

**PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON TERHADAP  
PROLIFERASI TUNAS PISANG ‘AMBON KUNING’  
*IN VITRO***

**(Skripsi)**

**Oleh  
RIFKY BANGSAWAN**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

## **ABSTRAK**

### **PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON TERHADAP PROLIFERASI TUNAS PISANG ‘AMBON KUNING’ *IN VITRO***

**Oleh**

**Rifky Bangsawan**

Perbanyak bibit pisang dengan kultur jaringan dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan bibit pisang dalam skala besar. Faktor penentu keberhasilan kultur jaringan diantaranya adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi TDZ terhadap multiplikasi tunas aksilar pisang ‘Ambon Kuning’ dan mendapatkan konsentrasi TDZ terbaik untuk merangsang tunas aksilar pisang ‘Ambon Kuning’. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman dan lahan sekitar Laboratorium Ilmu Tanaman, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung. Penelitian ini dilaksanakan sejak Desember 2015 hingga Juli 2016. Data hasil penelitian ini dianalisis dengan anova dan uji Bartlet. Pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi TDZ (0,01 – 0,4 mg/l) menyebabkan penurunan jumlah propagul pada kultur *in vitro* tanaman pisang ‘Ambon Kuning’. Konsentrasi TDZ terbaik untuk perbanyak tunas *in vitro* tanaman pisang ‘Ambon Kuning’ adalah 0,05 mg/l yang menghasilkan 4 propagul per eksplan dengan panjang tunas 2,33 cm.

**Kata kunci :** TDZ, *in vitro*, ambon kuning, multiplikasi tunas.

**PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON TERHADAP  
PROLIFERASI TUNAS PISANG ‘AMBON KUNING’  
*IN VITRO***

Oleh

**RIFKY BANGSAWAN**

**Skripsi**

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

Pada

**Jurusan Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

Judul Skripsi : **PENGARUH KONSENTRASI  
THIDIAZURON TERHADAP PROLIFERASI  
TUNAS PISANG 'AMBON KUNING' *IN  
VITRO***

Nama Mahasiswa : **Rifky Bangsawan**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1214121185

Jurusan : Agroteknologi


Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing




**Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.**  
NIP 19610402 198603 1 003



**Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc**  
NIP 19610803 198603 2 002

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

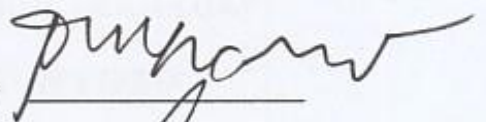


**Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.**  
NIP 19630508 198811 2 001

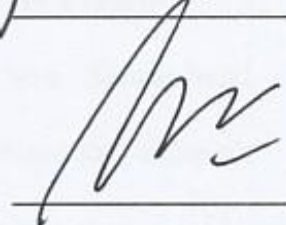
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

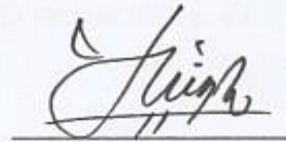
**Ketua : Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.**



**Sekretaris : Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Ir. Rugayah, M.P.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.  
NIP 19611020 198603 1 002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 25 Oktober 2016**

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“PENGARUH KONSENTRASI THIDIAZURON TERHADAP PROLIFERASI TUNAS PISANG ‘AMBON KUNING’ *IN VITRO*”** merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertulis dalam skripsi telah sesuai dengan kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini hasil salinan atau dibuat orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Desember 2016

Penulis,



Rifky Bangsawan  
NPM 1214121185

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Rajabasa Lama, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur, pada 31 Juli 1992 sebagai anak ketiga dari pasangan ayahanda Achmad Rifa'i dan Ibunda Zubaidah Zen. Penulis mengawali pendidikan formal di Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Rajabasa Lama, Labuhan Ratu, Lampung Timur tahun 1998 – 2004, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Labuhan Ratu, Lampung Timur tahun 2004 – 2007, Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Labuhan Ratu, Lampung Timur tahun 2007 – 2010, penulis sempat bekerja sebagai Quality Control Analys di PT Sinar Pematang Mulia 2 selama 19 bulan dan pada tahun 2012 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN 2012).

Pada bulan Januari – Maret 2016, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Bratasena Mandiri, Kecamatan Dente Teladas, Kabupaten Tulang Bawang. Pada bulan Juli – September 2015 penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT Nusantara Tropical Farm di Kelurahan Rajabasa Lama, Kecamatan Labuhan Ratu, Lampung Timur. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Fisiologi Tanaman dan Bioteknologi Pertanian. Penulis juga pernah berkecimpung di dunia organisasi kampus, terdaftar sebagai Staf Ahli Kementerian Sekretaris Kabinet Badan

Eksekutif Mahasiswa Universitas (BEM-U) periode 2013-2014. Kemudian sebagai Kepala Bidang Ilmu Pengetahuan Teknologi dan Lingkungan Hidup, Unit Kegiatan Mahasiswa Fakultas Lembaga Studi Mahasiswa Pertanian (UKMF-LSMATA) periode 2014-2015. Selain itu penulis pernah mengemban amanah sebagai Sekretaris Duta Mahasiswa Fakultas Pertanian (Duta FP) periode 2014-2015.



Dengan mengucapkan syukur kepada Tuhan semesta alam dan Maha Raja pemilik dunia yang telah bersedia meminjamkan rahmatNya sehingga segenap proses yang dilalui dapat menjadi keberkahan.

Saya persembahkan karya ini kepada ayahanda dan ibunda atas daya juangnya selama ini dan selalu mendoakan untuk keberhasilan. Kedua kakak saya yang selalu memberikan dukungan baik moral maupun material, dan keluarga saya atas berbagai bentuk dukungan serta doa yang telah diberikan.

Serta almamater tercinta  
Universitas Lampung

*"If we do it your way, you'd win. We are not doing it your way."*

*Rob Stark*

*"If you don't know how to live,  
why wonder about death?"*

*Confucius*

*“Ketidakenakkan kamu itu, (akan)  
mengenakkan pelan-pelan.”*

*Prie GS*

*“Orang boleh pandai setinggi langit,  
tapi selama ia tidak menulis,  
ia akan hilang di dalam masyarakat dan dari sejarah.  
Menulis adalah bekerja untuk keabadian”*

**Pramoedya Ananta Toer**

“Menjadi bisu adalah satu hal, namun  
tidak menyampaikan adalah hal yang lain lagi.  
Mendengar merupakan wujud, namun  
memahami adalah isi.”

*Rifky Bangsawan*

## SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas nikmat dan karunia-Nya yang telah diberikan hingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini.

Skripsi dengan judul "*Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron Terhadap Proliferasi Tunas Pisang 'Ambon Kuning' in vitro*" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung.

Selama penulisan ini banyak dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc., selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran dan kritik selama penyusunan skripsi.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran dan kritik selama penyusunan skripsi.
3. Ibu Ir. Rugayah, M.P., selaku Penguji pada ujian skripsi. Terima kasih atas saran dan kritik yang diberikan.
4. Hayane A. Warganegara, S.P., M.Si., selaku mentor penulis yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penelitian ini.
5. Ayahanda Achmad Rifa'i, Ibunda Zubaidah Zen, Kanda Rully Djunardi

dan Rizal Iskandar, Alief Rahman, Aldyansah Al Faruq, dan Adzkie Fakhita terima kasih atas doa, kasih sayang, dan dukungan yang telah diberikan selama ini.

