

**PEMBENTUKAN *SCALP* DARI EKSPLAN PRIMER DAN  
RESPON PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN *SCALP*  
PISANG ‘AMBON KUNING’ TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI  
BENZILADENIN (BA) *IN VITRO***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**ALIFIA RAHMA ANDARINI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## **ABSTRAK**

### **PEMBENTUKAN *SCALP* DARI EKSPLAN PRIMER DAN RESPON PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN *SCALP* PISANG ‘AMBON KUNING’ TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI BENZILADENIN (BA) *IN VITRO***

**Oleh**

**ALIFIA RAHMA ANDARINI**

Penggunaan pola regenerasi perbanyak kalus embriogenik (*scalp*) dalam kultur jaringan dapat mendukung kegiatan pemenuhan bibit pisang berkualitas, seragam, dalam jumlah yang banyak, dan waktu yang relatif singkat. Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan *scalp*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian BA terhadap pertumbuhan dan perkembangan *scalp* serta menentukan konsentrasi BA yang optimal. Eksplan primer berupa jaringan meristematik di antara bonggol dan batang semu dikulturkan dalam media MS+5 mg/l BA selama 4 minggu untuk menginisiasi pembentukan tunas. Produksi *scalp* diawali dengan pemindahan eksplan primer berumur 4 minggu yang telah dicacah ke dalam media MS+3 mg/l TDZ+ 150 ml/l air kelapa yang kemudian diinkubasi selama 4 minggu. *Scalp* yang berbentuk bulat pipih, berwarna hijau kekuningan, dan belum mengeluarkan tunas selanjutnya disubkultur ke dalam media perlakuan,

yaitu media dasar MS dengan penambahan konsentrasi BA 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/l lalu diamati selama 9 minggu. Penelitian ini dilakukan menggunakan RAL dengan 3 ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol kultur yang masing-masing berisi 1 eksplan. Homogenitas ragam diuji menggunakan Uji Bartlett lalu analisis ragam dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas terbentuk dari *scalp* yang dikulturkan dalam media tanpa penambahan BA. Pemberian BA sampai dengan konsentrasi 3 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas. Jumlah tunas terbanyak (3,67 tunas per eksplan) dihasilkan dari *scalp* yang dikulturkan dalam media yang mengandung 3 mg/l BA. Selain menghasilkan tunas, *scalp* yang dikulturkan juga menghasilkan *scalp* baru dalam media yang tidak diberi BA maupun yang diberi BA (1-5 mg/l). Peningkatan konsentrasi BA sampai dengan 3 mg/l menyebabkan peningkatan diameter *scalp*. Diameter *scalp* terbesar (2,40 cm per eksplan) dihasilkan dalam media yang mengandung 3 mg/l BA.

**Kata kunci :** Ambon kuning, BA, *in vitro*, *scalp*, sitokinin, TDZ, tunas.

**PEMBENTUKAN *SCALP* DARI EKSPLAN PRIMER DAN  
RESPON PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN *SCALP*  
PISANG ‘AMBON KUNING’ TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI  
BENZILADENIN (BA) *IN VITRO***

Oleh

**ALIFIA RAHMA ANDARINI**

**Skripsi**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERTANIAN

pada

Jurusan Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

Judul Skripsi : **PEMBENTUKAN *SCALP* DARI EKSPLAN PRIMER DAN RESPON PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN *SCALP* PISANG 'AMBON KUNING' TERHADAP BERBAGAI KONSENTRASI BENZILADENIN (BA) *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : Alifia Rahma Andarini

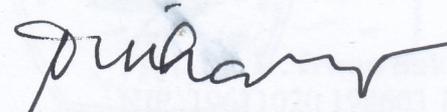
No. Pokok Mahasiswa : 1314121012

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

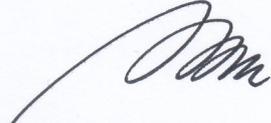


**Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.**  
NIP 19610402 198603 1 003



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

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

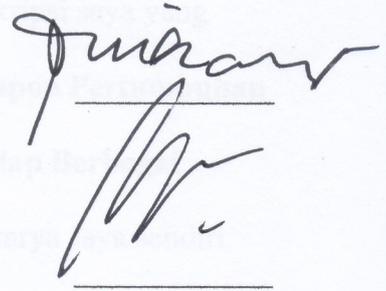


**Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.**  
NIP 19630508 198811 2 001

MENGESAHKAN

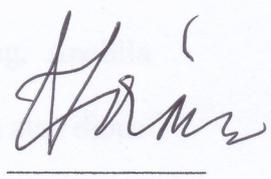
1. Tim Penguji

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



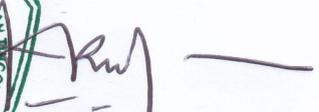
Sekretaris : Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.

Penguji  
Bukan Pembimbing : Sri Ramadiana, S.P., M.Si.



Dekan Fakultas Pertanian

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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 April 2018

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“Pembentukan *Scap* dari Eksplan Primer dan Respon Pertumbuhan dan Perkembangan *Scalp* Pisang ‘Ambon Kuning’ Terhadap Berbagai Konsentrasi Benziladenin (BA) *In Vitro*”** merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 30 April 2018

Penulis,



**Alifia Rahma Andarini**  
NPM 1314121012

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Ayahanda Slamet Raharjo dan Ibunda Mamik Dumi Arini. Penulis dilahirkan di Jakarta pada 14 November 1995. Penulis mengawali pendidikan formal di Taman Kanak-kanak di TK Islam Al Fajar Bekasi (2000-2001), dan melanjutkan pendidikan dasar di SD Islam Al Fajar Bekasi (2001-2007). Pendidikan menengah pertama penulis tempuh di SMP Negeri 92 Jakarta (2007-2010), kemudian dilanjutkan di SMA Negeri 36 Jakarta (2010-2013). Penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) pada tahun 2013.

Selama menjadi mahasiswi, penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada tahun 2015/2016 di Kampung Sumber Makmur, Kecamatan Banjar Margo, Kabupaten Tulang Bawang dan kegiatan Praktik Umum (PU) di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong, Bogor. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar-Dasar Budidaya Tanaman (2015/2016 dan 2016/2017), Produksi Tanaman Pangan (2015/2016), Fisiologi Tumbuhan (2015/2016), Bioteknologi Pertanian (2016/2017 dan 2017/2018), Teknik Perbanyakan Tanaman (2016/2017), dan

Produksi Tanaman Hortikultura (2016/2017). Penulis merupakan salah satu tutor Biologi pada Forum Ilmiah Mahasiswa (FILMA) FP Unila pada tahun 2014/2015.

Selain menjalankan kegiatan akademik, penulis juga aktif di organisasi Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT), yaitu sebagai Anggota Bidang Kaderisasi (2015/2016) dan Sekretaris Umum (2016/2017). Penulis juga aktif di organisasi eksternal Forum Mahasiswa Agroteknologi/Agroekoteknologi Indonesia (FORMATANI), yaitu sebagai Badan Pengawas Organisasi Wilayah 1 (2017/2019).

*Bismillahirohmanirrohim,*

*Alhamdulillahirabbil' alamin,* dengan penuh rasa syukur aku persembahkan karya ini

kepada:

Bapak, mama, mas Ka, dan adikku tersayang,

sebagai tanda terima kasihku atas doa dan dukungan yang tiada henti sehingga aku bisa

melewati masa-masa ini,

serta untuk almamater tercinta

Universitas Lampung

“Tidakkah kamu tahu bahwa Allah memiliki kerajaan langit dan bumi? Dan tidak ada bagimu pelindung dan penolong selain Allah”  
(QS Al-Baqarah ayat : 107)

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mengubah apa apa yang pada diri mereka”  
(QS Ar-Ra'd ayat : 11)

“Tidak! Barangsiapa yang menyerahkan diri sepenuhnya kepada Allah, dan dia berbuat baik, dia mendapat pahala di sisi Tuhan-nya, dan tidak ada rasa takut pada mereka dan mereka tidak bersedih hati”  
(QS Al-Baqarah ayat : 112)

“Someday you'll be just a memory for some people.  
Do your best to be a good one”  
(Alifia R. Andarini)

## SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan praktik umum ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan pengikutnya yang selalu dinantikan syafaatnya di hari kiamat.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungannya selama penulis menjalani studi di Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc. selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing dan memberikan dukungan, nasihat serta ilmunya kepada penulis selama melaksanakan kegiatan penelitian sampai menyelesaikan skripsi.
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. selaku Pembimbing Kedua yang telah membimbing dan memberikan motivasi kepada penulis selama melaksanakan kegiatan penelitian sampai menyelesaikan skripsi.
4. Ibu Sri Ramadiana S.P., M.Si. selaku Pembahas yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi.
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si. selaku Ketua Jurusan Agroteknologi.

