

**PENGARUH THIDIAZURON, PIKLORAM, DAN BENZILADENIN
TERHADAP REGENERASI TANAMAN PISANG *IN VITRO*
MENGUNAKAN EKSPLAN UJUNG TUNAS
DAN BUNGA**

(Skripsi)

Oleh

RESTI ASTRIA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

PENGARUH THIDIAZURON, PIKLORAM, DAN BENZILADENIN TERHADAP REGENERASI TANAMAN PISANG *IN VITRO* MENGUNAKAN EKSPAN UJUNG TUNAS DAN BUNGA

Oleh

RESTI ASTRIA

Perbanyak bibit pisang secara konvensional dengan menggunakan anakan atau bonggol membutuhkan waktu yang lama, dan bibit yang diperoleh tidak seragam. Kultur Jaringan tanaman merupakan salah satu alternatif untuk memecahkan masalah tersebut. Zat Pengatur tumbuh (ZPT) seperti thidiazuron, pikloram, dan benziladenin dapat diperlukan dalam teknik kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh thidiazuron, pikloram, dan benziladenin terhadap regenerasi pisang *in vitro* dari eksplan ujung tunas dan bunga pisang. Eksplan pisang Ambon Kuning berupa ujung tunas, sedangkan eksplan pisang Cavendish bunga jantan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman mulai dari Oktober 2015 hingga Agustus 2016.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Hasil percobaan menunjukkan Eksplan ujung tunas yang dicacah dan dibelah menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak dibandingkan dengan yang tidak dicacah dan dibelah. Pada media yang mengandung 1 mg/l pikloram,

Resti Astria

peningkatan TDZ 0,01-0, 2mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas.

Peningkatan thidiazuron lebih lanjut sampai 0,4 mg/l menyebabkan penurunan jumlah tunas. Sedangkan persentase kalus eksplan bunga pisang Cavendish tertinggi pada media MS + 0,075 mg/l TDZ + 1 mg/l pikloram yaitu 28,6%.

Kata Kunci : Ambon Kuning, benziladenin, Cavendish, *In vitro*, pikloram, pisang, thidiazuron, tunas.

**PENGARUH THIDIAZURON, PIKLORAM, DAN BENZILADENIN
TERHADAP REGENERASI TANAMAN PISANG *IN VITRO*
MENGUNAKAN EKSPLAN UJUNG TUNAS
DAN BUNGA**

Oleh

RESTI ASTRIA

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 THIDIAZURON, PIKLORAM, DAN BENZILADENIN TERHADAP REGENERASI TANAMAN PISANG *IN VITRO* MENGGUNAKAN EKSPLAN UJUNG TUNAS DAN BUNGA**

Nama Mahasiswa : **Resti Astria**

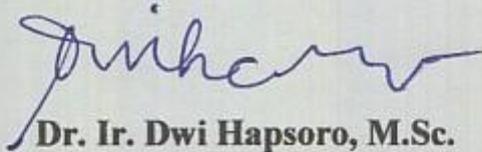
No. Pokok Mahasiswa : 1214121179

Jurusan : Agroteknologi

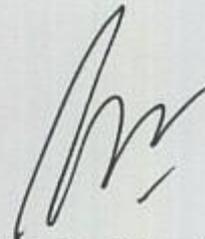
Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

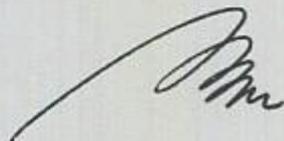


Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.
NIP 19610402 198603 1 003



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 : **Akari Edy, S.P., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 November 2016

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin Terhadap Regenerasi Tanaman *Pisang In Vitro* Menggunakan Eksplan Ujung Tunas Dan Bunga”** adalah karya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiarisme.
2. Pembimbing penulisan skripsi ini berhak mempublikasikan seluruh isi skripsi ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Apabila di kemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya. Saya sanggup dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, Desember 2016
Pembuat Pernyataan,



Resti Astria
NPM 1214121179

RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan di Desa Talang Jawa, Kecamatan Merbau Mataram, Kabupaten Lampung Selatan, pada 29 Januari 1995. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Tri Patmono dan Ibu Suminah.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Taang Jawa pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Merbau Mataram pada tahun 2009, Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Merbau Mataram pada Tahun 2012.

Penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2012 melalui jalur Undangan. Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tanaman (Semester Ganjil 2015/2016 dan 2016/2017), dan Dasar-dasar Fisiologi tumbuhan (Semester Genap tahun ajaran 2015/2016), Teknik Perbanyakan Tanaman (Semester Genap 2015/2016), Teknik Pemuliaan Tanaman (Semester Genap 2015/2016), Pengelolaan Kebun Tebu (Semester Genap 2015/2016), Penyadapan Karet (Semester Ganjil 2016/2017) dan Pembibitan Sawit (Semester Ganjil 2016/2017). Penulis juga tergabung dalam organisasi kampus sebagai anggota bidang Pengembangan Masyarakat Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (PERMA AGT) (2013/2014), dan Unit Kegiatan

Kampus Universitas (UKM-U) sebagai Neighbourhood Chief Radio Kampus Universitas Lampung (Rakanila) (2014/2015) dan sebagai Manager Kesekretariatan Radio Kampus Universitas Lampung (Rakanila) (2015/2016).

Pada Tahun 2014, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Mulya Jaya, Kecamatan Gunung Agung, Kabupaten Tulang Bawang Barat dan pada tahun yang sama penulis juga melaksanakan Praktik Umum (PU) di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI.

Kupersembahkan karya ini kepada mama, bapak,
mamas dan adikku tercinta.

Jangan sia-siakan kesempatan, karna kesempatan takkan
datang menghampirimu dua kali

(Resti Astria).

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian, dan penyusunan skripsi ini. Penulis banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr.Ir.Dwi Hapsoro, M.Sc., selaku pembimbing pertama yang telah memberikan ide penelitian, gagasan, bimbingan, bantuan, perhatian, saran, dan masukan serta motivasinya, sehingga penulis dapat melakukan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, masukan,saran,motivasi,dan bantuannya selama penelitian dan penyelesaian penulisan skripsi ini.
3. Bapak Akari Edy, S.P., M.Sc., selaku pembahas dan penguji atas saran, arahan, bantuan,dan motivasi untuk penulisan skripsi ini.
4. Ibu Ir. Herawati Hamim, M.Sc. selaku pembimbing akademik atas bimbingan, arahan, dan motivasinya dalam menyelesaikan pendidikan.
5. Orang tua penulis Bapak Tri Patmono dan Ibu Suminah, mas Riki Irawan dan adik Relly Candra atas doa, kasih sayang, nasihat, semangat, perhatian dan dukungan yang selalu diberikan kepada penulis.

6. Sahabat seperjuangan, Syanda Giantara, Wiwik Ferawati, Rezlinda Nurbaiti, Yanti Marchelina Lubis, Yeni sofialita, Ria Rizky Lestari, Vanny Unjunan, dan Rifky Bangsawan atas persahabatan, bantuan, dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi ini.
7. Keluarga besar laboratorium kultur jaringan, Hayane Adeline Warganegara, S.P., M.Si., Agil ikhsandi, dan Alifia atas bantuan, perhatian dan kerjasamanya.
8. Sahabat-sahabat penulis : Rahmadyah Hamiranti, Mesva Riza Lista, Misluna, Mentari Pertiwi, Lesti Mantia Sari, Pratiwi Iswari, Wiwik Agustina, dan Riajeng Hanum Amalia, atas persahabatan, bantuan, motivasi dan kebersamaannya selama perkuliahan.
9. Keluarga Asrama Putri Wongkito : Nurul Annisa Ridwan, Wulandari, Nyimas Panca Adista, Erisa Setyowati dan Selvi Milasari, atas dukungan dan semangat yang diberikan kepada penulis.
10. Teman-Teman, kakak-kakak dan adik-adik Agroteknologi, serta keluarga besar UKM Rakanila yang telah memberi dukungan, motivasi dan bantuan dalam pengerjaan skripsi ini.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya, Aamiin.

