

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

(Skripsi)

Oleh

ADI NOOR PRAYOGI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

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

Oleh

ADI NOOR PRAYOGI

Pembentukan *scalp* dan tunas pisang ‘Tanduk’ dengan kultur jaringan dilakukan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh *thidiazuron* (TDZ) ke dalam media kultur. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh konsentrasi ‘Tanduk’. Sumber eksplan pisang ‘Tanduk’ berasal dari bonggol yang berupa anakan pedang. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak lengkap (RAL) 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 diulang tiga kali. Masing-masing satuan percobaan terdiri dari 6 – 7 botol kultur dengan jumlah 1 eksplan per botol. Media dasar yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) dengan modifikasi vitamin MS dengan kandungan tiamin-HCl, Pirodoxin-HCl, asam nikotinat, dan glisin masing-masing 2mg/l dan penambahan 150 ml/l CW (*coconut water*). Analisis data dilakukan menggunakan analisis ragam dan pemisahan nilai tengah dilakukan dengan BNT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi TDZ dari 0,5 mg/l menjadi 1 mg/l meningkatkan rata-

rata jumlah *scalp* . Peningkatan konsentrasi TDZ lebih lanjut akan menurunkan jumlah *scalp* yang terbentuk. Penggunaan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l merupakan media terbaik yang menghasilkan rata-rata jumlah mata tunas dan tunas masing yaitu 1,8 per eksplan. Peningkatan konsentrasi TDZ lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah mata tunas dan tunas per eksplan. *Scalp* yang berasal dari konsentrasi 0,5 mg/l ketika disubkulturkan ke media MS + BA 5 mg/l pada 4 MSP tertinggi dihasilkan dari eksplan *scalp* yang berada di media MS + TDZ 0,5 mg/l yaitu 3,8 tunas per eksplan.

Kata kunci: embrio somatik, *in vitro*, pisang ‘Tanduk’, proliferasi, *scalp*, thidiazuron

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

Oleh

ADI NOOR RRAYOGI

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 DAN TUNAS PADA KULTUR *IN VITRO* TANAMAN PISANG TANDUK SEBAGAI RESPON PADA BERBAGAI KONSENTRASI THIDIAZURON**

Nama Mahasiswa : **Adi Noor Prayogi**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414121003

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



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



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

2. Ketua Jurusan Agroteknologi



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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



.....

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



.....

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



.....

2. Dekan Fakultas Pertanian




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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **4 Juni 2018**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul “**Pembentukan Scalp Dan Tunas Pada Kultur *In Vitro* Tanaman Pisang Tanduk Sebagai Respon Pada Berbagai Konsentrasi Thidiazuron**” adalah karya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiatisme.
2. Pembimbing penulisan skripsi ini berhak mempublikasikan seluruh isi skripsi ini pada jurnal ilmiah dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 16 Juli 2018
Pembuat Pernyataan,



Adi Noor Prayogi
NPM 1414121003

RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan di Desa Pekalongan, Kecamatan Pekalongan, Kabupaten Lampung Timur, pada 12 Juni 1996. Penulis merupakan anak pertama dari 3 bersaudara dari pasangan Bapak Samadi dan Ibu Srimawarni. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan pada tahun 2008 di SD Negeri 2 Tulusrejo, Sekolah Menengah Pertama tahun 2011 di SMP Negeri 1 Pekalongan, Sekolah Menengah Atas pada tahun 2014 di SMA Negeri 5 Metro. Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa di Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum mata kuliah Teknik Kultur Jaringan (Semester Ganjil tahun ajaran 2016/2017), Dasar-dasar Fisiologi tumbuhan (Semester Genap tahun ajaran 2016/2017), Teknik Perbanyak Tanaman (Semester Genap 2017/2018). Penulis juga tergabung dalam organisasi kampus sebagai anggota bidang Pengembangan Masyarakat Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (PERMA AGT) (2014/2015), Unit Kegiatan Eksternal sebagai wakil ketua Departemen KOMINFO IKAM LAMTIM pada tahun 2014/2015, dan sebagai anggota Departemen PSDM IKAM LAMTIM pada tahun 2015/2016. Selain aktivitas di kampus, penulis aktif dalam organisasi masyarakat dan menjabat sebagai sekretaris umum Kelompok Tani Godong Ijo Pekalongan pada tahun 2015 sampai dengan sekarang.

Pada Tahun 2016, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sri Pendowo, Kecamatan Bangun Rejo, Kabupaten Lampung Tengah. Pada tahun yang sama penulis juga melaksanakan Praktik Umum (PU) di Laboratorium Kultur Jaringan (MTC) Great Giant Food (GGF), Lampung Tengah.

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah rabbil'alam, dengan penuh rasa syukur saya
persembahkan karya ini kepada :

Ayah, ibu, dan adikku yang saya cintai

Sebagai tanda terimakasihku atas doa dan dukungan yang tiada henti
sampai saat ini,

Serta untuk almamater yang saya banggakan

UNIVERSITAS LAMPUNG

"Dan barangsiapa berusaha, maka sesungguhnya usahanya itu untuk dirinya sendiri."