6. Kepada Syanda Giantara, Yoga Saputra, Wildan Nurma, Desta Swandaru, Riyan Younka, Putu Deva, Eldhino Mardhitar, Nely Dayanti, Umi Sholikhatin, dan sahabat senasib sepencerahan, keluarga besar LS-MATA serta keluarga besar AGT kelas D 2012 atas semangat dan rasa kekeluargaannya.
7. Kepada Resti Astria, Wiwik Ferawati, Yanti Marchelina, Rezlinda Nurbaiti, Vanny Unjunan, Ria Rizki, Yenni Sofialita, dan segenap keluarga besar Laboratorium Ilmu Tanaman yang telah memberikan dukungan kepada penulis dalam proses penulisan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita.

Bandar Lampung, Desember 2016

Penulis

Rifky Bangsawan

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.3 Kerangka Pemikiran .....	4
1.4 Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Botani Tanaman Pisang .....	7
2.2 Perbanyak Tanaman Pisang Secara Konvensional .....	9
2.3 Perbanyak Tanaman Pisang Secara <i>in vitro</i> .....	10
2.4 Sitokinin .....	15
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	18
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	18
3.2 Bahan Tanaman .....	18
3.3 Persiapan Eksplan .....	19
3.4 Sterilisasi, Penanaman Eksplan, dan Subkultur .....	20
3.5 Kondisi Ruang Kultur .....	21
3.6 Sterilisasi Botol dan Alat .....	22
3.7 Media Kultur .....	23
3.8 Rancangan Percobaan dan Analisis Data .....	24
3.9 Pengamatan .....	25

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	27
4.1 Hasil Penelitian	27
4.1.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i>	27
4.1.2 <i>Rekapitulasi Data</i>	32
4.1.3 <i>Rata-rata Jumlah Propagul</i>	33
4.1.4 <i>Rata-rata Panjang Tunas Aksilar per Eksplan</i>	34
4.1.5 <i>Penampilan Visual Kultur</i>	35
4.2 Pembahasan	37
4.2.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i>	37
4.2.2 <i>Rata-rata Jumlah Propagul</i>	39
4.2.3 <i>Rata-rata Panjang Tunas Aksilar per Eksplan</i>	41
4.2.4 <i>Penampilan Visual Kultur</i>	42
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	45
<b>PUSTAKA ACUAN</b>	46
<b>LAMPIRAN</b>	51
Tabel 4-6	52



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan yang diujikan dalam penelitian .....	25
2. Rata-rata jumlah propagul dan persentase pada eksplan responsif kultur <i>in vitro</i> tanaman pisang ‘Ambon Kuning’ 16 minggu setelah transfer (MST) .....	30
3. Rekapitulasi hasil analisis ragam pengaruh konsentrasi TDZ terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada 16 MST .....	33
4. Formulasi Media MS (Murashige dan Skoog, 1962) .....	52
5. Analisis ragam untuk rata-rata jumlah propagul per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 16 MST sebagai respons terhadap konsentrasi TDZ .....	53
6. Analisis ragam untuk rata-rata panjang tunas aksilar per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 16 MST sebagai respons terhadap konsentrasi TDZ .....	53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Pisang Ambon Kuning .....	8
2. Struktur molekul Thidiazuron .....	17
3. Calon eksplan dari bonggol pisang berdiameter 5-7 cm .....	19
4. Eksplan diperkecil sampai diameter 3 cm (A) lalu disterilkan (B) .....	21
5. Eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ pada awal tanam (A) dan tunas aksilar pertama yang muncul (B) .....	27
6. Pemecahan tunas eksplan pada 4 MST .....	29
7. Penampilan kultur pisang ‘Ambon Kuning’ pada umur 16 MST .....	31
8. Rata-rata jumlah propagul per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 16 MST sebagai respons terhadap konsentrasi TDZ .....	34
9. Rata-rata panjang tunas aksilar per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 16 MST sebagai respons terhadap konsentrasi TDZ .....	35
10. Eksplan dengan jumlah propagul terbanyak pada media TDZ 0,05 mg/l .....	35
11. Penampakan eksplan pada (A) prekondisi, (B) 0 MST, dan (C) 4 MST .....	36
12. Penampakan eksplan pada (D) 12 MST dan (E) 16 MST .....	36

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang dan Masalah

Saat ini pisang menjadi tanaman pangan paling penting urutan ke 8 di dunia dan urutan ke 4 di negara yang sedang berkembang (FAO, 2014). Dalam *Indian Horticulture Database* (2014) disebutkan bahwa Indonesia menghasilkan 6.189.052 ton buah pisang dengan produktivitas sebesar 58,9 ton/ha pada tahun 2013. Indonesia adalah penyedia pisang urutan ke-6 terbesar dunia. Indonesia memiliki potensi yang sangat besar dalam meningkatkan produksi karena iklim yang sesuai dan intensitas hujan yang cukup sepanjang tahun. Tanaman pisang yang ada dan berproduksi saat ini diduga merupakan keturunan dari *Musa acuminata* dan atau *Musa balbisiana* (Damayanti, 2010).

Indonesia masih dapat meningkatkan produksi pisang yang ada untuk memenuhi kebutuhan dalam dan luar negeri. Dari tahun 2011-2015, Indonesia mampu memproduksi pisang dengan stabil dan relatif meningkat kendati tidak signifikan. Beberapa provinsi penghasil utama pisang Indonesia pada tahun 2015 diantaranya berada di Lampung (1.937.348 ton), Jawa Timur (1.629.437 ton), dan Jawa Barat (1.306.287 ton) (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura, 2016). Lampung mengalami pertumbuhan produksi hingga 30,75% dibanding

produksi tahun sebelumnya, tertinggi dibandingkan 2 provinsi penyedia pisang terbesar di Indonesia saat ini. Permintaan pisang dalam negeri yang meningkat adalah seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, pendapatan, dan kesadaran masyarakat akan gizi dan kesehatan. Permintaan buah pisang yang tinggi membutuhkan dukungan sektor pembibitan yang juga cukup mumpuni.

Dukungan bibit berkualitas menjadi masalah yang dihadapi industri perkebunan pisang. Perkebunan pisang monokultur berskala luas dewasa ini mengalami kesulitan dalam memenuhi kebutuhan bibit berkualitas yang seragam dalam jumlah besar.

Usaha penyediaan bibit secara konvensional umumnya dilakukan dengan menggunakan perbanyakan vegetatif melalui pemisahan anakan maupun belahan bonggol. Bibit pisang pada perkebunan skala besar tentu tidak dapat dipenuhi melalui cara ini.

Menurut Yusnita (2015) dalam budidaya pisang monokultur berskala luas, ketersediaan bibit yang jelas jenisnya, seragam ukurannya, sehat, dan kuat (*vigorous*) dalam jumlah yang cukup merupakan faktor pembatas utama.

Teknologi kultur jaringan dapat menjadi salah satu alternatif yang dapat diterapkan untuk menyediakan bibit pisang yang seragam dengan tetap menjaga kualitas dalam jumlah yang besar.

Kultur jaringan adalah teknik mengembangbiakkan bagian tanaman dalam kondisi aseptik di dalam tabung (*in vitro*) yang berisi media buatan bernutrisi lengkap dan dalam kondisi terkontrol untuk tujuan tertentu (Yusnita, 2003). Kultur jaringan dilakukan berdasarkan teori totipotensi, yaitu bahwa sel memiliki perangkat

fisiologis dan genetis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu baru pada kondisi yang sesuai.

Faktor penentu keberhasilan dalam melakukan perbanyakan secara kultur jaringan adalah komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan. Sitokinin adalah ZPT yang dalam konsentrasi yang tepat dapat merangsang multiplikasi tunas dan mematahkan dominansi apikal (Yusnita, 2003). Thidiazuron merupakan bahan aktif yang terdokumentasi sebagai jenis sitokinin derivat *phenyl-urea* dengan aktivitas sitokinin lebih tinggi dari pada sitokinin tipe *adenin*, seperti benziladenin (BA), kinetin, isopentenyladenine atau 2-iP pada konsentrasi yang lebih rendah (Yusnita, 2015).