Bandar Lampung, Desember 2016
Penulis

Resti Astria

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	6
1.3. Kerangka Pemikiran	6
1.4. Hipotesis	9
II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Morfologi Tanaman Pisang	11
2.2. Kultur Jaringan Tanaman Pisang	14
2.3. Pola Regenerasi Tanaman dengan Kultur Jaringan	16
2.4. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	18
III. METODE PENELITIAN	21
3.1 Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Ambon Kuning dari Eksplan Ujung Tunas	21
3.1.1 <i>Tempat dan Waktu Penelitian</i>	21
3.1.2 <i>Bahan Tanam</i>	21
3.1.3 <i>Persiapan Eksplan</i>	22
3.1.4 <i>Sterilisasi Eksplan</i>	22
3.1.5 <i>Sterilisasi Alat</i>	23
3.1.6 <i>Pembuatan Media</i>	24
3.1.7 <i>Metode Penelitian</i>	25
3.1.8 <i>Variabel Pengamatan</i>	26

3.2 Pengaruh Thidiazuron dan Pikloram Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Cavendish dari Eksplan Bunga	27
3.2.1 <i>Tempat dan Waktu Penelitian</i>	27
3.2.2 <i>Bahan Tanam</i>	27
3.2.3 <i>Sterilisasi Eksplan</i>	28
3.2.4 <i>Metode Penelitian</i>	28
3.2.5 <i>Variabel Pengamatan</i>	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil Penelitian.....	30
4.1.1 <i>Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Ambon Kuning dari Eksplan Ujung Tunas</i>	30
4.1.2 <i>Pengaruh Thidiazuron dan Pikloram Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Cavendish dari Eksplan Bunga</i>	40
4.2 Pembahasan	41
4.2.1 <i>Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Ambon Kuning dari Eksplan Ujung Tunas</i>	41
4.2.2 <i>Pengaruh Thidiazuron dan Pikloram Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Cavendish dari Eksplan Bunga</i>	48
V. KESIMPULAN DAN SARAN	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Media perlakuan yang dicobakan untuk pertumbuhan embrio somatik.....	26
2. Persentase eksplan hidup di media prekondisi 4 MST	31
3. Persentase eksplan yang membentuk tunas dan rata-rata jumlah tunas \pm SE pada kultur <i>in vitro</i> pisang Ambon Kuning berumur 8 MST	33
4. Persentase eksplan hidup, berkalus, membentuk propagul dan rata-rata jumlah propagul \pm SE pada kultur <i>in vitro</i> tanaman pisang Ambon Kuning berumur 8 MST	35
5. Persentase eksplan hidup, bertunas, dan rata-rata jumlah propagul \pm SE pada kultur pisang Ambon Kuning berumur 8 MST	39
6. Persentase eksplan hidup dan berkalus pada kultur <i>in vitro</i> bunga pisang Cavendis berumur 12 minggu	41
7. Formulasi media Murashige dan Skoog (1962)	60
8. Hasil perhitungan jumlah tunas hasil multiplikasi di media MS yang mengandung 5 mg/l BA 4 MST.	61
9. Hasil perhitungan rata-rata jumlah propagul pada kultur <i>in vitro</i> tanaman pisang Ambon Kuning berumur 8 MST	62
10. Hasil perhitungan rata-rata jumlah tunas pisang Ambon Kuning pada 4 MST dan 8 MST yang dikulturkan pada media MS + 1 mg/l TDZ dan 2 mg/l	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perkembangan eksplan (a) hari pertama eksplan ditanam di media prekondisi, (b) pada umur 4 MST di media 0,05 mg/l TDZ, (c) pada umur 4 MST di media 1 mg/l BA	31
2. Kultur tunas <i>in vitro</i> pada hari pertama di media multiplikasi dengan perlakuan pencacahan (a) tanpa dibelah, (b) dibelah dua, (c) dibelah empat	32
3. Kultur tunas pada 4 MST di media multiplikasi dengan perlakuan pencacahan (a) tanpa dibelah, (b) dibelah dua, (c) dibelah empat	33
4. Rata-rata jumlah tunas pisang Ambon Kuning di media 5 mg/l BA pada 4 MST. Bar menunjukkan SE	34
5. Kalus berwarna putih dan keras yang terbentuk pada eksplan di media perlakuan MS + 0,2 mg/l TDZ + 1 mg/l pic pada 1 MST	34
6. Pengaruh taraf konsentrasi TDZ dengan penambahan 1 mg/l Pikloram terhadap jumlah propagul pada kultur <i>in vitro</i> pisang Ambon Kuning 8 MST. Bar menunjukkan SE	36
7. Penampakan kultur pada media MS + 1 mg/l pikloram + (a) 0,01 mg/l TDZ, (b) 0,025 mg/l TDZ, (c) 0,05 mg/l TDZ, (d) 0,075 mg/l TDZ, (e) 0,1 mg/l TDZ, (f) 0,2 mg/l TDZ, (g) 0,3 mg/l TDZ, (h) 0,4 mg/l TDZ	37
8. (a) Hari pertama eksplan di media MS + 0,2 mg/l TDZ + 1 mg/l pic, (b) eksplan 2 minggu MS + 0,2 mg/l TDZ + 1 mg/l pic	38
9. (a) Eksplan 8 minggu di media MS + 1 mg/l TDZ, (b) Eksplan 8 minggu di media MS + 2 mg/l TDZ	38

10. Rata-rata jumlah tunas per eksplan pisang Ambon Kuning pada 4 MST dan 8 MST yang dikulturkan pada media MS + 1 mg/l dan 2 mg/l TDZ	39
11. Eksplan jantung pisang Cavendis 12 MST (a) membentuk kalus, (b) kalus berkembang menjadi embrio	40

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Indonesia merupakan penghasil pisang terbesar keempat di dunia setelah India, Cina, Filipina (Maps of World, 2014). Menurut Badan Statistik Produksi Hortikultura (2014), dengan luas lahan 100.600 Ha, produksi pisang di Indonesia mencapai 6.862.558 ton. Berdasarkan data rata-rata produksi tahun 2009-2013, sebanyak 70,30% produksi pisang Indonesia dipasok dari Provinsi Jawa Barat, Jawa Timur, Lampung, Jawa Tengah, dan Sumatera Utara. Jawa Barat memberikan kontribusi terbesar terhadap produksi pisang Indonesia, yaitu sebesar 20,03%, diikuti oleh Jawa Timur (19,60%), Lampung (12,38%), Jawa Tengah (12,20%), dan Sumatera Utara (6,10%), sedangkan provinsi-provinsi lainnya memberikan kontribusi terhadap produksi pisang Indonesia kurang dari 5% (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2014).

Pisang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia karena harganya yang relatif murah dengan kandungan gizi yang baik (Sukmadjaja, 2013). Pisang mengandung karbohidrat, vitamin, dan mineral untuk kesehatan manusia.

Mineral-mineral yang terkandung dalam buah pisang adalah kalium, magnesium, fosfor, besi, kalsium, vitamin A, B dan C, serta asam folat (Judarwanto, 2016).

Pisang Ambon Kuning cocok untuk hidangan buah segar, memiliki ukuran buah lebih besar dari pada pisang Ambon lainnya, dengan kulit buah tidak terlalu tebal dan warna kuning muda. Daging buah yang sudah matang berwarna krem, rasa daging buah pulen, manis dan aromanya harum (Yusnita, 2015).

Tanaman pisang pada umumnya diperbanyak secara vegetatif dengan menggunakan anakan (*sucker*) yang tumbuh dari bonggol induknya. Bibit pisang yang sering digunakan adalah anakan yang telah dewasa karena telah memiliki bakal bunga dan persediaan makanan di dalam bonggol sudah banyak sehingga laju pertumbuhannya lebih cepat (Yusnita, 2015). Perbanyakan konvensional hanya mampu menghasilkan tanaman baru dalam jumlah terbatas sehingga sulit dilakukan untuk penanaman pisang dalam skala besar karena dibutuhkan bibit dalam jumlah banyak. Perbanyakan bibit pisang secara konvensional dengan menggunakan anakan atau bonggol membutuhkan waktu yang relatif lama. Di samping itu dengan penanaman skala besar ini tentu dibutuhkan bibit yang seragam, baik secara genetik maupun morfologis (fisik).

Salah satu alternatif penyediaan bibit pisang yang cepat adalah dengan teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* atau kultur jaringan. Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur yang berisi hara lengkap dan kondisi terkendali untuk tujuan tertentu. Kultur jaringan didasarkan pada teori totipotensi sel yang menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika kondisinya sesuai. Perbanyakan tanaman secara kultur

jaringan dapat menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat sehingga lebih ekonomis, tidak memerlukan tempat yang luas, dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim, serta bibit yang dihasilkan lebih sehat (Yusnita, 2015).