(Al-Ankabut : 6)

"Dan bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya, dan sesungguhnya usahanya itu kelak akan diperlihatkan (kepadanya), kemudian akan diberi balasan kepadanya dengan balasan yang paling sempurna."

(An-Najm : 39-41)

"Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mengubah apa yang ada pada diri mereka."

(Ar-Ra'd :11)

"Sesungguhnya kesuksesan orang bukan terlahir dari latar belakang keluarganya, namun kesuksesan terlahir dari usaha diri mereka sendiri yang selalu diiringi doa"

(Adi Noor Prayogi)

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 Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si. selaku Ketua Jurusan Agroteknologi.
3. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc selaku dosen Pembimbing Utama penelitian. Terimakasih atas ide, waktu, kesabaran, serta bimbingan yang dicurahkan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc., selaku Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktu, nasehat, saran, pengarahan, dan bimbingan dalam menulis dan menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku dosen Penguji yang telah memberi saran, kritik, dan nasehat dalam penyelesaian skripsi ini.

6. Bapak Prof. Dr. Ir. K.E.S. Manik, M.S., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing, arahan, dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan.
7. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan, Hayane A. Warganegara, S.P., M.Si., Husein Hariadi Koto, Alifia R. Andarini, Rahmadiyah, Agil Ikhsandi, Bimo Nur Prabowo, Bekti Ningsaputri, Deta Iktaria, Emi Yunida, Dwi Setiawan yang telah memberi bantuan, perhatian dan kerjasamanya.
8. Sahabat-sahabat penulis, Suci Alhaj Munita, Alvika Putri, Afrida Suryani, Aditya Kuncahyo, Albertus Tejo, atas persahabatan, motivasi serta kebersamaannya.
9. Teman teman, kakak-kakak dan adik-adik di Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
10. Secara khusus penulis menyampaikan Terimakasih yang sangat besar kepada Ibu Srimawarni dan ayah Samadi 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, Juli 2018
Penulis

Adi Noor Prayogi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	5
1.3 Kerangka Pemikiran.....	6
1.4 Hipotesis	8
11. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Botani Tanaman Pisang	9
2.2 Perbanyak Tanaman Pisang secara Konvensional	11
2.3 Perbanyak Tanaman Pisang secara <i>in Vitro</i>	12
2.4 Pola Regenerasi Tanaman Pisang	15
2.5 Thidiazuron	17
III. BAHAN DAN METODE	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Bahan Tanaman	20
3.3 Metode Penelitian	20

3.4	Sterilisasi Alat	21
3.5	Pembuatan Media.....	21
3.6	Persiapan Eksplan	23
3.7	Sterilisasi dan Penanaman Eksplan.....	25
3.8	Subkultur pada Media Perlakuan	25
3.9	Subkultur <i>Scalp</i> ke media MS + BA 5mg/l	27
3.10	Pengamatan	28
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1	Hasil Penelitian	30
4.1.1	<i>Perkembangan Umum Kultur</i>	30
4.1.2	<i>Rekapitulasi Analisis Data</i>	40
4.1.3	<i>Rata-Rata Jumlah Scalp</i>	40
4.1.4	<i>Rata-Rata Jumlah Mata Tunas</i>	43
4.1.5	<i>Rata-Rata Jumlah Tunas</i>	44
4.1.6	<i>Subkultur Scalp ke MS + BA 5 mg/l</i>	47
4.2	Pembahasan.....	50
4.2.1	<i>Perkembangan Umum Kultur</i>	50
4.2.2	<i>Rata-Rata Jumlah Scalp</i>	54
4.2.3	<i>Rata-Rata Jumlah Tunas</i>	56
4.2.4	<i>Regenasi Scalp</i>	58
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	60
5.1	Simpulan	60
5.2	Saran	61
	DAFTAR PUSTAKA	62
	LAMPIRAN.....	67
	Tabel 5 – 19.....	68-74

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Jenis media perlakuan dengan Penambahan ZPT pada media dasar MS (Murashige dan Skoog)	23
2	Perkembangan Jumlah Eksplan Pada Media Prekondisi sampai 4 MST	31
3	Jumlah respon eksplan hidup pada media perlakuan setelah 8 minggu setelah perlakuan (MSP)	36
4	Rekapitulasi analisis ragam pengaruh konsentrasi TDZ pada pembentukan tunas dan <i>scalp</i> kultur pisang ‘Ambon Kuning’ pada umur 8 minggu setelah perlakuan (MSP).	40
5	Formulasi media dasar MS (Murashige dan Skoog) dan pengelompokan senyawa dalam pembuatan larutan stok (Yusnita, 2003)	68
6	Rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan Pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	69
7	Hasil uji Barlet rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	69
8	Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	69
9	Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP menggunakan uji BNT 5%	70
10	Rata-rata jumlah mata tunas per eksplan Pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	70
11	Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	70

