

**PEMBENTUKAN *SCALP* DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO*
TANAMAN PISANG AMBON KUNING SEBAGAI RESPONS
TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON**

(Skripsi)

Oleh

AGIL IKHSANDI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

PEMBENTUKAN *SCALP* DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO* TANAMAN PISANG AMBON KUNING SEBAGAI RESPON TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON

Oleh

AGIL IKHSANDI

Penelitian dilakukan untuk mengetahui respon pembentukan *scalp* dan tunas pada kultur *in vitro* pisang ‘Ambon Kuning’ terhadap peningkatan konsentrasi TDZ.

Eksplan tunas berasal dari bonggol anakan pedang ditanam pada media prakondisi dengan kandungan BAP 5 mg/l selama 4 minggu sebelum dicobakan. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga ulangan, masing masing ulangan terdiri dari 3-6 botol kultur yang ditanami satu eksplan per botol.

Perlakuan yang diberikan ialah penambahan konsentrasi TDZ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; dan 4,0 mg/l pada media dasar Murashige dan Skoog (MS).

Keseragaman data diuji menggunakan uji Barlett, kemudian dilanjutkan analisis ragam dan pemisahan nilai tengah menggunakan uji BNT 5%. Hasil penelitian pada pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi TDZ dari 0,5 mg/l menjadi 1 mg/l meningkatkan rata-rata jumlah mata tunas, propagul dan jumlah tunas, yaitu : 2,13 menjadi 3,0 tunas per eksplan.

Peningkatan konsentrasi lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah tunas, mata tunas dan propagul per eksplan. Sedangkan pada pembentukan *scalp* dari 0,5 mg/l menjadi 1 mg/l menjadi 1,5 mg/l dapat meningkatkan rata-rata jumlah *scalp* dari 0,47 menjadi 2,06 menjadi 2,08 *scalp* per eksplan. Peningkatan konsentrasi lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah *scalp* per eksplan.

Kata kunci: Ambon Kuning, *in vitro*, Tunas, *Scalp*, Thidiazuron.

**PEMBENTUKAN *SCALP* DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO*
TANAMAN PISANG AMBON KUNING SEBAGAI RESPONS
TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON**

Oleh

AGIL IKHSANDI

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi : **PEMBENTUKAN SCALP DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO* TANAMAN PISANG AMBON KUNING SEBAGAI RESPONS TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON**

Nama Mahasiswa : **AGIL IKHSANDI**

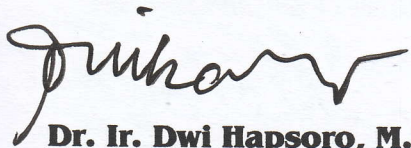
Nomor Pokok Mahasiswa : 1314121009

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.
NIP 196104021986031003



Sri Ramadiana, S.P., M.Si.
NIP. 196912051994032002

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

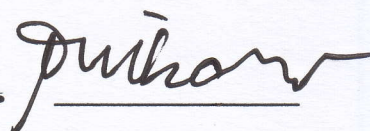


Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

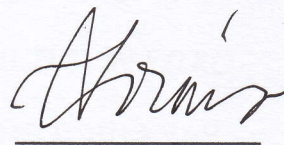
1. Tim Penguji
Ketua

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



Sekretaris

: **Sri Ramadiana, S.P., M.Si.**

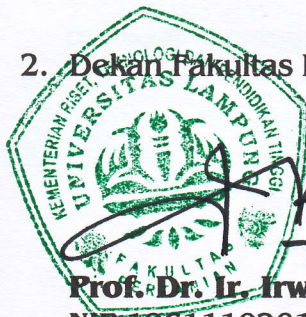


Penguji
Bukan Pembimbing

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



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611102019860310001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **14 Desember 2017**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "PEMBENTUKAN *SCALP* DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO* TANAMAN PISANG AMBON KUNING SEBAGAI RESPONS TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON" merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 22 Desember 2017

Penulis,



Agil Ikhsandi
1314121009

RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan di Pagaralam, Sumatera Selatan pada 29 April 1996, sebagai putera terakhir dari lima bersaudara buah hati Bapak Sukiman dan Ibu Sumarlina. Pendidikan formal penulis diawali dari SD N 43 Gunung Dempo pada tahun 2001. Kemudian pada tahun 2007 penulis melanjutkan pendidikan menengah di SMP N 6 Pagaralam. Pada 2010 penulis menempuh pendidikan Atas di SMA N 1 Pagaralam dan lulus pada tahun 2013. Studi pendidikan tinggi penulis awali pada 2013 di Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN). Penulis terdaftar sebagai penerima beasiswa Bidik Misi angkatan IV.

Penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Pendowo Asri, Dente Teladas Kabupaten Tulang Bawang pada tahun 2015. Tahun berikutnya penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong Bogor selama 30 hari kerja efektif.

Selama menempuh pendidikan tinggi, penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tumbuhan, Produksi Tanaman Perkebunan, Bioteknologi Pertanian, Perbanyakan Tanaman dan Kultur Jaringan. Penulis juga

pernah mendapatkan hibah PKMK pada tahun 2015. Selain itu penulis tergabung sebagai Anggota UKM Persaudaraan Setia Hati Terate pada 2013-2014, dan mengepalai Divisi Hubungan Masyarakat pada masa jabatan 2014-2015.

For My Dearest,

Mamak, Bapak, Mbak- Mamas dan Universitas Lampung

“Dan sungguh akan Kami berikan cobaan kepadamu, dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa dan buah-buahan. Dan berikanlah berita gembira kepada orang-orang yang sabar.”

(Q.S. Al-Baqarah (2) :155)

“Manusia dapat dihancurkan, manusia dapat dimatikan tetapi manusia tidak dapat dikalahkan selama manusia itu masih Setia kepada dirinya sendiri atau berSetia Hati pada dirinya sendiri.”

(Persaudaraan Setia Hati Terate)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam senantiasa diberikan kepada Nabi Muhammad saw.

Penyelesaian pembuatan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak.

Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc., selaku dosen Pembimbing Utama penelitian. Terimakasih atas ide, waktu, kesabaran, serta bimbingan yang dicurahkan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
2. Ibu Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktu, nasehat, saran, pengarahan, dan bimbingan dalam menulis dan menyelesaikan skripsi ini
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc., selaku dosen Penguji yang telah memberi saran, kritik, dan nasehat dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Ali Kabul Mahi, M.S., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing, arahan, dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan.
5. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan, Hayane A. Warganegara, S.P., M.Si., Husein Hariadi Koto, Alifia R. Andarini, Rahmadiyah, Adi Noor

Prayogi, Bimo Nur Prabowo, Bektı Ningtyas putri, Deta Iktaria, dan adik-adik Magang 2015 yang telah memberi bantuan, perhatian dan kerjasamanya.

6. Sahabat-sahabat penulis: Dona Suprihanta, Dito Aditya, Bella Aldilla, Andi Kurniawan, David Irvanto, Eka Setiososari, Dian Lathifatul, Dede Rahayu, Catur Ryan, Abdillah Aji, Ayu Widya, Diah Monica, Eka Aprilia, Albertus Tedjo, Adi Prayoga, atas persahabatan, motivasi serta kebersamaannya.
7. Keluarga Besar Persaudaraan Setia Hati Terate, Mas Gilang, Frenky, Mas Safe'i, Alfa Rezi, Mas Arif, dan saudara-saudara lain atas ilmu, persaudaraan, semangat juang dan kebersamaannya.
8. Teman teman, kakak-kakak dan adik di Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
9. Secara khusus penulis menyampaikan Terimakasih yang sangat besar kepada Ibunda Sumarlina dan ayahanda Sukiman, ayunda Yeti Ariani, Budiarti dan Riski Wulandari, serta Kakanda Dedi Prana Jaya atas curahan kasih sayang, pendidikan moril, spiritual dan bantuan materil dalam pendidikan penulis.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan yang telah diberikan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pembaca.

