

**KARAKTERISASI PLANLET PISANG KETAN (*Musa paradisiaca* L.) HASIL
SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh:
Imamah Muslimah



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

KARAKTERISASI PLANLET PISANG KETAN (*Musa paradisiaca* L.) HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO*

Oleh

Imamah Muslimah

Pisang ketan (*Musa paradisiaca* L.) merupakan buah yang enak dikonsumsi segar maupun olahan dengan tekstur daging buah yang pulen agak lengket seperti nasi ketan. Produksi tanaman pisang mengalami penurunan karena adanya serangan layu *Fusarium oxysporum*. Upaya dalam mendapatkan tanaman pisang ketan yang resisten terhadap penyakit layu *Fusarium* yaitu dengan menggunakan teknik *in vitro* dengan penambahan asam salisilat (AS) pada konsentrasi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kisaran konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang ketan secara *in vitro* dan mengetahui karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang ketan yang tahan asam salisilat secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan medium *Murashige and Skoog* (MS) dengan penambahan AS pada 5 taraf konsentrasi yaitu 0 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa AS yang toleran untuk seleksi planlet pisang ketan yaitu pada konsentrasi 40- 70 ppm. Kandungan klorofil a, b, dan total pada planlet pisang ketan konsentrasi AS 40 ppm dan 60 ppm mengalami peningkatan dibandingkan kontrol, sedangkan pada konsentrasi 50 ppm dan 70 ppm mengalami penurunan. Aktivitas enzim peroksidase mengalami peningkatan secara optimum pada konsentrasi AS 50 ppm. Indeks stomata daun planlet pisang ketan yang diimbasi asam salisilat mengalami peningkatan secara signifikan dibandingkan kontrol.

Kata kunci: Pisang ketan (*Musa paradisiaca* L.), Asam salisilat, layu *Fusarium*, *In vitro*

**KARAKTERISASI PLANLET PISANG KETAN (*Musa paradisiaca* L.)
HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

Oleh

Imamah Muslimah

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **KARAKTERISASI PLANLET PISANG KETAN
(*Musa paradisiaca* L.) HASIL SELEKSI DENGAN
ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Imamah Muslimah**

No. Pokok Mahasiswa : 1217021031

Jurusan : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 19651031 199203 2 003

Pembimbing II

Ir. Zulkifli, M.Sc.
NIP 19600716 198604 1 001

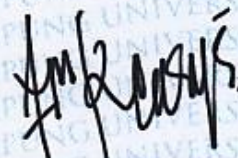
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

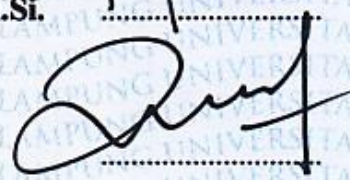
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

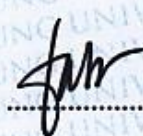
Ketua : Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



Sekretaris : Ir. Zulkifli, M.Sc.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dra. Martha Lulus Lande, M.P.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Mei 2016

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Seputih Mataram, Lampung Tengah, Provinsi Lampung pada tanggal 4 Mei 1994, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari Bapak Muchson Fathurrohman dan Ibu Halimah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Gula Putih Mataram pada tahun 1998. Pada tahun 2000, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Gula Putih Mataram. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan Madrasah Tsanawiyah Wali Songo Sukajadi, Lampung Tengah pada tahun 2006. Setelah itu, pada tahun 2009 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri 01 Ambarawa, Pringsewu.

Pada tahun 2012, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Mandiri. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Pengenalan Alat Laboratorium, Fisiologi Tumbuhan, Kultur Jaringan, Sains Dasar, dan Palinologi di Jurusan Biologi. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Biro Danus 2013-2014 dan anggota Biro Kesekretariatan dan Logistik 2014-2015 serta

aktif di Rois FMIPA Unila sebagai anggota biro BBQ 2013- 2014. Saat menjadi mahasiswa penulis pernah memperoleh beasiswa PPA.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada bulan Januari- Maret 2015 di Pasiran Jaya, Kecamatan Dente Teladas, Kabupaten Tulang Bawang. Pada tahun 2015 bulan Juli- Agustus, penulis melaksanakan Kerja Praktik di Divisi *Field Technical Service* (FTS) PT. Gula Putih Mataram, Sugar Group Companies, Provinsi Lampung dengan judul “**Identifikasi Gulma di Perkebunan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) PT. Gula Putih Mataram Sebelum Masa *Post Emergence*”**”.



Ku persembahkan karya sederhana ini kepada :



***Orangtua tercinta,
mas dan mbakku
tersayang, para
pendidikku, sahabat-
sahabat terbaik, dan
almamater tercinta.***

MOTO

“Hidup mulia, mati syahid”

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” (Al- Insyirah : 6)

“Allah mencintai pekerjaan yang apabila bekerja ia menyelesaikannya dengan baik” (HR. Tabrani)

SANWACANA

Puji syukur atas rahmat Allah SWT dengan segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat dalam menempuh pendidikan strata satu dalam bidang sains yang berjudul **“Karakterisasi Planlet Pisang Ketan (*Musa paradisiaca* L.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Secara *In Vitro*”**.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tinggi kepada :

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani M.Si., selaku pembimbing I yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan memberikan arahan, saran, motivasi, serta kepercayaan bagi penulis hingga terselesainya skripsi ini.
2. Bapak Ir. Zulkifli M.Sc., selaku pembimbing II yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih untuk setiap nasihat, saran, dan motivasi yang membangun bagi penulis.
3. Ibu Dra. Martha Lulus Lande, M.P., selaku pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, dan semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan dan motivasi kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.

5. Kepala Laboratorium Botani beserta teknisi dan staff laboran, Jurusan Biologi FMIPA Unila yang telah memberikan izin dan fasilitas selama penulis melaksanakan penelitian.
6. Ketua Jurusan Biologi FMIPA, Dekan FMIPA, dan Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak dan ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Unila atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
8. Rekan kerja penelitian (Abdi Tauhid, Asri Rahayu, Jevica Ayu, Lu'lu' Kholidah, Ria Aulia, dan Mbak Gardis Andari) dan kakak- kakak (Mbak Christi, Kak Adi, Mbak Eka, Kak Sobran, Mbak Linda, dan Mbak Rita).
Terimakasih untuk kerjasama, kebersamaan, dukungan, semangat, saran, dan doa selama menjalani penelitian ini.
9. Kedua orangtua tercinta, Ayah (Muchson Fathurrohman), Ibu (Halimah), mas (Choirur Rohman), mbak (Inayatus Soleihah), dan keluarga besarku terima kasih yang teramat dalam atas doa, kasih sayang, kesabaran, semangat, dukungan, dan nasehatnya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
10. Seluruh sahabat seperjuangan dan keluarga Biologi angkatan 2012 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu. Terimakasih atas dukungan, bantuan, saran, semangat, dan kebersamaan untuk penulis.
11. Sahabat terbaik (Sayu, Agustina, Puty, Dwi, Emil, Fai, dan Etika) terimakasih atas dukungan, motivasi, saran, kebersamaan baik suka dan duka, dan semangat untuk penulis.

12. Kakak tingkat 2008, 2009, 2010, adik-adik tingkat 2013, 2014, 2015 dan seluruh Wadya Balad HIMBIO terimakasih atas kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.
13. Keluarga Besar KKN Dente Teladas di Tulang Bawang dan kelompok KKN (Anggita, Wulan, Destian, dan Deni) untuk pengalaman dan kebersamaannya.
14. Keluarga Besar *Research and Development* PT Gula Putih Mataram terkhusus staff *Field Technical Service*, terimakasih atas pembelajaran dan pengalaman selama melaksanakan kerja praktik.
15. Teman-teman kosan Putri Wijaya (Sayu, Mbak Ajeng, Mbak Vevi, Mbak Amel, Mbak Nafisah, Mbak Intan, dan Mbak Dwi) terimakasih atas motivasi dan kebersamaannya.
16. Almamater Tercinta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan penulisan di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis berharap hasil tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat bagi banyak pihak.