12	Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP menggunakan uji BNT 5%	71
13	Rata-rata jumlah tunas per eksplan Pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	71
14	Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah tunas per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP	72
15	Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah tunas per eksplan pisang ‘Tanduk’ berumur 8 MSP menggunakan uji BNT 5%.....	72
16	Rata-rata jumlah tunas per eksplan <i>scalp</i> Pisang ‘Tanduk’ berumur 4 MSP	73
17	Hasil uji Barlet rata-rata jumlah tunas per eksplan <i>scalp</i> pisang ‘Tanduk’ berumur 4 MSP	73
18	Hasil analisis ragam pada rata-rata jumlah tunas per eksplan <i>scalp</i> pisang ‘Tanduk’ berumur 4 MSP.....	73
19	Hasil pemisahan nilai tengah rata-rata jumlah tunas per eksplan <i>scalp</i> pisang ‘Tanduk’ berumur 4 MSP menggunakan uji BNT 5%	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Struktur Molekul Thidiazuron.....	18
2	Anakan Pedang (<i>sword sucker</i>) pisang ‘Tanduk’	20
3	Proses sterilisasi eksplan di dalam LAF.....	26
4	Penanaman eksplan pada media prakondisi	27
5	Perkembangan eksplan pada prekondisi MS + BA 5 mg/l (a) hari pertama kultur, (b) eksplan membengkak dan menghijau pada 2 MST, dan (c) tunas apikal pada 4 MST (minggu setelah tanam).....	31
6	Kontaminasi kultur oleh: (a) bakteri, (b) jamur	32
7	Kemunculan <i>scalp</i> dan tunas (a) bintil putih pada hari ke-10 setelah perlakuan, (b) <i>scalp</i> pada 4 MSP, dan (c) mata tunas 4 MSP (minggu setelah perlakuan)	33
8	Penghitaman pada kultur: (a) pada media, (b) pada <i>scalp</i>	34
9	Pembentukan <i>scalp</i> dan tunas pada 8 MSP (minggu setelah perlakuan) (a) mata tunas dan tunas, (b) <i>scalp</i> , (c) proliferasi <i>scalp</i>	34
10	Warna <i>scalp</i> (a) putih, (b) hijau.....	36
11	Respon <i>scalp</i> pada media MS + BA 5 mg/l (a) penggandaan <i>scalp</i> pada eksplan <i>scalp</i> bulat putih, (b) multiplikasi tunas pada eksplan <i>scalp</i> hijau.....	37
12	Multiplikasi (a) tunas dari media MS + 5 mg/l BA, (b) eksplan pada media MS + 2g/l AC pada 5 MSS, (c) <i>pre-hardening</i>	38

13	Regenerasi <i>scalp</i> pada media MS + 2g/l AC (<i>active charcoal</i>) pada 4 MSP (minggu setelah perlakuan) (a) 0 MSP, (b) 4 MSP, (c) perbesaran dengan mikroskop	39
14	Regenerasi <i>scalp</i> pada media MS + 2g/l AC (<i>active charcoal</i>) pada 8 MSP (minggu setelah perlakuan) (a) pembentukan tunas, (b) 8 MSP, (c) perbesaran dengan mikroskop	39
15	Rata-rata jumlah <i>scalp</i> per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Tanduk’ umur 8 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%	41
16	Penampilan pembentukan <i>Scalp</i> pada eksplan kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Tanduk’ umur 8 MSP (minggu setelah perlakuan)	42
17	Rata-rata jumlah mata tunas per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Tanduk’ umur 8 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%	43
18	Rata-rata jumlah tunas per eksplan pada kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Tanduk’ umur 8 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%	44
19	Penampilan pembentukan tunas pada eksplan kultur <i>in vitro</i> pisang ‘Tanduk’ umur 8 MSP (minggu setelah perlakuan)	46
20	Rata-rata jumlah tunas per eksplan <i>scalp</i> pada pisang ‘Tanduk’ dari berbagai konsentrasi TDZ pada umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) pada media MS + BA 5 mg/l. Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata dengan uji BNT pada taraf 5%	47
21	Penampilan pembentukan tunas pada eksplan <i>scalp</i> pisang ‘Tanduk’ dari berbagai konsentrasi TDZ pada umur 4 MSP (minggu setelah perlakuan) di media MS + BA 5 mg/l	49

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia. Pisang merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Sukmadjaja dkk., 2013). Pisang mengandung karbohidrat, vitamin(A,B,C), dan mineral untuk kesehatan manusia. Mineral yang terkandung dalam buah pisang yaitu kalium, magnesium, fosfor, besi, kalsium, serta asam folat (Rugayah dkk., 2012).

Berdasarkan data FAOSTAT (2014), Indonesia menempati peringkat ke-7 negara penghasil pisang terbesar di dunia 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 7.007.117 ton buah pisang dari luas panen sebesar 85.324 ha. Provinsi Lampung menempati urutan kedua dengan kontribusi sebesar 1.517.004 ton, setelah provinsi Jawa Timur sebesar 1.865.772 ton, setelah itu provinsi Jawa Barat sebesar 1.204.083 ton.