6. Ayahanda Slamet Raharjo dan Ibunda Mamik Dumi Arini serta *mas* Rezka Rahardian dan Talisha Rahmi Rahardini, keluarga tercinta penulis yang tidak lelah memberikan doa dan dukungannya untuk kelancaran studi penulis.
7. Keluarga besar Bapak Suwartono yang telah memberikan doa dan dukungannya agar penulis dapat segera menyelesaikan skripsi.
8. Sahabat-sahabat sejiwa, Zora, Renita, Febri, Ledy, Nur Annisa, Denny, Gietha, Apriyanti, Robin, Suci, Dwi, Resti, Hendi, Eko, Dodi, Kican, Jaya, Nia, Rio, dan Hendra yang telah menyaksikan dan mendukung perjuangan penulis selama menjalani studi, penelitian, dan penyelesaian skripsi.
9. Keluarga besar Laboratorium Ilmu Tanaman, *mbak* Hayane Adeline Warganegara S.P., M.Si., *mbak* Vanny, *mbak* Resti, *mbak* Yanti, Agil, Bimo, Yogi, Deta, Bekti, *bang* Husen, *bang* Syanda, *bang* Rifky, Andino, Mamal, dan adik-adik magang yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis sehingga dapat segera menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi.
10. Sahabat-sahabat di Keluarga Besar Perma AGT, CWG, Laskar Peter, FORMATANI, dan Agroteknologi Angkatan 2013 yang selalu memberikan doa dan pelajaran hidup sehingga penulis dapat menjalani penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi dengan penuh suka cita.

Semoga Allah SWT membalas semua amal baik yang telah dilakukan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Aamiin.

Bandar Lampung, 17 April 2018

Penulis

**Alifia Rahma Andarini**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.3 Kerangka Pemikiran .....	5
1.4 Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Botani Tanaman Pisang .....	7
2.2 Perbanyak Tanaman Pisang Secara Konvensional .....	8
2.3 Perbanyak Tanaman Pisang Secara <i>in vitro</i> .....	9
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	15
3.2 Bahan Tanaman .....	15
3.3 Sterilisasi Botol dan Alat .....	16
3.4 Media Kultur .....	17
3.5 Persiapan Eksplan .....	19
3.6 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan .....	20
3.7 Transfer Eksplan dan Subkultur .....	22
3.8 Kondisi Ruang Kultur (Inkubasi) .....	23
3.9 Rancangan Percobaan dan Analisis Data .....	23
3.10 Pengamatan .....	23

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	25
4.1 Hasil Penelitian .....	25
4.1.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i> .....	25
4.1.2 <i>Rekapitulasi Analisis Data</i> .....	28
4.1.3 <i>Rata-rata Jumlah Tunas</i> .....	29
4.1.4 <i>Rata-rata Jumlah Mata Tunas</i> .....	29
4.1.5 <i>Rata-rata Panjang Tunas</i> .....	30
4.1.6 <i>Rata-rata Tunas Terpanjang</i> .....	30
4.1.7 <i>Rata-rata Jumlah Scalp</i> .....	30
4.1.8 <i>Rata-rata Diameter Scalp</i> .....	30
4.2 Pembahasan .....	33
4.2.1 <i>Perkembangan Umum Kultur</i> .....	33
4.2.2 <i>Produksi Scalp</i> .....	34
4.2.3 <i>Pertumbuhan dan Perkembangan Scalp</i> .....	35
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	41
<b>LAMPIRAN</b> .....	45
Tabel 4-13 .....	46-54

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formulasi media prekondisi, media induksi <i>scalp</i> , dan media perlakuan .....	18
2. Jumlah eksplan yang digunakan .....	27
3. Rekapitulasi analisis ragam respon pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> pisang ambon kuning <i>in vitro</i> dalam media yang mengandung 0-5 mg/l benziladenin (BA) pada umur 9 minggu .....	28
4. Analisis ragam untuk rata-rata diameter <i>scalp</i> per eksplan pada kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> dalam media yang mengandung BA pada umur 9 minggu .....	45
5. Analisis ragam untuk rata-rata jumlah tunas per eksplan pada kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> dalam media yang mengandung BA pada umur 9 minggu .....	45
6. Data pengamatan jumlah tunas sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	46
7. Data pengamatan jumlah mata tunas sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	47
8. Data pengamatan panjang tunas sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	48
9. Data pengamatan tunas terpanjang sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	49
10. Data pengamatan diameter <i>scalp</i> sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	50
11. Data pengamatan jumlah <i>scalp</i> sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> pada umur 9 minggu .....	51

12. Data pengamatan jumlah daun sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan *scalp* kultur pisang ‘Ambon Kuning’ *in vitro* pada umur 9 minggu ..... 52
13. Data pengamatan jumlah akar sebagai respon terhadap pertumbuhan dan perkembangan *scalp* kultur pisang ‘Ambon Kuning’ *in vitro* pada umur 9 minggu ..... 53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anakan pedang .....	15
2. (A) Persiapan eksplan dari bonggol (B) calon eksplan berukuran batang semu 3 cm dan bonggol 5 cm .....	20
3. (A) Proses penanaman (B) eksplan yang akan ditanam dalam media prekondisi .....	22
4. (A) Eksplan yang telah dicacah, (B) kriteria <i>scalp</i> yang akan disubkultur, dan (C) <i>scalp</i> yang telah disubkultur .....	22
5. (A) Kultur pisang ‘Ambon Kuning’ yang mengalami penghitaman, dan (B) terkontaminasi bakteri .....	26
6. (A dan B) Eksplan membentuk <i>scalp</i> dan (C) eksplan yang tidak membentuk <i>scalp</i> .....	26
7. Pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> dalam media MS dengan (A) penambahan BA 3 mg/l umur 1 minggu dan (B) umur 5 minggu, (C) penambahan BA 4 mg/l umur 9 minggu, (D) penambahan BA 5 mg/l umur 2 minggu, (E) penambahan BA 0 mg/l umur 3 minggu, dan (F) mata tunas umur 7 minggu .....	28
8. Pengaruh konsentrasi benziladenin (BA) terhadap rata-rata jumlah tunas pada <i>scalp</i> pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> umur 9 minggu setelah pengkulturan .....	29
9. Pengaruh konsentrasi benziladenin (BA) terhadap rata-rata diameter <i>scalp</i> pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> umur 9 minggu setelah pengkulturan .....	31
10. Penampilan visual eksplan sebagai respon pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> pisang ‘Ambon Kuning’ <i>in vitro</i> dalam media yang mengandung berbagai konsentrasi benziladenin (BA) pada umur 9 minggu setelah pengkulturan .....	31
11. Pertumbuhan dan perkembangan <i>scalp</i> pisang ‘Ambon Kuning’ dalam media yang mengandung berbagai konsentrasi benziladenin (BA) pada umur 1, 3, dan 5 minggu setelah pengkulturan .....	32

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang dan Masalah

Tanaman pisang menduduki urutan ke-8 sebagai tanaman hortikultura penting di dunia (FAO, 2014). Menurut data *Indian Horticulture Database* (2014), Indonesia merupakan negara penyedia pisang urutan ke-6 terbesar di dunia dengan produksi 6.189.052 ton buah pisang dan produktivitas sebesar 58,9 ton/ha pada tahun 2013. Indonesia memiliki iklim yang sesuai bagi pertumbuhan tanaman pisang sehingga berpotensi besar dalam meningkatkan produksi pisang dunia. Berdasarkan data rata-rata produksi pisang tahun 2012-2016, Lampung menjadi salah satu provinsi penyumbang produksi pisang nasional terbesar ke-2 yaitu, 1.224.815 ton pada tahun 2016 (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura, 2017).