Penelitian kultur jaringan pisang telah banyak dilakukan sebelumnya. Hasil penelitian tentang multiplikasi tunas aksilar pada pisang ‘Ambon Kuning’ (AAA) oleh Yusnita *et al*, (1996), Sari (2012), dan Yusnita *et al* (2015) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi BA yang diberikan (2-6 mg/l), jumlah tunas aksilar yang terbentuk pun meningkat. Yusnita dan Hapsoro (2013) mendapatkan bahwa penggunaan 0,01 mg/l TDZ bersamaan dengan 2 mg/l BA dalam media MS menghasilkan 43,3 propagul per eksplan pisang Tanduk, sepuluh kali lipat dari jumlah propagul yang dihasilkan pada media dengan penambahan 2 mg/l BA saja, hanya dalam waktu 8 minggu setelah tanam. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengujian efektivitas konsentrasi TDZ pada multiplikasi tunas aksilar pisang ‘Ambon Kuning’.

Berdasarkan identifikasi dan pembatasan masalah, penelitian ini akan dilakukan untuk menjawab masalah yang telah dirumuskan dalam pertanyaan-pertanyaan sebagai berikut:

1. Bagaimana respons multiplikasi tunas pada kultur pisang 'Ambon Kuning' terhadap peningkatan konsentrasi TDZ?
2. Berapakah konsentrasi TDZ terbaik untuk multiplikasi tunas pada kultur pisang 'Ambon Kuning'?

### **1.2 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan identifikasi dan perumusan masalah, tujuan penelitian dirumuskan sebagai berikut:

1. Mengetahui respons multiplikasi tunas pada kultur pisang 'Ambon Kuning' terhadap peningkatan konsentrasi TDZ yang diberikan.
2. Mendapatkan konsentrasi TDZ terbaik untuk merangsang multiplikasi tunas pada kultur pisang 'Ambon Kuning'.

### **1.3 Kerangka Pemikiran**

Menurut Yusnita (2010), kultur jaringan merupakan terminologi umum yang diartikan sebagai teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik di dalam tabung (*in vitro*) dengan media buatan bernutrisi lengkap dalam kondisi terkontrol untuk tujuan tertentu. Bagian tanaman yang dapat digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah sel, protoplas, jaringan, dan organ. Perbanyakan tanaman secara *in vitro* dilakukan dengan empat tahap. Tahapan tersebut terdiri dari tahap pematapan

kultur, tahap multiplikasi tunas atau perbanyakkan propagul, tahap pemanjangan tunas dan pembentukan akar, serta tahap aklimatisasi (Yusnita, 2003).

Sitokinin dapat mendorong pembelahan sel dalam kultur jaringan melalui cara meningkatkan peralihan dari fase G<sub>2</sub> ke fase mitosis yang terjadi karena sitokinin mampu menaikkan laju sintesis protein (George dkk., 2008). Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk multiplikasi tunas pada kultur jaringan tanaman.

Thidiazuron (TDZ) dan benziladenin (BA) merupakan jenis sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan. Penggunaan ZPT sitokinin pada teknik perbanyakkan pisang dengan kultur jaringan sudah lazim digunakan. Penambahan sitokinin dalam media pertunasan dapat menghilangkan dominansi apikal dan dapat menyebabkan penggandaan tunas secara *in vitro*. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan konsentrasi TDZ dapat meningkatkan persentase jumlah tunas pisang pada perbanyakkan tunas pisang *in vitro*. Penggunaan TDZ dengan konsentrasi 2,0 mg/l dapat meningkatkan jumlah tunas, bahkan dengan konsentrasi lebih rendah 0,09 mg/l dapat menghasilkan tunas pisang sebanyak 4,3 tunas. Keefektifan TDZ lebih baik dari BA, dengan konsentrasi rendah TDZ dapat meningkatkan jumlah tunas (Maya, 2015).

Efektivitas TDZ untuk perbanyakkan tunas pisang telah dilaporkan oleh Lee (2005), Saha-Roy *et al.* (2010) dan Yusnita dan Hapsoro (2013). Lee (2005) mendapatkan bahwa pada pisang cavendish 'Pei-Chiao' dan 'Tai-Chiao No. 1' (AAA), TDZ pada konsentrasi 0,2 mg/l menghasilkan laju perbanyakkan tunas hampir dua kali lipat dibandingkan dengan pada media tanam 4 mg/l BA. Pada

pisang Tanduk (AAB), Yusnita dan Hapsoro (2013) mendapatkan bahwa penggunaan 0,01 mg/l TDZ bersamaan dengan 2 mg/l BA dalam media MS menghasilkan 43,3 propagul per eksplan, sepuluh kali lipat dari jumlah propagul yang dihasilkan pada media dengan penambahan 2 mg/l BA saja, hanya dalam waktu 8 minggu setelah tanam.

#### **1.4 Hipotesis**

Dari kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, dapat disimpulkan hipotesis sebagai berikut:

1. Peningkatan konsentrasi TDZ (0,01 – 0,4 mg/l) menyebabkan peningkatan jumlah tunas.
2. Konsentrasi TDZ terbaik untuk multiplikasi tunas pada kultur *in vitro* pisang ‘Ambon Kuning’ adalah TDZ 0,1 dan 0,2 mg/l.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Pisang

Tanaman pisang diduga berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara dan hingga kini tersebar luas ke negara beriklim tropis dan subtropis (Suyanti dan Supriyadi, 2008). Budidaya tanaman pisang tersebar luas dalam 107 negara beriklim yang tropis. Pusat keragaman pisang (*Musa paradisiaca*) diduga terdapat di Asia Tenggara

Nelson dkk. (2006) dan Plantamor (2013) melakukan klasifikasi pada pisang secara umum, yaitu:

Kingdom : *Plantae*  
Subkingdom : *Tracheobionta*  
Divisio : *Magnoliophyta*  
Kelas : *Liliopsida*  
Subkelas : *Commelinidae*  
Ordo : *Zingiberales*  
Familia : *Musaceae*  
Genus : *Musa*  
Spesies : *Musa paradisiaca* Linn.

Tanaman pisang memiliki batang sejati berupa umbi batang (bonggol) yang berada di dalam tanah. Batang sejati ini bersifat keras dan memiliki mata tunas. Bagian tanaman yang berdiri tegak menyerupai batang adalah batang semu yang terdiri atas pelepah-pelepah daun panjang (kelopak daun) yang saling membungkus dan menutupi dengan kelopak daun yang lebih muda berada di bagian paling dalam. Batang semu bersifat lunak, banyak mengandung air, dan dapat tumbuh dengan tinggi 3-8 m. Buah pisang dapat dikonsumsi segar dan dapat diproduksi menjadi makanan olahan (Gambar 1).



Gambar 1. Buah Pisang 'Ambon Kuning'.

Pisang terbagi atas dua kelompok menurut cara dikonsumsi, yaitu kelompok pisang meja (*banana*) dan kelompok pisang yang harus diolah terlebih dulu sebelum dapat dimakan (*plantain*). Valmayor *et al* (2000) dalam Jannah (2014) menyebutkan beberapa jenis pisang meja yang disenangi di Indonesia, diantaranya pisang 'Mas' (AA), 'Berlin' (AA), 'Lampung' (AA), 'Ambon Kuning' (AAA), 'Ambon Hijau' (AAA), 'Ambon Putih' (AAA), Barangan (AAA), Raja Sereh (AAB), dan Raja Bulu (AAB). Sedangkan *plantain* yang digemari masyarakat adalah pisang 'Tanduk' (AAB), 'Uli' (AAB), 'Kepok' (ABB), dan 'Siam' (ABB). Jenis *banana* dan *plantain* yang disebutkan diatas adalah pisang komersil yang

saat ini banyak di pasaran, beberapa merupakan hasil persilangan antara *M. acuminata* dan *M. balbisiana*.