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai banyak jenis pisang. Salah satu pisang yang populer dan diminati oleh masyarakat adalah pisang

Tanduk (AAB). Pisang Tanduk merupakan salah satu pisang olahan yang berukuran besar. Pisang ini mempunyai bentuk seperti tanduk, panjang, melengkung (Yusnita, 2013). Menurut Yusnita (2015), produksi pisang berkualitas tidak dapat dilakukan tanpa adanya penyediaan bibit berkualitas, yang kemudian menentukan jumlah dan mutu buah. Ketersediaan bibit pisang yang bermutu tinggi, bebas penyakit, seragam, dan dalam jumlah besar adalah masalah umum yang dialami petani pisang untuk meningkatkan produksi pisang guna memenuhi kebutuhan baik dalam negeri maupun ekspor. Perbanyak bibit pisang secara konvensional didapat dari belahan bonggol (*bit*) dan anakan (*sucker*) dengan ukuran 100-150 cm yang tumbuh pada pohon induk. Perbanyak tanaman pisang dengan bahan tanam tersebut berpotensi terbawanya inokulum patogen yang merugikan, selain itu juga akan menghasilkan bibit dalam waktu yang lama dan jumlahnya terbatas (satu rumpun hanya menghasilkan 5 – 10 bibit per tahun) (Semarayani dan Dinarti, 2011).

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 dalam jumlah besar (Yusnita, 2015).

Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut maka dilakukan perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan suatu teknik

untuk menumbuh-kembangkan bagian tanaman secara aseptik dan aksenik pada media kultur berisi hara lengkap dan kondisi lingkungan terkendali untuk tujuan tertentu (Yusnita, 2003). Kultur jaringan bermula berdasarkan teori totipotensi oleh Schwann dan Schleiden (1838), bahwa setiap sel hidup tanaman memiliki perangkat fisiologis dan genetis yang lengkap yang memungkinkannya 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).

Salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan antara lain adalah genotipe tanaman dan penggunaan zat pengatur pertumbuhan (ZPT) yang tepat. Penelitian Meldia dkk. (2012) menunjukkan bahwa persentase membentuk tunas dan jumlah tunas yang dihasilkan oleh pisang yang bergenom ABB dan AAB lebih kecil dibandingkan jenis pisang yang bergenom AAA.

Penambahan sitokinin diharapkan mampu mempercepat terbentuknya tunas baru. Berdasarkan hasil penelitian Gubbuk dan Pekmezci (2004), melaporkan bahwa jenis sitokinin dan konsentrasinya sangat berpengaruh terhadap multiplikasi dan pemanjangan tunas pisang. Yusnita dan Hapsoro (2013) melaporkan bahwa penambahan 0,01 mg/l TDZ ke dalam media yang mengandung 2 mg/l BA dapat meningkatkan jumlah tunas pisang 'Tanduk' sebesar 10 kali lipat, mencapai sebanyak 40 propagul per eksplan. Penggunaan TDZ dengan konsentrasi 2 μ M (setara dengan 0,44 mg/l) dapat meningkatkan jumlah tunas pada pisang Rastali

(AAB) dan 5 μM (setara dengan 1,1 mg/l) pada pisang Berangan Intan dan Berangan (AAA) (Shirani dkk., 2009).

Perbanyak tanaman pisang secara *in vitro* juga dapat dilakukan melalui pembentukan *scalp*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pembentukan tunas dapat dilakukan melalui *scalp*. Sholi dkk. (2009) dan Schoof dkk. (1998) mengemukakan bahwa *scalp* merupakan bahan yang digunakan untuk menginduksi *embriogenic cell suspension* (ECS). Stroose, dkk. (2006) menjelaskan bahwa *scalp* merupakan jaringan meristem yang memiliki kemampuan untuk beregenerasi menjadi tunas maupun embrio. Bentuk *scalp* tersebut tergolong sebagai globular yang besar dengan jaringan yang kompak di dalamnya. Pada penelitian tersebut hampir semua *scalp* menghasilkan tunas dari permukaannya.

Ikhsandi (2017) melaporkan bahwa penggunaan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/l memacu pembentukan propagul dan *scalp* pada pisang Ambon Kuning (AAA) hingga 5,19 tunas dan 2,06 *scalp* per eksplan. Sadik (2015) mengungkapkan bahwa kombinasi TDZ dan 4-CPPU yang sama (9, 11, 13) dan 26 μM mampu meningkatkan pembentukan *scalp* embriogenik sebesar 50% pada lima kultivar *east african-AAA banana*. Penggunaan konsentrasi TDZ 1,02 mg/l sampai 1,3 mg/l dapat menghasilkan jumlah *scalp* tertinggi pada kultivar *east african higland banana* (Sadik dkk., 2007).

Pisang mempunyai keragaman kultivar yang tinggi. 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 tersebut dapat dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh, variabilitas genetiknya, dan perbedaan umur pada bahan eksplan.

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

1. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi TDZ terhadap pembentukan *scalp* pada kultur pisang Tanduk?
2. Bagaimana pengaruh berbagai konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada kultur pisang Tanduk?
3. Bagaimana respon *scalp* dari berbagai konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada media multiplikasi ?

1.2 Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang Tanduk.
2. Mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi Thidiazuron terhadap pembentukan *scalp* pada kultur *in vitro* pisang Tanduk.
3. Mengetahui respon *scalp* dari berbagai konsentrasi TDZ terhadap pembentukan tunas pada media multiplikasi.

1.3 Kerangka Pemikiran

Pisang Tanduk merupakan golongan pisang *Musa balbisiana* yang mempunyai genom AAB (Yusnita, 2015). Menurut Meldia dkk. (2012) genom B pada jenis pisang ini menyebabkan inisiasi dan multiplikasi tunas relatif lebih lama. Karena itu, metode dan komposisi media kultur yang tepat diharapkan dapat mempercepat inisiasi dan multiplikasi tunas pisang 'Tanduk'.