Peningkatan jumlah penduduk dan kesadaran terhadap kesehatan mempengaruhi tingginya permintaan buah pisang di dalam negeri. Permintaan yang tinggi membutuhkan dukungan dari sektor pembibitan yang baik. Saat ini penyediaan bibit berkualitas dan seragam dalam jumlah yang banyak menjadi salah satu kendala utama industri perkebunan pisang. Salah satu alternatif penyediaan bibit

pisang berkualitas dan seragam dalam waktu relatif cepat ialah melalui perbanyakan tanaman secara *in vitro* atau kultur jaringan.

Kultur jaringan adalah teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman secara *in vitro*, dalam kondisi aseptik, dengan kebutuhan unsur hara yang terpenuhi, lingkungan yang terkendali, dan penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Hartmann dkk., 2002 ; Yusnita, 2003). Perbanyakan dengan kultur jaringan menggunakan prinsip dasar berupa teori totipotensi sel yang didukung dengan sifat plastisitas sel. Teori totipotensi sel merupakan kemampuan suatu sel tunggal untuk beregenerasi menjadi tanaman utuh (Iliev dkk., 2010). Sel-sel tunggal memiliki sifat untuk merespon sinyal lingkungan sehingga sel termodifikasi membentuk jaringan-jaringan serta organ baru dalam proses regenerasinya (Cartono, 2015). Melalui perbanyakan tersebut dapat dihasilkan bibit tanaman yang bebas patogen, seragam, dan bersifat *true-to-type* (Yusnita, 2003).

Perbanyakan dengan kultur jaringan dapat menggunakan pola regenerasi percabangan tunas samping, organogenesis, dan embriogenesis. Masing-masing pola regenerasi dapat diinduksi menggunakan zat pengatur tumbuh (ZPT) berupa sitokinin atau auksin. Penelitian mengenai kultur jaringan tanaman pisang umumnya menggunakan pola regenerasi percabangan tunas samping karena tingginya peluang untuk mendapatkan tanaman yang *true-to-type* dibandingkan dengan pola regenerasi organogenesis atau embriogenesis (Hapsoro dan Yusnita, 2016). Hasil penelitian Sari (2012) menunjukkan bahwa media MS dengan penambahan 6 mg/l BA menghasilkan jumlah tunas aksilar terbanyak pada pisang 'Ambon Kuning' (AAA).

Media MS dengan penambahan sitokinin jenis BA sudah banyak digunakan dalam multiplikasi tunas tanaman pisang secara langsung maupun tidak langsung (kalus atau *scalp*). Fitramala dkk., (2015) melaporkan bahwa pertumbuhan kultur pada tahap multiplikasi tunas pisang ‘Kepok Merah’ salah satunya dimulai dari pembentukan nodul-nodul meristematik berwarna putih atau disebut *scalp*. *Scalp* tersebut kemudian menghijau dan membentuk tunas serta daun muda. Media MS dengan penambahan 5 mg/l BA memberikan *scalp* dalam jumlah yang lebih banyak dan menurun pada konsentrasi BA 7 mg/l. Shirani dkk., (2010) melaporkan bahwa pada kultur pisang ‘Rastali’ (AAB) media MS+7,5  $\mu$ M TDZ mampu menghasilkan 8,89% *scalp*.

Sukmadjaja dkk., (2013) menyatakan bahwa *scalp* atau *multiple bud clumps* (MBC) merupakan biakan tunas yang memiliki daya proliferasi tinggi yang digunakan sebagai bahan tanaman untuk pembentukan tunas atau planlet. Kombinasi media untuk menginduksi *scalp* yang digunakan adalah media MS+0,01 mg/l IAA+10 mg/l asam askorbat dan 5, 10, dan 20 mg/l BA. Sholi dkk., (2009) menambahkan bahwa *scalp* dapat juga diidentifikasi sebagai jaringan meristem *cauliflower like-structures* yang berupa *clumps* kompak yang diinduksi sebagai bahan dalam pembentukan *Embryogenic Cell Suspension* (ECS).

Hasil penelitian Ikhsandi (2017) menunjukkan bahwa media MS+1,5 mg/l TDZ menjadi media yang menghasilkan 2,08 *scalp* per eksplan dengan persentase pembentukan sebesar 100% pada kultur pisang ‘Ambon Kuning’. Lee (2005) mengemukakan bahwa media MS dengan penambahan konsentrasi 2 mg/l TDZ menekan pemanjangan tunas kultur pisang ‘Cavendish’ (AAA) sehingga menjadi

kerdil dan muncul gumpalan berbentuk globular pada pangkal tunas yang diduga sebagai *scalp*. Selanjutnya, *scalp* yang diinduksi menggunakan media MS dengan penambahan 0; 0,2; dan 1 mg/l BA merespon pemberian BA dengan memunculkan banyak tunas (Sukmadjaja dkk., 2013). Ramirez-Villalobos & de Garcia (2008) melaporkan bahwa untuk menginduksi pembentukan *scalp* diperlukan 22-25 mg/l BA, dengan atau tanpa 0,2 mg/l IAA. Konsentrasi BA yang diturunkan dapat mendorong perkembangan *scalp* menjadi tunas. Namun, penelitian mengenai konsentrasi BA yang optimal untuk menginduksi *scalp* menjadi tunas pada kultur pisang 'Ambon Kuning' masih perlu dilakukan.

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

1. Bagaimana respon pertumbuhan dan perkembangan *scalp* pisang 'Ambon Kuning' terhadap pemberian berbagai konsentrasi BA?
2. Berapakah konsentrasi BA yang menghasilkan tunas terbanyak dari *scalp* pisang 'Ambon Kuning'?

## **1.2 Tujuan Penelitian**

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

1. Mengetahui respon pertumbuhan dan perkembangan *scalp* pisang 'Ambon Kuning' terhadap berbagai konsentrasi BA yang diberikan.
2. Mendapatkan konsentrasi BA yang menghasilkan tunas terbanyak dari *scalp* pisang 'Ambon Kuning'.

### 1.3 Kerangka Pemikiran

Yusnita (2003) menyatakan bahwa kultur jaringan merupakan suatu teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman (sel, protoplas, jaringan, atau organ) secara *in vitro* dalam kondisi aseptik dengan kondisi lingkungan terkontrol yang disuplai hara mineral lengkap sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat tumbuh untuk tujuan tertentu. Salah satu bagian tanaman yang umumnya digunakan sebagai bahan tanaman ialah tunas. Pada perbanyakan *in vitro* tanaman pisang, mata tunas yang berada di dalam bonggol digunakan sebagai bahan tanaman. Mata tunas diinduksi untuk menghasilkan tunas dan mata tunas yang lebih banyak menggunakan media dasar dengan penambahan ZPT jenis sitokinin.

Penggunaan sitokinin jenis Benziladenin (BA) untuk menginduksi multiplikasi tunas kultur pisang 'Ambon Kuning' telah dilaporkan oleh Sari (2012) dan Danial (2014). Tunas aksilar terbanyak dihasilkan pada media MS+6 mg/l BA (Sari, 2012) dan pada media MS+5 mg/l BA (Danial, 2014). Selain pembentukan tunas langsung, beberapa penelitian melaporkan bahwa pembentukan tunas dapat melalui *scalp*. Sipe dan Davey (2012) memperoleh nodul meristematik (*scalp*) pada kultur pisang Nangka, Mas, Berangan, dan Awak dari media MS yang mengandung 11 mg/l BA dan 0,2 mg/l IAA. Kemudian *scalp* tersebut tumbuh memanjang menjadi tunas yang banyak apabila dipindahkan ke dalam media yang mengandung 1 mg/l BA. Pada konsentrasi 5-7 mg/l BA, hanya diperoleh diferensiasi langsung yang tumbuh dari eksplan menjadi tunas. Fitramala dkk.,

(2015) menyatakan bahwa tunas yang terbentuk melalui *scalp* memang lebih lambat pertumbuhannya dibandingkan tunas yang dibentuk secara langsung.