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat melalui jalur perbanyakan tunas samping, organogenesis, dan embriogenesis somatik. Pola regenerasi melalui perbanyakan tunas samping yaitu dengan menstimulasi mata tunas samping pada eksplan untuk tumbuh dan memperbanyak diri. Pola regenerasi ini banyak digunakan pada perbanyakan secara *in vitro* karena kemungkinan terjadinya penyimpangan genetik individu-individu hasil perbanyakan sangat kecil. Eksplan yang digunakan berupa ujung tunas atau potongan batang berbuku yang dikulturkan pada media yang mengandung sitokinin (Hapsoro dan Yusnita, 2016). Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (2004) menggunakan media MS + 2 ppm IAA + 5 ppm BAP sebagai media multipikasi pisang Ambon Hijau, Ambon Kuning, dan Barangan. Menurut penelitian Avivi dan Ikrarwati (2004), konsentrasi 4-6 mg/l BA mampu meningkatkan jumlah tunas pisang Abaca.

Organogenesis dan embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung tanpa pembentukan kalus atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus. Proses perkembangan organogenesis terdiri dari 3 fase, yaitu dediferensiasi sel pada eksplan untuk mencapai kondisi kompeten, induksi sel kompeten untuk mengalami determinasi, dan diferensiasi menjadi organ atau fase ekspresi (Hapsoro dan Yusnita, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Lisnandar, dkk.

(2015), benziladenin (BA) 3 mg/l secara nyata memengaruhi induksi organogenesis dari bunga aksis pisang varietas Kepok dan Kosta, sedangkan varietas Raja Bulu membutuhkan konsentrasi 5 mg/l BA.

Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik, atau sel tubuh. Embrio somatik tidak dihasilkan melalui perpaduan antara gamet jantan dan betina. Struktur embrio somatik adalah bipolar (dua kutub) yaitu mempunyai kutub akar dan kutub tajuk, sedangkan tunas adventif hanya memiliki satu kutub yaitu kutub tajuk. Meskipun embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung tanpa pembentukan kalus, tetapi yang sering terjadi bahwa embrio somatik terbentuk pada permukaan kalus dan dengan mudah dapat dipisahkan dari sel-sel di sekelilingnya. Embrio dapat bersifat multiseluler yaitu berasal dari sekumpulan sel. Kalus yang diinduksi dari eksplan dapat bersifat embriogenik seperti nodul-nodul atau non-embriogenik (Hapsoro dan Yusnita, 2016). Kalus akan terbentuk jika media yang digunakan mengandung sitokinin dan auksin yang seimbang (Yusnita, 2003). Istiqomah (2015) melaporkan bahwa media yang mengandung 0,01 mg/l TDZ yang dikombinasikan dengan BA (2,4, dan 6 mg/l) mampu menghasilkan nodul yang ditandai dengan munculnya bintil-bintil berwarna putih pada eksplan pisang Kepok Kuning dan konsentrasi media 0,01 mg/l TDZ + 1 mg/l BA pada eksplan pisang Raja Bulu.

Eksplan yang ditanam sebagai bahan awal perbanyakan secara *in vitro* adalah ujung tunas dari anakan dengan sebagian bonggolnya. Bonggol memiliki ruas-ruas dan buku-buku yang akan tumbuh menjadi anakan (Yusnita, 2015). Menurut penelitian Zebua dkk. (2015), perlakuan posisi eksplan bagian basal dari bonggol

pisang barangan memberikan pertumbuhan terbaik untuk pembentukan tunas.

Selain itu, eksplan basal mampu membentuk kalus primer pada 36 eksplan dari 75 eksplan. Komposisi media yang mengandung pikloram 5 μ M mampu menghasilkan kalus pisang kultivar Nanicao hingga 100% pada hari ke 30.

Selain menggunakan eksplan bonggol, perbanyakkan melalui teknik kultur jaringan juga dapat menggunakan eksplan bunga (jantung) pisang. Jantung pisang lebih mudah didapat dan dari setiap jantung pisang dapat diperoleh hingga 200 eksplan, serta resikonya terhadap kontaminasi lebih kecil sebab tidak bersinggungan dengan tanah dan tertutup rapat oleh kelopak (Nisa dan Rodinah, 2005). Pada kultur jaringan pisang Kepok Kuning, Nisa dan Rodinah (2005) juga melaporkan bahwa konsentrasi media 0,8 mg/l NAA + 9 mg/l kinetin menyebabkan saat munculnya kalus yang tercepat yaitu 11 hari. Penelitian Lisnandar, dkk. (2015) menyatakan bahwa pada varietas Kosta dan Raja Bulu dari eksplan aksis bunga, nodul muncul pada media yang mengandung BA atau TDZ, maupun kombinasinya.

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab pertanyaan yang dirumuskan dalam pertanyaan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pencacahan dan pembelahan ujung tunas pisang Ambon Kuning terhadap pembentukan tunas?
2. Bagaimana pengaruh TDZ dan pikloram terhadap pembentukan nodul embriogenik eksplan pisang Ambon Kuning yang dikulturkan *in vitro*?

3. Bagaimana pengaruh TDZ dan pikloram terhadap pertumbuhan nodul embriogenik pada kultur *in vitro* pisang Cavendish dengan ekplan bunga jantan?

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi dan rumusan masalah, penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh thidiazuron, pikloram, dan benziladenin terhadap regenerasi pisang *in vitro* dari eksplan ujung tunas dan bunga pisang. Secara khusus penelitian ini bertujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pencacahan dan pembelahan ujung tunas pisang Ambon Kuning terhadap pembentukan tunas
2. Mengetahui pengaruh TDZ dan pikloram terhadap pembentukan nodul embriogenik eksplan pisang Ambon Kuning yang dikulturkan *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh TDZ dan pikloram terhadap pertumbuhan nodul embriogenik pada kultur *in vitro* pisang Cavendish dengan ekplan bunga jantan.

1.3 Kerangka Pemikiran

Zat pengatur tumbuh (ZPT) berperan penting dalam teknik kultur jaringan. ZPT berfungsi untuk memacu pertumbuhan tanaman, seperti tunas, kalus, dan embrio. Auksin dan sitokinin merupakan ZPT yang banyak digunakan. BA merupakan ZPT golongan sitokinin yang mampu memacu pertumbuhan tunas. Menurut penelitian Sari (2012), konsentrasi 6 mg/l BA yang mampu menghasilkan tunas

terbanyak pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning yaitu 16,44 tunas. Yusnita, dkk. (2015) melaporkan bahwa konsentrasi 5 mg/l BA merupakan konsentrasi terbaik untuk memacu pertumbuhan tunas pisang Ambon Kuning. Avivi dan Ikrarwati (2007) melaporkan bahwa pemberian 5 mg/l BAP menghasilkan rata-rata 8,6 tunas mikro per eksplan dan tinggi rata-rata 2,49 cm pada pisang Abaca.

Tingginya dominansi apikal pada pisang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tunas aksilar. Oleh sebab itu perlu dilakukan pencacahan pada saat subkultur. Menurut penelitian Rugayah, dkk. (2012) perbanyak vegetatif pisang Ambon Kuning dengan pembelahan bonggol empat bagian menghasilkan pertumbuhan tunas pisang yang lebih baik dibandingkan pembelahan bonggol delapan. Namun pembelahan bonggol empat bagian perlu penambahan 50 mg/l BA.

Youmbi, dkk. (2006) melaporkan bahwa TDZ pada konsentrasi rendah (0,01-0,4 mg/l) dapat memacu proliferasi tunas pisang Topala, Fougamou, Gros-Michel, Dwarf-Kalapua, Pelipita, dan Kalapua. Hasil penelitian Kumar, dkk. (2011) pada tanaman pisang kultivar Puttabelle, menunjukkan bahwa kalus yang berasal dari bunga dapat menghasilkan 29,40 tunas per kalus pada media yang mengandung 4 mg/l BAP dan 0,4 mg/l TDZ. Hasil penelitian Ibrahim (2013) menunjukkan bahwa eksplan daun kopi yang dikulturkan pada media yang mengandung 2,4-D 2,26 μ M + thidiazuron 4,54 atau 9,08 μ M dapat menginduksi embriogenesis somatik langsung, sedangkan media 2,4-D 4,52 atau 9,04 μ M + thidiazuron 9,08 μ M dapat menginduksi embriogenesis somatik tidak langsung. Menurut penelitian Rodinah, dkk. (2012) media MS + 0,04 mg/l TDZ mampu membentuk tunas

tercepat pada hari ke 7. Menurut Sajid dan Aftab (2009), konsentrasi TDZ yang rendah dalam media kultur jaringan lebih aktif dibandingkan zeatin. Sedangkan berdasarkan penelitian Kordestami dan Karami (2007), penambahan 2 mg/liter pikloram dalam media MS dapat menginduksi embriogenesis somatik strawberry.

