–2000 lux, yang diatur fotoperiodesitasnya 16 jam terang dan 8 jam gelap setiap harinya.

### *3.1.6 Pengamatan*

31

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah mata tunas per eksplan dan jumlah tunas per eksplan yaitu pada minggu ke-20 setelah penanaman. Jumlah mata tunas per eksplan dihitung berdasarkan semua mata tunas yang terbentuk dari eksplan yang memiliki ukuran panjang kurang dari 0,5 cm. Jumlah tunas per eksplan dihitung berdasarkan semua tunas yang terbentuk dari setiap eksplan. Pengamatan juga dilakukan terhadap penampakan visual kultur pada umur 20 minggu setelah tanam.

## **3.2 Percobaan II. Pengaruh Campuran Media Tanam dan Pemupukan terhadap Keberhasilan Aklimatisasi dan Pertumbuhan Bibit Pisang Ambon Kuning**

### *3.2.1 Tempat dan Waktu*

Pelaksanaan percobaan ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan kemudian dilanjutkan pelaksanaanya di rumah kaca Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan Pebruari 2012 sampai dengan Mei 2012.

### *3.2.2 Bahan Tanaman*

Bahan tanaman yang digunakan adalah planlet pisang Ambon Kuning yang telah siap diaklimatisasi di Laboratorium Kultur jaringan.

### 3.2.3 Media Tanam Aklimatisasi dan Pemupukan

32

Media aklimatisasi yang digunakan adalah campuran media arang sekam, pasir malang, kompos daun bambu dengan perbandingan 1:1:1 (M1), media arang sekam dan kompos dengan perbandingan 1:1 (M2) dan media pasir malang dan kompos dengan perbandingan 1:1 (M3). Pupuk daun yang digunakan bermerek dagang Growmore biru, dengan perbandingan NPK (32:10:10) dengan dosis 2 g/l.

### 3.2.4 Cara Aklimatisasi

Bibit-bibit dalam botol yang sudah siap diaklimatisasi dikeluarkan dari ruang kultur kemudian diletakkan di ruang penguatan (*hardening*) selama 3 hari. Tunas-tunas yang sudah berakar yang disebut planlet ini dikeluarkan dari botol dengan hati-hati agar akar dan daunnya tidak rusak.

Planlet-planlet dicuci hingga bersih di bawah air kran mengalir, terutama bagian akar dan leher akar agar bersih dari sisa-sisa media yang menempel, kemudian dicelupkan ke dalam larutan fungisida Dithane M-45 dengan konsentrasi 2 g/l. Planlet yang sudah dicelupkan ke dalam larutan fungisida dikeringanginkan, ditanam dalam pot gelas plastik individu yang telah berisi media. Pot-pot tersebut diletakkan di dalam ruangan dan dilakukan penyungkupan dengan plastik. Sungkup plastik dibuka bertahap dimulai dengan waktu selama  $\pm$  3 jam, 6 jam, 9 jam hingga planlet tampak kuat dan kokoh. Penyiraman dilakukan satu kali sehari setiap pagi hari dengan hati-hati.

Bibit-bibit pisang dalam pot dipindahkan ke rumah kaca yang dilengkapi paranet setelah berumur 10 hari. Lantai bak tanam ditutup dengan sekam yang telah dicuci bersih dan direndam Dithane M-45 dan ditaburi furadan.

Pemberian pupuk Growmore dilakukan pada saat bibit-bibit pisang berumur 2 minggu sebanyak 20 ml per tanaman sesuai dengan perlakuan. Bibit-bibit pisang yang tidak mendapatkan perlakuan pupuk dilakukan penyiraman setara dengan yang memperoleh perlakuan pemupukan.

Pemberian perlakuan pemupukan dilakukan hingga minggu ke-7. Bibit-bibit pisang yang sudah teraklimatisasi tersebut kemudian dipindahkan ke polibeg berukuran 3 kg dengan menggunakan media campuran tanah (*top soil*) dan media bahan organik kompos daun untuk pembesaran bibit dengan perbandingan 1:1.

Bibit-bibit pisang dalam polibeg yang tidak mendapat perlakuan pemupukan pada umur 2 bulan atau 8 minggu mendapat perlakuan yang sama dengan bibit-bibit pisang yang diberikan perlakuan pemupukan Growmore hingga bibit berumur 1 bulan atau 4 minggu di pembibitan. Pengamatan dilakukan kembali setelah bibit-bibit tanaman pisang berumur 12 minggu sejak dikeluarkan dari botol.

### *3.2.5 Rancangan Percobaan*

Percobaan II ini dilaksanakan dengan Rancangan Teracak Sempurna (RTS) dengan perlakuan secara faktorial (3x2). Faktor pertama adalah berbagai kombinasi media tanam aklimatisasi planlet yaitu: M1 (pasir malang, arang sekam, kompos dengan perbandingan 1:1:1), M2 (arang sekam dan kompos

dengan perbandingan 1:1), dan M3 (pasir malang dan kompos dengan perbandingan 1:1). Faktor kedua adalah pemupukan Growmore (32:10:10) yaitu: P0= Tanpa pemupukan dan P1= Dengan pemupukan.

Setiap perlakuan diulang tiga kali. Setiap satuan percobaan terdiri dari sepuluh pot yang masing-masing berisi satu planlet. Data yang diperoleh dianalisis ragam dan apabila hasil uji F nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji BNT 5%.

### *3.2.6 Pengamatan*

Pada saat bibit-bibit pisang berumur 8 minggu dan 12 minggu setelah tanam dilakukan pengamatan sesuai dengan variabel pengamatan, yaitu persentase hidup, tinggi tanaman (cm), jumlah daun, tingkat kehijauan daun pisang, bobot tanaman segar (g), dan panjang akar.