Bandar Lampung, 22 Desember 2017
Penulis,

Agil Ikhsandi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABELv
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN1
1.1 Latar Belakang dan Masalah1
1.2 Tujuan Penelitian4
1.3 Landasan Teori4
1.4 Hipotesis7
II. TINJAUAN PUSTAKA8
2.1 Botani Tanaman Pisang ‘Ambon Kuning’8
2.2 Perbanyak Tanaman Pisang secara Konvensional	10
2.3 Perbanyak Tanaman Pisang secara in vitro	11
2.4 Pola Regenerasi Tanaman	14
2.5 Thidiazuron	16
III. BAHAN DAN METODE	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2. Bahan Tanaman	18
3.3. Metode Penelitian	19
3.4. Sterilisasi Alat	19
3.5. Pembuatan Media	20
3.6. Persiapan Eksplan	22

3.7. Sterilisasi dan Penanaman Eksplan	22
3.8. Subkultur pada Media Perlakuan	24
3.9. Pengamatan	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil Penelitian	26
4.1.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i>	26
4.1.2 <i>Rekapitulasi Analisis Data</i>	32
4.1.3 <i>Rata-rata Jumlah Tunas</i>	33
4.1.4 <i>Rata-rata Jumlah Mata Tunas</i>	34
4.1.5 <i>Rata-rata Jumlah Propagul</i>	35
4.1.6 <i>Rata-rata Jumlah Scalp</i>	37
4.2 Pembahasan	41
4.2.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i>	41
4.2.2 <i>Rata-rata Jumlah Propagul</i>	44
4.2.3 <i>Rata-rata Jumlah Scalp</i>	46
V. KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Kesimpulan	49
5.1. Saran	50
PUSTAKA ACUAN	51
LAMPIRAN	55
Tabel 5-17	56-60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi media dengan Penambahan ZPT pada media dasar MS (Murashige dan Skoog)21
2. Persentase eksplan hidup pada media prakondisi 4 MST27
3. Persentase respon eksplan hidup pada media perlakuan setelah 4 minggu setelah perlakuan (MSP)29
4. Rekapitulasi analisis ragam pengaruh konsentrasi TDZ pada pembentukan tunas dan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ pada umur 4 minggu setelah perlakuan (MSP).32
5. Formulasi media dasar MS (Murashige dan Skoog) dan pengelompokan senyawa dalam pembuatan larutan stok56
6. Rata-rata jumlah tunas per eksplan Pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP57
7. Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah tunas per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP57
8. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah tunas per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP menggunakan uji BNT 5%.57
9. Rata-rata jumlah mata tunas per eksplan Pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP58
10. Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP58
11. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP menggunakan uji BNT 5%.58

12. Rata-rata jumlah propagul per eksplan Pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP	59
13. Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah propagul per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP	59
14. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah propagul per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP menggunakan uji BNT 5%.	59
15. Rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan Pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP	60
16. Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP	60
17. Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 4 MSP menggunakan uji BNT 5%.	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. (a) Tunas adventif (b) Struktur <i>scalp</i>	6
2. Buah Pisang ‘Ambon Kuning’	8
3. Struktur Molekul Thidiazuron16
4. Anakan Pedang (<i>sword sucker</i>) pisang ‘Ambon Kuning’18
5. Penanaman eksplan pada media prakondisi24
6. Perkembangan eksplan (a) hari pertama kultur, (b) eksplan hidup steril 4 MST, dan (c) Tunas apikal pada 4 MST26
7. Perkembangan eksplan pada 2 MSP (a) Kemunculan tunas aksilar pada media 1,0 mg/l TDZ, (b) Perkembangan <i>scalp</i> pada media 4 mg/l TDZ, dan (c) Tunas apikal28
8. Multiplikasi (a) perkembangan <i>scalp</i> menjadi tunas pada MS + BAP 2 mg/l (b) ekplan pada media MS + AC 2 g/l31
9. Tanaman berumur 1 bulan (a) hasil aklimatisasi pada pot kecil (b) repoting pada polibag32
10. Morfologi tanaman pisang ‘Ambon Kuning’ berumur 3 bulan (a) tajuk kerdil (b) tajuk tingg33
11. Rata-rata jumlah tunas per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) sebagai respon konsentrasi TDZ. Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji BNT pada taraf 5%34
12. Rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) sebagai respon konsentrasi TDZ. Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji BNT pada taraf 5%35

13. Rata-rata jumlah propagul per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) sebagai respon konsentrasi TDZ. Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji BNT pada taraf 5%	35
14. Penampilan pembentukan propagul pada eksplan kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan)	36
15. Rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) sebagai respon konsentrasi TDZ. Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji BNT pada taraf 5%	38
16. Penampilan pembentukan <i>Scalp</i> pada eksplan kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Ambon Kuning’ umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan)	39
17. Proses pembentukan <i>scalp</i> (a) <i>Scalp</i> pada 2 MSP (b) <i>scalp</i> matang pada 4 MSP	41

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* Linn.) merupakan komoditi hortikultura yang memiliki potensi besar di Indonesia. Tanaman yang berasal dari Asia Tenggara ini termasuk komoditi unggulan yang berkontribusi besar dalam banyak sektor, terutama perkembangan ekonomi pertanian di Indonesia. Berdasarkan data FAOSTAT (2014), Indonesia menempati peringkat ke 7 negara penghasil pisang terbesar dengan kontribusi sebesar 5,67% dari total produksi pisang dunia.

Sementara di posisi pertama adalah India, diikuti Brazil, Cina, Uganda, Filipina, dan Equador. Menurut Badan Pusat Statistik (2016), produksi pisang Indonesia pada tahun 2016 mencapai 6.448.018 ton buah pisang dari luas panen sebesar 77.133 ha. Provinsi Lampung menempati urutan kedua dengan kontribusi sebesar 1.224.815 ton, setelah provinsi Jawa Timur sebesar 1.852.396 ton, setelah itu provinsi Jawa Barat sebesar 1.092.235 ton (BPS, 2016).

Salah satu pisang yang populer dan diminati oleh masyarakat adalah pisang Ambon Kuning (AAA). Ambon Kuning berukuran lebih besar dari pisang ambon lain, daging buah pulen dan mempunyai rasa manis legit serta aromanya harum sehingga cocok disajikan sebagai hidangan buah segar (Yusnita, 2015). Salah satu masalah dalam budidaya tanaman pisang adalah pada penyediaan bibit yang

berkualitas. Menurut Yusnita (2015), produksi pisang berkualitas tidak dapat dilakukan tanpa adanya penyediaan bibit berkualitas, yang kemudian menentukan jumlah dan mutu buah. Perbanyak bibit pisang secara konvensional didapat dari belahan bonggol (*bit*) dan anakan (*sucker*) dengan ukuran 100-150 cm yang tumbuh pada pohon induk. Penyediaan bibit melalui anakan dan belahan bonggol ini tidak dapat memenuhi kebutuhan bibit dengan jumlah besar. Selain itu, umur anakan yang tidak seragam dapat meningkatkan biaya produksi, menyebabkan waktu panen yang berbeda, dan tentunya mempersulit manajemen. Terlebih pada produksi berskala perkebunan, proses penyediaan bibit harus dikelola secara masif dan sistematis. Perbanyak dengan kultur jaringan dinilai lebih tepat dan efisien dalam menyediakan kebutuhan bibit yang berkualitas

Menurut Yusnita (2003), kultur jaringan merupakan suatu teknik untuk menumbuhkembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik dan aksenik pada media kultur berisi hara lengkap dan dalam kondisi lingkungan yang terkontrol. Kultur jaringan bemula berdasarkan teori totipotensi oleh Schwann dan Schleiden (1838), bahwa setiap sel hidup tanaman yang memiliki perangkat fisiologis dan genetik yang lengkap dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh pada kondisi yang sesuai. Kultur jaringan mampu memproduksi tanaman dalam jumlah yang besar dengan waktu yang relatif singkat, tidak bergantung musim sehingga mampu dilakukan sepanjang tahun dan tidak memerlukan tempat yang luas (Yusnita, 2015).