Kombinasi atau pemberian ZPT tunggal akan mengakibatkan tanaman tumbuh dan berkembang melalui tiga metode perkembangan yaitu *axillary branching*, organogenesis dan embriogenesis somatik. Pola *axillary branching* merupakan pola regenerasi yang paling sering digunakan dalam produksi bibit pisang (Yusnita, 2015). Pada kebanyakan *in vitro* tanaman pisang, tunas merupakan bahan tanam yang digunakan sebagai perbanyakan. Mata tunas yang berada di bonggol digunakan sebagai bahan tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan tunas dengan penggunaan media sitokinin.

Thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu ZPT golongan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Murthy (1997) menyatakan bahwa penggunaan TDZ pada konsentrasi rendah, sekitar 0 – 0,5 mg/l, dapat memacu tunas aksilar, sedangkan pada konsentrasi tinggi $> 0,5$ mg/l memacu pembentukan embrio. Mega (2016) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi TDZ (0,01 – 0,4 mg/l) mampu meningkatkan pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang Ambon Kuning hingga 4,5 tunas per eksplan. Pada jenis pisang yang sama Astria (2016) melaporkan bahwa media MS yang mengandung TDZ konsentrasi (0,01 – 0,2

mg/l) memacu peningkatan jumlah tunas hingga 7 tunas per eksplan. Hasil penelitian Sheibani (2007) menjelaskan bahwa penggunaan TDZ dengan konsentrasi 0,5 mg/l mampu memacu pembentukan embrio berbentuk globular pada saffron (*Crocus sativus* L.) hingga 24,0 embrio per eksplan.

Penggunaan TDZ tidak hanya digunakan untuk pembentukan tunas dan embrio saja. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pembentukan tunas dapat melalui *scalp*. Ikhsandi (2017) melaporkan bahwa penggunaan TDZ tunggal dengan konsentrasi (0,5 – 1,5) mampu meningkatkan pembentukan *scalp*. Hal tersebut sependapat dengan Murthy (1997) yang mengemukakan bahwa 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. Shirani dkk. (2010) menunjukkan bahwa TDZ dengan konsentrasi 7,5 μ M (1,65 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 μ M (1,1 mg/l) menyebabkan peningkatan jumlah *scalp* yang terbentuk.

1.4 Hipotesis

Dari kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, maka penulis mengajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Peningkatan konsentrasi TDZ 1 – 1,5 mg/l dapat meningkatkan pembentukan *scalp* pada kultur *in vitro* pisang Tanduk.

2. peningkatan konsentrasi TDZ $>0,5$ mg/l dapat menurunkan pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang Tanduk.
3. Terdapat respon yang berbeda pada *scalp* yang diinduksi oleh berbagai konsentrasi TDZ terhadap pemberian benziladenin.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Pisang

Pisang (*Musa* sp.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang berasal dari Asia Tenggara, dan telah tersebar ke seluruh dunia termasuk Indonesia. Tanaman pisang memiliki ciri-ciri yaitu batang (bonggol) berada di dalam tanah, batang semu berlapis-lapis, dan daunnya berbentuk lembaran yang lebar, serta bunga dan buahnya yang tersusun dalam sisiran tandan (Sunarjono, 2002). Klasifikasi pisang secara umum menurut Suyanti dan Supriyadi (2008) dan plantamor (2014) adalah sebagai berikut :

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

Tanaman ini diduga berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara dan hingga kini tersebar luas ke negara beriklim tropis dan subtropis (Suyanti dan Supriyadi, 2008). Menurut Wibowo (2009) pisang merupakan komoditas buah unggulan Indonesia yang terdiri atas lebih dari 200 kultivar pisang.

Pisang mempunyai kandungan provitamin A yang tinggi berupa betakaroten sebanyak 45 mg dalam 100 g berat kering. Pisang juga mengandung vitamin B yaitu tiamin, riboflavin, niasin, dan piridoksin sebesar 0,5 mg. Selain itu pisang juga mengandung mineral yaitu kalium yang diperkirakan menyumbang 440 mg. Dalam tubuh manusia kalium berfungsi untuk kesehatan jantung, tekanan darah, menjaga keseimbangan air dalam tubuh, dan membantu pengiriman oksigen ke otak (Suyanti dan Supriyadi, 2008).

Terdapat tiga jenis tanaman pisang di Indonesia yaitu pisang hias, pisang serat dan pisang buah yang banyak dikonsumsi dan bernilai ekonomi tinggi. Pisang yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan digemari masyarakat yaitu Ambon Kuning (AAA), Ambon Lumut (AAA), Ambon Putih (AAA), Barangan (AAA), Raja (AAB), Kepok (ABB), Tanduk (AAB), Badak, dan Nangka (Cahyono, 2009). Menurut Satuhu dan Supriyadi (2010), tanaman pisang diduga berasal dari Asia Selatan dan Asia Pasifik, penyebarannya hingga kini sangat luas terlebih ke negara beriklim tropis dan subtropis.