Bandar Lampung, Mei 2016
Penulis,

Imamah Muslimah

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	vi
MOTO	vii
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang dan Masalah.....	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pemikiran	5
E. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Pisang	7
1. Sejarah.....	7
2. Biologi.....	7
3. Nilai Ekonomi	11
B. Penyakit Layu <i>Fusarium</i>	14
C. Asam Salisilat	16
D. Ketahanan Terimbas	17

E. Kultur Jaringan.....	18
F. Biosintesis Klorofil	20
III. METODE PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat	22
B. Alat dan Bahan	22
1. Alat	22
2. Bahan	23
C. Rancangan Percobaan	23
D. Bagan Alir	24
E. Pelaksanaan	25
1. Persiapan Medium Tanam	25
2. Persiapan Medium Seleksi	26
3. Penanaman Planlet dalam Medium Seleksi Asam Salisilat	26
4. Pengamatan.....	27
a. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup	27
b. Visualisasi Planlet	27
c. Analisis Kandungan Klorofil	27
d. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase	28
e. Analisis Stomata	29
F. Analisis Data	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Seleksi Planlet Pisang Ketan dengan Asam Salisilat	30
a. Persentase jumlah planlet hidup	31
b. Visualisasi planlet	33
B. Kandungan Klorofil	35
a. Kandungan klorofil a	35
b. Kandungan klorofil b	37
c. Kandungan klorofil total	39
C. Aktivitas Enzim Peroksidase	42
D. Indeks Stomata	45
V. SIMPULAN DAN SARAN	50
A. Simpulan	50
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata letak satuan percobaan setelah pengacakan	24
2. Persentase jumlah planlet hidup hasil seleksi dengan berbagai konsentrasi asam salisilat	32
3. Persentase dan visualisasi planlet hidup hasil seleksi dengan berbagai konsentrasi asam salisilat	33
4. Kandungan klorofil a planlet pisang ketan	36
5. Kandungan klorofil b planlet pisang ketan	38
6. Kandungan klorofil total planlet pisang ketan	40
7. Aktivitas enzim peroksidase pada planlet pisang ketan	43
8. Indeks stomata pada daun planlet pisang ketan	47
9. Komposisi medium <i>Murashige and Skoog</i> (MS)	61
10. Jumlah planlet hidup dan visualisasi planlet per minggu	64
11. Analisis ragam <i>single factor</i> kandungan klorofil a planlet pisang ketan	66
12. Analisis ragam <i>single factor</i> kandungan klorofil b planlet pisang ketan	66
13. Analisis ragam <i>single factor</i> kandungan klorofil total planlet pisang ketan	67
14. Analisis ragam <i>single factor</i> aktivitas enzim peroksidase planlet pisang ketan	68
15. Analisis ragam <i>single factor</i> indeks stomata planlet pisang ketan	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman pisang ketan	9
2. Perkembangan produksi pisang di sentra Provinsi di Indonesia	13
3. Tanaman pisang yang terserang <i>Fusarium oxysporum</i> pada bagian daun dan batang	14
4. Struktur kimia asam salisilat	16
5. Struktur klorofil	21
6. Bagan alir penelitian.....	25
7. Planlet pisang ketan yang ditanam pada medium <i>Murashige</i> <i>and Skoog</i> dengan berbagai konsentrasi umur 1 minggu	31
8. Pertumbuhan planlet pisang ketan umur 2 minggu yang diimbasi asam salisilat dengan berbagai konsentrasi	34
9. Kurva regresi hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil a	37
10. Kurva regresi hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil b.....	39
11. Kurva regresi hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil total	41
12. Kurva regresi hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan aktivitas enzim peroksidase	44
13. Permukaan bawah daun planlet pisang ketan menunjukkan stomata daun	46
14. Kurva regresi hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan indeks stomata	48
15. Histogram kandungan klorofil a planlet pisang ketan hasil pengimbasan asam salisilat	70
16. Histogram kandungan klorofil b planlet pisang ketan hasil pengimbasan asam salisilat	70
17. Histogram kandungan klorofil total planlet pisang ketan hasil pengimbasan asam salisilat	71
18. Histogram aktivitas enzim peroksidase planlet pisang ketan hasil pengimbasan asam salisilat	71
19. Histogram indeks stomata planlet pisang ketan hasil pengimbasan asam salisilat	72
20. Inkubasi planlet pisang ketan yang ditanam dalam medium MS dengan penambahan AS	73
21. Pembuatan medium seleksi MS	73

22. Sterilisasi medium dan alat- alat penelitian	74
23. Pembuatan konsentrasi asam salisilat	74
24. Penambahan asam salisilat dalam medium seleksi	74
25. Pengambilan planlet pisang ketan dari botol kultur	75
26. Penanaman planlet pisang ketan pada medium MS dengan berbagai konsentrasi asam salisilat	75
27. Planlet pisang ketan pada medium seleksi minggu 1	76
28. Penimbangan daun planlet pisang ketan untuk analisis kandungan klorofil dan analisis aktivitas enzim peroksidase	76
29. Pembuatan ekstrak daun planlet pisang ketan	76
30. Ekstrak daun planlet pisang ketan untuk analisis kandungan klorofil	77
31. Ekstrak daun planlet pisang ketan untuk analisis aktivitas enzim peroksidase	77
32. Sentrifugasi ekstrak daun planlet pisang ketan untuk analisis kandungan klorofil dan aktivitas enzim peroksidase	77
33. Spektrofotometer untuk analisis kandungan klorofil dan aktivitas enzim peroksidase	78
34. Pengambilan data klorofil dan aktivitas enzim peroksidase daun planlet pisang ketan	78
35. Pembuatan larutan kloralhidrat	78
36. Pengamatan stomata pada daun planlet pisang ketan	79
37. (A) Mikrometer perbesaran 10 x 10 pada mikroskop, (B) Stomata daun planlet pisang ketan	79

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan bahan pangan keempat terpenting di dunia setelah beras, susu, dan gandum. Pisang menduduki urutan pertama di dunia dari segi produksi maupun volume perdagangan buah segar (Megia, 2005). Pisang adalah tanaman yang bernilai ekonomi cukup tinggi jika dibudidayakan secara intensif dengan menerapkan teknologi secara benar dan dapat menjadi komoditas ekspor nonmigas yang memberikan sumbangan terhadap pendapatan devisa negara. Pisang ketan merupakan salah satu varietas unggul yang dapat tumbuh di dataran rendah, menengah, maupun tinggi dengan ketinggian tidak lebih dari 1600 meter di atas permukaan laut (Mulyani dkk., 2008).

Produksi pisang mengalami penurunan pada tahun 2011 seperti yang terjadi di Jawa Barat. Tahun 2011 Jawa Barat merupakan peringkat pertama dengan kontribusi sebesar 20,03 % tetapi, dua tahun berikutnya mengalami penurunan produksi karena serangan layu *Fusarium* (Susanti, 2014).

Patogen yang menyerang dan menghancurkan tanaman pisang baik di daerah tropis maupun subtropik adalah *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*)

(Anna dkk., 2014). Gejala yang ditimbulkan pada tanaman pisang yang terserang *Foc* yaitu tepi daun menguning dari daun tertua menuju daun termuda

(Fourie *et al.*, 2014). Persistensi *Foc* dapat meningkatkan potensial inokulum secara nyata sehingga dapat menghancurkan tanaman pisang apabila dibiarkan begitu saja. Hal ini dikarenakan *Foc* mampu bertahan lama di dalam tanah selama beberapa tahun (Fravel *et al.*, 2014).

Para petani di Indonesia masih menggunakan fungisida untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium*, tetapi dampak yang di timbulkan yaitu adanya strain patogen yang resisten terhadap bahan kimia tersebut (Suciatmih dkk., 2014) dan terjadi pencemaran lingkungan serta matinya organisme non target sehingga perlu dicari alternatif lain yang efektif dan ramah lingkungan (Oka, 1995), yaitu dengan menggunakan varietas yang tahan atau resisten (Nurchayani, 2013).

Pengembangan kultivar tahan *Foc* dapat dilakukan menggunakan metode seleksi *in vitro* (Suryanti dkk., 2009) yaitu seleksi yang dilakukan terhadap eksplan pada kultur *in vitro* menggunakan elisitor (Predieri, 2001).

Asam salisilat merupakan signal penting yang digunakan sebagai senyawa atau agen penginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit layu *Fusarium oxysporum* (Hersanti, 2006). Ketahanan tersebut dikenal dengan ketahanan sistemik terinduksi atau ketahanan terimbas (Huang, 2001). Ketahanan terimbas yaitu aktivitas tanaman sehubungan dengan mekanisme pertahanan terhadap agensia yang berbahaya (Sumardiyono, 2000). Selain asam salisilat, agen penginduksi lainnya tidak terlepas dari protein- protein terkait dengan *Pathogenesis Related-*

protein (PR- protein) seperti peroksidase, kitinase, 1,3- glukase, dan 1,4- glukosidase (Arai and Takeuchi, 1993).

Tanaman yang berinteraksi dengan patogen akan melindungi diri dengan berbagai penghalang fisik atau kimia dan peningkatan ekspresi gen- gen ketahanan. Gen tahan (*resistant*) tidak akan terekspresi dalam ketahanan terimbas kecuali terjadi interaksi antara tanaman dengan pengimbas (*inducer*). Pengimbas diberikan pada tanaman yang rentan sebelum terjadi penularan oleh patogen (Sumardiyono, 2000).