Pertumbuhan ekplan dalam kultur *in vitro* tanaman dapat dirangsang menggunakan zat pengatur tumbuh. ZPT yang biasa digunakan adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin biasa digunakan untuk multiplikasi tunas pada kultur jaringan tanaman karena berperan penting dalam pembelahan sel. Konsentrasi sitokinin yang tinggi akan merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas. tunas yang dihasilkan melalui kultur *in vitro* lebih banyak, seragam dan dapat dilakukan dalam waktu yang lebih singkat. Benziladenin (BA) merupakan sitokinin yang biasa digunakan dalam perbanyakan tanaman melalui perbanyakan tunas aksilar atau multiplikasi. Konsentrasi BA yang tinggi dapat menghasilkan tunas pisang yang banyak. Jumlah tunas pisang yang dihasilkan akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi BA hingga 6 mg/l. Penelitian Istiqomah (2015) menyatakan bahwa penambahan BA 4 mg/l dan 6 mg/l dalam media MS mampu meningkatkan jumlah propagul pisang Kepok Kuning menjadi 1,9 dan 3,3 propagul selama 28 minggu. Penambahan konsentrasi BA 6 mg/l dalam media MS mampu menghasilkan 2,8 propagul dari eksplan sekunder pisang Raja Bulu. Sedangkan penambahan 0,01 mg/l TDZ dan BA 6 mg/l pada media MS mampu menghasilkan 3,5 propagul selama 28 minggu. Namun tingginya dominansi apikal pada tanaman pisang mengakibatkan mata tunas yang berada pada buku sulit untuk tumbuh menjadi tunas baru. Oleh sebab itu perlu dilakukan

pencacahan eksplan pada saat subkultur untuk mematahkan dominansi apikal sehingga memacu pertumbuhan tunas samping.

Selain perbanyak tunas aksilar, juga dilakukan pola perbanyak tanaman melalui jalur embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik, atau sel tubuh. Perbanyak melalui jalur embriogenesis somatik dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan melalui jalur organogenesis. Selain itu, sifat perakarannya sama dengan bibit asal biji. Nisbah sitokinin dan auksin yang seimbang akan mendorong pembentukan kalus. TDZ merupakan salah satu ZPT yang dapat menginduksi embriogenesis somatik. Induksi embrio somatik biasanya dilakukan dengan pengaplikasian auksin. Induksi embrio somatik pada media yang mengandung pikloram juga telah dilaporkan di banyak spesies. Inisiasi embrio somatik dimulai pada eksplan dalam waktu 3-4 minggu dari inokulasi pada media dilengkapi dengan berbagai konsentrasi pikloram. Eksplan pisang yang digunakan tidak hanya berasal dari bonggol atau ujung tunas, tetapi dapat juga menggunakan bunga pisang.

1.4 Hipotesis

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

1. Pencacahan dan pembelahan ujung tunas pisang Ambon Kuning dapat meningkatkan perbanyak tunas aksilar.

2. Pemberian TDZ dan pikloram dapat menginduksi pembentukan nodul embriogenik eksplan pisang Ambon Kuning yang dikulturkan *in vitro*.
3. Pemberian TDZ dan pikloram dapat merangsang pertumbuhan nodul embriogenik pada kultur *in vitro* pisang Cavendish dengan ekplan bunga jantan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi Tanaman Pisang

Pisang merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara dan Pasifik Barat. Di daerah asalnya, *Musa acuminata* Colla mengalami hibridisasi alami antar subspecies menghasilkan jenis-jenis pisang triploid bergenom AAA. *Musa acuminata* bergenom diploid dan triploid (AA dan AAA) diintroduksi ke daerah yang lebih kering seperti India dan Philipina, yang merupakan daerah asal *Musa balbisiana* (Genom B). Di daerah ini terjadi hibridisasi antara *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* yang menghasilkan jenis-jenis pisang yang lebih keras dan tahan kekeringan yang mengandung genom A dan genom B (Yusnita, 2015).

Kedudukan pisang dalam taksonomi tumbuhan menurut Satuha dan Supriyadi (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Scitaminae
Famili : Musaceae

Sub Famili : Muscoideae
Genus : Musa
Spesies : *Musa paradisiaca* L.

Menurut Cahyono (2009), morfologi tanaman pisang yaitu sebagai berikut :

1. Akar

Tanaman pisang berakar serabut tanpa akar tunggang yang tumbuh pada umbi batang. Akar yang berada di bagian bawah umbi tumbuh kearah pusat bumi dengan kedalaman 75-150 cm. Sedangkan akar yang tumbuh di bagian atas menyebar ke samping hingga 4 m.

2. Batang

Tanaman pisang berbatang semu yang terdiri dari pelepah-pelepah daun panjang yang saling membungkus dan saling menutupi tampak seperti batang. Batang semu memiliki ketinggian 3-8 m yang bersifat lunak dan berair. Sedangkan batang sejati adalah umbi batang (bonggol) yang berada di dalam tanah. Batang sejati tanaman pisang memiliki titik tumbuh (mata tunas) yang akan menghasilkan daun dan bunga.

3. Daun

Daun tanaman pisang berbentuk lanset panjang dengan tangkai yang panjang antara 30-40 cm. Daun memiliki lapisan lilin di permukaan dan bagian bawahnya. Daun tidak memiliki tulang daun sehingga mudah robek.

4. Bunga

Bunga berbentuk lonjong dengan ujung runcing. Bunga terdiri dari tangkai bunga, penumpu bunga, pelindung bunga dan mahkota bunga. Tangkai bunga berukuran besar dengan diameter 8 cm. Seludang bunga berwarna merah tua, tersusun secara spiral, berlapis lilin, dengan panjang 10-25 cm. Mahkota bunga berwarna putih yang tersusun melintang masing-masing dua baris. Bunga berkelamin tunggal dengan jumlah benang sari sebanyak lima buah. Bakal buah berbentuk persegi.

5. Buah

Buah pisang memiliki bentuk ukuran, warna kulit, warna daging buah, rasa dan aroma yang beragam tergantung varietas. Menurut Yusnita (2015), kulit buah pisang Ambon Kuning berwarna kuning, dengan rasa buah manis legit.

Menurut Prihatman (2000), tanaman pisang dapat ditanam dan tumbuh dengan baik pada berbagai macam topografi tanah, baik tanah datar atau pun tanah miring. Produktivitas pisang yang optimum akan dihasilkan pada tanah datar dengan ketinggian kurang dari 500 m di atas permukaan laut (dpl) dan keasaman tanah pada pH 4,5-7,5. Suhu harian berkisar antara 25⁰C-28⁰C dengan curah hujan 2000-3000 mm/tahun. Menurut Prihatman (2000) tanaman pisang tumbuh baik pada iklim tropis basah dengan curah hujan 1.520-3.800 mm/tahun dengan 2 bulan kering. Tanaman ini dapat tumbuh baik di tanah kaya humus, berkapur, maupun tanah berat. Tanaman pisang termasuk tanaman yang toleran terhadap kekeringan namun air harus selalu tersedia.

2.2 Kultur Jaringan Tanaman Pisang

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur yang berisi hara lengkap dan kondisi terkendali untuk tujuan tertentu. Penggunaan teknik kultur jaringan untuk pembiakan tanaman pertama kali dikenalkan oleh Morel tahun 1960 yang menunjukkan keberhasilan kultur meristem pucuk tanaman anggrek *Cymbidium*. Prinsip utama kultur jaringan yaitu aseptik, *in vitro*, suplai hara dan energi lengkap, membutuhkan zat pengatur tumbuh (ZPT), dan kondisi lingkungan yang terkendali. Teknik kultur jaringan didasarkan pada teori totipotensi sel yang dikemukakan oleh Schwann dan Schleden pada tahun 1838. Totipotensi sel menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika kondisinya sesuai (Yusnita, 2003).