Eksplan primer tunas pisang ‘Ambon Kuning’ diinduksi menghasilkan *scalp* menggunakan media MS+ 3 mg/l TDZ. Potensi terbentuknya banyak tunas dari *scalp* menyebabkan perlunya diketahui media yang sesuai untuk perkembangan *scalp* menjadi tunas. Benziladenin (BA) merupakan ZPT yang sering digunakan untuk menginduksi multiplikasi tunas. Pada penelitian ini, perkembangan *scalp* pisang ‘Ambon Kuning’ menjadi tunas diinduksi menggunakan media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi BA.

#### **1.4 Hipotesis**

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

1. Pemberian BA (1-5 mg/l) dapat menginduksi pembentukan tunas dari *scalp* pisang ‘Ambon Kuning’.
2. Peningkatan konsentrasi BA sampai dengan taraf tertentu (1-5 mg/l) dapat menyebabkan peningkatan jumlah tunas dari *scalp* pisang ‘Ambon Kuning’.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Pisang

Indonesia dikenal sebagai salah satu sentra produksi pisang di dunia dan memiliki lebih dari 200 kultivar tanaman pisang (Wibowo dkk., 2009).

Tjitrosoepomo (2000) menjelaskan taksonomi tanaman pisang sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
- Sub Devisi : Angiospermae
- Kelas : Monocotyledonae
- Famili : Musaceae
- Genus : Musa
- Spesies : *Musa paradisiaca* Linn.

Pisang yang saat ini sering dikonsumsi merupakan kultivar hasil persilangan dari dua spesies liar anggota *Musa acuminata* (AA) dan *Musa balbisiana* (BB). Hasil persilangan tersebut adalah turunan hibrid steril dengan genom AAA, AB, AAB, ABB, dan lain-lain. Huruf 'A' dan 'B' menggambarkan banyaknya genom dari nenek moyang diploid dua spesies liar di atas (Sunarjono, 2002).

Pisang terbagi sesuai cara konsumsinya, yaitu pisang *banana* dan pisang *plantain*.

Pisang *banana* dikonsumsi dalam keadaan segar atau biasa disebut pisang meja.

Pisang meja yang digemari di Indonesia antara lain, pisang ‘Ambon Kuning’ (AAA), ‘Ambon Hijau’ (AAA), ‘Ambon Putih’ (AAA), ‘Barangan’ (AAA), ‘Mas’ (AA), ‘Raja Bulu’ (AAB), dan ‘Raja Sereh’ (AAB). Berbeda dengan pisang *banana*, pisang *plantain* dapat dikonsumsi setelah buah dimasak atau diolah, seperti pisang ‘Tanduk’ (AAB), ‘Uli’ (AAB), ‘Kepok’ (BBB), dan ‘Siam’ (ABB) (Valmayor dkk., 2010 dalam Jannah, 2013).

Pisang ‘Ambon Kuning’ dipilih karena memiliki keunggulan, yaitu ukuran buah yang lebih besar dibandingkan pisang ambon lainnya. Kulit buahnya tidak terlalu tebal dan berwarna kuning cerah. Daging buah yang sudah matang berwarna krem dengan rasa manis, pulen, dan aroma yang harum (Yusnita, 2015).

## **2.2 Perbanyak Tanaman Pisang secara Konvensional**

Tanaman pisang memiliki ciri khas berbatang semu yang sesungguhnya merupakan susunan dari pelepah-pelepah daun. Bonggol (*corm*) yang terletak pada bagian bawah, merupakan batang tanaman yang sesungguhnya. Pada bonggol terdapat mata-mata tunas yang akan tumbuh menjadi tunas anakan dan berkembang menjadi tanaman dewasa (Yusnita, 2015). Tunas anakan tersebut digunakan sebagai bahan tanam selanjutnya (Satuhu dan Supriyadi, 2010).

Penggunaan tunas anakan sebagai bahan tanam selanjutnya merupakan ciri dari perbanyak pisang secara konvensional.

Perbanyak secara konvensional dilakukan menggunakan anakan (*sucker*) dan belahan bonggol (*bit*). Menurut Santoso (2013), perbanyak pisang dilakukan

menggunakan anakan langsung, anakan semai, *bit* anakan, dan *bit* bonggol. Jumlah bibit yang berupa anakan relatif sedikit yaitu berkisar 5-12 anakan/rumpun/tahun, sedangkan dari belahan bonggol (*bit*) yang memiliki lima bonggol berdiameter 15 cm dalam satu rumpun dihasilkan 10-20 bibit (Yusnita, 2015).

Menurut Isnaeni (2008), perbanyak secara konvensional belum dapat memenuhi kebutuhan bibit pisang pada skala perkebunan besar. Bibit yang dihasilkan tersebut tidak seragam dan berpotensi membawa inokulum patogen penyebab penyakit seperti cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* dan bakteri *Ralstonia solanacearum*.

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

Penyediaan bibit tanaman dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat dapat dilakukan melalui perbanyak tanaman secara kultur jaringan. Kultur jaringan adalah teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman secara *in vitro*, dalam kondisi aseptik, dengan kebutuhan unsur hara yang terpenuhi, lingkungan yang terkendali, dan penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Hartmann dkk., 2002; Yusnita, 2003). Melalui perbanyak tersebut dapat dihasilkan bibit tanaman yang bebas patogen, seragam, dan bersifat *true-to-type* (Yusnita, 2003). Perbanyak dengan kultur jaringan menggunakan prinsip dasar berupa teori totipotensi sel yang didukung dengan sifat plastisitas sel. Teori totipotensi sel merupakan kemampuan suatu sel tunggal untuk beregenerasi menjadi tanaman utuh (Iliev dkk., 2010). Sel-sel tunggal memiliki sifat untuk merespon sinyal lingkungan sehingga sel termodifikasi membentuk jaringan-jaringan serta organ

baru dalam proses regenerasinya (Cartono, 2015). Regenerasi sel menjadi tanaman utuh memerlukan tahapan-tahapan yang umumnya sama pada beberapa jenis tanaman.

Tahapan-tahapan perbanyak tanaman pisang secara *in vitro* yang dilakukan dalam penelitian ini sesuai Yusnita (2003), yaitu:

1. Tahap 0 merupakan tahap pemilihan dan penyiapan tanaman induk sebagai sumber eksplan. Tanaman induk yang dipilih harus jelas jenis, spesies, dan kultivarnya, serta sehat dan bebas dari hama penyakit. Eksplan diambil dari bagian tanaman induk yang memiliki daya regenerasi tinggi, seperti mata tunas pada bagian bonggol tanaman pisang. Kualitas eksplan menentukan keberhasilan kultur. Eksplan yang sehat dan *vigorous* memungkinkan untuk menghasilkan kultur yang baik.
2. Tahap 1 merupakan tahap *culture establishment* (sterilisasi eksplan, penanaman eksplan dalam media kultur, dan inisiasi tunas) yang bertujuan untuk mendapatkan kultur yang aseptik. Sterilisasi dilakukan pada eksplan menggunakan fungisida Dithane M-45, detergen, Bayclin, dan Tween-20 sebanyak 2 tetes/100 ml. Kondisi steril pada kultur dapat mempengaruhi kecepatan inisiasi tunasnya.
3. Tahap 2 merupakan tahap *multiplication* atau tahap perbanyak propagul, tunas aksilar, atau embrio yang dilakukan dengan mengondisikan eksplan untuk berada pada lingkungan hormonal. Pada tahap ini, eksplan disubkultur ke dalam media yang sesuai pada waktu atau umur yang tepat ( $\pm$  umur 3 minggu) untuk mengurangi potensi terjadinya *vitrifikasi* dan penyimpangan genetik.