## 2.2 Perbanyak Tanaman Pisang secara Konvensional

Batang pisang yang seringkali kita lihat berada di permukaan tanah adalah batang semu, sementara itu batang tanaman yang sesungguhnya adalah bonggol yang berada di bawah tanah (*corm*). Menurut Satuhu dan Supriyadi (2010), batang di bawah tanah tanaman ini memiliki mata tunas sebagai titik tumbuh. Melalui mata tunas kemudian tumbuh menjadi tunas anakan yang dapat digunakan sebagai bahan tanam selanjutnya. Menurut Santoso (2013), terdapat 4 cara perbanyakan, yaitu dengan anakan langsung, anakan semai, bit anakan (mini bit), dan bit bonggol. Anakan langsung merupakan bibit pisang yang berasal dari pemisahan anakan untuk langsung ditanam di kebun. Bibit yang paling baik digunakan adalah anakan pedang (*sword sucker*). Anakan semai merupakan bibit yang berasal dari anakan rebung atau anakan yang memiliki bonggol terlalu kecil. Untuk menghindari stres lingkungan, anakan ini disemai terlebih dahulu di *polybag* sebelum ditanam di kebun. Bit anakan (mini bit) merupakan bibit yang berasal dari anakan yang terlebih dahulu diinduksi untuk menumbuhkan tunas aksilar. Setelah tunas aksilar muncul, barulah bonggol dibelah untuk kemudian ditanam kembali sebanyak tunas yang muncul. Bit bonggol merupakan perbanyakan dengan cara membelah bonggol dengan ukuran 10 cm x 10 cm sesuai dengan jumlah mata tunas yang ada kemudian hasil belahan langsung ditanam di kebun.

Salah satu masalah utama pada perkebunan pisang skala besar adalah sulitnya mendapatkan bibit yang seragam, kontinu, dan berkualitas dalam jumlah yang besar (Isnaeni, 2008). Nisa *et al* (2011), mengungkapkan bahwa satu tanaman pisang hanya mampu menghasilkan 1—10 anakan per tahun. Kultur jaringan mampu menghasilkan ratusan kultur tanaman pisang anakan per tahun dari satu tanaman tetua.

### **2.3 Perbanyak Tanaman Pisang secara *in Vitro***

Yusnita (2003) memaparkan beberapa keunggulan perbanyak pisang secara kultur jaringan yaitu dapat dilakukan sepanjang tahun, tidak memerlukan tempat yang luas, dan bibit yang *true-to-type*, serta bebas patogen sehingga kualitas tanaman dan buah lebih terjaga. Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyak tanaman secara vegetatif.

Teknik perbanyak vegetatif dengan kultur jaringan tidak dapat dihindari apabila penyediaan bibit perlu dilakukan dalam skala yang besar dan waktu yang relatif singkat (Yusnita, 2003). Kultur jaringan adalah teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman secara *in vitro*, dalam kondisi aseptik, dan lingkungan yang terkendali (Hartmann *et al*, 2002; Yusnita, 2003). Prinsip dasar kultur jaringan adalah teori totipotensi sel, yaitu kemampuan suatu sel tunggal untuk membelah dan beregenerasi menjadi tanaman utuh (Iliev *et al*, 2010).

Tahapan-tahapan kultur jaringan dalam (Hartmann *et al*, 2002; Ilev *et al*, 2010; Yusnita, 2003), yaitu:

1. Tahap 0 – pemilihan dan penyiapan tanaman induk sebagai sumber eksplan.  
Tanaman yang akan dikulturkan tersebut harus jelas jenis, spesies, dan

varietasnya, serta harus sehat dan terbebas dari hama penyakit. Kriteria yang patut diperhatikan dari sumber eksplan adalah bagian yang diambil sebagai eksplan, umur fisiologis tanaman, dan ukuran eksplan. Umur fisiologis dan umur ontogenetik eksplan sangat berpengaruh terhadap keberhasilan perbanyakan tanaman. Eksplan yang masih muda secara fisiologis, daya regenerasinya lebih tinggi. Setelah ditentukan tanaman sumber eksplan, maka pengkondisian perlu untuk dilakukan agar eksplan yang digunakan dapat tumbuh baik dalam kultur *in vitro*. Tanaman sumber eksplan sebaiknya dikondisikan dalam rumah kaca. Pemeliharaan yang diperlukan meliputi pemangkasan, pemupukan, dan penyemprotan dengan pestisida. Hal ini akan menentukan tingkat sterilisasi eksplan.

2. Tahap I – *Culture establishment* (sterilisasi eksplan, penanaman eksplan di media kultur, dan inisiasi tunas). Tahapan ini bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik. Sterilisasi merupakan upaya yang dilakukan untuk menghilangkan kontaminan mikroorganisme yang menempel di permukaan eksplan sehingga didapatkan kultur yang bebas kontaminan. Sterilisasi permukaan eksplan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa bahan kimia seperti NaOCl, CaOCl, etanol, dan HgCl<sub>2</sub>. Efektivitas sterilisasi dapat ditingkatkan dengan melakukan penambahan Tween-20 sebanyak 2 tetes/100 ml. Menurut Sandra (2013), Tween-20 dapat merendahkan tegangan permukaan bahan desinfektan sehingga bahan desinfektan tersebut dapat menyentuh lekukan-lekukan maupun rongga-rongga kecil seperti celah di antara bulu-bulu halus yang ada di eksplan sehingga eksplan benar-benar steril. Setiap bahan tanaman yang digunakan

dalam kultur jaringan mempunyai tingkat kontaminasi berbeda, tidak lepas dari faktor jenis tanaman, sumber eksplan, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh, musim pengambilan eksplan, umur tanaman, dan kondisi tanaman. Hal yang cukup dipertimbangkan dalam sterilisasi adalah dengan menjaga agar eksplan benar-benar steril namun tidak terjadi kerusakan jaringan eksplan akibat konsentrasi desinfektan yang terlalu tinggi.

3. Tahap II – *Multiplication* (seperti perbanyakan propagul, tunas aksilar, atau embrio). Multiplikasi merupakan perbanyakan tunas maupun embrio tanaman. Pada tahapan ini, eksplan dikondisikan untuk berada pada lingkungan hormonal yang sesuai. Sehingga dapat memperoleh tunas yang banyak, propagul yang dihasilkan dalam jumlah berlipat disubkulturkan terus secara berulang-ulang sampai dicapai jumlah yang diharapkan. Subkultur yang terlalu banyak dapat menurunkan mutu tunas karena akibat dari *vitrifikasi* (kandungan air dalam tanaman tinggi, sukulensi, dan *translucency*) dan penyimpangan genetik. Setelah itu, tunas mikro yang dihasilkan dapat diakarkan dan diaklimatisasi.

Dua hal yang perlu diperhatikan dalam tahap ini adalah rasio perbanyakan dan aberasi genetik. Rasio perbanyakan akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sitokinin atau jenis sitokinin yang lebih kuat.

Rasio perbanyakan yang terlalu tinggi akan mengakibatkan tanaman *off-type* dan terjadi vitrifikasi.