Faktor yang berperan dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan salah satunya adalah penggunaan komposisi zat pengatur pertumbuhan (ZPT) yang

tepat. Kombinasi atau pemberian ZPT tunggal dapat mengarahkan perkembangan eksplan melalui *axillary branching*, organogenesis, atau embriogenesis.

Istiqomah (2015) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi benziladenin dari 1 mg/l menjadi 4 mg/l dan 6 mg/l menyebabkan peningkatan rata rata jumlah propagul, kemudian 0,01 mg/l thidiazuron (TDZ) yang dikombinasikan benziladenin (2, 4, 6 mg/l) menyebabkan pembentukan nodul berupa bintil berwarna putih pada pisang Kepok Kuning (AAB). Hasil penelitian Srangsam (2003), pada kultivar Gross Michel (AAA) mengungkapkan bahwa 1,5 mg/l 2,4 D menyebabkan induksi kalus embriogenik dengan persentase pembentukan 100% dan digunakan 2 mg/l TDZ untuk pematangan kalus menjadi tunas. Sadik (2015) mengungkapkan bahwa kombinasi TDZ dan 4-CPPU yang sama (9, 11, 13) dan 26 μ M) mampu meningkatkan pembentukan *scalp* embriogenik sebesar 50% pada lima kultivar *East African-AAA Banana*.

Lee (2005) melaporkan bahwa penambahan 0,2 mg/l TDZ menyebabkan peningkatan hampir dua kali lipat multiplikasi tunas pisang *Cavendish* (AAA) dibandingkan media yang mengandung 4 mg/l BA. Sedangkan konsentrasi 2 mg/l TDZ tanpa BA menekan pertumbuhan pemanjangan tunas sehingga menjadi kerdil dan muncul gumpalan berbentuk globular pada pangkal tunas. Pengaruh TDZ di atas menghasilkan respon berbeda-beda pada tiap kultivar pisang yang dicobakan. Genotipe pisang yang berbeda akan memberikan respon yang berbeda pada pemberian jenis dan konsentrasi ZPT yang sama. Yusnita (2015) menjelaskan bahwa kultivar Ambon Kuning tertentu dapat memberikan respon pembentukan jumlah tunas aksilar terbanyak pada konsentrasi ZPT yang berbeda.

Hal Ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan umur, lingkungan tumbuh dan kemungkinan variabilitas genetiknya.

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

1. Bagaimana pengaruh peningkatan konsentrasi TDZ terhadap pembentukan *scalp* pada kultur pisang Ambon Kuning?
2. Bagaimana pengaruh peningkatan konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada kultur pisang Ambon Kuning?

1.2 Tujuan Penelitian

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

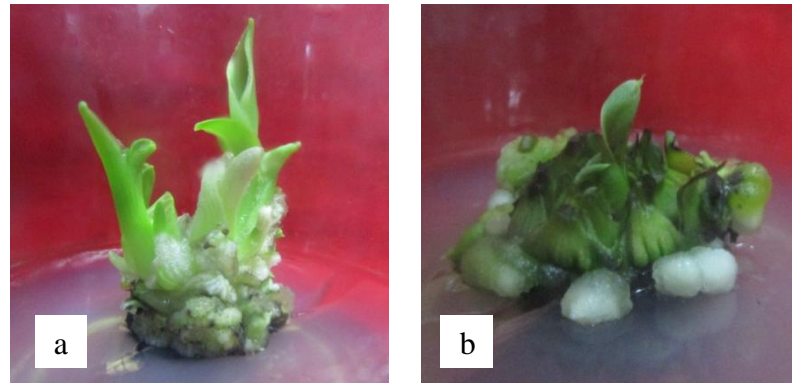
1. Mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning?
2. Mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi Thidiazuron terhadap pembentukan *scalp* pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning?

1.3 Kerangka Pemikiran

Dalam kultur jaringan, ZPT memegang peranan yang menentukan dalam mengarahkan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh golongan auksin dan sitokinin memegang peranan penting. Pembentukan tunas, akar, kalus dan embrio ditentukan oleh jenis, jumlah dan perbandingan ZPT yang digunakan.

Organogenesis dan embriogenesis merupakan pola perkembangan yang dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak propagul secara cepat. Pada kedua pola perkembangan ini tanaman dirangsang untuk membentuk tunas atau embrio secara adventif, baik secara langsung tanpa melalui pembentukan kalus maupun tidak langsung melalui pembentukan kalus (Yusnita, 2003). Murthy (1997) dalam tesisnya menjelaskan bahwa teknik embriogenesis somatik merupakan metode yang efektif untuk memacu multiplikasi tanaman dengan cepat.

Mega (2016) menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi TDZ (0,01-0,4 mg/l) mampu meningkatkan pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning. Hasil penelitian Astria (2016) menunjukkan bahwa media yang mengandung 1 mg/l pikloram dikombinasikan dengan TDZ konsentrasi rendah (0,01-0,2 mg/l) memacu peningkatan jumlah tunas pada eksplan ujung tunas pisang Ambon Kuning. Sedangkan pada eksplan bunga pisang *Cavendish* kombinasi 1 mg/l pikloram + 0,075 mg/l TDZ juga mampu memacu pembentukan kalus sebesar 28,6%. TDZ yang dikombinasikan dengan berbagai jenis auksin mampu memacu pembentukan jaringan embriogenik pada tanaman. Selain itu, pemberian TDZ tunggal dapat mensubstitusi penggunaan kombinasi auksin dan sitokinin dalam memacu embriogenesis somatik yang telah ditemukan dalam beberapa tanaman seperti tembakau, kacang, geranium, dan buncis (Murthy, 1997).



Gambar 1. (a) Tunas adventif (b) Struktur *scalp*

Chabra dkk. (2008) menemukan bahwa konsentrasi TDZ rendah sampai $2,0 \mu\text{M}$ ($0,4 \text{ mg/l}$) menginduksi pembentukan tunas dan konsentrasi $2,5\text{-}15\mu\text{M}$ ($0,55\text{-}3,30 \text{ mg/l}$) mampu menginduksi pembentukan tunas menjadi embrio somatik pada tanaman kacang lentil (*Lens culinaris* Medik.). Pengaruh tersebut juga ditemukan oleh Bates, dkk. (1992) pada tanaman berkayu *White Ash* (*Fraxinus americana* L.), bahwa $10 \mu\text{M}$ ($2,2 \text{ mg/l}$) Thidiazuron yang dikombinasikan dengan $0,1 \mu\text{M}$ ($0,022 \text{ mg/l}$) 2,4D secara simultan mampu menginduksi pembentukan tunas dan embrio somatik. Schhofs dkk.(1998), Stroosse dkk. (2006) mengemukakan bahwa media dengan penambahan $100 \mu\text{M}$ ($22,5 \text{ mg/l}$) BAP secara efektif menginduksi pembentukan jaringan kompeten untuk embriogenesis somatik pada pisang.