Menurut Yusnita (2003), perbanyakan tanaman secara kultur jaringan memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan perbanyakan tanaman secara konvensional, yaitu sebagai berikut : (1) Untuk memperbanyak tanaman tertentu yang sulit atau sangat lambat diperbanyak secara konvensional. Teknik kultur jaringan dapat menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak dalam waktu singkat; (2) Tidak memerlukan tempat yang luas; (3) Dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim; (4) Bibit yang dihasilkan lebih sehat; (5) Memungkinkan dilakukan manipulasi genetik.

Menurut Yusnita (2003), terdapat beberapa tahap perbanyakan tanaman secara kultur jaringan, yaitu sebagai berikut : (1) Tahap 0, memilih dan menyiapkan

tanaman induk untuk eksplan. Jenis dan varietas tanaman yang dikulturkan harus jelas dan bebas dari hama dan penyakit. Selain itu, bagian tanaman, umur fisiologis dan ukuran eksplan harus diperhatikan untuk menentukan tingka sterilisasi. (2) Tahap 1, inisiasi kultur atau *culture establishment*. Tahap ini bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik. Sterilisasi eksplan dilakukan agar kultur bebas kontaminan. Sterilisasi permukaan eksplan dapat dilakukan menggunakan bahan kimia seperti NaOCL, CaOCL, eanol, dan Hg Cl₂. (3) Tahap 2, multiplikasi atau perbanyakkan propagul. Pada tahap ini eksplan dikondisikan pada lingkungan hormonal yang sesuai. Eksplan disubkultur beberapa kali sampai diperoleh umlah tunas yang diharapkan. (4) Tahap 3, mempersiapkan untuk transfer propagul ke lingkungan eksternal yaitu pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Pada tahap ini dilakukan pemanjangan tunas dan pengakaran tanaman. Pemanjangan tunas dan pengakaran dapat dilakukan secara bersamaan atau secara bertahap, yaitu pemanjangan tunas kemudian pengakaran. (5) Tahap 4, aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal. Planlet dipindahkan ke media aklimatisasi dengan intensitas cahaya rendah dan kelembaban nisbi tinggi kemudian berangsur-angsur intensitas cahaya dinaikkan dan kelembaban diturunkan.

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan. Media kultur yang dikembangkan antara lain Knudson C(1946), Hiller (1953), Linsmaier dan Skoog (1962), Lin dan Staba (1961) untuk kultur wortel, Gamborg (1968) untuk kultur suspensi anther, Nitsch dan Nisch (1969) untuk kultur untuk kultur anther, Schenk dan Hidebrant (SH) (1972) untuk kultur kalus monokotil dan dikotil, dan WPM (1980) untuk tanaman

berkayu dan tanaman hias perdu (Sandra, 2013). Selain itu, terdapat media yang paling sering digunakan karena cocok untuk berbagai jenis tanaman yaitu media MS (Murashige and Skoog, 1962).

Menurut Yusnita (2003) komponen media kultur yang lengkap mengandung beberapa komponen seperti air destilata (aquades) sebagai pelarut, unsur hara makro dan mikro, gula (sukrosa) sebagai sumber energi, vitamin, asam amino, Zat pengatur tumbuh (ZPT), suplemen berupa bahan-bahan alami (eksrak tomat, ekstrak kentang, ekstrak pisang, air kelapa, dan sebagainya), serta pematat media (agar-agar atau gelrite).

Kondisi lingkungan yang menentukan keberhasilan pembiakan tanaman dengan kultur jaringan meliputi cahaya, suhu, dan komponen atmosfer. Cahaya dibutuhkan untuk mengatur proses morfogenik tertentu. Kualitas cahaya mempengaruhi arah diferensiasi jaringan. Secara umum, intensitas cahaya yang optimum untuk tanaman pada kultur pada tahap inisiasi kultur adalah 0-1.000 lux, tahap multiplikasi sebesar 1.000-10.000 lux, tahap pengakaran sebesar 10.000-30.000 lux, dan aklimatisasi sebesar 30.000 lux (Yusnita, 2003).

2.3 Pola Regenerasi Tanaman dengan Kultur Jaringan

Tahapan pola regenerasi tanaman dengan kultur jaringan dapat melalui 3 pola, yaitu perbanyakan tunas samping, organogenesis dan embriogenesis. Pola perbanyakan tunas samping memanfaatkan mata tunas samping yang sudah ada pada eksplan yang kemudian dikulturkan ke media yang mengandung sitokinin sehingga menghasilkan tunas samping majemuk.

Berbeda dengan pola perbanyak tunas samping, organogenesis tanaman terdiri dari 3 fase, yaitu dediferensiasi, induksi, dan diferensiasi. Pada tahap dediferensiasi, sel yang telah terdiferensiasi kembali tidak terdiferensiasi. Ketika sudah mengalami dediferensiasi, sel memiliki kemampuan untuk merespon stimulus morfogenik tertentu yang disebut pada kondisi kompeten. Ketika sel yang kompeten merealisasikan kemampuannya dengan merespon sinyal hormonal atau sinyal lain yang tersedia, pada saat itu sel mengalami fase induksi. Pada fase induksi menghasilkan populasi sel yang terdeterminasi yaitu sel yang sudah pasti arah perkembangannya. Sel akan tetap terdeterminasi meskipun sinyal hormonal telah tidak ada lagi. Ketika sel mengalami determinasi maka fase induksi dikatakan telah berakhir. Fase selanjutnya adalah fase diferensiasi atau fase ekspresi. Pada fase ini sel-sel mengalami determinasi untuk menjadi suatu struktur morfologi misalnya organ.

Pola regenerasi tanaman embriogenesis berupa embriogenesis somatik dan zigotik. Perkembangan embrio somatik dibagi menjadi beberapa tahap. Beberapa tahap perkembangan yang terjadi pada tanaman dikotil berbeda dengan tanaman monokotil. Pada tanaman dikotil, tahap pertama adalah tahap globular, yaitu kelompok yang lebih besar dari sel membentuk suatu struktur kecil berbentuk bulat (*globe*) pada permukaan kalus atau pada jaringan yang terdiferensiasi. Selanjutnya embrio somatik berbentuk hati yang disebut tahap hati. Tahap ketiga adalah tahap torpedo yaitu pematangan embrio pada tahap hati. Tahap keempat terlihat primordia tajuk dan tampak sepasang kotiledon sehingga disebut tahap kotiledon. Sedangkan perkembangan embrio somatik pada tanaman monokotil dimulai dengan pembentukan suatu struktur yang tampak seperti pro-embrio lalu

berkembang menuju tahap globular, selanjutnya membentuk suatu struktur mirip skutelum dengan *notch* pada bagian ujung dan koleoptilnya (tahap hati). Tahap selanjutnya tampak struktur lebih jelas koleoptil dan skutelum yang lebih besar (Hapsoro dan Yusnita, 2016).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah semua senyawa, baik alami maupun sintetik yang dalam konsentrasi rendah dapat mengatur (merangsang atau menghambat) pertumbuhan dan perkembangan sel atau tanaman (Yusnita, 2003). Ada lima kelompok ZPT yang dikenal yaitu auksin, sitokonin, giberelin, etilen dan asam absisat. ZPT yang banyak digunakan adalah auksin dan sitokinin, untuk mengatur pertumbuhan dan morfogenesis dalam jaringan tanaman dan kultur organ (George dkk., 2008).

Salah satu sitokinin yang sering digunakan adalah benziladenin (BA) atau dikenal dengan nama lain *N-Benzyl-adenine*, *6 benzylaminopurine*, *N-phenylmethyl 1H-purine-6amine*, *Benzyl (purine-6-yl) amine*, dan 6-BA. BA mengandung 2% *N-(Phenylmethyl)-1H-purine-6-amine*. Senyawa ini termasuk sitokinin jenis purin dengan rumus kimia $C_{12}H_{11}N_5$ dengan berat molekul 222,25 g/mol. Anegra (2008) menerangkan bahwa penggunaan media MS + BA 4 mg/l menghasilkan jumlah tunas terbaik yaitu 5,7 tunas per eksplan setelah dikulturkan selama 16 minggu. BA memiliki fungsi utama merangsang pertumbuhan dan morfogenesis eksplan yang dikulturkan. Hasil penelitian Hapsari dan Astutik (2009) menunjukkan penambahan 4 mg/l BA menghasilkan tunas terbanyak yaitu 3,46 tunas/eksplan pada minggu ke 12. Hasil penelitian Muhammad, dkk. (2007),

menunjukkan bahwa pemberian 2- 6 mg/l BA menyebabkan peningkatan jumlah tunas pisang Basrai kemudian jumlah tunas menurun pada konsentrasi 8 mg/l BA.