Syamsiah dkk. (2013) meneliti ketahanan tanaman tapak dara (*Charanthus roseus* L.) terhadap serangan *Cucumber mosaic virus* (CMV) dengan menggunakan asam salisilat pada konsentrasi 0,5 mM, 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, dan 5 mM. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak berbeda nyata terhadap kontrol, tetapi pada hasil penelitian terdapat penghambat tertinggi yaitu 14,64 % dengan konsentrasi asam salisilat 0,5 mM. Hal ini diduga konsentrasi tersebut kurang optimal untuk menginduksi ketahanan sistemik tanaman tapak dara. Hersanti (2006) menyatakan bahwa setiap *species* tanaman mempunyai tingkat toleransi yang berbeda- beda terhadap pengaplikasian asam salisilat dengan berbagai konsentrasi.

Sujatmiko dkk. (2012) melakukan penelitian tentang studi ketahanan melon (*Cucumis melo* L.) terhadap layu *Fusarium* secara *in vitro* dan kaitannya dengan asam salisilat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus

melon pada medium dengan konsentrasi 0 dan 15 ppm tidak berbeda, pada konsentrasi 30 ppm mulai terlihat penurunan pertumbuhan kalus dan berlanjut pada konsentrasi 60 ppm. Kalus yang mampu beregenerasi dan menghasilkan planlet merupakan planlet yang tahan pada tingkat *in vitro*. Tanaman tahan memiliki kandungan asam salisilat alami lebih tinggi dari tanaman rentan.

Sejauh ini belum ada penelitian pisang ketan dengan menggunakan asam salisilat secara *in vitro* untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium*. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kandidat planlet pisang ketan yang mampu menghasilkan galur yang tahan terhadap infeksi *Foc* dan nantinya diharapkan dapat diaplikasikan dalam meningkatkan produksi pisang yang unggul di Indonesia.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengetahui kisaran konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet pisang ketan secara *in vitro*.
2. Mengetahui karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang ketan yang tahan asam salisilat secara *in vitro*.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk memperoleh planlet pisang ketan yang tahan asam salisilat secara *in vitro*. Planlet yang insensitif terhadap asam salisilat diharapkan juga tahan terhadap

Fusarium oxysporum. Secara ilmiah, diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman dan ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Pisang ketan merupakan salah satu tanaman buah yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi di Indonesia. Produksi pisang mengalami penurunan karena terserang penyakit layu *Fusarium*. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* yang berada di dalam tanah dan masuk ke tanaman melalui akar.

Pengendalian layu *Fusarium* menggunakan fungisida menyebabkan adanya patogen yang resisten terhadap bahan kimia tersebut, pencemaran lingkungan, dan matinya organisme non target, sehingga perlu adanya solusi lain. Salah satu solusinya yaitu dengan memperoleh kultivar yang tahan terhadap penyakit tersebut yaitu dengan cara seleksi asam salisilat secara *in vitro*.

Asam salisilat merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman. Terbentuknya asam salisilat pada tumbuhan merupakan respon terhadap serangan patogen sebagai bentuk pertahanan. Mekanisme ketahanan melalui jalur asam salisilat berhubungan dengan protein– protein yang terkait dengan patogenesis (PR- protein) seperti peroksidase, kitinase, 1,3- glukonase, dan 1,4- glukosidase. Pertahanan alami pada tumbuhan yang telah mengalami pembentukan asam

salisilat meliputi produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil.

Pendekatan seleksi *in vitro* yang telah menghasilkan banyak varietas tanaman tahan terhadap penyakit diantaranya tanaman pisang ambon (Soesanto dan Rahayuniati, 2009), pisang (Faradilla, 2012), melon (Sujatmiko dkk., 2012), dan tapak dara (Syamsiah dkk., 2013).

E. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat kisaran konsentrasi asam salisilat yang toleran dalam menyeleksi planlet pisang ketan secara *in vitro*.
2. Adanya karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang ketan yang tahan asam salisilat secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pisang

1. Sejarah

Pisang merupakan tanaman buah berupa herba yang berasal dari kawasan Asia Tenggara (termasuk Indonesia) sehingga kawasan ini dikenal sebagai pusat asal mula genus *Musa*. Tanaman ini kemudian menyebar ke Afrika (Madagaskar), Amerika Selatan, Amerika Tengah dan tersebar luas ke seluruh dunia. Pisang menjadi komoditas buah tropis yang sangat populer di dunia karena selain rasanya yang lezat, buah ini memiliki kandungan gizi yang tinggi dan harga relatif murah (Sunarjono, 2004).

2. Biologi

Buah pisang merupakan sumber vitamin, mineral dan juga karbohidrat. Terdapat tiga jenis pengelompokan buah pisang yaitu pertama; jenis buah meja untuk konsumsi segar. Penampilan buah merupakan hal pertama yang dicari konsumen, pisang ini dapat dikonsumsi setelah masak, seperti pisang susu. Kedua; jenis buah meja untuk konsumsi pabrik, lebih mengutamakan buah berisi penuh dan mulus yang dapat menghasilkan kadar *purce* (bubur kental) lebih tinggi. Jenis pisang yang biasa digunakan untuk *purce* yaitu

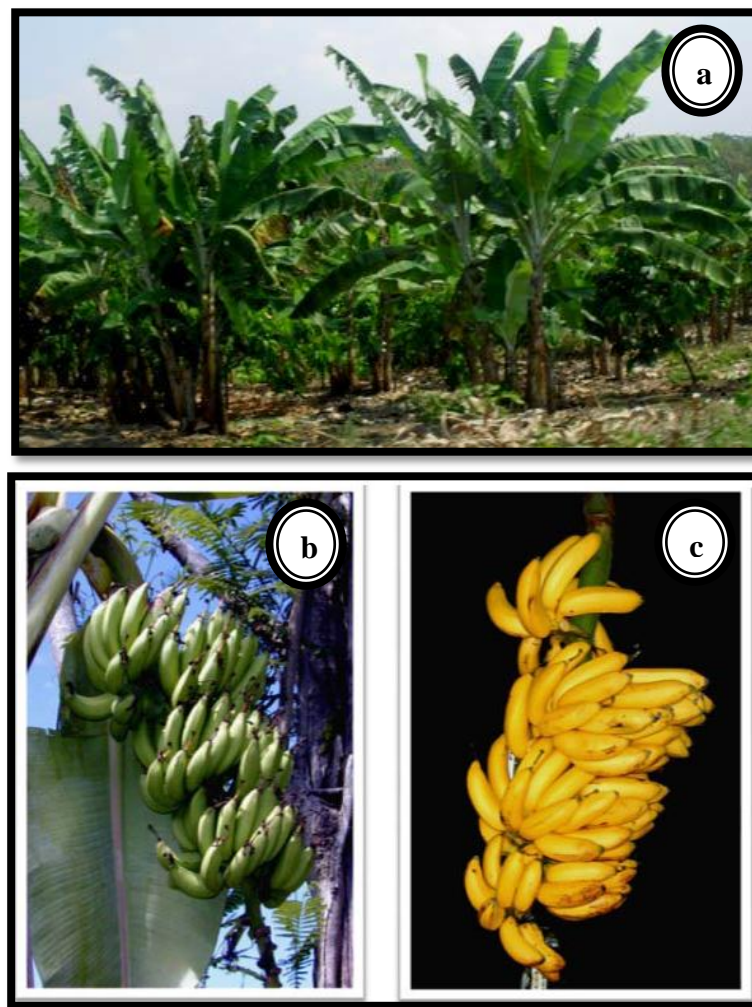
cavendish. Ketiga; jenis buah pisang olah, pisang ini dapat dikonsumsi setelah diolah menjadi makanan seperti pisang goreng, pisang rebus, cake pisang (Sunarjono, 2004).

Tanaman pisang memiliki buah, daun, bonggol, dan getah yang dapat dimanfaatkan. Buah pisang dapat diolah menjadi berbagai macam kreasi makanan seperti pisang goreng, pisang rebus, keripik, tepung, dan sale pisang. Daun pisang dimanfaatkan sebagai pengganti pembungkus plastik atau kertas nasi pada makanan. Bonggol pisang dimanfaatkan sebagai indukan baru, selain itu pada zaman penjajahan Jepang tahun 1942- 1946 bonggol pisang dijadikan bahan pengganti karbohidrat karena Indonesia mengalami krisis pangan (Suhardiman, 1997). Getah pisang dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh luka luar yaitu dengan cara mengoleskannya pada bagian tubuh yang terluka (Ningsih dkk., 2013).

Klasifikasi tanaman pisang menurut Eriansyah dkk. (2014) adalah sebagai berikut.

Regnum : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Classis : Liliopsida
Ordo : Zingiberales
Familia : Musaceae
Genus : *Musa*
Species : *Musa paradisiaca* L.