Dalam penelitian tentang peran sitokinin dan TDZ dalam merangsang embriogenesis somatik pada keluarga Restionaceae yang dilakukan Panaia (2004) melaporkan bahwa TDZ dengan konsentrasi $5 - 10 \mu\text{M}$ ($1,1 - 2,2 \text{ mg/l}$) yang dikombinasikan dengan 2,4 D $1\mu\text{M}$ ($0,22 \text{ mg/l}$) mampu menginduksi pembentukan embrio somatik pada eksplan koleoptil muda *B. tetraphyllum*, dan daun *D. Flexuosus*. Hasil studi yang dilakukan Shirani dkk. (2010) menunjukkan bahwa TDZ dengan konsentrasi $7,5 \mu\text{M}$ ($1,65 \text{ mg/l}$) mampu memacu

pembentukan *scalp* tertinggi pada pisang Rastali (AAB) hingga 8,89 *scalp* per eksplan. Pada pisang Berangan Intan dan Berangan (AAA) dari konsentrasi rendah sampai dengan 5 μM (1,1 mg/l) menyebabkan peningkatan jumlah *scalp* yang terbentuk.

1.4 Hipotesis

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

1. Peningkatan konsentrasi TDZ dari 0,5 mg/l sampai taraf tertentu mampu meningkatkan pembentukan tunas dan *scalp* pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Pisang Ambon Kuning

Menurut Satuhu dan Supriadi (2010), tanaman pisang diduga berasal dari Asia Selatan dan Asia Pasifik, penyebarannya hingga kini sangat luas terlebih ke negara beriklim tropis dan subtropis. Ambon Kuning merupakan salah satu jenis pisang hasil hibridisasi alami dengan sifat triploid atau memiliki tiga set genom (AAA). Ambon Kuning merupakan hasil hibridisasi antar sesama pisang jenis *Musa acuminata* diploid (AA) yang kemudian menghasilkan keturunan steril dengan tiga genom AAA dan hanya dapat diperbanyak secara vegetatif.



Gambar 2. Buah Pisang ‘Ambon Kuning’

Adapun klasifikasi pisang secara umum menurut Nelson dkk. (2006) dan

Plantamor (2013):

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

Pisang memiliki perakaran serabut yang tumbuh pada umbi batang. Pertumbuhan akar yang mengarah ke bawah dapat mencapai kedalaman 75-150 cm, dan perakaran yang mengarah ke samping atau mendatar dapat tumbuh hingga 4 meter atau lebih (Cahyono, 2009). Tanaman pisang tumbuh tegak dengan batang semu berupa lapis lapis pelepah daun yang saling membungkus satu sama lain hingga menyerupai batang. Pelepah daun yang dapat tumbuh hingga 3-8 meter ini mengandung banyak air, berongga dan lunak. Batang sejatinya berada di dalam tanah berupa umbi batang atau umumnya disebut sebagai bonggol (*corm*).

Tanaman ini memiliki daun yang memiliki lapisan lilin pada bagian bawahnya, daunnya berbentuk lanset dan memanjang dengan panjang tangkai daun berkisar 30-40 cm.

Bunga tanaman pisang yang baru muncul disebut jantung pisang.

Tanaman ini memiliki bunga yang berkelamin satu dengan lima buah benang sari, dan memiliki bentuk bunga bulat lonjong dan runcing. Bunga di topang oleh

tangkai bunga yang sifatnya keras dengan diameter 8 cm. Bunga diselubungi seludang berwarna merah tua yang tersusun secara spiral dengan panjang 10-25 cm. Mahkotanya berwarna putih dan tersusun secara melintang dan berjumlah dua baris. Menurut Cahyono (2009) pisang Ambon Kuning memiliki ukuran buah lebih besar dibandingkan spesies pisang ambon lainnya. Pisang ambon kuning dalam satu tandan umumnya terdapat 9 sisir, sedangkan Ambon Lumut terdapat 7-12 sisir dan Ambon Putih terdapat 10-14 sisir. Ambon Kuning memiliki kulit buah berwarna kuning ketika matang dan memiliki rasa manis legit (Yusnita, 2015). Pisang ini mengandung kadar karbohidrat yang tinggi yaitu sebesar 22%, sedikit lebih tinggi dibandingkan pisang Kepok dan pisang Mas dengan kadar karbohidrat 21% (Satuhu dan Supriadi, 2008).

Menurut Prihatman (2000) tanaman pisang dapat tumbuh dengan baik pada daerah beriklim tropis basah dengan 2 bulan kering dan memiliki curah hujan 1.520-3.800 mm/tahun. Pisang dapat tumbuh dengan tanah yang memiliki drainase baik, kaya akan humus dan ketersediaan air yang cukup. Tanaman ini termasuk toleran terhadap kekeringan serta mampu hidup pada dataran tinggi hingga 2.000 mdpl. Suhu yang optimum untuk pertumbuhannya berkisar 27°C dengan suhu maksimumnya mencapai 38°C.

2.2 Perbanyakan Tanaman Pisang secara Konvensional

Pisang Ambon Kuning diperbanyak secara vegetatif, di tingkat petani umumnya dilakukan dengan menggunakan anakan (*sucker*) atau belahan bonggol (*bit*).

Santoso (2003) mengungkapkan bahwa ada 4 cara perbanyakan vegetatif pisang

yaitu menggunakan anakan langsung, anakan semai, bit anakan dan bit bonggol. Perbanyakan menggunakan anakan langsung dilakukan dengan memisahkan anakan dari pohon induk untuk ditanam langsung pada lahan. Bibit yang baik ialah anakan pedang yang ukurannya 100 – 150 cm. Anakan semai didapat dari anakan rebung atau anakan dengan ukuran yang kecil, kemudian disemai terlebih dahulu dalam polibag untuk menghindari stres lingkungan. Sedangkan bit anakan merupakan bibit yang didapat dari anakan yang terlebih dahulu dirangsang untuk menumbuhkan tunas aksilar. Kemudian tunas yang muncul diambil dengan cara dibelah dan ditanam kembali. Bit bonggol merupakan perbanyakan dengan cara membelah bonggol dengan ukuran 10 cm x 10 cm yang disesuaikan dengan jumlah tunas yang ada, lalu hasilnya langsung ditanam pada lahan.

2.3 Perbanyakan Tanaman Pisang secara *in Vitro*

Kultur jaringan merupakan teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman *in vitro* secara aseptik pada media kultur yang berisi hara lengkap dengan kondisi lingkungan terkendali untuk tujuan tertentu (Yusnita, 2003). Iliev dkk. (2010) menjelaskan bahwa prinsip dasar kultur jaringan adalah teori totipotensi sel, yaitu setiap sel hidup tanaman yang memiliki perangkat fisiologis dan genetis yang lengkap dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh pada kondisi yang sesuai. Kultur jaringan dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif dengan cepat. Teknik perbanyakan ini juga dapat dilakukan sepanjang tahun, tidak memerlukan tempat yang luas, dan menghasilkan bibit yang *true-to-type*, serta bebas dari patogen (Yusnita, 2003).