Menurut Yusnita (2013) pisang Tanduk merupakan salah satu pisang olahan yang berukuran besar. Pisang ini mempunyai bentuk seperti tanduk, panjang, melengkung, berkulit tebal berwarna kuning tua bertotol hitam atau merah, penampang buah bersegi empat atau lima. Daging buah pisang ini mempunyai

warna yang beragam, ada yang orange, kuning atau putih krem. Pisang tanduk pada umumnya mempunyai dua atau tiga sisir dalam satu tandan seperti pada Gambar 1.

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 Perbanyak Tanaman Pisang secara Konvensional

Tanaman pisang memiliki ciri khas berbatang semu, sedangkan batang sesungguhnya berada di bawah tanah yang biasa disebut dengan bonggol. Batang semu merupakan tumpukan pelepah yang tersusun rapat dan teratur. Pada bonggol terdapat mata-mata tunas yang akan tumbuh menjadi anakan pisang yang dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman dewasa (Yusnita, 2015).

Bibit pisang umumnya diperbanyak secara konvensional oleh petani.

Perbanyak secara konvensional menggunakan anakan (*sucker*) dan belahan bonggol (*bit*). Jumlah bibit yang dapat dihasilkan dari anakan relatif sedikit, yaitu 5 – 12 anakan/rumpun/tahun. Dengan belahan bonggol atau *bit* dalam satu

rumpun dengan lima bonggol berdiameter 15 cm dapat dihasilkan 10-20 bibit (Yusnita, 2015).

Menurut Isnaeni (2008), perbanyak bibit unggul secara konvensional belum dapat memenuhi kebutuhan bibit pisang skala perkebunan besar. Yusnita (2015) menyatakan bahwa bibit pisang yang berasal dari anakan dan belahan bonggol berpotensi membawa inokulum pathogen penyebab berbagai penyakit seperti cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* atau bakteri penyebab layu *Ralstonia solanacearum*. Selain itu, kelemahan bibit secara konvensional adalah tidak seragam.

2.3 Perbanyak 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 perbanyak 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. Pada tahap ini eksplan diambil dari tanaman yang mempunyai identitas jenis dan varietas yang jelas, bebas hama dan penyakit, dan umur fisiologi tanaman yang akan akan diambil eksplannya.
2. Tahap 1, inisiasi kultur atau *culture establishment*. Pada tahap ini dilakukan untuk mendapatkan tanaman yang aseptik maupun asenik dan menyeragamkan eksplan. Pada proses ini dilakukan sterilisasi eksplan. Sterilisasi eksplan dilakukan pada permukaan eksplan dengan menggunakan bahan kimia seperti NaOCl, CaOCl, etanol, HgCl₂, antibiotik, dan bahan sterilan lainnya.
3. Tahap 2, multiplikasi atau perbanyakan propagul. Pada tahap ini dilakukan perbanyakan propagul baik melalui perbanyakan tunas maupun pembentukan embrio. Peran media pada tahap ini sangat spesifik untuk tiap dilakukan subkultur atau pemindahan tanaman pada media baru hingga jumlah tunas maupun embrio akan tercapai.
4. Tahap 3, pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan akar. Pada tahap ini dilakukan pemanjangan tunas dan pengakaran tanaman didorong oleh adanya hormon-hormon tertentu dengan tahapan tertentu. Tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan tanaman ditransfer ke lingkungan eksternal.
5. Tahap 4, aklimatisasi planlet ke lingkungan eksternal. Pada tahap ini dilakukan pemindahan tanaman dari *in vitro* ke *ex vitro*.

Keberhasilan perbanyak tanaman dengan kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor yang berkaitan satu sama lain. Faktor-faktor tersebut adalah eksplan (bentuk regenerasi dalam kultur, genetik, dan umur ontogenetik), metode pembiakan *in vitro* dan media tumbuh, zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan, dan lingkungan tumbuh kultur yang mempengaruhi regenerasi tanaman seperti suhu, panjang dan intensitas penyinaran. Intensitas cahaya optimum untuk tahap inisiasi adalah 0 – 1.000 lux, tahap multiplikasi sebesar 1.000-10.000 lux, tahap pengakaran sebesar 10.000 – 30.000 lux, dan tahap aklimatisasi sebesar 30.000 lux (Yusnita, 2003; Yuliarti, 2010).

Eksplan adalah bahan tanaman yang akan dikulturkan. Kualitas eksplan menentukan keberhasilan eksplan. Eksplan yang sehat dan *vigorous* memungkinkan untuk menghasilkan kultur yang baik. Bagian tanaman yang umum digunakan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif. Bagian tanaman yang banyak digunakan sebagai eksplan adalah kalus, sel, protoplas, tunas pucuk, bunga, potongan daun, potongan akar, umbi, biji atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon. Pada kultur *in vitro* tanaman pisang, yang diambil sebagai eksplan adalah bagian bonggol tempat anakan atau mata tunas muncul (Yusnita, 2003; Yuliarti, 2010).

Media tumbuh kultur merupakan salah satu syarat agar kultur berjalan baik (George dkk., 2008). Secara fisik media kultur dibagi menjadi dua yaitu media cair dan media padat (Yusnita, 2003). Dalam media terkandung komponen yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Komponen dalam media kultur yaitu hara makro dan mikro, sukrosa sebagai sumber energi, aquades

sebagai pelarut, bahan aktif untuk mengaktifkan pertumbuhan, vitamin, asam amino, agar sebagai pematat, dan ZPT (Yusnita, 2003).