Pisang ketan merupakan salah satu pisang unggul di Indonesia yang dapat tumbuh dan berkembang di dataran rendah dan dataran menengah sampai dataran tinggi dengan ketinggian tidak lebih dari 1600 mdpl. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah 27 °C dan suhu maksimumnya 38 °C dengan pH tanah 4,5- 7,5 (Mulyani dkk., 2008). Gambar habitus dan buah pisang ketan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman pisang ketan (a). Habitus pisang ketan, (b). Pisang ketan buah muda, (c). Pisang ketan buah masak (Anonymous, 2015)

Pisang ketan merupakan buah yang enak dikonsumsi segar maupun olahan dengan tekstur daging buah yang pulen agak lengket seperti nasi ketan sehingga dapat dijadikan bahan baku nasi goreng pisang. Pada beberapa daerah pisang ketan dikenal dengan nama varietas ketip sari, raja jantan piaman, uli, sililit, bangka hulu, dan janten (Anonymous, 2015).

Morfologi tanaman pisang menurut Suyanti dan Supriyadi (2008) sebagai berikut:

- Akar

Pohon pisang berakar serabut yang berpangkal dari umbi batang, berdiameter 0,5- 1 cm, berbentuk silinder, panjang akar mencapai kedalaman 75- 150 cm, dan panjang akar yang menjalar kesamping yaitu 4- 5 meter.

- Batang

Batang pisang merupakan batang semu yang terbentuk dari pelepah daun yang membesar di pangkalnya dan mengumpul membentuk struktur berselang- seling yang terlihat kompak. Batang pisang yang sebenarnya terletak di dalam tanah yaitu berupa umbi batang. Tinggi batang semu berkisar 3,5- 7,5 m tergantung dari jenis pisang.

- Daun

Helaian daun pisang berbentuk lanset memanjang yang letaknya tersebar dan memiliki tangkai daun yang panjangnya berkisar

30- 40 cm. Pada bagian bawah permukaan daun dilapisi oleh suatu lapisan tebal yang berfungsi menahan air agar tidak membasahi daun.

- Bunga

Bunga pisang atau sering disebut jantung pisang tergolong berkelamin satu, yaitu berumah satu dalam satu tandan. Daun penumpu bunga tersusun secara spiral dan daun pelindung berwarna merah tua, berlilin dan mudah rontok dengan panjang 10- 25 cm. Panjang bunga betina mencapai 10 cm dan terdapat bakal buah yang berbentuk persegi, sedangkan panjang bunga jantan mencapai 6 cm dan tidak terdapat bakal buah.

- Buah

Buah pisang berbentuk sisir tergantung letak sisirnya dengan ukuran panjang buah berkisar 6- 35 cm dan berdiameter 2- 5 cm. Buah matang pada daerah tropik yaitu 85- 110 hari setelah muncul inflorescence (antesis) dan pada daerah subtropik dingin yaitu sekitar 210 hari.

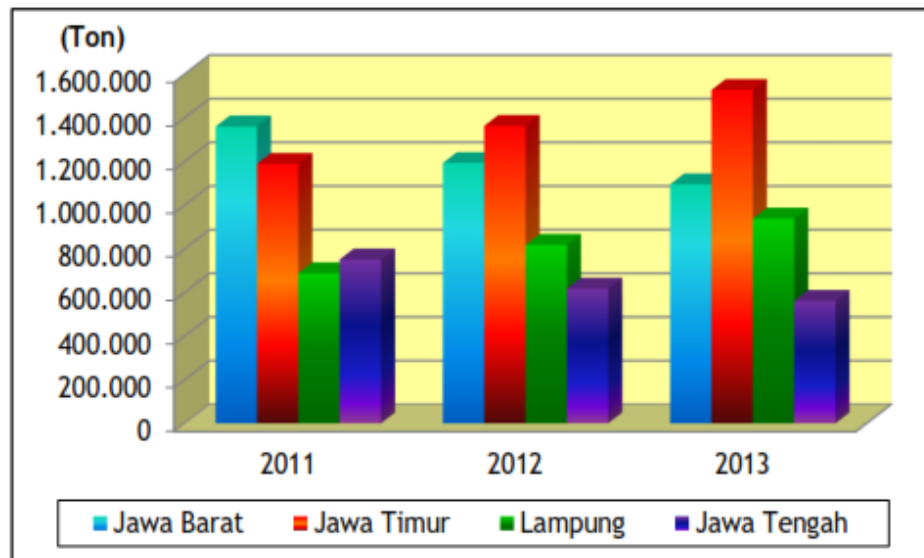
3. Nilai Ekonomi

Pisang merupakan buah tropis berasal dari Asia Tenggara yang mempunyai peranan penting dalam percaturan buah internasional. Pisang menduduki urutan pertama di dunia berdasarkan segi produksi maupun volume

perdagangan buah segar, selain itu pisang juga menempati area penanaman yang sangat luas meliputi hampir 10 juta hektar di 130 negara (Megia, 2005). Pisang mempunyai peran penting dalam ketahanan pangan karena lebih dari 85% produksi global dihasilkan dari kebun- kebun berskala kecil yang digunakan untuk konsumsi lokal dan pasar regional (Anonymous, 2002).

Menurut Prabawati dkk. (2008) Indonesia memiliki daerah sebaran buah pisang yang luas yaitu hampir seluruh wilayah merupakan penghasil pisang. Sentra produksi pisang di Indonesia yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Lampung, Kalimantan, Sulawesi, Bali, dan Nusa Tenggara Barat.

Sebaran produksi pisang selama tiga tahun terakhir (2011- 2013) tidak mengalami perubahan besar. Produksi pisang di Jawa Barat tahun 2011 merupakan peringkat pertama, tetapi dua tahun berikutnya semakin menurun. Hal ini disebabkan adanya serangan layu *Fusarium* di beberapa kabupaten sentra produksi pisang yaitu Cianjur, Majalengka, dan Bandung Barat. Hal yang sama juga terjadi di Jawa Tengah yang mengalami penurunan, sedangkan produksi pisang di Jawa Timur dan Lampung cenderung meningkat dalam tiga tahun terakhir (Susanti, 2014). Perkembangan produksi pisang di Provinsi sentra di Indonesia disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perkembangan produksi pisang di sentra Provinsi di Indonesia (Susanti, 2014)

Produksi pisang di negara- negara ASEAN mengalami peningkatan, sejalan dengan perkembangan luas panen. Pada tahun 2008- 2012, tercatat Filipina menjadi negara penghasil terbesar di Asia Tenggara dengan rata-rata produksi pisang mencapai 9,04 juta ton dengan kontribusi sebesar 47,90%, urutan kedua yaitu Indonesia dengan kontribusi sebesar 32,28%, kemudian diikuti oleh Thailand (8,38%), vietnam (7,84%), dan negara- negara ASEAN lainnya (2%). Berdasarkan rata- rata produksi pisang tahun 2008- 2012 terdapat enam negara produsen pisang terbesar di dunia yaitu India, China, Filipina, Ekuador, Brazil, dan Indonesia. Rata- rata produksi pisang di India sebesar 27,16 juta ton per tahun dengan kontribusi sebesar 26,16%, peringkat kedua yaitu China dengan kontribusi sebesar 9,25%, kemudian diikuti oleh Filipina (8,86%), Ekuador (7,19%), Brazil (6,86%), dan Indonesia

(5,97%). Negara- negara produsen pisang lainnya memberikan kontribusi kurang dari 5% (Susanti, 2014).

B. Penyakit Layu *Fusarium*

Fusarium oxysporum (*Fo*) merupakan jamur yang bersifat tular tanah (*soil-borne pathogen*). Jamur ini dapat menular melalui tanah atau dari tanaman sakit lain dan menginfeksi tanaman melalui luka pada akar sehingga menyebabkan penyakit layu. *Fusarium oxysporum* dapat bertahan hidup dalam jangka waktu lama meskipun lahan tidak ditanami karena patogen ini berupa kladospora. Ciri- ciri tanaman muda yang terserang *Fusarium oxysporum* yaitu busuk pada bagian akar hingga pangkal batang, daun- daun layu mengerut, dan akhirnya mati (Semangun, 1989). Tanaman pisang yang terserang *Fusarium oxysporum* disajikan pada Gambar 3, daun pisang menguning kemudian coklat lalu mati (Gambar 3a) dan bonggol pisang mengalami penguningan jaringan pembuluh yang selanjutnya berubah warna menjadi merah atau coklat (Gambar 3b).