Selain BA, jenis sitokinin lain yang dapat digunakan adalah thidiazuron (TDZ).

TDZ berperan dalam merangsang organogenesis eksplan (regenerasi tunas) dan regenerasi tanaman. Dalam dunia kimia, TDZ dikenal sebagai *1-phenyl-3-(1,2,3-thidiazuron-5-yl) urea* dengan rumus molekul $C_6H_8N_4OS$, dan berat molekul 220,2 g/mol (Sajid, 2009). TDZ dalam konsentrasi rendah dapat meningkatkan multiplikasi tunas atau embriogenesis somatik dalam beberapa tanaman. Menurut Lee (2005), pada konsentrasi rendah (kurang dari $1\mu M$), TDZ menginduksi proliferasi lebih besar dari tunas ketiak dibandingkan sitokinin lainnya. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, TDZ merangsang pembentukan kalus, tunas atau embrio somatik. Menurut penelitian Winarto, dkk. (2010) pada kultur anther *Anthurium*, kombinasi 2,4-D 1,0 mg/l dengan TDZ 0,5 mg/l merupakan kombinasi terbaik untuk regenerasi kalus dengan 5,3 tunas per eksplan. Menurut penelitian Winarno (2010) konsentrasi TDZ 2,0 mg/l merupakan konsentrasi terbaik untuk regenerasi kalus anter *Anthurium*.

Dalam kultur jaringan auksin dikenal mampu berperan menginduksi terjadinya kalus, menghambat kerja sitokinin membentuk klorofil dalam kalus, mendorong proses morfogenesis kalus, membentuk akar dan tunas, mendorong proses embriogenesis dan juga mempengaruhi kestabilan genetik sel. Pikloram merupakan ZPT dari golongan auksin yang dikenal sebagai *4-amino-3,5,6-trichloro-2-pyridinecarboxylic acid* dengan rumus molekul $C_6H_3Cl_3N_2O_2$. Pikloram aktif pada konsentrasi rendah dengan perbedaan konsentrasi yang besar.

Penambahan auksin ke media regenerasi *in vitro* berfungsi untuk menginduksi kalus, pembentukan kalus dan embrio somatik. Jenis ZPT 2,4-D, pikloram, dicamba dan NAA efektif untuk menginduksi pembentukan embrio somatik. Pikloram dengan konsentrasi 2 mg/l dan zeatin 2 mg/l efektif untuk induksi kalus lili, tetapi untuk regenerasi kalus direkomendasikan untuk menurunkan konsentrasi pikloram hingga 0,1 atau 0,5 mg/l dan BA 0,01 mg/l (Winarto, 2010).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Ambon Kuning dari Eksplan Ujung Tunas.

3.1.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada Oktober 2015 sampai Agustus 2016.

3.1.2 Bahan Tanaman

Bahan tanam yang digunakan adalah eksplan mata tunas yang berasal dari bonggol pisang Ambon Kuning. Bonggol pisang diperoleh dari Laboratorium Lapangan Terpadu Universitas Lampung dan Gedong Tataan, Kabupaten Pesawaran, Lampung Selatan. Tanaman induk sebagai sumber eksplan berada dalam kondisi sehat dan tidak menunjukkan gejala serangan patogen. Bonggol diambil dari anakan pedang yaitu anakan dengan daun-daun yang sempit meruncing dan bonggol membesar, yaitu yang berumur 4-6 bulan. Pengambilan bonggol dilakukan dengan menggali bonggol anakan dan dipisahkan dari induknya menggunakan golok.

3.1.3 *Persiapan Eksplan*

Bonggol pisang dibersihkan dari akar dan tanah yang masih menempel. Bonggol dibentuk segi lima berdiameter 5-10 cm dan batang semu dikupas hingga menyisakan 3-4 lapis batang semu berwarna putih dan dipotong setinggi 8-10 cm. Eksplan direndam dalam larutan fungisida mankozeb 2 g/l dan asam askorbat 150 mg/l selama 15 menit. Selanjutnya ukuran eksplan diperkecil lagi sehingga diperoleh eksplan berukuran 10-12 cm dengan diameter 2-3 cm. Eksplan yang telah diperkecil, direndam dalam larutan detergen selama 15 menit kemudian dibilas di bawah air mengalir.

3.1.4 *Sterilisasi Eksplan*

Sterilisasi eksplan dilakukan secara bertahap dalam larutan desinfektan. Bahan aktif desinfektan yang digunakan adalah sodium hipoklorit (NaOCl) yang terkandung dalam pemutih pakaian yang ada di pasaran. Pemutih pakaian mengandung 5,25% NaOCl.

Sterilisasi tahap pertama dilakukan menggunakan 50% larutan pemutih. Larutan pemutih dimasukkan dalam botol *schott* yang berisi eksplan bonggol pisang yang telah dicuci bersih dan ditambahkan 2 tetes *Tween-20*. Eksplan dikocok menggunakan *shaker* selama 30 menit. Eksplan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali (hingga bersih dan busa hilang). Selanjutnya eksplan diperkecil lagi di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) hingga bagian bonggol dan batang semu berukuran 2,5-3 cm.

Kemudian eksplan direndam dalam larutan asam askorbat 150 mg/l agar eksplan tidak menghitam.

Sterilisasi kedua dilakukan menggunakan 30% larutan pemutih dan 2 tetes *Tween-20*. Eksplan dikocok secara manual menggunakan tangan selama 10 menit. Selanjutnya eksplan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali (hingga bersih dan busa hilang).

Sterilisasi dilakukan menggunakan 10 % larutan pemutih tanpa penambahan *Tween-20*. Jika pada sterilisasi pertama dan kedua dilakukan pengocokan, maka pada sterilisasi ketiga eksplan dimasukkan dalam vakum selama 5 menit. Setelah itu, eksplan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali (hingga bersih dan busa hilang). Selanjutnya eksplan dapat langsung ditanam pada media prekondisi tanpa perlu dikecikan lagi ukurannya.

3.1.5 Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan berada dalam kondisi aseptik. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah sterilisasi botol sebagai tempat kultur. Sterilisasi botol dilakukan dalam 2 tahap. Pada tahap 1, botol di autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^2$. Botol dicuci untuk menghilangkan sisa media sebelumnya, kemudian botol direndam selama semalam menggunakan campuran air, detergen dan 10 tutup botol larutan pemutih. Pada tahap 2, botol yang telah direndam di cuci seluruh bagiannya termasuk label yang menempel pada botol. Kemudian botol dibilas di bawah air mengalir dan direndam air panas selama 15 menit. Botol ditiriskan dan ditutup menggunakan plastik dan karet. Selanjutnya botol diautoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^2$.

Alat lain yang digunakan dalam kegiatan kultur yaitu alat diseksi (pinset dan scapel), keramik, kapas, botol *schott*, dan gelas ukur yang juga d sterilisasi dengan cara di autoklaf selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^2$.

3.1.6 Pembuatan Media

Penelitian yang dilakukan menggunakan media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962). Komposisi media prekondisi terdiri dari garam-garam MS (Lampiran: Tabel 8) dan vitamin super (2 mg/l Tiamin-HCl, 2 mg/ Piridoksin-HCl, 1 mg/l Asam Nikotinat, dan 2 mg/l Glisin), ditambahkan gula, air kelapa, asam askorbat, asam sitrat, ZPT (TDZ atau BA), serta agar. Komposisi media perlakuan sama dengan media prekondisi hanya ditambahkan benziladenin, atau pikloram dan TDZ sesuai yang dibutuhkan.