2.4 Pola Regenerasi Tanaman Pisang

Pola regenerasi pada tanaman pisang dalam kultur jaringan melalui 3 pola, yaitu perbanyak tunas aksilar (*axillary branching*), organogenesis dan embriogenesis.

Pola *axillary branching* akan menghasilkan tunas samping yang majemuk, hal tersebut karena pada pola ini memanfaatkan mata tunas samping yang sudah ada pada eksplan yang kemudian dikulturkan ke media yang mengandung sitokinin..

Yusnita (2003) menjelaskan bahwa pola regenerasi organogenesis dan embriogenesis dapat terjadi secara langsung atau tanpa pembentukan kalus (*direct*) dan tidak langsung (*indirect*).

Berbeda dengan Pola *axillary branching*, pada pola regenerasi organogenesis tanaman terdiri dari 3 fase, yaitu dediferensiasi, induksi, dan diferensiasi. Pada tahap dediferensiasi, dari sel yang telah membentuk struktur dengan fungsi tertentu (terdiferensiasi) menjadi sel atau jaringan yang belum ditentukan. Pada fase dediferensiasi, sel berada pada kondisi yang kompeten, yaitu sel memiliki kemampuan untuk merespon stimulus morfogenik tertentu. Pada kondisi yang kompeten tersebut sel mengalami fase induksi dengan merespon sinyal hormonal atau sinyal lain yang tersedia. Pada fase induksi menghasilkan populasi sel yang terdeterminasi yaitu sel yang sudah pasti arah perkembangannya. Sel akan tetap terdeterminasi meskipun sinyal hormonal telah tidak ada lagi. Ketika sel mengalami determinasi maka fase induksi dikatakan telah berakhir. Fase

selanjutnya adalah fase diferensiasi atau fase ekspresi. Pada fase ini sel-sel mengalami determinasi untuk menjadi suatu struktur morfologi misalnya organ.

Purnamaningsih (2002) menjelaskan bahwa sel-sel somatik pada proses embriogenesis somatik akan berkembang tanpa melalui fusi gamet membentuk individu baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik. Pembentukan propagul melalui proses embriogenesis bisa menghasilkan yang tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu yang singkat. Menurut Gaj (2001) mengungkapkan bahwa embrio somatik dicirikan dengan strukturnya yang bipolar, yaitu dengan dua kutub meristem berupa tunas dan akar.

Menurut Hapsoro dan Yusnita (2016) pola regenerasi tanaman embriogenesis berupa embriogenesis somatik dan zigotik. Proses perkembangan embrio somatik melalui beberapa tahap dari struktur yang kecil hingga struktur yang jelas.

Perkembangan embrio pada tanaman dikotil berbeda dengan tanaman monokotil.

Pada tanaman dikotil, tahap pertama yaitu pada permukaan kalus atau jaringan yang terdiferensiasi muncul struktur kecil berbentuk bulat (*globe*) dari kelompok yang lebih besar dari sel, sehingga tahap tersebut disebut tahap globular. Tahap selanjutnya embrio somatik akan berbentuk seperti hati yang disebut tahap hati.

Pada tahap berikutnya terjadi pemanjangan embrio pada tahap hati. Setelah itu dari embrio somatik tersebut akan primordia tajuk dan tampak sepasang kotiledon sehingga disebut tahap kotiledon. Berbeda dengan perkembangan embrio somatik pada tanaman monokotil dimulai dengan pembentukan suatu struktur yang tampak seperti pro-embrio lalu berkembang menuju tahap globular, selanjutnya membentuk suatu struktur mirip skutelum dengan *notch* pada bagian ujung dan

koleoptilnya (tahap hati). Kemudian Koleptil dan skulentum menjadi lebih besar sehingga tampak struktur lebih jelas.

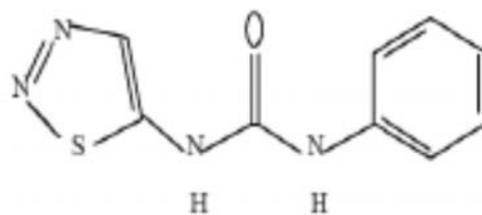
Schoofs dkk.(1998) mengemukakan bahwa ada suatu jaringan yang mempunyai struktur berupa gumpalan berbentuk globular yang disebut *scalp*. *Scalp* diidentifikasi sebagai jaringan meristem yang kompeten dengan karakter *fleshy bulb like-structure*. Hal serupa berhubungan dengan penelitian Ikhsandi (2017) yang mengungkapkan *scalp* pada pisang Ambon kuning muncul berbentuk globular dan berwarna putih. Jaringan tersebut merupakan bahan yang digunakan untuk menginduksi pembentukan *embriogenic cell suspension* (ECS). Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian Sholi dkk. (2009) mengungkapkan bahwa *scalp* diidentifikasi sebagai jaringan meristem dengan karakter *cauliflower like-structures* yang berupa *clumps* kompak yang diinduksi sebagai bahan dalam pembentukan ECS. Menurut 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.