Gambar 3. Tanaman pisang yang terserang *Fusarium oxysporum* pada bagian (a) daun dan (b) batang (Hermanto dkk., 2012)

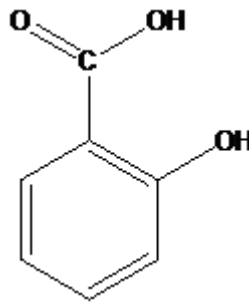
Pada siklus hidupnya, *Fusarium oxysporum* mengalami 2 fase yaitu fase patogenesis dan fase saprogenesis. Fase patogenesis yaitu jamur hidup sebagai parasit pada tanaman inang dan jika tidak ada tanaman inang, maka jamur tersebut akan hidup didalam tanah sebagai saprofit pada sisa tanaman dan masuk pada fase saprogenesis, yang dapat menjadi sumber inokulum untuk menimbulkan penyakit pada tanaman lain (Groenewald, 2006).

Fusarium oxysporum mempunyai 3 alat reproduksi, yaitu makrokonidia, mikrokonidia, dan klamidospora. Makrokonidia berbentuk melengkung seperti bulan sabit, panjang dengan ujung mengecil, terdiri dari 3- 5 septa, dan biasanya dihasilkan pada permukaan tanaman yang terserang lanjut. Mikrokonidia yaitu konidia yang terdiri dari 1- 2 sel dan paling banyak dihasilkan di setiap lingkungan. Klamidospora memiliki dinding tebal terdiri dari 1- 2 septa, dihasilkan pada ujung miselium yang sudah tua, dan spora bertahan pada lingkungan yang kurang baik (Nugraheni, 2010).

Fusarium oxysporum menghasilkan 3 macam toksin yang menyerang pembuluh xilem dan dapat mengubah permeabilitas membran plasma dari sel tanaman inang sehingga tanaman yang terinfeksi lebih cepat kehilangan air, ketiga toksin tersebut yaitu asam fusarat, asam dehidrofusarat, dan likomarasmin (Nugraheni, 2010).

C. Asam Salisilat

Asam salisilat (AS) memiliki rumus molekul $C_7H_6O_3$ dengan bentuk kristal kecil berwarna merah muda terang hingga kecoklatan dan berat molekul sebesar 138,123 g/mol. Sifat fisik dan kimia asam salisilat yaitu titik leleh sebesar 156 °C, densitas pada 25 °C sebesar 1,433 g/mL, titik didih 211 °C, mudah larut dalam air dingin tetapi melarutkan dalam keadaan panas (Kristian dan Amitra, 2007). Struktur asam salisilat disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia asam salisilat (Fessenden dan Fessenden, 1986)

Asam salisilat merupakan salah satu senyawa kimia yang mempunyai kemampuan sebagai agen penginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit (Hersanti, 2006). Asam salisilat terbentuk pada tanaman sebagai reaksi terhadap infeksi patogen sehingga senyawa ini memegang peranan penting dalam ketahanan sistemik terinduksi (KST). Selain itu, asam salisilat mempunyai sifat antimikrobia atau dapat dimasukkan dalam kelas protein anti mikrobia (Kessman *et al.*, 1994).

Asam salisilat mampu menghambat pergerakan virus dari satu sel ke sel lainnya dan pergerakan virus secara sistemik keseluruhan bagian tanaman (Murphy *et al.*, 2001). Hal ini sejalan dengan Naylaor *et al.* (1998) yang melaporkan bahwa asam salisilat mampu menghambat pergerakan virus pada tanaman tembakau.

D. Ketahanan Terimbas

Huda (2010) menyatakan bahwa ketahanan terimbas merupakan ketahanan yang berkembang setelah tanaman diinokulasi lebih awal dengan elisitor biotik (mikroorganisme avirulen, non patogenik, saprofit) dan elisitor abiotik (asam salisilat, asam 2- kloroetil fosfonik). Terdapat 4 macam mekanisme ketahanan tanaman terhadap serangan patogen yaitu mekanisme bawaan, mekanisme terimbas, biokimiawi bawaan, dan biokimiawi terimbas. Mekanisme ketahanan mekanis (mekanisme bawaan dan mekanisme terimbas) antara lain terbentuknya tilosis yang dapat menghambat gerakan patogen, terbentuknya lapisan gabus, dan kutikula yang tebal, sedangkan mekanisme ketahanan biokimiawi (biokimiawi bawaan dan biokimiawi terimbas) antara lain terbentuknya senyawa fenol bebas karena ada peningkatan aktivitas enzim polifenol oksidasi dan senyawa fitoaleksin yaitu senyawa yang dihasilkan oleh jaringan inang sebagai tanggapan terhadap invasi patogen (Nugraheni, 2010).

Asam salisilat atau 2-hidroksi-benzoat merupakan salah satu signal yang dapat mengaktivasi sistem pertahanan tanaman terhadap patogen. Invasi jamur

patogen pada sistem perakaran dapat terhambat karena tanaman yang telah diinokulasi dengan patogen, bereaksi sehingga membentuk senyawa pertahanan yang akan terakumulasi pada daerah akar (Misaghi, 1982).

Mekanisme ketahanan tanaman terhadap suatu infeksi patogen dapat digambarkan dengan adanya peningkatan enzim peroksidase (Agrawal *et al.*, 1999). Enzim peroksidase termasuk kelompok *Pathogenesis Related-protein* (PR-protein) yaitu suatu protein spesifik pada tanaman yang berperan dalam mempertahankan kelangsungan kehidupan tanaman, khususnya dalam menangkal serangan dari organisme atau virus patogen yang berbahaya bagi tanaman tersebut (Soedjanaatmadja, 2008). Enzim peroksidase merupakan salah satu kelompok PR- protein dari golongan PR- 9 yang terakumulasi pada saat tanaman sakit atau sejenisnya (Loon *et al.*, 1994). Campbell and Jane (2008) menyatakan bahwa enzim peroksidase merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis lignin sehingga tumbuhan resisten terhadap serangan patogen.

E. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan jaringan tanaman yang dibudidayakan menjadi tanaman kecil sehingga memiliki sifat yang sama seperti induknya. Pada proses kultur jaringan terdapat beberapa komponen yang ditambahkan seperti vitamin, zat pengatur tumbuh, asam amino, unsur hara makro dan unsur hara mikro.

Pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* ditentukan oleh medium dan lingkungan tumbuh (Gunawan, 1987).

Medium kultur jaringan berupa medium padat, semi padat, dan cair. Medium berfungsi untuk penyediaan air, hara mineral, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan proses pembuangan sisa metabolisme tanaman pada proses regenerasi kultur jaringan (Wattimena dkk., 1992).

Perkembangan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, kelembaban, cahaya, dan temperatur. Faktor tersebut berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan diferensiasi sel- sel tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan secara *in vitro* (Nugroho, 2000).

Manfaat pemuliaan tanaman dengan kultur jaringan yaitu menciptakan klon- klon tanaman dalam jumlah yang banyak dengan waktu relatif lebih cepat, seragam, dan murah serta bebas dari virus saat di isolasi (Welsh, 1991).

Kultur jaringan merupakan pengembangan dari teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann yaitu sel tumbuhan memiliki sifat autonom (mampu mengatur rumah tangganya sendiri; metabolisme, tumbuh dan berkembang secara independen) dan totipotensi (kemampuan beregenerasi menjadi tanaman lengkap). Perkembangan kultur jaringan sebagai teknik baru dalam bidang biologi mempunyai kaitan erat dengan perkembangan bioteknologi. Penerapan kultur jaringan dalam bidang industri (bioteknologi) antara lain produksi tanaman

bebas virus, tanaman tahan kekeringan, dan produksi zat- zat alkaloid untuk industri farmasi seperti alkaloid, glikosida jantung (Nurchahyo, 2011).

F. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau yang terdapat dalam kloroplas dan berperan dalam fotosintesis. Kloroplas berasal dari proplastida yaitu plastida yang belum dewasa, kecil, dan hampir tidak berwarna. Kloroplas terdapat pada jaringan parenkim palisade dan parenkim spons daun pada tumbuhan tingkat tinggi (Salisbury and Ross, 1991).

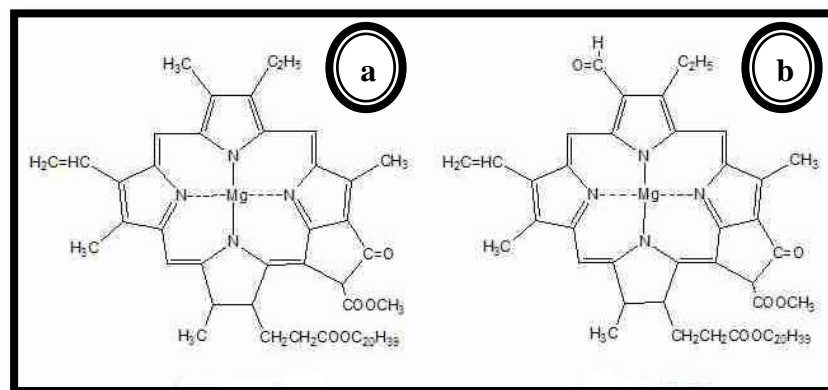
Sifat fisik klorofil yaitu menerima dan atau memantulkan cahaya dengan gelombang yang berlainan atau berpendar. Sinar yang diserap oleh klorofil mempunyai panjang gelombang antara 400- 700 nm, terutama sinar merah dan biru. Selain sifat fisik, klorofil juga mempunyai sifat kimia yaitu tidak larut dalam air melainkan larut dalam pelarut organik yang lebih polar, seperti etanol dan kloroform (Dwidjoseputro, 1994).