Setelah semua peralatan yang akan digunakan siap, garam-garam MS, 150 ml/l air kelapa, 200 mg/l asam askorbat, 100 mg/l asam sitrat, 30 g/l sukrosa, pikloram dan TDZ dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan yang telah homogen, ditera menggunakan labu ukur 1L (untuk pembuatan media 1 L) dengan menambahkan aquades. Kemudian larutan dihomogenkan kembali dan diukur pH larutan menjadi 5,8 menggunakan pH meter. Larutan dengan pH kurang dari 5,8 diberi beberapa tetes KOH 1N, sedangkan pH lebih dari 5,8 diberi beberapa tetes HCl 1 N. Selanjutnya larutan media dimasukkan dalam panci dan ditambahkan 8 g/l agar-agar. Larutan media dimasak sambil terus diaduk hingga mendidih. Media dituangkan ke dalam botol kultur steril sebanyak 25-30 ml, ditutup menggunakan plastik dan karet. Media diautoklaf selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^2$. Media yang telah

disterilisasi dikeluarkan agar dingin dan disimpan dalam ruang kultur. Media dapat langsung digunakan.

3.1.7 Metode Penelitian

Eksplan yang telah disterilisasi ditanam di media prekondisi MS + TDZ 0,05 mg selama 4 minggu. Penanaman pada media prekondisi bertujuan memperoleh eksplan steril.

Jika dalam waktu 4 minggu eksplan tidak terkontaminasi jamur atau bakteri maka eksplan dianggap steril. Selain MS + TDZ 1 mg, digunakan juga MS + BA 1 mg sebagai media prekondisi dengan tujuan yang sama. Penanaman eksplan dan subkultur dilakukan di dalam LAFC agar eksplan tetap steril. Masing-masing perlakuan terdiri dari 15 botol kultur yang berisi 1 eksplan.

Eksplan steril dari media prekondisi MS + 1 mg/l BA disubkultur ke media multipikasi yaitu MS + 5 mg/l BAdi dalam LAFC. Eksplan ditanam di media multipikasi selama 4 minggu. Perlakuan yang dicobakan yaitu kontrol, eksplan dicacah tanpa dibelah, dicacah dibelah dua, dan dicacah dibelah empat. Kontrol terdiri dari 5 botol kultur yang berisi 1 eksplan, sedangkan perlakuan lainnya terdiri dari 9 botol kultur yang berisi 1 eksplan.

Tunas hasil multipikasi disubkultur ke media perlakuan yaitu media embriogenesis di dalam LAFC. Eksplan harus dipotong agar ukuran eksplan homogen menggunakan alat diseksi yang sebelumnya telah disterilkan dengan cara dibakar. Eksplan berukuran bonggol 1-1,5 cm dan batang semu 0,5-1 cm. Setiap perlakuan terdiri dari 6 botol kultur yang berisi 1 eksplan. Perlakuan yang dicobakan pada penelitian ini berupa jenis dan konsentrasi ZPT yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Media perlakuan yang dicabakan untuk pertumbuhan embrio somatik.

No.	TDZ	Pikloram
1	0,01 mg/l	1 mg
2	0,025 mg/l	1 mg
3	0,05 mg/l	1 mg
4	0,075 mg/l	1 mg
5	0,1 mg/l	1 mg
6	0,2 mg/l	1 mg
7	0,3 mg/l	1 mg
8	0,4 mg/l	1 mg

Embrio yang tumbuh dari eksplan yang berada di media MS + 0,025 mg/l TDZ + 1 mg/l pic dan MS + 0,2 mg/l TDZ + 1mg/l pic dibelah dan disubkultur ke media yang sama agar pertumbuhan eksplan lebih cepat. Setelah 2 minggu, eksplan dari media MS + 0,2 mg/l TDZ + 1mg/l pic di subkultur ke media MS + 1 mg/l TDZ dan MS + 2 mg/l TDZ selama 8 minggu dengan harapan embrio yang terbentuk lebih besar dan banyak. Setiap perlakuan terdiri dari 7 botol kultur yang berisi 1 eksplan.

Kultur diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu ± 26 °C dengan kuat pencahayaan 1000-2000 lux dari lampu fluoresens putih dan dengan fotoperiodesitas 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Data akan diolah dengan menggunakan *standar error (SE)*, menurut (Walpole, 1997) dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$SE = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i)^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

3.1.8 Variabel Pengamatan

Adapun variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Pertumbuhan eksplan di media prekondisi.

Pertumbuhan dan perkembangan eksplan diaamati pada 4 MST.

2. Jumlah tunas.

Pengamatan dilakukan setiap 4 minggu. Penghitungan tunas dilakukan pada saat eksplan berada di media multipikasi MS + 5 mg/l BA serta media MS + TDZ 1 mg/l dan MS + TDZ 2 mg/l.

3. Eksplan berkalus.

Pengamatan ini dilakukan setiap 4 minggu eksplan di media perlakuan Embriogenesis. Setiap eksplan diamati apakah muncul eksplan atau tidak, kemudian dicatat.

4. Jumlah propagul.

Propagul merupakan jumlah mata tunas dan tunas yang terbentuk pada eksplan. Propagul dari masing-masing eksplan diamati setiap 4 minggu. Jumlah popagul dihitung dan dicatat.

3.2 Pengaruh Thidiazuron dan Pikloram Terhadap Regenerasi Tanaman Pisang Cavendish dari Eksplan Bunga.

3.2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada Februari sampai Juli 2016.

3.2.2 Bahan Tanaman

Bahan yang digunakan sebagai eksplan adalah bunga pisang Cavendish. Bahan ini diambil dari Laboratorium Lapangan Terpadu Universitas Lampung.

3.2.3 Sterilisasi Eksplan

Bahan berupa bunga (jantung) pisang Cavendish dibuang pelepah-pelepah sampai didapatkan jantung dengan ukuran kecil kira-kira 10 cm, kemudian bunga dicuci dengan detergen. Eksplan dipotong dengan pisau di bawah air mengalir untuk memperkecil ukurannya. Eksplan direndam dalam larutan fungisida mankozeb 2 g/l selama 15 menit. Sterilisasi tahap pertama eksplan direndam kocok menggunakan 20% larutan pemutih selama 20 menit. Eksplan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali, dilanjutkan sterilisasi tahap kedua eksplan direndam kocok menggunakan 10% larutan pemutih selama 10 menit. Eksplan dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Selanjutnya eksplan diperkecil kembali dengan pisau di atas cawan petri steril tanpa membuang bagian pedunculus dari jantung tersebut. Sterilisasi eksplan dilakukan di dalam LAFC.

3.2.6 Metode Penelitian

Eksplan yang telah disterilisasi ditanam untuk menumbuhkan kalus di media MS + 2,4-D (0;1;2;3;4 mg/l) + (0 dan 500 mg/l) KH. Kalus dipilih yang terbaik untuk disubkultur ke media embriogenesis somatik (Tabel 1). Masing-masing perlakuan terdiri dari 9 botol kultur yang berisi 3 eksplan. Eksplan disubkultur setiap 4 minggu ke media yang

sama. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL).

3.2.7 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu eksplan berkalus. Setiap perlakuan dihitung jumlah eksplan yang berkalus. Pengamatan dilakukan setiap 4 minggu.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Eksplan ujung tunas yang dicacah dan dibelah menghasilkan jumlah tunas yang lebih banyak dibandingkan dengan yang tidak dicacah dan dibelah.
2. Pada media MS yang mengandung 1 mg/l pikloram, peningkatan 0,01-0,2 mg/l TDZ menyebabkan peningkatan jumlah tunas. Peningkatan thidiazuron lebih lanjut sampai 0,4 mg/l menyebabkan penurunan jumlah tunas.
3. Konsentrasi TDZ 0,075 mg/l + 1 mg/l pikloram mampu memacu pembentukan kalus hingga 28,6% dari eksplan bunga pisang Cavendish.

5.2 Saran

Perlu dilakukan percobaan lanjutan tentang efektifitas TDZ dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan waktu kultur yang lebih lama dalam pembentukan embrio somatik pisang Ambon Kuning.