4. Tahap III – *Root formation* (pemanjangan tunas dan pengakaran). Tahap ini merupakan tahap terakhir sebelum persiapan untuk transfer propagul ke lingkungan eksternal. Tahap 3 membutuhkan media yang sesuai, yaitu media

yang mengandung sitokinin sangat rendah atau tanpa sitokinin. Pemanjangan tunas dan pengakaran dapat dilakukan bersamaan atau secara bertahap, yaitu pemanjangan tunas terlebih dahulu baru diakarkan. Tahapan yang dilakukan disesuaikan jenis tanaman. Pemanjangan tunas dalam media tanpa sitokinin akan sekaligus merangsang pembentukan akar, sehingga pengakaran dapat terjadi secara bersamaan.

5. Tahap IV – *Acclimatization* (memindahkan plantlet ke lingkungan eksternal). Prinsip dari aklimatisasi adalah memindahkan plantlet ke lingkungan aklimatisasi yang mula-mula intensitas cahayanya rendah dan kelembapan nisbi tinggi lalu berangsur-angsur intensitas cahaya meningkat dan kelembapan menurun. Prosedur perkembangbiakkan kultur jaringan baru bisa dikatakan berhasil jika plantlet dapat diaklimatisasi ke kondisi eksternal dengan keberhasilan yang tinggi.

Tingkat keberhasilan perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor yang saling berkaitan. Faktor-faktor yang dimaksud adalah eksplan (bentuk regenerasi dalam kultur, genetik, dan umur ontogenetik), metode pembiakan *in vitro* dan media tumbuh, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan lingkungan tumbuh yang mempengaruhi regenerasi kultur seperti suhu, panjang dan intensitas penyinaran. Intensitas cahaya optimum untuk tahap inisiasi adalah 0-1.000 lux, tahap multiplikasi sebesar 1.000-10.000 lux, tahap pengakaran sebesar 10.000-30.000 lux, dan tahap aklimatisasi sebesar 30.000 lux (Yusnita, 2003).

Hal-hal yang harus diperhatikan pada saat pemilihan sumber eksplan menurut Yusnita (2003) adalah genotipe sumber eksplan, umur ontogenik, dan ukuran eksplan. Genotipe sumber eksplan akan mempengaruhi ketahanan bagian tanaman pada prosedur sterilisasi dan kemampuannya membentuk tunas pada masa awal pengulturan. Jenis pisang bergenotipe AAA seperti Ambon Kuning dan Cavendish, relatif lebih mudah membentuk tunas majemuk dibandingkan dengan jenis pisang tanduk dan kepok kuning yang masing-masing bergenotipe AAB dan ABB. Umur ontogenetik adalah masa transisi pada jaringan tanaman dari fase juvenil ke fase generatif. Umur ontogenetik jaringan tanaman berpengaruh terhadap potensi pembentukan tunas (morfogenetik). Tanaman juvenil mempunyai kemampuan membentuk tunas lebih tinggi dibandingkan eksplan dari tanaman dewasa. Ukuran eksplan turut memberikan andil dalam pertumbuhan kultur. Semakin kecil ukuran eksplan maka semakin rendah resiko terjadinya kontaminasi. Namun, daya tumbuhnya lebih lambat dibandingkan dengan eksplan berukuran besar.

George *et al* (2008) menyampaikan bahwa eksplan adalah bagian yang diambil dari tanaman induk yang digunakan sebagai bahan tanam dan dipindahkan ke dalam medium buatan untuk pertumbuhan atau pemeliharaan. Sumber eksplan dapat berasal dari biji atau bagian-bagian biji, tunas pucuk, eksplan *nodal*, bagian daun, bagian akar, bagian bunga, sel tunggal tanaman, dan bagian vegetatif lainnya (Hartmann dkk., 2002; Iliev dkk., 2010; Yusnita, 2003). Anakan pada bonggol dapat digunakan sebagai sumber eksplan pada kultur jaringan pisang (Yusnita, 2003).



Media kultur termasuk faktor esensial dalam pembiakan tanaman dengan teknik kultur jaringan. Salah satu jenis media kultur yang paling sering digunakan adalah media Murashige dan Skoog yang dikenal sebagai media MS (Murashige dan Skoog, 1962). MS sering digunakan karena menjadi media yang cocok untuk berbagai jenis tanaman. Selain MS, terdapat media lain yang dikembangkan seperti Lin dan Staba untuk kultur wortel, Nitsch dan Nitsch untuk kultur anther, Gamborg untuk kultur suspensi kedelai, Schenk dan Hidebrant (SH) untuk kultur kalus monokotil dan dikotil, dan WPM untuk tanaman berkayu atau tanaman hias perdu (Sandra, 2013).

Sandra (2013) menyatakan, media kultur mengandung unsur hara makro dan mikro, gula sukrosa, vitamin, asam amino, zat pengatur tumbuh, persenyawaan organik kompleks (air kelapa, jus tomat, ekstrak kentang, dan sebagainya), bahan pematid (agar maupun gelrite), aquades, dan arang aktif jika diperlukan. Media ditetapkan pH nya antara 5,5-5,8. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan NaOH atau KOH dan HCl.

#### **2.4 Sitokinin**

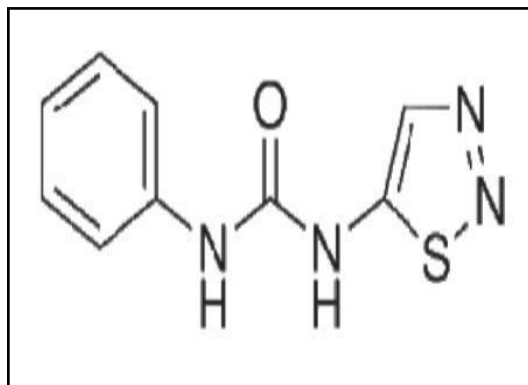
Zat pengatur pertumbuhan (ZPT) merupakan senyawa yang sering digunakan dalam melakukan praktik pengkulturan tanaman secara *in vitro*. Yusnita (2015) menyebutkan ZPT meliputi senyawa organik alami maupun sintetik yang mempunyai peranan sebagai pengatur pertumbuhan tanaman dalam konsentrasi mikro molar atau miligram per liter. Jenis dan konsentrasi ZPT menjadi salah satu komponen yang menentukan keberhasilan perbanyakan kultur jaringan (Yusnita, 2003).

Yusnita (2015) melaporkan bahwa jenis dan konsentrasi sitokinin yang sesuai untuk menstimulir perbanyakan tunas aksilar *in vitro* pada pisang merupakan salah satu faktor penting yang sering diteliti karena sering kali tergantung pada spesies, atau varietas pisang yang dikulturkan. Sitokinin diduga disintesis oleh ujung akar lalu diangkut melalui xilem ke bagian tumbuhan lain. Hal ini menjelaskan keberadaan sitokinin pada biji, buah, dan daun. Sitokinin merupakan salah satu ZPT dalam kultur jaringan. Sitokinin memiliki peran penting dalam regulasi sel tanaman dan perkembangan sel tanaman (Schmülling, 2004). Pemberian sitokinin ke dalam media kultur dapat merangsang pembelahan sel dan menginduksi inisiasi tunas, sehingga multiplikasi tunas akan lebih baik (Staden dkk., 2008).

Sitokinin memiliki beberapa fungsi yaitu meningkatkan aktivitas pembelahan sel dan pembesaran sel, memacu inisiasi tunas pada kultur jaringan, melemahkan dominansi apikal, menunda terjadinya penuaan pada daun dengan cara mempertahankan keutuhan membran tonoplas, dan meningkatkan pembukaan stomata pada beberapa spesies (George dkk., 2008).