Klorofil merupakan faktor utama yang mempengaruhi fotosintesis. Tiga fungsi utama klorofil dalam proses fotosintesis yaitu memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO_2 untuk menghasilkan karbohidrat, dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan (Campbell *et al.*, 2002).

Pada umumnya klorofil disintesis pada daun untuk menangkap cahaya dengan jumlah berbeda. Faktor- faktor dalam sintesis klorofil yaitu cahaya, gula, air,

karbohidrat, genetik, temperatur, dan unsur- unsur (N, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan oksigen) (Hendriyani dan Nantya, 2009).

Terdapat 2 macam klorofil pada tanaman tingkat tinggi yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) berwarna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) berwarna hijau muda. Klorofil a dan b merupakan klorofil yang paling kuat menyerap cahaya di bagian merah dengan panjang gelombang 600- 700 nm dan paling sedikit menyerap cahaya hijau dengan panjang gelombang 500- 600 nm, sedangkan cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid (Nio Song dan Banyo, 2011). Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur klorofil (a). Klorofil a, (b). Klorofil b (Nio Song dan Banyo, 2011).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2015 sampai dengan Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat- alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk ESCO digunakan sebagai tempat melakukan penanaman eksplan atau mensubkulturkan tunas pada medium dalam botol, *Autoclave* digunakan sebagai alat sterilisasi basah, *scalpel* dan mata pisau *scalpel* digunakan untuk mengiris dan memotong eksplan, *waterbath* digunakan untuk menciptakan suhu yang konstan, pinset, aluminium foil, kertas filter, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, corong, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, mikroskop, mikropipet, tabung reaksi, pipet tip, rak tabung reaksi, tisu, kertas label, gunting, timbangan analitik merk Ohaus, spektrofotometer merk

Shimudzu UV 800, silet, kuvet, mortar dan penumbuk, kertas pH, dan kamera Canon A2500.

2. Bahan

Bahan– bahan yang digunakan adalah planlet pisang ketan steril dalam botol kultur umur 2 bulan yang diperoleh dari koleksi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., asam salisilat yang diproduksi oleh Darmstadt Germany, alkohol 70 %, akuades, *Benzine Amino Purine* (BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), dan bahan kimia medium *Murashige & Skoog* (MS) padat yang komposisinya disajikan dalam **Lampiran 1**.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilaksanakan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan satu faktor yaitu konsentrasi asam salisilat, terdiri atas 5 taraf: 0 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm. Masing- masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan pisang ketan dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan setelah pengacakan

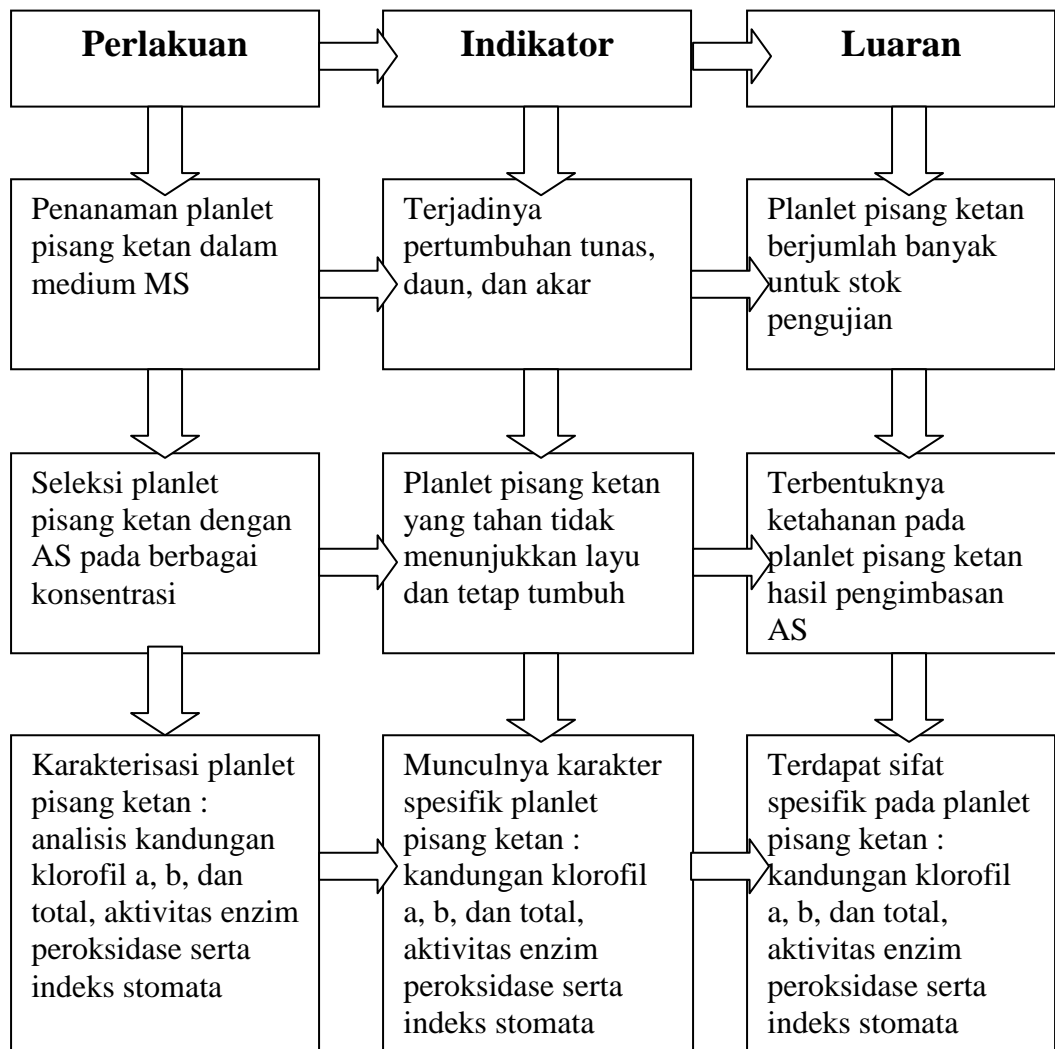
K₅U₁	K₂U₃	K₃U₄	K₄U₅	K₁U₂
K₃U₂	K₅U₂	K₂U₁	K₅U₃	K₄U₁
K₄U₃	K₃U₅	K₄U₄	K₃U₁	K₂U₄
K₁U₄	K₁U₅	K₁U₃	K₂U₂	K₅U₅
K₂U₅	K₄U₂	K₅U₄	K₁U₁	K₃U₃

Keterangan :

- K₁ : Konsentrasi 0 ppm (kontrol)
 K₂ : Konsentrasi 40 ppm
 K₃ : Konsentrasi 50 ppm
 K₄ : Konsentrasi 60 ppm
 K₅ : Konsentrasi 70 ppm
 U₁-U₅ : Ulangan 1 – ulangan 5

D. Bagan Alir

Penelitian terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Penanaman planlet pisang ketan umur 2 bulan kedalam medium MS yang sudah ditambahkan asam salisilat (AS) sesuai konsentrasi, 2) Penentuan kisaran konsentrasi AS toleran untuk seleksi planlet pisang ketan secara *in vitro*, 3) analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet pisang meliputi persentase jumlah planlet yang hidup, visualisasi planlet, analisis kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total, analisis aktivitas enzim peroksidase, dan analisis indeks stomata. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 6.



Gambar 6. Bagan alir penelitian

E. Pelaksanaan

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan medium tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Murashige & Skoog (MS)* padat. Pembuatan medium tanam MS sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok (Lampiran 1), kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda (1 liter) dan pH diatur

sampai 5,5. Untuk mendapatkan pH 5,5 dilakukan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat, kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit.