DAFTAR PUSTAKA

- Avivi, S. dan Ikrarwati. 2004. Mikropopagasi pisang Abaca (*Musa textilis* Nee) melalui teknik kultur jaringan. *Ilmu Pertanian*, 11 (2): 27-34.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2004. Teknik perbanyakan pisang Ambon secara kultur jaringan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Sumatra Barat.
- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2014. Luas panen pisang menurut provinsi, 2010-2014.
- Cahyono, B. 2009. *Pisang*. Kanisius. Yogyakarta.
- George, E.F., M.A Hall, and G.J.D. Klerk. 2008. *Plant propogation by tissue culture 3rd edition*. Springer. Netherlands.
- Hapsari, R.I. dan Astutik. 2009. Uji konsentrasi IAA (indole acetic acid) dan BA (benzyladenine) pada multipikasi pisang varietas Barangan secara *in vitro* *Jurnal AgroBiogen*, 9(1).
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2016. *Kultur jaringan untuk perbanyakan klonal Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung.
- Hutami, S. 2008. Masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2):83-88.
- Ibrahim, M.S.R., S. Hartati, A. Purwito, dan Sudarsono. 2013. Direct and indirect somatic embryogenesis on arabica coffee (*Coffea arabica*). *J. Agric. Sci.*, 14(2): 79-86
- Ismaryati, T. 2010. *Studi Multiplikasi Tunas, Perakaran, dan Aklimatisasi Pada Perbanyakan in Vitro Pisang 'Raja Bulu', 'Tanduk', dan 'Ambon Kuning'*. (Tesis). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 30-56 hlm.
- Isnaeni, N. 2008. *Pengaruh TDZ terhadap Inisiasi dan Multiplikasi Kultur in Vitro Pisang Raja Bulu (Musa paradisiaca L. AAB Group)*. (Skripsi). Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

- Istiqomah, H.N. 2015. Multipikasi tunas pisang ‘Kepok Kuning’ (genom ABB) dan ‘Raja Bulu’ (genom AAB) *in vitro* pada berbagai konsentrasi Benziladenin dengan dan tanpa thidiazuron. (Skripsi). Jurusan Agroteknologi. Universitas Lampung.
- Judarwanto, W. 2016. Buah pisang, kandungan gizi dan manfaat kesehatannya. <https://klinikgizi.com/2016/02/14/buah-pisang-kandungan-gizi-dan-manfaat-kesehatannya>.
- Kordestami, G.K. and O. Karami. Picloram –induced somatic embryogenesis in leave of Strawberry (*Fragaria ananassa L.*). *Acta Biologica Cracoviensia*. 50: 69-72.
- Kumar, K.G., V. Krishna, Venkatesh, dan K. Pradeep. 2011. High frequency regeneration of plantlets from immature male floral explants of *Musa paradisiaca* cv. Puttabale-AB genome. *Plant Tissue Cult. & Biotech*, 21(2):199-205.
- Lee, S.W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. *Acta Hort*, 692:67-74.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 7(1):63-68.
- Lisnandar, D.S., A. Fajarudin, D. Efendi, dan Roostika. 2015. Organogenesis bunga aksis pisang Bergenom AAB dan ABB. *J. Hort*, 25(1):1-8.
- Nisa, C. dan Rodinah. 2005. Kultur jaringan beberapa kultivar buah pisang (*Musa paradisiaca L.*) dengan pemberian campuran naa dan kinetin. *Jurnal Bioscientiae*, 2(2) : 23-36.
- Maps of Words. 2014. Top Ten Banana Producing Countries.
- Marlin, Mukhtasar, dan Hartal. 2008. Upaya penyediaan bibit pisang 'Ambon Curup' unggulan provinsi Bengkulu dengan pembentukan planlet secara *in vitro*. Laporan penelitian hibah bersaing tahun II.
- Marlin, Yulian, dan Hermansyah. 2012. Inisiasi kalus embriogenik pada kultur jantung pisang “Curup” dengan pemberian sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor*, 11(2) : 276-284.
- Mayasari. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron dengan Dan Tanpa Benziladenin Terhadap Perbanyakan Tunas Pisang Kepok Kuning dan Embrio Pisang Raja Bulu Secara *In Vitro*. (Skripsi). Jurusan Agroteknologi. Universitas Lampung.

- Muhammad, A., H Rasyid, dan I. Hussain. 2007. Proliferation-rate effects of BAP and kinetin on banana (*Musa* spp. AAA grup) 'Basrai'. *HortScience*, 42(5):1253-1255.
- Murashige T.F. dan Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture. *Jurnal. Dep Botany, University of Wisconsin. Wisconsin*. 473-497.
- Prihatman, K. 2000. *Pisang (Musa spp.)*. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2014. *Outlook Komoditi Pisang. Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian*.
- Rachwan, V. 1986. *Embryogenesis In Angiosperm: Adevelopmental and Experimental Stud. Cambridge Univ. Cambridge*.
- Rainiyati, Dede Martino, Gusniwati dan Jasminarni. 2007. Perkembangan pisang Raja Nangka (*Musa* sp.) secara kultur jaringan dari eksplan anakan dan meristem bunga. *Jurnal Agronomi*, 11(1): 35-39.
- Rodinah, C.Nisa dan E. Rohmayanti. 2012. Inisiasi pisang talas (*Musa paradisiaca* var *sapiantum* L.) dengan pemberian sitokinin secara *in vitro*. *Agroscentiae*, 19(2): 107-111.
- Roostika, I., Y.Supriati, dan A. Sutanto. 2015. Penggunaan aksis jantung pisang untuk penyediaan sumber eksplan bebas bakteri. *Jurnal AgroBiogen* 11(3):103–110.
- Rugayah, D. Hapsoro, A. Ulumudin, dan F.W. Motiq. 2012. Kajian teknik perbanyakan vegetatif pisang Ambon Kuning dengan pembelahan bonggol (corm). *Jurnal Agrotropika*, 17(2):58-65.
- Sandra, E. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. Bogor. IPB Press.
- Sajid, Z.A. dan F. Aftab. 2009. Effect of thidiazuron (TDZ) on *in vitro* micropopagation of *Solanum tuberosum* L. cvs. Desiree and Cardinal. *Pak. J. Bot*, 41(4):1811:1815.
- 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. *Multipikasi tunas pisang ambon kuning sebagai respon terhadap konsentrasi benzyladenine dan indole-3-acetic acid*. (Skripsi). Jurusan Agroteknologi. Universitas Lampung.

- Satuhu, S. dan Supriyadi, A. 2000. *Pisang Budidaya: Pengolahan dan Prospek Pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sukmadjaja, D., R. Purnamaningsih, dan T.P. Priyatno. 2013. Seleksi *in vitro* dan pengujian mutan anaman pisang Ambon Kuning untuk ketahanan terhadap penyakit layu fusarium. *Jurnal AgroBiogen*, 9(2):66-76.
- Statistik produksi hortikultura tahun 2014. Kementrian pertanian Direktorat Jendral Hortikultura.
- Utami, E.S.W., Sumardi, Taryono, dan Semiarti. 2007. Pengaruh α -Naphthalenecetic acid (NAA) terhadap embriogenesis somatik Anggrek Bulan *Phalaenopsis amabilis* (L). *BI. Biodeversitas*. 8(2):295-299.
- Winarto, B., N.A. Mattjik, A. Purwito, dan B. Marwoto. 2010. Aplikasi 2,4-D dan TDZ dalam pembentukan dan regenerasi kalus pada kultur anther *Anthurium*. *J. Hort*, 20(1):1-9.
- Yelnititis. 2012. pembentukan kalus remah dari eksplan daun Ramin. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6:181-194.
- Youmbi, E, Ella, B & Tomekpe, K 2006, Effect of thidiazuron on *in vitro* proliferation capacities of some banana (*Musa spp.*) cultivars with weak multiplication potential. *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi*, 19(2):255-59.
- Yusnita, E. Danial, dan D. Hapsoro. 2015. *In vitro* shoot regeneration of Indonesian bananas (*Musa spp.*) cv. Ambon Kuning and Raja Bulu, plantlet acclimatization and field performance. *Agrivita*, 37(1): 51-58.
- Yusnita. 2003. *Kultur jaringan: Cara memperbanyak tanaman secara efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- . 2015. *Kultur jaringan tanaman pisang*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung.
- Walpole, R.E. 1997. *Pengantar Statistika*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Zebua, D., S. Rahayu, dan S. Hannum. 2015. Induksi tunas pisang Barangan (*Musa acuminata* L.) asal Nias Utara melalui kultur jaringan dengan pemberian 2,4-d dan kinetin. *Jurnal Biosains*, 1 (2):1-5.