TDZ (*N-phenyl-N'-1-2-3-thiadiazol-5-ylurea*) (Gambar 2) merupakan sitokinin yang memiliki efektivitas lebih tinggi dibandingkan dengan sitokinin lain dalam kultur jaringan. Penggunaan konsentrasi kurang dari 0,1  $\mu\text{M}$ , TDZ menghasilkan proliferasi tunas aksilar lebih baik (Lee, 2005). TDZ memiliki efektivitas yang lebih baik namun di Indonesia relatif sulit diperoleh dan harganya relatif mahal (Yusnita, 2003). TDZ berperan dalam merangsang organogenesis eksplan (regenerasi tunas) dan regenerasi tanaman.

Beberapa penelitian tentang kultur jaringan pisang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ZPT yang efektif untuk pembentukan tunas aksilar. Roy *et al* (2010) mengungkapkan bahwa kombinasi 5 mg/l BA+1 mg/l IAA menghasilkan jumlah tunas tertinggi, yaitu 8,23 tunas/eksplan, dengan panjang tunas 4,2 cm pada pisang ‘Malbogh’ (AAB). Konsentrasi 5 mg/l BA merupakan konsentrasi terbaik untuk multiplikasi tunas pada pisang ‘Philippine Lactume’ (AAA), ‘Grande Naine’ (AAA), ‘Saba’ (ABB), dan ‘Pelipita’ (ABB). Berdasarkan hasil penelitian Sari (2012), dilaporkan bahwa pemberian 6 mg/l BA pada media MS menghasilkan jumlah tunas aksilar tertinggi pada pisang ‘Ambon Kuning’ (AAA), yaitu 16,44 tunas/eksplan dan kombinasi 4 mg/l BA dengan 0,5 IAA menghasilkan 20,3 tunas/eksplan ‘Ambon Kuning’ (AAA) pada 23 MST.



Gambar 2. Struktur molekul Thidiazuron

### **III. BAHAN DAN METODE**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Ilmu Tanaman dan lahan sekitar laboratorium Ilmu Tanaman, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung. Penelitian ini dilaksanakan sejak September 2015 hingga Juli 2016.

#### **3.2 Bahan Tanaman**

Kultivar yang digunakan adalah pisang ‘Ambon Kuning’. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian berupa eksplan mata tunas (tunas apikal dan aksilar) yang berasal dari bonggol tanaman pisang. Bonggol pisang didapatkan dari Gedong Tataan dan Pematang, Kabupaten Pesawaran. Tata cara dalam melakukan pengambilan bonggol pisang yang akan diteliti adalah dengan menggali tanah di sekitar anakan, kemudian bonggol anakan dipisahkan dari rumpun induk menggunakan cangkul atau pengungkit. Panjang batang semu bahan induk pada saat pengambilan bonggol adalah berkisar antara 30-100 cm. Bonggol anakan atau anakan pedang yang telah diambil tersebut kemudian dibawa ke lahan sekitar laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

### 3.3 Persiapan Eksplan

Beberapa lapisan batang semu dikelupas dari bonggol pisang menggunakan pisau sampai tersisa permukaan batang semu yang berwarna putih (sekitar 4 lapisan).

Bagian terdalam bonggol kemudian dicungkil menggunakan pisau tajam dan dibentuk segi 5 sehingga didapatkan eksplan dengan ukuran diameter 5-7 cm batang semu dengan mata tunas apikal dan jaringan meristematik bonggol.

Kemudian eksplan dengan diameter 5-7 cm tadi direndam dalam 2 liter air yang telah ditambahkan 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida mankozeb selama  $\pm$  30 menit. Eksplan yang telah direndam kemudian dibawa ke dalam laboratorium untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan eksplan pada ruang transfer.



Gambar 3. Calon eksplan dari bonggol pisang (berdiameter 5-7 cm).

Sisa bonggol pisang yang sudah diambil mata tunasnya untuk eksplan, direndam dalam 2 g/l Growmore dan 2 g/l fungisida mankozeb selama 10-15 menit.

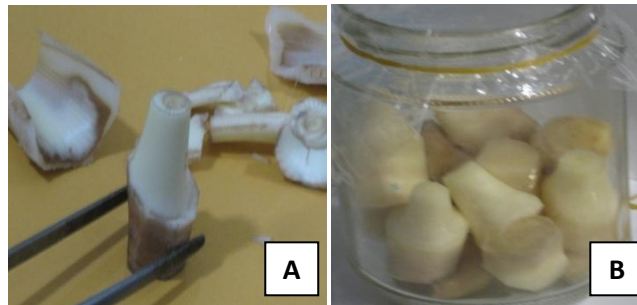
Bonggol yang sudah direndam selanjutnya ditanam dalam bedengan yang sudah disiapkan.

### 3.4 Sterilisasi, Penanaman Eksplan, dan Subkultur

Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan di ruang persiapan dan ruang transfer laboratorium Ilmu Tanaman. Ukuran eksplan yang didapatkan kisaran 5-7 cm lalu dikecilkan kembali menjadi 3 cm (sekitar 2 lapisan). Eksplan yang telah dikecilkan kemudian direndam ke dalam larutan *detergent* selama 15-25 menit. Setelah itu, eksplan dibilas di bawah air mengalir sehingga fungisida dan kotoran yang tertinggal tidak menempel pada permukaan eksplan. Eksplan yang sudah dibilas kemudian dimasukkan ke dalam botol schott dan dibawa ke dalam ruang tanam untuk dilakukan sterilisasi permukaan eksplan dan penanaman di media prekondisi.

Sterilisasi permukaan eksplan di ruang tanam dilakukan dalam kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC). Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan dua tahap, yaitu pertama dengan menggunakan larutan Bayclin 50% dan kedua menggunakan 10% Bayclin yang mengandung bahan aktif 5,25% NaOCl. Bayclin 50% didapatkan dengan cara melarutkan 50 ml cairan pemutih dengan 50 ml air steril. Larutan 50% ini dimasukkan ke dalam botol schott yang telah berisi eksplan dan ditambahkan detergen cair (Tween-20) (2 tetes/100 ml), kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 30 menit. Setelah selesai melakukan *shaking*, eksplan dibilas 3 kali dengan air steril sampai tidak ada lagi busa yang menempel. Bagian melepuh dari eksplan dibuang lapisan terluarnya menggunakan alat diseksi sampai dengan ukuran bonggol 2x2x1 cm, panjang batang semu 0,3-1 cm, setelah itu eksplan dimasukkan ke dalam botol schott yang baru berisi larutan asam askorbat steril. Eksplan ditiriskan lalu dikocok kembali

dengan larutan Bayclin 10% selama 10 menit menggunakan tangan (manual) di dalam LAFC. Setelah 10 menit eksplan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali, eksplan tersebut ditanam pada media prekondisi selama 30 hari.



Gambar 4. Eksplan diperkecil sampai diameter 3 cm (A) lalu disterilkan (B).

Eksplan ditanam dalam media dasar MS dengan penambahan 0,05 mg/l TDZ.

Eksplan penanaman pertama sebanyak 75 bonggol, lalu penambahan eksplan pada penanaman kedua sebanyak 100 bonggol. Jumlah keseluruhan eksplan yang berada pada media prekondisi mencapai 175 eksplan. Setelah eksplan berumur 4 MST, dilakukan pencacahan eksplan dan dipindahkan ke dalam media perlakuan. Subkultur dilakukan pada 4 minggu setelah transfer (MST), 4 MST, 8 MST, 12 MST, dan 16 MST.