2. Persiapan medium seleksi

Medium MS ditambah AS dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm. Asam salisilat sebelum digunakan, dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* dengan diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF *Cabinet*. Selanjutnya AS ditambahkan ke dalam medium MS. Sebelum digunakan, medium diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar (25°C) untuk memastikan bahwa AS telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

3. Penanaman planlet dalam medium seleksi asam salisilat

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan pinset steril dan satu persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu- satu, setelah itu ditanam

pada masing- masing botol kultur yang berisi medium, perlakuan yang telah ditentukan seperti pada butir 2 di atas. Masing-masing konsentrasi terdiri dari 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan pisang ketan dalam setiap botol kultur.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada akhir minggu ke- 2 dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi AS yang toleran untuk seleksi planlet pisang ketan secara *in vitro*. Setelah 2 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol kemudian dikarakterisasi dengan parameter sabagai berikut.

a. Persentase jumlah planlet yang hidup

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah planlet pisang ketan yang hidup yaitu :

$$\frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\% \quad (\text{Nurchayani dkk., 2014})$$

b. Visualisasi planlet

Visualisasi planlet meliputi warna tunas yang terbentuk dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat, coklat.

c. Analisis kandungan klorofil

Bahan untuk analisis klorofil menggunakan daun planlet pisang ketan yang sudah diimbas dengan AS menggunakan metode spektrofotometer. Langkah

kerja analisis kandungan klorofil sebagai berikut. Daun planlet pisang ketan yang seragam sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus dengan mortar dan ditambahkan 10 mL aseton 80%. Setelah itu larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon serta ditutup rapat.

Larutan sampel dan larutan standar (aseton 80%) di ambil sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 646 nm dan 663 nm, dengan ulangan tiap sampel sebanyak 3 kali. Kandungan klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil total} = 17,3 \lambda_{646} + 7,18 \lambda_{663} \text{ mg/L}$$

$$\text{Klorofil a} = 12,21 \lambda_{663} - 2,81 \lambda_{646} \text{ mg/L}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,13 \lambda_{646} - 5,03 \lambda_{663} \text{ mg/L} \quad (\text{Harbourne, 1987})$$

d. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase

Aktivitas enzim peroksidase dianalisis dengan metode Saravanan *et al.*

(2004). Di tabung reaksi dibuat campuran 1,5 mL 0,05 M pirogalol, 0,5 mL ekstrak enzim dari daun planlet pisang ketan, dan 0,5 mL 1% H₂O₂.

Campuran diendapkan dalam suhu kamar dan dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 0,5 mL. Spektrofotometer (Shimudzu UV 800) diatur dengan panjang gelombang 420 nm dan dibaca dari nol. Aktivitas enzim dihitung

dalam U/mg/min. Satu unit adalah aktivitas berubahnya *Optimal Density* (OD) 420 nm pada spektrofotometer per menit.

e. Analisis Stomata

Pembuatan preparat stomata sebagai berikut.

Daun planlet pisang ketan dibuat potongan- potongan segi empat dengan sisi ± 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan kloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanasi dalam waterbath selama $\pm 10-15$ menit hingga potongan daun tersebut transparan. Potongan daun diletakkan dalam larutan kloralhidrat pada gelas benda. Permukaan yang ada stomatanya diletakkan disebelah atas, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati pada 5 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), tiap stoma (S) ditandai dengan (O). Indeks stomata besarnya dihitung dengan rumus:

$$\text{Indeks stomata} = \left\{ \frac{S}{E+S} \right\} \times 100\% \quad (\text{Ruzin, 1999})$$

Hasil akhir adalah rata-rata dari 5 buah pengamatan.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet pisang ketan selama seleksi dengan AS berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Anova pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet pisang ketan secara *in vitro* adalah 40- 70 ppm.
2. Planlet pisang ketan yang diimbasi asam salisilat memiliki karakter ekspresi yang berbeda dengan planlet yang tidak diimbasi asam salisilat.
 - a. Kandungan klorofil a, b, dan total pada planlet pisang ketan yang diimbasi asam salisilat pada konsentrasi 40 ppm dan 60 ppm mengalami peningkatan dibandingkan kontrol, sedangkan pada konsentrasi 50 ppm dan 70 ppm mengalami penurunan.
 - b. Planlet pisang ketan yang diimbasi asam salisilat konsentrasi 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim peroksidase dan mengalami peningkatan secara optimum pada konsentrasi 50 ppm.
 - c. Indeks stomata pada daun planlet pisang ketan yang diimbasi asam salisilat mengalami peningkatan secara nyata dibandingkan dengan planlet yang tidak diimbasi asam salisilat (kontrol).

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh asam salisilat sebagai agen penyeleksi ketahanan planlet pisang ketan dengan meningkatkan konsentrasi asam salisilat yang digunakan dan karakter ekspresi spesifik yang lain meliputi kandungan total fenol, ketebalan lignin, dan analisis molekular: pola DNA dan profil protein serta pengaruh asam salisilat terhadap ketahanan planlet pisang ketan yang telah diinokulasi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*).

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*, 5th ed. Elsevier Academic Press. California.
- Agrawal, A.A., S. Tuzun, and E. Bent. 1999. *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores, Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. APS Press, St. Paul. Minnesota. 390 p.
- Anna, R., Nasir, N., Jumjunidang, dan Hermanto. 2014. Uji Ketahanan Pisang Ambon Kuning Koleksi dari Jambi terhadap beberapa *Vegetatif Compatibility Group* (VCG) *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* (Foc). *J. Bio. UA*. 3 (1). pp 1-8.
- Anonymous. 2002. A Strategy for the Global Musa Genomics Consortium. Report of a meeting held in Arlington, USA, 17- 20 Juli 2001. Montpellier. France. pp 1- 43.
- Anonymous. 2015. *Pisang Varietas Ketan.01 Dominasi Produksi Pisang dari Kabupaten Lampung Selatan, Badan Litbang Pertanian, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika*. Tersedia pada : <http://balitbu.litbang.pertanian.go.id/ind/> diakses 15 September 2015.
- Arai, M. and Takeuchi, M. 1993. Influence of *Fusarium* Wilt toxin(s) on Carnation Cell. *Plant Cells, Tissue, and Organ Culture*. 34. pp 287- 293.
- Badriah, D.S. 2001. Uji Resistensi Kultivar Gladiol Introduksi terhadap *Fusarium oxysporum* secara *In Vitro*. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Campbell N, Reece J.B, and Mitchell L.G. 2002. *Biologi Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Campbell, N. A and Jane B. R. 2008. *BIOLOGI Jilid 2 Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Croxdale, J. 2001. Stomata [Review]. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group.

- Damayanti, F. 2007. Analisis Jumlah Kromosom dan Anatomi Stomata pada beberapa Plasma Nutfah Pisang (*Musa* sp.) asal Kalimantan Timur. *J. Bioscientiae*. 4 (2). pp 53-61.
- Dwidjoseputro. 1994. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Pustaka Gramedium. Jakarta.
- Edgar, C.I., McGrath, K.C., Domrecht, B., Manners, J.M., Maclean, D.C., Schenk, P.M., and Kazan, K. 2006. Salicylic acid mediates resistance to the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum* in the model host *Arabidopsis thaliana*. *Australasian Plant Pathology*. 35. pp 581- 591.
- Eriansyah, M. Susiyanti, dan Putra, Y. 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). pp 54- 61.
- Fahn A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Edisi ke-3. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 943 p.
- Faradilla. 2012. Induksi Ketahanan Pisang terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *Cubense* (*Foc*) dengan Asam Salisilat dan Asam Fusarat dalam Kutur Jaringan. Universitas Gadjah Mada. Tesis. Tidak dipublikasikan. 62 p.
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S. 1986. Kimia Organik Edisi ketiga Jilid kedua. Erlangga. Jakarta. Alih Bahasa Pudjaatmaka, A. H. Terjemahan dari : *Organic Chemistry, Third Edition*.
- Fourie, G., Steenkamp, E. T., Ploetz, R. C., Gordon, T. R., and Viljoen, A. 2014. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex [Review]. *Infections, Genetics, and Evolution*. 11. pp 533- 542.
- Fravel, D., Olivain, C., and Alabouvette, C. 2014. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol [Review]. *New Phytologist*. 157. pp 493- 502.
- Groenewald, S. 2006. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. University of Pretoria etd. Disertasi. Tidak dipublikasikan.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB Bogor. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor. 396 p.
- Hamza, A., A. Derbalah, and M. El-Nady. 2012. Identification and Mechanism of *Echinochloa crus-galli* Resistance to Fenoxapro-p-ethyl with respect to Physiological and Anatomical Differences. *Scientific World Journal*. pp 1- 8.