Menurut Yusnita (2003), perbanyakan melalui kultur jaringan dilakukan dalam lima tahapan, yaitu sebagai berikut :

1. Tahap 0, pemilihan dan penyiapan tanaman induk sebagai eksplan. Jenis dan varietas tanaman harus jelas, bebas dari hama dan penyakit serta memperhatikan umur fisiologis dan bagian eksplan yang diambil.
2. Tahap 1, inisiasi kultur atau *culture establishment*. Tahapan ini bermaksud untuk mendapatkan kultur yang aseptik dan aksenik dengan cara sterilisasi. Sterilisasi eksplan dilakukan pada permukaan eksplan dengan menggunakan bahan kimia seperti NaOCl, CaOCl, etanol, dan HgCl₂.
3. Tahap 2, multiplikasi atau perbanyakan propagul. Tahapan ini dilakukan untuk mengkondisikan eksplan pada lingkungan hormonal yang sesuai. Baik diarahkan pada perbanyakan tunas maupun pembentukan embrio. Pada tahap ini juga dilakukan subkultur atau pemindahan tanaman pada media baru hingga jumlah tunas yang diharapkan tercapai.
4. Tahap 3, pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan tanaman ditransfer ke lingkungan eksternal. Pada tahapan ini pemanjangan tunas dan pengakaran tanaman didorong oleh adanya hormon-hormon tertentu dan proses ini dilakukan secara bertahap.
5. Tahap 4, aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal. Planlet dipindahkan ke media aklimatisasi, prinsipnya ialah memberikan intensitas cahaya rendah dengan kelembaban nisbi tinggi kemudian berangsur-angsur intensitas cahaya dinaikkan dan kelembabannya diturunkan.

Keberhasilan perbanyak tanaman melalui kultur jaringan diantaranya ditentukan oleh media. Berbagai macam jenis media telah diformulasikan oleh banyak peneliti, seperti *woody plant medium* (WPM) yang digunakan pada kultur tanaman kayu, Knudson, Lin dan Staba pada wortel, Nitsch dan Nitsch pada kultur anther, Gamborg pada kultur kedelai dan jenis media lain. Media kultur yang paling sering dipakai ialah media yang diformulasikan oleh Murashige dan Skoog (MS) pada 1962. Media MS ini sering digunakan karena secara universal cocok pada kultur berbagai jenis tanaman. Menurut Yusnita (2003) media kultur yang lengkap mengandung beberapa komponen seperti air destilata (aquades), unsur hara makro-mikro, asam amino, sukrosa, vitamin, zat pengatur tumbuh (ZPT) serta pematid media (agar-agar atau gelrite). Selain itu media kultur kadang kali memerlukan suplemen berupa bahan-bahan alami seperti ekstrak buah (tomat, kentang, pisang), air kelapa, dan berbagai bahan lain.

Kondisi lingkungan kultur juga menentukan keberhasilan perbanyak melalui kultur jaringan yang meliputi cahaya, suhu dan komponen atmosfer. Jenis tanaman tertentu membutuhkan suhu tertentu agar morfogenesis yang terjadi optimum, tetapi secara umum suhu optimum dalam inkubasi tanaman berkisar antara 20-27°C. Selain itu, kualitas cahaya akan mempengaruhi diferensiasi jaringan. Radiasi dekat spektrum ultraviolet dan biru dapat merangsang pembentukan tunas sedangkan pembentukan akar dirangsang oleh cahaya merah dan sedikit cahaya biru. Secara umum, intensitas cahaya optimum pada tahap inisiasi ialah 0 - 1.000 lux, tahap multiplikasi 1.000 - 10.000 lux, tahap pengakaran 10.000-30.000 lux dan tahap aklimatisasi 30.000 lux (Yusnita, 2003).

2.4 Pola Regenerasi Tanaman

Yusnita (2003) menjelaskan bahwa regenerasi tanaman terjadi melalui perbanyak tunas aksilar (*axillary branching*), organogenesis dan embriogenesis. Pola perbanyak tunas aksilar atau tunas samping ini dilakukan dengan mengkulturkan kembali tunas samping yang ada agar menghasilkan tunas samping majemuk. Perbanyak melalui tunas samping ini relatif sederhana, tingkat aberasi genetiknya kecil dan berlangsung cepat karena terjadinya rejuvenasi. Yusnita (2003) menjelaskan bahwa pola regenerasi organogenesis dan embriogenesis dapat terjadi secara langsung atau tanpa pembentukan kalus (*dirrect*) dan tidak langsung (*indirrect*).

Pola regenerasi organogenesis terjadi melalui beberapa tahap yaitu dediferensiasi, induksi, kemudian terdiferensiasi kembali. Pada tahap dediferensiasi, eksplan yang sejatinya sudah terspesialisasi dengan fungsi tertentu dikembalikan menjadi sel atau jaringan yang nasibnya belum ditentukan. Setelah itu sel dianggap telah kompeten, yaitu mampu merespon stimulus morfogenik tertentu. Kemudian sel tersebut diinduksi, yaitu dirangsang untuk merealisasikan kemampuannya dalam merespon sinyal lain yang tersedia. Pada fase ini dihasilkan populasi sel yang terdeterminasi, yaitu arah perkembangannya sudah pasti. Setelah sel tersebut mengalami determinasi maka fase induksi berakhir, yang kemudian sel tersebut akan berdiferensiasi atau terspesialisasi menjadi organ atau jaringan tertentu.

Purnamaningsih (2002) menjelaskan bahwa embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik

tanpa melalui fusi gamet. Melalui pola regenerasi ini jumlah propagul yang dihasilkan tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat dan dinilai dapat mempercepat keberhasilan dengan peluang transformasi yang lebih tinggi karena dapat berasal dari satu sel somatik. Embrio somatik dicirikan dengan strukturnya yang bipolar, yaitu dengan dua kutub meristem berupa tunas dan akar (Gaj,2001).

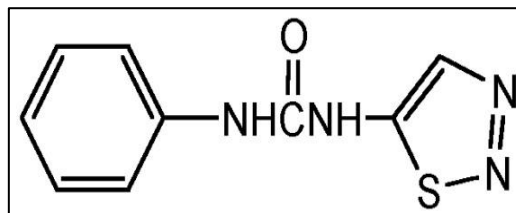
Hapsoro dan Yusnita (2016) mengemukakan bahwa embriogenesis somatik terjadi dalam beberapa tahap dan berbeda antara tanaman dikotil dan monokotil. Pada tanaman dikotil, terjadi empat tahap yaitu globular, hati, torpedo dan kotiledon. Pada tahap globular terbentuk struktur kecil berbentuk bulat (*globe*) dari kelompok yang lebih besar dari sel pada permukaan kalus atau jaringan yang terdiferensiasi. Kemudian berkembang menjadi bentuk hati yang kemudian disebut sebagai tahap hati. Selanjutnya terjadinya pemajangan embrio menjadi bentuk torpedo (tahap torpedo) dan kemudian terlihat primordia tajuk dan tampak sepasang kotiledon sehingga disebut tahap kotiledon. Berbeda dengan dikotil, embrio somatik pada tanaman monokotil terjadi melalui pembentukan struktur yang tampak seperti pro-embrio, berkembang menjadi globular, lalu terbentuk struktur mirip skutelum dengan *notch* pada ujung dan koleoptilnya (tahap hati). Kemudian struktur tersebut lebih jelas berupa koleoptil dan skutelum yang lebih besar.