### **3.5 Kondisi Ruang Kultur (Inkubasi)**

Ruang kultur digunakan untuk menyimpan atau memelihara kultur. Eksplan yang baru ditanam, propagul yang akan diperbanyak, dan tunas-tunas yang sedang berada pada tahap pengakaran umumnya diinkubasi dalam ruangan ini. Ruang kultur berisik rak-rak yang digunakan untuk menyusun kultur. Ruang kultur dilengkapi dengan pencahayaan melalui lampu fluoresens (lampu TL) dengan kuat penerangan 1000-2000 lux selama 12 jam, lampu ini dipasang pada langit-

langit rak yang berjarak sekitar 20 cm di atas botol. Ruang kultur dilengkapi dengan AC (*Air Conditioner*) untuk mengkondisikan suhu tetap pada  $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### 3.6 Sterilisasi Botol dan Alat

Sterilisasi botol dilakukan dalam 2 tahapan di autoklaf elektrik. Tahap 1, botol kultur disterilisasi dalam autoklaf Budenberg selama 30 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan  $1,5\text{ kg/cm}^2$ . Setelah sterilisasi selesai, autoklaf dimatikan dan dibiarkan hingga tekanan turun menjadi  $0\text{ kg/cm}^2$ . Botol dikeluarkan lalu dicuci untuk menghilangkan sisa media tanam di bagian dalam botol dan direndam dalam air yang telah dicampur detergen dan 5 tutup botol desinfektan selama 1 malam. Tahap 2, botol yang telah direndam dicuci kembali dan kertas label pada botol dihilangkan. Botol dibilas menggunakan air mengalir lalu direndam air panas selama 15 menit. Kemudian botol ditiriskan dan ditutup dengan plastik menggunakan karet. Tahap akhir sterilisasi botol kultur menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan  $1,5\text{ kg/cm}^2$ .

Alat yang digunakan berupa alat diseksi (pinset dan *scalpel*), cawan petri, keramik, botol schott, kapas, dan gelas ukur. Alat yang digunakan dalam kultur jaringan juga harus memenuhi syarat dalam kondisi aseptik. Alat diseksi, cawan petri, dan keramik yang sudah dicuci bersih dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam plastik yang tahan panas. Kebutuhan air steril dipenuhi dengan melakukan sterilisasi botol schott berisi  $\frac{3}{4}$  volume. Kapas bersih dimasukkan ke dalam botol kultur steril. Gelas ukur yang akan digunakan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* diberi penutup pada bagian mulutnya menggunakan *aluminium foil* dan plastik yang tahan panas. Seluruh alat yang digunakan harus



disterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>.

### 3.7 Media Kultur

Penelitian ini menggunakan media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962) dan terdiri dari 2 macam media, yaitu media prekondisi dan media perlakuan. Media prekondisi berisi garam-garam MS berupa 1.650 mg/l NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; 1.900 mg/l KNO<sub>3</sub>; 370 mg/l MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 170 mg/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 440 mg/l CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 6,2 mg/l H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 16,9 mg/l Mn.SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 8,6 mg/l Zn.SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,83 mg/l KI; 0,25 mg/l Na<sub>2</sub>.MoO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,025 mg/l CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; 0,025 mg/l CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O; 27,8 mg/l FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 37,3 mg/l Na<sub>2</sub>EDTA; 0,1 mg/l Tiamin-HCl; 0,5 mg/l Pirodoksin-HCl; 0,5 mg/l Asam Nikotinat; 2,0 mg/l Glisin; 100 mg/l Mio-inositol, 30 gram/l sukrosa, 0,05 mg/l TDZ; 50 mg/l asam sitrat; dan 150 mg/l asam askorbat. Formulasi media perlakuan yang digunakan dalam penelitian adalah media MS dengan berbagai konsentrasi TDZ sesuai perlakuan.

Langkah pertama dalam membuat media adalah dengan mempersiapkan alat-alat yang akan digunakan. Semua alat gelas dan nongelas (gelas beaker ukuran 2 L, 1 L, dan 500 ml; gelas ukur ukuran 10 ml, 25 ml, 100 ml, 250 ml, 1000 ml, dan 2000 ml; pipet tetes; labu ukur 500 ml dan 1000 ml; magnet; pinset; spatula; dan panci enamel) sudah dalam keadaan bersih dari kotoran. Alat gelas dan non gelas yang digunakan membuat media kultur sebaiknya terlebih dahulu dibilas menggunakan aquades.

Pembuatan media dilakukan dengan melarutkan 1.650 mg/l NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; 1.900 mg/l KNO<sub>3</sub>; 370 mg/l MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 170 mg/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 440 mg/l CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 6,2

mg/l  $H_3BO_3$ ; 16,9 mg/l  $Mn.SO_4.7H_2O$ ; 8,6 mg/l  $Zn.SO_4.7H_2O$ ; 0,83 mg/l KI; 0,25 mg/l  $Na_2.MoO_4.7H_2O$ ; 0,025 mg/l  $CuSO_4.5H_2O$ ; 0,025 mg/l  $CoCl_2.6H_2O$ ; 27,8 mg/l  $FeSO_4.7H_2O$ ; 37,3 mg/l  $Na_2EDTA$ ; 0,1 mg/l Tiamin-HCl; 0,5 mg/l Pirodoksin-HCl; 0,5 mg/l Asam Nikotinat; 2,0 mg/l Glisin; 100 mg/l Mio-inositol, 30 gram/l sukrosa, 0,05 mg/l TDZ; 50 mg/l asam sitrat; dan 150 mg/l asam askorbat hingga homogen. Alat yang digunakan untuk menghomogenkan adalah *magnetic stirrer*. Larutan yang telah homogen ditera dengan menambahkan aquades menggunakan labu ukur sesuai kebutuhan media. Larutan yang telah ditera kemudian dihomogenkan kembali, pH larutan media diukur menggunakan pH meter dan ditetapkan menjadi 5,8. Penetapan pH dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes KOH 1 N jika pH kurang dari 5,8 dan menambahkan beberapa tetes HCl 1 N jika pH lebih dari 5,8. Setelah itu larutan media dimasukkan ke dalam panci enamel yang telah berisi 8 g/l agar-agar dan dimasak hingga mendidih. Selama proses memasak, pengadukan dilakukan terus-menerus supaya agar-agar tercampur rata dan tidak mengendap. Setelah media masak, sebanyak 25-30 ml media dituangkan ke dalam botol kultur steril lalu ditutup menggunakan plastik, diikat dengan karet, dan diberi label sesuai dengan komposisi media. Satu liter media menghasilkan kurang lebih 30 botol kultur. Larutan media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf Tomy selama 7 menit pada suhu  $121^{\circ}C$  dan tekanan  $1,5\text{ kg/cm}^2$ .

### **3.8 Rancangan Percobaan dan Analisis Data**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 3 ulangan. Perlakuan yang dicoba adalah berbagai konsentrasi TDZ

seperti pada Tabel 1. Setiap satuan percobaan terdiri dari lima botol kultur yang masing-masing berisi satu eksplan. Delapan perlakuan ZPT tersebut ditambahkan ke dalam media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962). Perlakuan yang diujikan dalam penelitian adalah konsentrasi TDZ pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Perlakuan yang diujikan dalam penelitian

Perlakuan ke-	Media Dasar	TDZ (mg/l)
1		0,01
2		0,025
3		0,05
4	Murashige dan Skoog (1962)	0,075
5		0,1
6		0,2
7		0,3
8		0,4

Keseragaman data dalam penelitian ini diuji dengan uji Bartlett. Apabila asumsi terpenuhi, selanjutnya dilakukan analisis ragam. Adapun pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

### 3.9 Pengamatan

Pengamatan eksplan dimulai sejak tunas aksilar muncul dalam media perlakuan.

Variabel pengamatan pada penelitian ini adalah :

1. Persentase perkembangan eksplan yang menunjukkan respons terhadap pemberian perlakuan berupa munculnya tunas aksilar.
2. Rerata jumlah propagul per eksplan. Propagul adalah jumlah dari mata tunas dan mata tunas aksilar.