4. Tahap 3 merupakan *root formation* atau tahap pembentukan akar yang disertai dengan pemanjangan tunas. Tahapan ini menjadi tahap terakhir sebelum propagul ditransfer ke lingkungan eksternal (aklimatisasi).
5. Tahap 4 merupakan tahap pemindahan propagul ke lingkungan eksternal atau *acclimatization*. Tahapan ini dimulai dengan mengeluarkan botol kultur berisi propagul dari lingkungan terkontrol (ruang kultur) ke ruangan yang mendapatkan cahaya matahari dengan intensitas yang berangsur meningkat dan memiliki kelembaban nisbi yang berangsur menurun. Apabila propagul merespon dengan memunculkan warna daun hijau tua dan posisi tajuk yang tegak maka propagul siap untuk diaklimatisasi.

Hal penting yang mendukung tahapan-tahapan regenerasi sel menjadi tanaman utuh adalah pemeliharaan kultur. Lingkungan tumbuh kultur sangat mempengaruhi regenerasi tanaman pisang *in vitro* (suhu, lama penyinaran, dan intensitas cahaya). Suhu optimum yang digunakan adalah  $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan lama penyinaran umumnya  $\pm 12$  jam di bawah lampu fluoresens (lampu TL) dan intensitas cahaya sesuai dengan tahapan regenerasi. Intensitas cahaya yang optimum untuk tahap inisiasi adalah 0-1.000 lux, untuk tahap multiplikasi sebesar 1.000-10.000 lux, tahap pengakaran sebesar 10.000-30.000 lux, dan tahap aklimatisasi sebesar 30.000 lux (Yusnita, 2003).

Kondisi lingkungan tumbuh kultur yang terkontrol akan mempengaruhi perbanyakan pisang *in vitro* apabila didukung dengan penggunaan media dasar (*basal medium*) dan penambahan ZPT yang tepat. Media dasar berisi garam-garam mineral yang telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan

dan perkembangan tanaman yang dikulturkan, misalnya media MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang banyak digunakan karena cocok untuk banyak spesies tanaman (Abidin, 2004) dan media *Woody Plant* (Llyod dan McCown, 1980).

Hasil penelitian Sari (2012) menunjukkan bahwa media MS dengan penambahan 6 mg/l BA menghasilkan jumlah tunas aksilar terbanyak pada pisang 'Ambon Kuning' (AAA). Rahman dkk., (2004) melaporkan bahwa media MS dengan penambahan 5 mg/l BA merupakan konsentrasi yang paling baik untuk multiplikasi tunas pisang klon BARI-1. Hasil penelitian Hapsari dan Astutik (2009) menunjukkan bahwa penambahan 4 mg/l BA menghasilkan tunas terbanyak yaitu 3,46 tunas/eksplan pada kultur pisang 'Barangan'. Muhammad dkk., (2007) melaporkan bahwa pemberian 2-6 mg/l BA mampu meningkatkan jumlah tunas pisang 'Basrai' kemudian penurunan jumlah terjadi pada konsentrasi BA 8 mg/l. Penelitian Avivi dan Ikrarwati (2004) melaporkan bahwa konsentrasi BA 5 mg/l mampu menghasilkan planlet terbanyak seperti media dengan ZPT kinetin 7 mg/l pada pisang 'Abaka'.

Media MS dengan penambahan sitokinin telah banyak digunakan dalam penelitian multiplikasi tunas tanaman pisang secara langsung. Namun, Fitramala dkk., (2015) melaporkan bahwa pertumbuhan kultur pada tahap multiplikasi tunas pisang 'Kepok Merah' salah satunya dapat dimulai dari pembentukan nodul-nodul meristematik berwarna putih atau disebut *scalp*. Sukmadjaja dkk., (2013) menyatakan bahwa *scalp* atau *multiple bud clumps* (MBC) merupakan biakan tunas yang memiliki daya proliferasi tinggi yang digunakan sebagai bahan tanaman untuk pembentukan tunas atau planlet. Sholi dkk., (2009) menambahkan

bahwa *scalp* dapat juga diidentifikasi sebagai jaringan meristem *cauliflower like-structures* yang berupa *clumps* kompak yang diinduksi sebagai bahan dalam pembentukan *Embryogenic Cell Suspension* (ECS).

Kombinasi media untuk menginduksi *scalp* yang digunakan adalah media MS+0,01 mg/l IAA+10 mg/l asam askorbat dan 5, 10, dan 20 mg/l BA (Sukmadjaja dkk., 2013). Shirani dkk., (2010) melaporkan bahwa pada kultur pisang 'Rastali' (AAB) media MS+7,5  $\mu$ M TDZ mampu menghasilkan 8,89% *scalp*. Fitramala dkk., (2015) melaporkan bahwa media MS dengan penambahan 5 mg/l BA memberikan *scalp* dalam jumlah yang lebih banyak dan menurun pada konsentrasi BA 7 mg/l. Ikhsandi (2017) melaporkan bahwa media MS dengan penambahan 1,5 mg/l TDZ menjadi media yang menghasilkan persentase pembentukan *scalp* sebesar 100%.

Fitramala dkk (2015) menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan tunas yang berasal dari *scalp* memang lebih lambat dibandingkan tunas yang dihasilkan secara langsung pada pisang 'Kepok Merah'. Penelitian mengenai media untuk menginduksi perkembangan *scalp* menjadi tunas sudah dilaporkan oleh Sukmadjaja dkk., (2013), Srangsam (2003), dan Sipe dan Davey (2012). Sukmadjaja dkk., (2013) melaporkan bahwa persentase *scalp* tumbuh dalam media MS dengan penambahan 0; 0,2; 1 mg/l BA adalah sebesar 100%. Namun, media tanpa pemberian BA lebih mengarah pada pertumbuhan tunas dan perakaran yang lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Srangsam (2003) melaporkan bahwa pada kultur pisang kultivar Gross Michel (AAA), media MS dengan 1,5 mg/l 2,4-D menyebabkan induksi kalus embriogenik

dengan persentase pembentukan 100% dan 2 mg/l TDZ mampu mematangkan kalus tersebut menjadi tunas. Sipek dan Davey (2012) melaporkan bahwa *scalp* tumbuh memanjang menjadi tunas yang banyak apabila dipindahkan ke dalam media yang mengandung 1 mg/l BA.

Ramirez-Villalobos & de Garcia (2008) melaporkan bahwa untuk menginduksi pembentukan *scalp* diperlukan 22-25 mg/l BA, dengan atau tanpa 0,2 mg/l IAA. Konsentrasi yang tinggi diduga dapat mendorong pembentukan *scalp*, yang akan tumbuh menjadi tunas apabila konsentrasi BA diturunkan.

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

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

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Ilmu Tanaman Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung sejak bulan November 2016 hingga Januari 2018.

#### **3.2 Bahan Tanaman**

Kultivar yang digunakan adalah pisang ‘Ambon Kuning’. Bonggol pisang didapatkan dari Desa Sepakat, Kecamatan Gedong Tataan, Kabupaten Pesawaran. Bonggol pisang berasal dari anakan pedang yang memiliki kriteria panjang batang semu berkisar antara 30-80 cm dan daun masih menggulung.



Gambar 1. Anakan pedang.

### 3.3 Sterilisasi Botol dan Alat

Sterilisasi botol dilakukan 2 tahap menggunakan autoklaf. Tahap pertama, botol kultur disterilisasi menggunakan autoklaf Buddenberg selama 3 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>. Setelah proses sterilisasi selesai, autoklaf dimatikan dan dibiarkan hingga suhu dan tekanan menurun. Botol dikeluarkan lalu sisa media tanam dibuang dan bagian dalam botol dicuci menggunakan air yang telah dicampur *detergent* dan desinfektan. Pencucian pertama dilakukan untuk menghilangkan sisa media tanam dalam botol dan sisa label pada dinding luar botol. Botol yang sudah bersih dari media tanam dan sisa label direndam dalam air yang telah dicampur *detergent* dan desinfektan selama 1 malam.