Studi yang dilakukan Schoofs, dkk.(1998) mengemukakan bahwa *scalp* merupakan bahan yang digunakan untuk menginduksi *embriogenic cell suspension*(ECS). *Scalp* diidentifikasi sebagai jaringan proliferasi meristem yang

kompeten dengan karakter *fleshy bulb like-structure*, yaitu suatu jaringan yang strukturnya berupa gumpalan berbentuk globular. Stroose, dkk.(2005) mengungkapkan bahwa *scalp* merupakan metode regenerasi melalui pembentukan suspensi embrio yang melingkupi fase persiapan jaringan meristem, induksi embrio, inisiasi, penstabilan jaringan kemudian regenerasi tanaman. Melalui pengertian itu *scalp* dapat diidentifikasi sebagai jaringan meristem yang memiliki kemampuan untuk beregenerasi melalui embrio. Sholi dkk. (2009) mengungkapkan bahwa *scalp* diidentifikasi sebagai jaringan meristem *cauliflower like-structures* yang berupa *Clumps* kompak yang diinduksi sebagai bahan dalam pembentukan ECS.

2.5 Thidiazuron

Murthy (1997) menjelaskan bahwa Thidiazuron (TDZ: N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea) merupakan senyawa derivat *phenyl-urea* yang awalnya dikembangkan untuk memanen buah kapas secara mekanis. Kemudian zat ini dikenal sebagai zat pengatur tumbuh pada berbagai macam jenis tanaman secara *in vitro* serta memiliki kemampuan dalam menginduksi kalus sampai pembentukan embrio somatik. Goerge (2008) mengungkapkan bahwa TDZ merupakan jenis sitokinin yang lebih efektif daripada sitokinin jenis adenin dalam menginduksi respon morfogenik tanaman.



Gambar 3. Struktur Molekul Thidiazuron

Sebenarnya, TDZ dikategorikan sebagai sitokinin karena menghasilkan respon yang mirip seperti yang dihasilkan oleh sitokinin alami (*endogenous*). Beberapa pemberian perlakuan menggunakan sitokinin juga dapat meningkatkan auksin endogen, etilen dan ABA (Murthy, 1997). Murch dkk. (1997) memverifikasi bahwa TDZ menstimulasi perbanyakan yang diakibatkan dari meningkatnya asam absisat, proline dan ion-ion tertentu. Jones (2007) menemukan bahwa fraksi rendah TDZ mampu merangsang embriogenesis pada sel yang kompeten. Menurut George (2008) aktivitas sitokinin endogen merupakan penyebab atau bertanggung jawab atas sulitnya pembentukan embrio pada beberapa genotipe tanaman.

Guo (2011) menjelaskan bahwa TDZ berpengaruh dalam meningkatkan akumulasi ion mineral yang menginduksi regenerasi tanaman. TDZ dengan jumlah relatif rendah dapat meningkatkan multiplikasi tunas atau embriogenesis somatik pada beberapa tanaman. Mithila dkk. (2003) melaporkan bahwa konsentrasi rendah TDZ dapat menginduksi organogenesis pada eksplan tanaman bunga *African Violets*, namun pada dosis yang lebih tinggi ($5-10 \mu\text{M} = 1,1-2,2 \text{ mg/l}$) dapat menginduksi pembentukan embrio somatik. Hasil studi yang dilakukan Shirani dkk. (2010) menunjukkan bahwa $7,5 \mu\text{M}$ TDZ ($1,65 \text{ mg/l}$) mampu memacu pembentukan *scalp* tertinggi pada pisang Rastali (AAB) hingga $8,89 \text{ scalp}$ per eksplan. Sedangkan konsentrasi rendah sampai dengan $5 \mu\text{M}$ ($1,1 \text{ mg/l}$) TDZ meningkatkan jumlah *scalp* pada pisang Berangan Intan dan Berangan (AAA)

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada Februari 2017 hingga September 2017.

3.2 Bahan Tanaman

Kultivar yang digunakan adalah pisang ‘Ambon Kuning’ dan eksplan yang digunakan berupa tunas anakan pedang (*sword sucker*) yang berasal dari bonggol (Gambar 4). Bahan tanam didapatkan dari Gedong Tataan-Way Lima, Kabupaten Pesawaran, Lampung.



Gambar 4. Anakan Pedang (*sword sucker*) pisang ‘Ambon Kuning’.

Pengambilan bonggol dilakukan dengan menggali tanah di sekitar anakan, kemudian bonggol anakan dipisahkan dari rumpun induk menggunakan sabit. Bonggol yang digunakan memiliki diameter 10-15 cm dengan tinggi 100-150 cm.

3.3 Metode Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Percobaan tersebut dilaksanakan dengan faktor tunggal, yaitu penambahan ZPT berupa TDZ sebanyak delapan taraf konsentrasi (0,5; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; dan 4 mg/l). Setiap perlakuan terdiri atas tiga ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 3-6 botol kultur (250 ml), 1 eksplan per botol. Homogenitas data diuji menggunakan uji Bartlett dan jika asumsi terpenuhi dilanjutkan analisis ragam dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4 Sterilisasi Alat

Kondisi aseptik merupakan syarat dalam kultur jaringan, maka botol sebagai tempat kultur dan peralatan yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi botol dilakukan melalui 2 tahapan. Tahap pertama dilakukan sterilisasi botol hasil kultur sebelumnya menggunakan autoklaf Budenberg selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Selanjutnya agar, sisa tanaman, dan label dibersihkan dari dinding botol, kemudian botol direndam selama 1 malam dalam air yang telah ditambahkan detergen 2 g/l dan 100 ml/l disinfektan berupa larutan pemutih komersial. Tahap kedua botol dicuci menggunakan sabun pada

seluruh bagiannya hingga bersih lalu dibilas di bawah air mengalir. Setelah itu botol direndam dalam air panas selama 15 menit, kemudian botol ditiriskan lalu ditutup plastik tahan panas dan diikat karet. Selanjutnya botol tersebut disterilisasi tahap akhir menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berupa alat diseksi (pinset dan *scaple*), keramik, cawan petri, gelas ukur, kapas, dan botol Schott.. Untuk menyiapkan air steril, botol schott kapasitas satu liter diisi air hingga $\frac{3}{4}$ -volumenya. Kemudian alat berupa pinset, skalpel, keramik dan cawan petri distrilisasi dalam kondisi terbungkus kertas dan dimasukkan dalam plastik tahan panas. Kapas disterilisasi dengan cara dimasukkan dalam botol kultur steril. Peralatan tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

3.5 Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS (Murashige and Skoog, 1962). Penelitian ini menggunakan dua jenis media, yaitu media prakondisi dan media perlakuan. Media prakondisi ditunjukkan untuk merangsang pertumbuhan awal eksplan dan untuk mendapatkan eksplan yang bebas dari kontaminasi. Media prakondisi terdiri dari garam-garam dalam media dasar MS, 200 mg/l asam askorbat, 100 mg/l asam sitrat dan penambahan ZPT berupa *benzylaminopurine* (BAP) sebanyak 5 mg/l. Setelah 4 MST eksplan steril dengan respon yang baik dan sesuai kriteria dipindah ke media perlakuan. Media

perlakuan terdiri dari penambahan 8 taraf konsentrasi TDZ yaitu (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0) pada media dasar MS.

Tabel 1. Komposisi media dengan Penambahan ZPT pada media dasar MS (Murashige dan Skoog)

Jenis Media	BAP	TDZ
Prakondisi	5mg/l	-
1	-	0,5 mg/l
2	-	1,0 mg/l
3	-	1,5 mg/l
4	-	2,0 mg/l
5	-	2,5 mg/l
6	-	3,0 mg/l
7	-	3,5 mg/l
8	-	4,0 mg/l

Pembuatan media dilakukan dengan mempersiapkan peralatan gelas dan non gelas yang terlebih dahulu harus dibilas menggunakan aquades. Alat tersebut berupa *magnetic stirrer*, pinset, spatula, panci, gelas ukur (10; 100; 250; 2000 ml), gelas beaker (200; 1000; 2000 ml), dan labu ukur (500; 1000 ml). Pembuatan media prakondisi dilakukan dengan melarutkan garam garam MS, 200 mg/l asam askorbat, 100 mg/l asam sitrat dan 30 gr sukrosa serta ditambahkan pula BAP sebanyak 5 mg/l. Setelah homogen larutan ditera hingga mencapai volume 1 liter dan ditetapkan pada pH 5,8.