- Harbourne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata K & Sudiro I. ITB Bandung. pp 259-261
- Hendriyani, I. S. dan Nantya, S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sainsdan Matematika*. 17 (3).
- Hermanto, C., Hidayah, N., dan Kumoro, K. 2012. *Pengendalian Penyakit- penyakit Pisang di Pulau Lombok*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian NTB [internet]. Tersedia pada : <http://ntb.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php> diakses pada tanggal 28 oktober 2015.
- Hersanti. 2006. Kemampuan beberapa Senyawa Kimia dalam Menginduksi Ketahanan Cabai Merah terhadap *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). Universitas Padjadjaran. Laporan Penelitian. Tidak dipublikasikan.
- Huang, J. S. 2001. *Plant Patogenesis and Resistance, Biochemistry and Physiologi of Plant- Microbe Interactions*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.
- Huda, M. 2010. Pengendalian Layu Fusarium pada Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca*, L.) secara Kultur Teknis dan Hayati. Institut Pertanian Bogor. Skripsi. Tidak dipublikasikan.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencokelatan pada Kultur Jaringan [Review]. *Jurnal AgroBiogen*. 4 (2). pp 83- 88.
- Isharnani, C.E. 2015. Karakterisasi Planlet Anggrek Tanah (*Spathoglottis plicata* Blume) Hasil Seleksi dengan Asam Fusarat secara *In Vitro*. Universitas Lampung. Skripsi. Tidak dipublikasikan.
- Kessman, H., Staub, T., Hofmann, T. M., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., and Ryals, J. 1994. Induction of Systemic Acquired Disease Resistance in Plants by Chemical. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32. pp 439- 459.
- Kristian, R. dan Amitra, P. S. 2007. Asam Salisilat dari Phenol. Universitas Sultan Agung Tirtayasa. Skripsi. Tidak dipublikasikan.
- Lestari, E.G., D. Sukmadjaja, dan Mariska, I. 2006. Perbaikan Ketahanan Tanaman Vanili terhadap Penyakit Layu melalui Kultur *In Vitro*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25 (4). pp 149- 153.
- Loon, L.C.V., W.S. Pierpoint, Th. Broller, and Conejero. 1994. Recommendations for Naming Plant Pathogenesis-related Proteins. *Plant Molecular Biology Report*. 12. pp 245-264.

- Megia, R. 2005. *Musa* sebagai Model Genom [Review]. *Hayati*. 12 (4). pp 167- 170.
- Misaghi, I. J. 1982. *Physiology and Biochemistry of Plant- Pathogen Interaction*. Plenum Press. New York.
- Moharekar, S.T., Lokhande, S.D., Hara, T., Tanaka, R., and Chavan, P.D. 2003. Effect of Salicylic Acid on Chlorophyll and Carotenoid Contents of Wheat and Moony Seedlings. *Photosynthetica*. pp 315- 317.
- Mulyani, N., Suprpto, dan Hendra, J. 2008. *Teknologi Budidaya Pisang*. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. 26 p.
- Mulyani S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. pp 140-150.
- Murphy, A. M., Gilliland, C. E., West, W. J., Singh, D. P., and Carr, J. P. 2001. Signal Transduction in Resistance to Plant Viruses. *Euro. J. Plant Pathol*. 107. pp 121- 128.
- Naylor, M., Murphy, A. M., Berry, J. O., and Carr, J. P. 1998. Salicylic Acid Can Induce Resistance to Plant Virus Movement. *Molecular Plant Microbe Interac*. 11. pp 860- 866.
- Ningsih, A. P., Nurmiati., dan Agustien, A. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Bio. UA*. 2 (3). pp 207- 213.
- Nio Song dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11 (2).
- Nugraheni, E. S. 2010. Karakterisasi Biologi Isolat- isolat *Fusarium* sp. pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) Asal Boyolali. Universitas Sebelas Maret. Skripsi. Tidak dipublikasikan.
- Nugroho, A. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nurchayani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Asam Fusarat terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Disertasi. Tidak dipublikasikan.

- Nurchayani, E., B. Hadisutrisno, I. Sumardi, dan E. Suharyanto. 2014. Identifikasi galur planlet vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* hasil seleksi *in vitro* dengan asam fusarat. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan"*. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978- 602-71784-0-3./2014. pp 272- 279.
- Nurchayho, H. 2011. *Diktat Bioteknologi*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Oka, I. N. 1995. *Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Ozyigit, I.I., Kahraman M.V., and Ercan O. 2007. Relation between explant age, total phenols and regeneration response in tissue cultured cotton (*Gossypium hirsutum* L.) *African J. Biotechnol.* 16 (1). pp 003- 008.
- Phabiola, T.A. dan K. Khalimi. 2012. Pengaruh Aplikasi Formula Pantoea agglomerans Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Klorofil Daun Tanaman Strowberi. *Jurnal Agrotrop.* 2(2). pp 125-131.
- Pieterse, C.M.J., and Loon, L.C.V. 1999. Salicylic acid- independent plant defence pathways [Review]. *Trends in Plant Science.* 4 (2). pp 52-58.
- Prabawati, S., Suyanti dan Setyabudi, D. A. 2008. Teknologi Pascapanen dan Teknik Pengolahan Buah Pisang. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. pp 1-51.
- Predieri, S. 2001. Mutation inductin and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tiss. Org. Cult* 64. pp 185- 210.
- Purwati, R.D., U.S. Budi, dan Sudarsono. 2007. Penggunaan asam fusarat dalam seleksi *in vitro* untuk resistensi abaka terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Jurnal Littri.* 13(2). pp 64-72.
- Radwan, D.E.M., and D.M. Soltan., 2012. The Negative Effects of Clethodium in Photosynthesis and Gas Exchange Status of Maize Plants are Ameliorated by Salicylic Acid Pretreatment. *Photosynthetica.* pp 012-016.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1991. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- Saravanan, T., R. Bhaskaran, and M. Muthusamy. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (cv. Rasthali) against *Fusarium* Wilt Disease. *Plant Pathology Journal*. 3. pp 72-80.
- Semangun, H. 1989. *Penyakit- penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Soedjanaatmadja, R. U. M. S. 2008. *Peranan Pathogenesis Related (PR)-Protein dan Fitohormon dalam Menjaga Kelangsungan Kehidupan Tanaman serta Meningkatkan Produktivitas Hasil Pertanian*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Soesanto, L. dan R.F. Rahayuniati. 2009. Pengimbasan Ketahanan Bibit Pisang Ambon Kuning Terhadap Penyakit Layu *Fusarium* dengan Beberapa Jamur Antagonis. *J.HPT Tropika*. Vol. 9 No.2. pp 130-140.
- Suciatmih, Antonius, S., Hidayat, I., dan Sulistiyani, T. R. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Evaluasi Antagonisme terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) secara *In Vitro* dari Jamur Endofit Tanaman Pisang. *Berita Biologi*. 13 (1).
- Sudha, G. and G.A. Ravishankar. 2002. Involvement and interction of various signaling compounds on the plant metabolics even during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their moleculer aspects. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 71. pp 181- 212.
- Suhardiman, P. 1997. *Budidaya Pisang Cavendish*. Kanius. Yogyakarta. pp 9- 18.
- Sujatmiko, B., Sulistyaningsih, E., dan Murti, R. H. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo* L) terhadap Layu *Fusarium* secara *In vitro* dan Kaitannnya dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian*. 15 (2). pp 1- 18.
- Sumardiyono, C. 2000. Ketahanan Terimbas, Kendala, dan Prospeknya dalam Pengendalian Penyakit Tumbuhan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sunarjono, H. 2004. *Budidaya Pisang dengan Bibit Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Susanti, A. A. 2014. *Outlook Komoditi Pisang*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal- Kementerian Pertanian. ISSN: 1907- 1507. pp 1- 74.
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) dengan Asam Salisilat secara *In Vitro* terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. Universitas Lampung. Skripsi. Tidak dipublikasikan.

- Suryanti, Chinta, Y. D., dan Sumardiyono, C. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu *Fusarium* dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15 (2). pp 90- 95.
- Suyanti dan Supriyadi, A. 2008. *Pisang: Budi daya, Pengolahan, dan Prospek Pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Syamsiah, M., Sulyo, Y., dan Yusmiati, L. 2013. Induksi Ketahanan Sistemik Tanaman Tapak Dara (*Charanthus roseus* (L.) G. Don.) terhadap Serangan *Cucumber mosaic virus* menggunakan Asam Salisilat. *Journal of Agrosience*. 5 (5).
- Wahyudi, T., T.R. Panggabean, dan Pujiyanto. 2008. *Kakau Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya. pp 1-151
- Wattimena, G.A., Gunawan, L.W., Mattjik, N.A., Syamsudin, E., Wiendi, N.M., dan Ernawati, A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat antar Universitas Bioteknologi- IPB. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.
- Welsh, J. R. 1991. *Dasar- dasar Genetika dan Pemuliaan Tanaman*. Erlangga : Jakarta. Alih Bahasa Mogeia JP. pp 204- 207.
- Yanti, Y. 2011. Aktivitas Peroksidase Mutan Pisang Kepok dengan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) Secara *In Vitro*. *Jurnal Natur Indonesia*. 14 (1). pp 32-36.