Selanjutnya, botol yang telah direndam dicuci kembali hingga tampak lebih bersih dan dibilas di bawah air mengalir. Botol yang telah bersih direndam dalam air panas yang telah ditambahkan desinfektan selama 5 jam. Setelah itu, botol dicuci kembali dan dibilas menggunakan air mengalir lalu direndam menggunakan air panas kembali selama 15 menit. Botol ditiriskan dan ditutup dengan plastik menggunakan karet. Tahap kedua sterilisasi botol kultur menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>.

Sterilisasi alat yang digunakan dalam kultur jaringan merupakan salah satu syarat kondisi aseptik. Alat yang digunakan berupa alat diseksi (*pinset* dan *scalpel*), cawan petri, keramik, botol schott, labu erlenmeyer 1000 ml, kapas, dan gelas ukur. Alat-alat dicuci bersih dan ditiriskan. Alat diseksi, cawan petri, dan keramik dibungkus menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam plastik yang tahan panas. Sebelum disterilisasi, botol schott ditambahkan air sampai 3/4

volume botol lalu ditutup tidak terlalu rapat. Air di dalam botol schott akan memenuhi kebutuhan air steril saat akan sterilisasi eksplan. Labu erlenmeyer 1000 ml disterilisasi dengan menutup mulut labu menggunakan *aluminium foil*. Kapas bersih dimasukkan ke dalam botol kultur steril dan ditutup kembali. Gelas ukur yang akan digunakan ditutup bagian mulutnya menggunakan *aluminium foil* atau plastik yang tahan panas. Alat-alat yang telah disiapkan harus disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>.

### **3.4 Media Kultur**

Penelitian ini menggunakan media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962) pada 3 macam media, yaitu media prekondisi dengan media dasar MS dan penambahan 5 mg/l BA, media induksi *scalp* dengan media dasar MS dan penambahan 3 mg/l TDZ, dan media perlakuan dengan media dasar MS dengan penambahan 0-5 mg/l BA. Formulasi dari masing-masing media terdapat pada Tabel 1. Pembuatan ketiga media tersebut dilakukan setelah alat-alat yang akan digunakan dipersiapkan. Alat gelas (botol kultur; labu ukur ukuran 500 ml dan 1000 ml; dan gelas ukur ukuran 2000 ml) dan non gelas (gelas beaker ukuran 2000 ml, 1000 ml, dan 500 ml; gelas ukur ukuran 10 ml; pipet tetes; magnet; pinset; spatula; dan panci) sudah dalam keadaan bersih dari kotoran. Alat gelas dan non gelas yang akan digunakan sebaiknya dibilas dengan aquades terlebih dahulu. Bahan-bahan kimia yang akan digunakan dibuat menjadi beberapa larutan stok yaitu stok makro, mikro A, mikro B, CaCl, Fe-EDTA, mio-inositol, Vitamin MS, Vitamin SE, dan ZPT (BA dan TDZ). .

Tabel 1. Formulasi media prekondisi, media induksi *scalp*, dan media perlakuan dengan menggunakan media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962).

Bahan Kimia	Media Prekondisi (mg/l)	Media Induksi <i>Scalp</i> (mg/l)	Media Perlakuan (mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.650	1.650	1.650
KNO <sub>3</sub>	1.900	1.900	1.900
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	370	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	170	170
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440	440	440
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2	6,2
Mn.SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	16,9	16,9	16,9
Zn.SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6	8,6
KI	0,83	0,83	0,83
Na <sub>2</sub> .MoO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,25	0,25	0,25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,025
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	37,3	37,3
Tiamin-HCl	0,1	2,0	0,1
Piridoksin-HCl	0,5	2,0	0,5
Asam Nikotinat	0,5	2,0	0,5
Glisin	2,0	2,0	2,0
Ca-panthotenat	-	2,0	-
Mio-inositol	100	100	100
Asam Sitrat	50	50	50
Asam Askorbat	150	150	150
BA	5	-	0 – 5
TDZ	-	3	-
Air Kelapa	-	150 ml/l	-
Sukrosa	30.000	30.000	30.000

Pembuatan media dimulai dengan melarutkan bahan-bahan kimia sesuai formulasi hingga homogen. Larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* lalu ditera dengan menambahkan aquades pada labu ukur sesuai kebutuhan media. Setelah ditera, larutan dihomogenkan kembali bersamaan dengan pengukuran pH menggunakan pH meter. Penetapan pH menjadi senilai 5,8 dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes KOH 1 N apabila pH kurang dari 5,8 dan menambahkan beberapa tetes HCl 1 N apabila pH lebih dari 5,8. Larutan media

yang sudah diukur pHnya dimasukkan ke dalam panci yang telah berisi 7 g/l agar-agar lalu dimasak hingga mendidih. Pengadukan dilakukan secara terus-menerus selama proses pemasakan sehingga agar-agar tercampur dan tidak mengendap. Setelah mendidih, media dituangkan sebanyak 25-30 ml ke dalam botol kultur steril yang telah disiapkan lalu ditutup menggunakan plastik tahan panas dan diikat dengan karet. Pemberian label komposisi media pada botol kultur dapat dilakukan saat persiapan alat atau pun setelah penuangan media. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>.

### **3.5 Persiapan Eksplan**

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian berupa eksplan jaringan meristem yang terdapat diantara batang semu dan bonggol tanaman pisang. Pengambilan bonggol yang akan diteliti dilakukan dengan menggali tanah di sekitar anakan, kemudian rumpun induk dipisahkan dengan bonggol anakan menggunakan cangkul atau pengungkit. Setelah itu, beberapa lapisan batang semu dikelupas dari bonggol pisang menggunakan pisau sampai tersisa permukaan batang semu yang berwarna putih (sekitar 4 lapisan). Panjang batang semu berkisar antara 5-7 cm. Bagian bonggol dipotong membentuk segi 5 dengan ukuran diameter 3-5 cm dan panjang 5-7 cm. Kemudian eksplan berdiameter 3-5 cm direndam dalam 2 liter air yang ditambahkan 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida Dithane M-45 selama ± 30 menit. Eksplan yang telah direndam kemudian dibawa ke dalam laboratorium untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan eksplan pada ruang transfer.



Gambar 2. (A) Persiapan eksplan dari bonggol (B) calon eksplan berukuran batang semu 3 cm dan bonggol 5 cm.

### 3.6 Sterilisasi dan Penanaman Eksplan

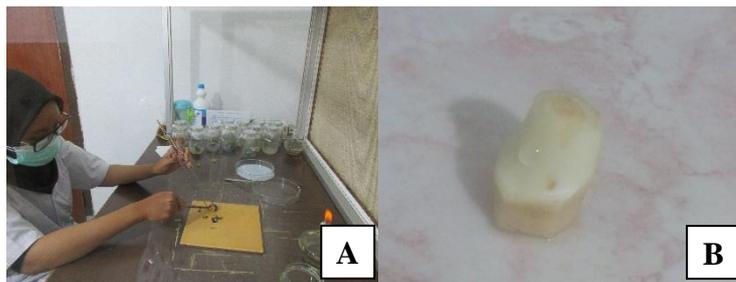
Permukaan eksplan disterilisasi di dalam ruang persiapan dan ruang transfer Laboratorium Ilmu Tanaman. Sterilisasi dilakukan dengan mengecilkan eksplan yang semula berdiameter 3-5 cm dan panjang 5-7 cm menjadi 4 cm dengan 3 lapisan. Eksplan yang telah dikecilkan kemudian direndam dalam larutan detergen selama 10-25 menit. Selanjutnya, eksplan dibilas di bawah air mengalir sehingga fungisida dan kotoran yang tertinggal tidak menempel pada permukaan eksplan. Eksplan yang sudah dibilas kemudian dimasukkan ke dalam botol schott untuk dilakukan sterilisasi permukaan di dalam ruang tanam.