Sedangkan pada media perlakuan garam garam MS yang sudah larut ditambahkan sebanyak 150 ml/l CW (*coconut water*), 150 mg/l asam askorbat, 50 mg/l asam sitrat dan 30 g sukrosa. Setelah homogen, ditambahkan TDZ sesuai taraf konsentrasi masing masing. Kemudian larutan ditera hingga mencapai volume 1 liter dan pH-nya ditetapkan 5,8. Setelah penetapan pH, media dimasak hingga

mendidih lalu dituang pada botol kultur sesuai dengan label komposisi media.

Media dengan volume 1 liter membutuhkan kurang lebih 30 botol kultur.

Kemudian media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan $1,2 \text{ kg/cm}^2$. Setelah selesai, media dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan kemudian disimpan dalam ruang penyimpanan media.

3.6 Persiapan Eksplan

Bagian yang digunakan sebagai eksplan adalah tunas. Tunas diambil dari bonggol kemudian diperkecil sampai panjangnya kurang lebih 5 cm. Tunas kemudian direndam dalam larutan 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida Mankozeb selama ± 30 menit. Tunas kemudian dibawa ke dalam laboratorium untuk dilakukan sterilisasi permukaan.

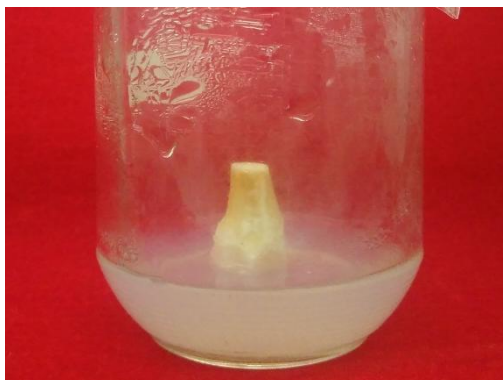
3.7 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan

Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan di ruang persiapan dan ruang transfer laboratorium. Ukuran eksplan dikecilkan menjadi 3 cm. Kemudian, eksplan direndam dalam larutan 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida Mankozeb selama ± 15 menit. Kemudian eksplan direndam dalam detergen beberapa saat, lalu dicuci dan dibilas di bawah air mengalir sehingga fungisida dan kotoran tidak lagi menempel pada permukaannya. Eksplan yang telah bersih kemudian dimasukkan ke dalam botol schott atau erlenmeyer dan dibawa ke dalam ruang transfer untuk sterilisasi permukaan menggunakan larutan pemutih komersial (Bayclin 5,25% NaOCl).

Sterilisasi permukaan eksplan di ruang transfer dilakukan dalam kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flaw Cabinet* (LAFC). Sterilisasi permukaan eksplan pada tahap ini dilakukan tiga kali, yaitu dengan larutan Bayclin 50%, 30% dan 10%. Konsentrasi 50% dilakukan dengan cara melarutkan 50 ml Bayclin pada 50 ml air steril. Kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol schott yang telah berisi eksplan dan ditambahkan surfaktan Tween-20 sebanyak 2 tetes/100 ml larutan. Penambahan larutan dilakukan hingga semua eksplan terendam, kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 30 menit. Setelah itu, eksplan dibilas 3 kali menggunakan air steril hingga tidak ada busa yang menempel.

Eksplan diperkecil kembali menggunakan alat diseksi hingga berukuran 1,5x1,5 cm dan tinggi 1,5 - 2 cm, kemudian eksplan direndam dalam larutan asam askorbat 150 mg/l. Eksplan dimasukkan ke dalam botol schott yang baru, kemudian dilakukan sterilisasi kembali dengan larutan Bayclin 30% dan surfaktan Tween-20 sebanyak 2 tetes/100 ml, dengan cara dikocok selama 10 menit secara manual di dalam LAFC. Setelah itu dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali, kemudian eksplan kembali diperkecil hingga ukuran $\pm 1 \times 1$ cm dan tinggi ± 1 cm. Kemudian eksplan dimasukkan ke dalam botol baru dan disterilisasi menggunakan Bayclin 10% selama 5 menit dalam vacuum. Eksplan dibilas sebanyak 3 kali dan ditiriskan, kemudian ditanam pada media prakondisi. Eksplan diinkubasi pada ruang kultur dengan intensitas cahaya 1.000-2.000 lux lampu *cool white fluorescent* dan fotoperiodesitas 24 jam terang selama 4 minggu dengan suhu $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Penanaman eksplan pada media prekondisi bertujuan untuk

menyeragamkan pertumbuhan tanaman dan melakukan seleksi terhadap kontaminasi.



Gambar 5. Penanaman eksplan pada media prakondisi

3.8 Subkultur pada Media Perlakuan

Subkultur ke media perlakuan dilakukan pada 4 minggu setelah tanam (MST).

Eksplan yang akan dipindahkan diseleksi berdasarkan homogenitasnya dan dipastikan steril. Eksplan diambil dari botol kultur kemudian dipotong batang semuanya dan dicacah dengan delapan sudut untuk mematahkan dominansi apikalnya. Setelah itu eksplan ditanam pada media perlakuan dan diinkubasi kembali dalam ruang kultur dengan cahaya, fotoperiodisitas dan suhu yang sama. Eksplan disubkultur ke media perlakuan yang sama pada 4, 8, dan 12 minggu setelah perlakuan (MSP).

3.9 Pengamatan

Variabel yang diamati adalah sebagai berikut.

1. Pertumbuhan eksplan pada media prakondisi. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan diamati hingga 4 MST.

2. Jumlah tunas. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah tunas aksilar dan tunas apikal yang muncul pada tiap eksplan dalam 4 MSP.
3. Jumlah mata tunas. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah mata tunas yang muncul pada tiap eksplan dalam 4 MSP.
4. Jumlah *Scalp*. Dilakukan pengamatan pada eksplan dengan melihat struktur membengkak berwarna putih dalam 4 MSP.
5. Propagul. Mata tunas dan tunas aksilar yang tumbuh dari ketiak bonggol eksplan. Pengamatan dilakukan dalam 4 MSP..
6. Penampilan visual eksplan. Penampilan visual eksplan diamati dengan mengambil gambar eksplan menggunakan kamera pada 0, 4 MST dan 0, 4MSP. Variabel pengamatan ini dilakukan sebagai penunjang hasil pengamatan variabel lainnya.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Peningkatan konsentrasi TDZ dalam media Murashige dan Skoog (MS) dari 0,5 mg/l menjadi 1 mg/l dapat meningkatkan rata-rata jumlah tunas, mata tunas, dan propagul pisang 'Ambon Kuning' yang dikulturkan in vitro selama 4 minggu setelah perlakuan (MSP) yaitu : 2,13 menjadi 3,0 tunas per eksplan; 1,33 menjadi 2,9 mata tunas per eksplan; 3,47 menjadi 5,19 propagul per eksplan. Peningkatan konsentrasi lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah tunas, mata tunas dan propagul per eksplan.
2. Peningkatan konsentrasi TDZ dalam media Murashige dan Skoog (MS) dari 0,5 mg/l menjadi 1 mg/l menjadi 1,5 mg/l dapat meningkatkan rata-rata jumlah *scalp* pisang 'Ambon Kuning' yang dikulturkan in vitro selama 4 minggu setelah perlakuan (MSP) dari 0,47 menjadi 2,06 menjadi 2,08 *scalp* per eksplan. Peningkatan konsentrasi lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah *scalp* per eksplan.
3. Media terbaik untuk pembentukan tunas diperoleh pada media dengan penambahan TDZ 1 mg/l dan pembentukan *scalp* pada penambahan konsentrasi TDZ 1-1,5 mg/l .