3. Panjang tunas aksilar. Panjang tunas aksilar diukur dengan penggaris dari pangkal tunas di atas permukaan eksplan sampai ujung tunas tertinggi.
4. Penampilan visual eksplan. Pengamatan pada visual eksplan di dalam kultur diamati pada 0, 4, 12, dan 14 MST.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Peningkatan konsentrasi TDZ (0,01 – 0,4 mg/l) dalam media Murashige dan Skoog (MS) menyebabkan penurunan jumlah propagul pada kultur *in vitro* tanaman pisang ‘Ambon Kuning’ pada 16 MST.
2. Konsentrasi TDZ terbaik untuk perbanyak tunas *in vitro* tanaman pisang ‘Ambon Kuning’ adalah 0,05 mg/l TDZ yang menghasilkan 4 propagul per eksplan dengan panjang tunas 2,33 cm.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut multiplikasi tunas pisang 'Ambon Kuning' dengan konsentrasi TDZ yang lebih rendah kisaran 0,01 – 0,05 mg/l TDZ.

## **PUSTAKA ACUAN**

## PUSTAKA ACUAN

- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2016. Produksi Pisang Menurut Provinsi 2011-2015, 2012. [http://www.pertanian.go.id/ap\\_pages/mod/datahorti](http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti). Diakses pada 22 September 2016.
- Damayanti, F. dan Samsurianto. 2010. Konservasi in vitro plasma nutfah untuk aplikasi di bank gen. *Bioprospek* 7 (2) : 1-6.
- Dun, E.A., B.J. Ferguson, dan C.A. Beveridge. 2006. Apical dominance and shoot branching. Divergent opinions or divergent mechanisms?. *Plant Physiology*: 142: 812–819.
- FAO. 2014. FAO urges countries to step up action against destructive banana disease. <http://www.fao.org/news/story/en/item/223409/icode/>. Diakses pada 22 September 2016.
- George, E. F., M. A. Hall, and Geert-Jan De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3<sup>rd</sup> Edition. Volume 1. Springer. Dordrecht. 205—227.
- Guo, B, B.H. Abbasi, A. Zeb, L.L. Xu, dan Y.H. Wei. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10 (45): 8984-9000.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester., F. T. Davies, and R. L. Geneve. 2002. Part IV Cell and Tissue Culture Propagation. In: *Plant Propagation Principle and Practies*. 7th Edition. Upper Saddle River. New Jersey. 639—707.
- Iliev, I., A. Gadjošová, G. Libiaková, and S. M. Jain. 2010. *Plant Micropropagation*. In: *Plant Cell Culture*. M. R. Davey and P. Anthony (Eds). John Wiley & Sons, Ltd. New Jersey. 1—20.
- Indian Horticulture Database. 2014. *Indian Horticulture Database-2013*. New Delhi. India.



- Isnaeni, N. 2008. Pengaruh TDZ Terhadap Inisiasi dan Multiplikasi Kultur *In Vitro* Pisang Raja Bulu (*Musa paradisiaca* L. AAB group). (Skripsi). IPB Press. Bogor. 60 hlm.
- Istiqomah, H. N. 2015. Multiplikasi Tunas Pisang ‘Kepok Kuning’ (Genom ABB) dan ‘Raja Bulu’ (Genom ABB) *in vitro* Pada Berbagai Konsentrasi Benziladenin dengan dan Tanpa Thidiazuron. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 72 hlm.
- Jannah, H. F. K. 2014. Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Kinetin terhadap Multiplikasi Tunas Pisang ‘Raja Bulu’ (Genom AAB). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 57 hlm.
- Kasutjianingati. 2004. Pembiakan mikro berbagai genotipe pisang (*Musa spp.*) dan potensi bakteri endofitik terhadap layu fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lee, S. W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. Taiwan Banana Research Institute. *Acta Hort* 692.
- Mayasari. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron dengan dan Tanpa Benziladenin Terhadap Perbanyakan Tunas Pisang Kepok Kuning dan Embrio Pisang Raja Bulu Secara *In Vitro*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 58 hlm.
- Meldia, Y., Makful, Edison, dan Wahyuni. 2012. *Pengaruh Varietas terhadap Multiplikasi Tunas Pisang yang Diperbanyak Melalui Kultur Jaringan*. Prosiding Seminar Nasional Pekan Inovasi Teknologi Hortikultura Nasional: Penerapan Inovasi Teknologi Hortikultura dalam Mendukung Pembangunan Hortikultura yang Berdaya Saing dan Berbasis Sumberdaya Genetik Lokal. Lembang. 5 Juli 2012.
- Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. A Revised medium for rapid growth and bioassay with *tobacco* tissue cultures. *Physiol Plant*. 15 ;473-479.
- Nelson, S. C., R. C. Ploetz, and A. K. Kepler. 2006. *Musa species* (banana and plantain). In: Species Profiles for Pacific Island Agroforestry ver. 2.2. 30 Juni 2016 [www.traditionaltree.org](http://www.traditionaltree.org).
- Nisa, C., Rodinah, dan Annisa. 2011. Formulasi Zat Pengatur Tumbuh pada Pisang Talas secara *In Vitro*. *Agroscientiae* 8 (2): 64—69.
- Plantamor. 2013. *Musa paradisiaca*. 27 Juli 2016 [www.plantamor.com/species/musa-paradisiaca](http://www.plantamor.com/species/musa-paradisiaca).

- Prabawati, S. Suyanti dan D. A. Setyabudi. 2008. *Teknologi Pascapanen dan Teknik Pengolahan Buah Pinang*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Roy, O. S., P. Bantawa, S. K. Ghosh, J. A. Teixeira da Silva, P. Deb Ghosh, and T. P. Mondal. 2010. *Micropropagation and Field Performance of 'Malbogh' (Musa paradisiaca, AAB group): A Popular Banana Cultivar with High Keeping Quality of North East India*. *Tree and Forestry Science and Biotechnology* 4 (Special Issue 1) : 52—58.
- Rusyadi. 2000. *Multiplikasi Tunas Tanaman Melinjo Melalui Kultur in vitro*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Salisbury, F.B. dan Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Penerbit ITB. Bandung.
- Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. IPB Press. Bogor.
- Santoso, P.J. 2013. *Produksi Benih Pisang dari Rumpun In Situ secara Konvensional*. Balai Penelitian Buah. Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian.
- Sari, E. P. 2012. *Multiplikasi tunas pisang Ambon Kuning sebagai respon terhadap konsentrasi benzyladenine dan indole-3-acetic acid*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 70 hlm.
- Satuhu, S. dan A. Supriyadi. 2010. *Pisang: Budi Daya, Pengolahan, & Prospek Pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta. 124 hlm.
- Schmülling, T. 2004. *Cytokinin*. In: *Encyclopedia of Biological Chemistry*. Lennarz, W., Lane, M.D. (Eds), Academic Press/Elsevier Science. 1—7.
- 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.
- Suyanti dan A. Supriyadi. 2008. *Pisang, budidaya, pengolahan, dan prospek pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Triyani, S. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Thidiazuron terhadap Multiplikasi Tunas Pisang 'Raja Bulu' (Genom AAB) In Vitro*. (Skripsi). Jurusan Agroteknologi. Universitas Lampung.

- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia. Jakarta. 103 hlm.
- Yusnita dan D. Hapsoro. 2013. *Eksplorasi, Karakterisasi, Seleksi, dan Perbanyakkan Klonal In Vitro untuk Mendapatkan Genotipe-Genotipe Unggul Pisang Komersial Lampung*. Laporan Tahunan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Lampung.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Aura Publishing. Bandar Lampung. 104 hlm.