Sterilisasi permukaan eksplan di ruang tranfer dilakukan pada kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC). Sterilisasi permukaan eksplan dilakukan dalam tiga tahap, yaitu pertama dengan menggunakan larutan Bayclin (5,25% NaOCl) 50% selama 30 menit, kedua menggunakan larutan Bayclin 35% selama 10 menit, dan ketiga menggunakan larutan Bayclin 15% selama 5 menit.

Tahap pertama yaitu bayclin 50% dilakukan dengan melarutkan 50 ml cairan pemutih dengan 50 ml air steril. Larutan Bayclin 50% tersebut dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer ukuran 1000 ml yang berisi eksplan lalu ditambahkan detergen cair (Tween-20) sebanyak 2 tetes/100 ml dan selanjutnya dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 30 menit. Setelah melakukan *shaking*, eksplan dibilas sebanyak 3 kali menggunakan air steril di dalam LAFC sampai tidak ada busa yang menempel. Eksplan dikecilkan kembali sampai ukuran bonggol 2 cm dan panjang batang semu 2 cm lalu direndam dalam larutan asam askorbat (150 mg/l) steril selama 10 menit.

Sterilisasi tahap kedua dilakukan dengan melarutkan 35 ml cairan pemutih menggunakan 65 ml air steril pada botol kultur steril yang telah berisi eksplan berukuran 2x2 cm lalu ditambahkan detergen cair (Tween-20) sebanyak 2 tetes/100 ml. Eksplan dikocok menggunakan tangan selama 10 menit di dalam LAFC lalu dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Eksplan dibersihkan dan dikecilkan kembali sampai ukuran bonggol 2 cm dan panjang batang semu 1 cm menggunakan alat diseksi.

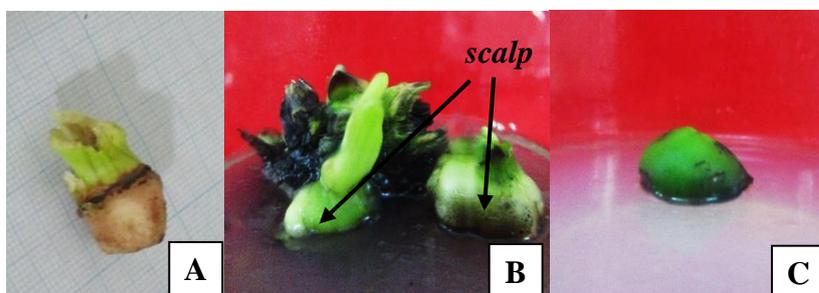
Selanjutnya, dilakukan sterilisasi tahap ketiga menggunakan larutan Bayclin 15%. Botol kultur steril berisi eksplan ditambahkan 15 ml cairan pemutih dan 85 ml air steril, lalu ditutup dan divakum selama 5 menit. Setelah itu eksplan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali dan ditanam dalam media prekondisi dan diinkubasi selama 4 minggu. Jumlah keseluruhan eksplan yang berada pada media prekondisi sebanyak 160 eksplan. Eksplan yang dibutuhkan untuk penelitian sebanyak 90 eksplan.



Gambar 3. (A) Proses penanaman (B) eksplan yang akan ditanam dalam media prekondisi.

### 3.7 Transfer Eksplan dan Subkultur

Eksplan yang telah berumur 4 minggu dalam media prekondisi dibersihkan bagian-bagian yang menghitam lalu dicacah batang semuanya menjadi 8 bagian (Gambar 4A). Eksplan ditransfer ke dalam media induksi *scalp* dengan ukuran yang hampir seragam lalu diinkubasi kembali selama 4 minggu. *Scalp* yang digunakan sebagai bahan tanam memiliki kriteria, yaitu berbentuk bulat pipih, permukaan sedikit berbintil dan tidak rata, serta berwarna hijau kekuningan (Gambar 4C). Pemanenan *scalp* dilakukan saat eksplan berumur 4 minggu dalam media induksi *scalp* dengan cara memisahkan *scalp* dari bonggol induknya. Kemudian, *scalp* disubkultur ke dalam media perlakuan dan diinkubasi selama 9 minggu (Gambar 4D).



Gambar 4. (A) Eksplan yang telah dicacah, (B) kriteria *scalp* yang akan disubkultur, dan (C) *scalp* yang telah disubkultur.

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

Ruang kultur digunakan untuk menyimpan dan memelihara kultur. Eksplan-eksplan yang bersih diinkubasi dalam ruangan ini. Ruang kultur berisi rak-rak untuk meletakkan botol kultur. Kebutuhan eksplan akan cahaya di dalam ruang kultur dipenuhi oleh pencahayaan lampu fluoresens (lampu TL) yang dipasang pada langit-langit rak yang berjarak sekitar 20 cm di atas botol dengan kuat penerangan 1000-2000 lux selama 12 jam. Ruang kultur dilengkapi dengan AC (*Air Conditioner*) untuk mengkondisikan suhu tetap pada  $24 \pm 2$  °C.

### **3.9 Rancangan Percobaan dan Analisis Data**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 3 ulangan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol kultur yang masing-masing berisi satu eksplan. Enam perlakuan ZPT ditambahkan ke dalam media dasar MS (Murashige and Skoog, 1962). Perlakuan yang diujikan dalam penelitian ini adalah konsentrasi BA (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/l).

Keseragaman data dalam penelitian ini diuji dengan Uji Bartlet. Apabila asumsi terpenuhi, selanjutnya dilakukan analisis ragam. Adapun pengujian lanjut dilakukan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf  $\alpha$  0,05.

### **3.10 Pengamatan**

Pengamatan dilakukan 1 kali dalam 2 minggu dimulai pada umur 1 minggu sampai dengan umur 9 minggu dalam media perlakuan. Variabel yang diamati ialah berikut ini.

1. Diameter *scalp*

Diameter *scalp* merupakan pengukuran panjang *scalp* atau panjang penyebaran *scalp* yang dilakukan menggunakan penggaris.

2. Jumlah *scalp*

Jumlah *scalp* merupakan penghitungan jumlah *scalp* baru yang muncul pada eksplan setelah diberikan perlakuan.

3. Jumlah tunas

Jumlah tunas merupakan penghitungan tunas yang memiliki panjang minimal 0,5 cm.

4. Jumlah mata tunas

Jumlah mata tunas merupakan penghitungan tunas yang memiliki panjang maksimal 0,5 cm.

5. Panjang tunas

Panjang tunas merupakan pengukuran semua tunas yang muncul yang dilakukan menggunakan penggaris.

6. Tunas terpanjang

Tunas terpanjang merupakan pengukuran 1 tunas terpanjang yang dilakukan menggunakan penggaris dari batas media sampai daun tertinggi.

7. Jumlah daun

Jumlah daun merupakan penghitungan daun pada *scalp*.