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian dengan penggunaan rentang konsentrasi TDZ lebih kecil untuk mempelajari pengaruh optimumnya terhadap pembentukan tunas dan *scalp*. Serta dilakukannya studi lanjut mengenai *scalp* penggunaan *scalp* hasil induksi oleh TDZ dalam penelitian ini pada media multiplikasi atau media induksi suspensi embrio untuk mempelajari daya regenerasi *scalp* yang terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Astria, R. 2016. Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin terhadap Regenerasi Tanaman Pisang *In Vitro* Menggunakan Eksplan Ujung Tunas dan Bunga. (*Skripsi*). Lampung. Universitas Lampung.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Pisang Menurut Provinsi (Ton) 2012-2016. http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti. Diakses pada 1 Agustus.
- Bates, S., J.E. Preece, N.E. Navarrete, J.W. Van Sambeek dan G. R. Gaffney. 1992. Thidiazuron stimulates shoot organogenesis and somatic embryogenesis in white ash (*Fraxinus americana* L.) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 31: 21-29
- Cahyono, B. 2013. *Pisang : Usaha Tani dan Penanganan Pascapanen*. Yogyakarta. Kansius.
- Chhabra, G., D. Chaudhary, M. Varma, M. Sainger dan P.K. Jaiwal.(2008). TDZ-induced direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis on cotyledonary node explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 14(4): 347-353.
- Damayanti, F. dan Samsurianto. 2010. Konservasi in vitro plasma nutfah untuk aplikasi di bank gen. *Bioprospek* 7(2) : 1-6.
- FAOSTAT. 2014. Food and Agriculture Organization of The United Nations: Statistic Division. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>. Diakses pada 16 Agustus 2017
- Gaj, M. D. 2001. Direct somatic embryogenesis as a rapid and efficient system for *in vitro* regeneration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Organ Culture*. 64: 39-46
- George, E. F., M. A. Hall dan G.J. D. Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht. Springer. 3(1): 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.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2016. *Kultur Jaringan untuk Perbanyak Klonal Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Bandar Lampung. Anugrah Utama Raharja.
- Huetteman, CA. dan Preece, JE. 1993. Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 33: 105119.
- Iliev, I., A. Gadjošová, G. Libiaková, and S. M. Jain. 2010. *Plant Micropropagation*. In: *Plant Cell Culture*. New Jersey. M. R. Davey and P. Anthony (Eds). John Wiley & Sons, Ltd : 1-20.
- Istiqomah, H.N. 2015. Multipikasi Tunas Pisang ‘Kepok Kuning’(Genom AAA) dan ‘Raja Bulu’ (Genom ABB) *In Vitro* pada Berbagai Konsentrasi Benziladenin dengan dan tanpa Thidiazuron.(*Skripsi*). Universitas Lampung. Lampung.
- Jones, M.P.A, Cao J, O'Brien R, Murch S.J. dan Saxena P.K. 2007. The mode of action of thidiazuron: auxins, indoleamines, and ion channels in the regeneration of *Echinacea purpurea* L. *Plant Cell Rep*. 26(9): 1481-1490.
- Lee, S.W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. *Acta Horty*. 692: 67-74.
- Mega, M. Syanda G.A.K .2016. Regenerasi Tunas Pisang Ambon Kuning In Vitro pada Media yang Mengandung Thidiazuron dan 2,4-D. (*Skripsi*) Lampung. Universitas Lampung.
- Mithila J, Hall J.C, Victor J.M.R. dan Saxena P.K. 2003. Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). *Plant Cell Rep*. 21(5): 408-414.
- Msogoya, T. J. dan J. Mwakisitu. 2014. Effect of thidiazuron on in vivo shoot proliferation of popular banana (*Musa* spp. L) cultivars in Tanzania. *Journal of Applied Biosciences*. 81:7214–7220.
- Murasige, T, dan F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assasy with tobacco tissue culture. *Jurnal*. Wisconsin. Dep Botany, University of Wisconsin.: 473–497.
- Murch S.J., Krishna Raj S, Saxena P.K. 1997. Thidiazuron-induced regeneration: A potential stress response. *Plant Physiol*. 114(3): 177.

- Murthy, S.1997. Morpho-Physiological Role of Thidiazuron in Plants (*Tesis*). Kanada. The University Of Guelph.
- Nelson, S. C., R. C. Ploetz, dan A. K. Kepler. 2006. *Musa species* (banana and plantain). In: Species Profiles for Pacific Island Agroforestry ver. 2.2. www.traditionaltree.org. Diakses pada 10 Agustus 2017.
- Panaia, M., T. Senaratna, K.W. Dixon dan K. Sivasithamparam. 2004. The role of cytokinins and thidiazuron in the stimulation of somatic embryogenesis in key members of Restionaceae. *Australian Journal of Botany*. 52: 257-265.
- Plantamor. 2013. *Musa paradisiaca*. www.plantamor.com/species/musa-paradisiaca. Diakses pada 10 Agustus 2017.
- Prihatman, K. 2000. *Pisang (Musa spp)*. Kantor Deputy Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Purnamaningsih, Ragapadmi. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio*. 5(2): 51-58.
- Pusat Data dan Informasi Pertanian. 2006. Departemen Pertanian.
- Sadik, K., P. R. Rubaihayo, M. J. S. Magambo1 dan M. Pillay. 2007. Generation of cell suspensions of East African highland bananas through scalps. *African Journal of Biotechnology*. 6(11): 1352-1357.
- Sadik, K., G Arinaitwe, P. R. Rubaihayo dan S. B. Mukasa. 2015 TDZ and 4-CPPU induce embryogenic response on scalps of Recalcitrant East African Highland Banana. *Journal of Agricultural Science*. 7(8): 215-224.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang. UMM Press.
- Satuhu, S. dan A. Supriyadi. 2010. *Pisang: Budi Daya, Pengolahan, & Prospek Pasar*. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Schoofs, H., B. Panis dan R. Swennen. 1998. Competence of Scalp for Embryogenesis in *Musa*. Proc.Int.Symp. Banana in Subtropics. *Acta Hort*. 5: 475-483.
- Shirani, S., M. Sariah, W. Zakaria dan M. Maziah.2010. Scalp Induction Rate Responses to Cytokinins on Proliferating Shoot-Tips of Banana Cultivars (*Musa spp.*) *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5(2): 128-134.

- Sholi, N. J. Y., A Chaurasia, A Agrawal dan N. B. Sarin. 2009 ABA enhances plant regeneration of somatic embryos derived from cell suspension cultures of plantain cv. Spambia (*Musa sp.*). *Plant Cell Tiss Organ Culture*. 99:133-140.
- Stroosse, H., H. Schoofs, B. Panis, E. Andre, K. reyniers dan R. Swennen. 2006. Development of embryogenic cell suspension from shoot meristematic tissue in bananas dan plantains (*Musa spp.*). *Plant Science*. 170;104-112.
- 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*. Tangerang. Agromedia Pustaka.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Bandar Lampung. CV. Anugrah Utama Raharja.