8. Jumlah akar

Jumlah akar merupakan penghitungan akar pada *scalp*.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

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

1. Tunas terbentuk dari *scalp* yang dikulturkan dalam media tanpa penambahan BA.
2. Pemberian BA sampai dengan konsentrasi 3 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas. Jumlah tunas terbanyak (3,67 tunas per eksplan) dihasilkan dari *scalp* yang dikulturkan dalam media yang mengandung 3 mg/l BA.
3. Selain menghasilkan tunas, *scalp* yang dikulturkan juga menghasilkan *scalp* baru dalam media yang tidak diberi BA maupun yang diberi BA (1-5 mg/l).
4. Peningkatan konsentrasi BA sampai dengan 3 mg/l menyebabkan peningkatan diameter *scalp*. Diameter *scalp* terbesar (2,40 cm per eksplan) dihasilkan dalam media yang mengandung 3 mg/l BA.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lanjutan menggunakan tunas hasil perkembangan *scalp* dalam media MS yang mengandung beberapa ZPT jenis sitokinin. Hal tersebut

perlu dilakukan untuk mengetahui jenis sitokinin yang tepat untuk multiplikasi tunas yang diduga cenderung memiliki daya proliferasi tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2004. *Dasar Pengetahuan Ilmu Tanam*. Angkasa. Bandung.
- Avivi, S. dan Ikrarwati. 2004. Mikropropagasi pisang abaca (*Musa textilis* Nee) melalui teknik kultur jaringan. *Ilmu Pertanian* 11(2) : 27-34.
- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2017. Produksi Pisang Menurut Provinsi 2012-2016. [http://www.pertanian.go.id/ap\\_pages/mod/datahorti](http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti). Diakses pada 5 Juli 2017.
- Cartono. 2005. *Penuntun praktikum Ekologi Tumbuhan*. Bandung.
- Damayanti, F. dan Samsurianto. 2010. Konservasi *in vitro* plasma nutfah untuk aplikasi di bank gen. *Bioprospek* 7(2) : 1-6.
- Danial, E. 2014. *Perbanyakan In Vitro Tanaman Pisang Ambon Kuning dan Raja Bulu*. (Tesis). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 51 hlm.
- FAO. 2014. FAO urges countries to step up action against destructive banana disease. <http://www.fao.org/news/story/en/item/223409/icode/>. Diakses pada 28 Juli 2017.
- Fitramala, E., E. Khaerunisa, N. R. Djuita, H. Sunarso, dan D. Ratnadewi. 2015. Kultur *in vitro* pisang (*Musa paradisiaca* L.) cv. Kepok Merah untuk mikropropagasi cepat. *Menara Perkebunan* 84(2) : 70-75.
- George, E. F., M. A. Hall, and Geert-Jan De Klerk. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 1(3) : 205-227. Springer. Dordrecht.
- George, E. F. dan P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Hand Book and Directory of Comercial Laboratories*. Eastern Press, Reading, Berks. England. 9-449.
- Hapsari, R.I. dan Astutik. 2009. Uji konsentrasi IAA (indole acetic acid) dan BA (benzyladenine) pada multipikasi pisang varietas Barangan secara *in vitro*. *Buana Sains* 9(1) : 11-16.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2016. *Kultur Jaringan untuk Perbanyakan Klonal Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung. 120 hlm.

- Hartmann, H. T., D. E. Kester., F. T. Davies, and R. L. Geneve. 2002. Part IV Cell and Tissue Culture Propagation. *In: Plant Propagation Principle and Practies (7) : 639-707*. Upper Saddle River. New Jersey.
- Ikhsandi, A. 2017. *Pembentukan Scalp dan Tunas Pada Kultur In Vitro Tanaman Pisang Ambon Kuning Sebagai Respons Terhadap Berbagai Konsentrasi Thidiazuron*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 60 hlm.
- Iliev, I., A. Gadjošová, G. Libiaková, and S. M. Jain. 2010. Plant Micropropagation. *In: Plant Cell Culture*. M. R. Davey and P. Anthony (Eds) : 1-20. John Wiley & Sons, Ltd. New Jersey.
- Indian Horticulture Database. 2014. *Indian Horticulture Database-2013*. New Delhi. India.
- Isnaeni, N. 2008. *Pengaruh TDZ Terhadap Inisiasi dan Multiplikasi Kultur In Vitro Pisang Raja Bulu (Musa paradisiacal L. AAB group)*. (Skripsi). IPB Press. Bogor. 60 hlm.
- Jannah, H. F. K. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Pisang 'Raja Bulu' (Genom AAB)*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 67 hlm.
- Kasutjianingati., R.P. Widodo, N. Khumaida, dan D. Efendi. 2011. Pengaruh media induksi terhadap multiplikasi tunas dan pertumbuhan planlet pisang Rajabulu (AAB) dan pisang Tanduk (AAB) pada berbagai media multiplikasi. *J. Agron. Indonesia* 39(3) : 180-187.
- Kasutjianingati. 2004. *Pembiakan Mikro Berbagai Genotipe Pisang (Musa Spp) dan Potensi Bakteri Endofitik terhadap Layu Fusarium (Fusarium Oxysporum F. Sp. Cubense)*. (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lee, S. W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. *Acta Horty* 692 : 67-74.
- Lerch K. 1981. *Tyrosinase Kinetics: A Semi-Quantitative Model Of The Mechanism Of Oxidation Of Monohydric And Dihydric Phenolic Substrates*. In Sigel, H. (Ed.). *Metal Ions in Biology System*. 13 Marcel Dekker Inc., New York, Basel. 143-186.
- Llyod, G dan B.H. McCown. 1980. *Commercially Feasible Micropropagation of Mountain Laurel, Kalmia latifolia by Use of Shoot Tip Culture*. Proc International Plant Propagation Society (30) : 421-427.
- Muhammad, A., H. Rashid, dan I. Hussain. 2007. Proliferation-rate effects of BAP and kinetin on banana (*Musa spp.* AAA group) 'Basrai'. *HortScience* 42(5) : 1253-1255.

- Murashige, T dan F. Skoog. 1962. A reevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarium* 15 : 473-497.
- Primawati, E. 2006. *Perbanyakan Cendana (Santalum album Linn.) secara Kultur In Vitro dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Sitokin (BAP dan Kinetin)*. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hlm.
- Rahman M. Z., K. M. Nasiruddin, M. A. Amin, & M. N. Islam. 2004. *In vitro* response and shoot multiplication of banana with BA and NAA. *Asian J of Plant Sci* 3 : 406-409.
- Ramirez-Villalobos M & E. de Garcia. 2008. Obtainment of embryogenic cell suspensions from scalps of the banana CIEN-BTA-03 (*Musa* sp., AAAA) and regeneration of the plants. *Electron J Biotechnol* 11 (5). Special Issue.
- Santoso, P. J. 2013. *Produksi Benih Pisang dari Rumpun In Situ secara Konvensional*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian. 11 hlm.
- Sari, E. P. 2012. *Multiplikasi Tunas Pisang Ambon Kuning sebagai Respon terhadap Konsentrasi Benzyladenine dan Indole-3-acetic acid*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 70 hlm.
- Satuhu, S. dan A. Supriyadi. 2010. *Pisang: Budi Daya, Pengolahan, & Prospek Pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta. 124 hlm.
- 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., Sariah, M., Zakaria, W., dan Maziah, M. 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.
- Sipen, P. dan M.R. Davey. 2012. Effects of N<sup>6</sup>-benzylaminopurine and indole acetic acid on *in vitro* shoot multiplication, nodule-like meristem proliferation and plant regeneration of Malaysian bananas (*Musa* spp.). *Trop Life Sci Res* 23(2) : 67-80.
- Srangsam A., K. Kanchanapoom. 2003. Thidiazuron induced plant regeneration In callus culture of triploid banana (*Musa* sp.) 'Gross Michel', AAA group. Songklanakarin. *J. Sci. Technol* 25(6) : 689-696.

- Sukmadjaja, D. 2013. Seleksi *in vitro* dan pengujian mutan tanaman pisang ambon kuning untuk ketahanan terhadap penyakit layu fusarium. *Jurnal AgroBiogen* 9 (2) : 66-76.
- Sunarjono, H. 2002. *Budidaya Pisang dengan Bibit Kultur Jaringan*. Swadaya. Jakarta. 115 hlm.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Morfologi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 268 hlm.
- Wibowo, A., S. Subandiyah, I. M. Soedharma, Y. Supriati, dan Y. Suryadi. 2009. Perakitan Tanaman Pisang Kepok Kuning Tahan terhadap Penyakit Darah dan Layu Fusarium melalui Variasi Somaklonal dan Simbiosis Endofitik (Tahun II). *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 16(1) : 15-21.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia. Jakarta. 103 hlm.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Aura Publishing. Bandar Lampung. 104 hlm.