2.5 Thidiazuron

Thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu jenis sitokinin yang sering digunakan dalam kultur jaringan. Menurut Murthy (1997) 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. Pada teknik kultur *in vitro* tanaman, sitokinin dapat digunakan secara tunggal atau dikombinasikan dengan auksin, bergantung pada bahan tanaman yang digunakan dan tujuan yang ingin dicapai.

TDZ merupakan sitokinin yang memiliki efektivitas lebih dibanding dengan sitokinin lain dalam kultur jaringan. Dengan konsentrasi kurang dari 0,1 μM , TDZ menghasilkan proliferasi tunas aksilar lebih baik (Lee, 2005). Meskipun TDZ memiliki efektivitas yang lebih baik namun di Indonesia relatif sulit diperoleh dan harganya relatif mahal (Yusnita, 2003). TDZ memiliki bobot molekul sebesar 220,25 g/mol dengan rumus molekul $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{OS}$ dan rumus bangun pada Gambar 2.



Gambar 1. Struktur Molekul Thidiazuron

Menurut Murthy (1997), 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. Murch dkk. (1997) menjelaskan bahwa TDZ menstimulasi perbanyakan yang diakibatkan dari meningkatnya asam

absisat, proline dan ion-ion tertentu. Jones dkk. (2007) menemukan bahwa fraksi rendah TDZ mampu merangsang embriogenesis pada sel yang kompeten.

Hasil study Ikhsandi (2017) mengungkapkan bahwa penggunaan TDZ dengan konsentrasi 0,5 – 1,5 mg/l dapat meningkatkan jumlah scalp dan tunas. Hal serupa diteliti oleh Mithila dkk. (2003) melaporkan bahwa penggunaan TDZ pada konsentrasi rendah dapat menginduksi pembentukan organ pada eksplan tanaman bunga *african violets*, namun pada dosis yang lebih tinggi (5 – 10 μM = 1,1 – 2,2 mg/l) dapat menginduksi pembentukan embrio somatik. 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.

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung pada September 2017 hingga April 2018.

3.2 Bahan Tanaman

Kultivar yang digunakan adalah pisang ‘Tanduk’ yang mempunyai genom AAB. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini berupa tunas anakan pedang (*sword sucker*) yang berasal dari bonggol (Gambar 2). Bahan tanam didapatkan dari Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur.



Gambar 2. Anakan Pedang (*sword sucker*) pisang ‘Tanduk’.

Bonggol anakan pisang diambil dari indukan yang tidak bergejala penyakit. Pengambilan bonggol dilakukan dengan menggali tanah di sekitar anakan, kemudian bonggol anakan dipisahkan dari rumpun induk menggunakan golok. Bonggol yang digunakan memiliki diameter ± 12 cm dengan tinggi ± 50 cm.

3.3 Metode Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 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). Masing- masing dari perlakuan tersebut ditambahkan ke dalam media dasar MS (Murashige dan Skoog). Setiap perlakuan diulang tiga kali. Masing-masing satuan percobaan terdiri dari 6 – 7 botol kultur dengan jumlah 1 eksplan per botol. Homogenitas data diuji menggunakan uji Bartlett dan jika terpenuhi dilanjutkan analisis ragam dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dalam teknik kultur jaringan merupakan hal yang paling penting untuk menciptakan kondisi yang aseptik. Botol kultur merupakan wadah dimana media dan eksplan diletakkan. Sebagai wadah maka haruslah botol tersebut steril dari mikroorganisme yang menyebabkan kontaminasinya media maupun eksplan. 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 botol dicuci dengan menghilangkan sisa agar dan tanaman di dalam botol, kemudian label dibersihkan dari dinding botol. Botol yang telah dicuci kemudian direndam selama 1 malam dalam air yang telah ditambahkan detergen 2 g/l dan 100 ml/l disinfektan berupa larutan pemutih komersial (Bayclin 5,25% NaOCl). Tahap kedua botol dicuci menggunakan alat pembersih botol pada seluruh bagiannya hingga bersih lalu dibilas di bawah air mengalir. Selanjutnya botol direndam di dalam air panas selama 15 menit, kemudian botol ditiriskan lalu ditutup dengan plastik anti panas dan diikat dengan karet. Setelah itu 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. Sterilisasi alat-alat berupa pinset, skalpel, keramik dan cawan petri disterilisasi dalam kondisi terbungkus kertas dan dimasukkan dalam plastik tahan panas. Untuk menyiapkan air steril, botol schott diisi air hingga $\frac{3}{4}$ volumenya lalu ditutup tidak terlalu rapat. Kemudian untuk sterilisasi kapas yaitu kapas bersih dimasukkan dalam botol kultur steril. Gelas ukur diberi penutup pada bagian mulutnya menggunakan kertas alumunium foil dan plastik tahan panas. Seluruh alat tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

3.5 Pembuatan Media

Media adalah salah satu komponen penting dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Media kultur yang digunakan adalah media agar yang mengandung semua unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman baik unsur hara makro maupun mikro. 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 media MS, 200 mg/l asam askorbat, 150 mg/l asam sitrat dan penambahan ZPT berupa *benzylaminopurine* (BAP) sebanyak 5 mg/l. Setelah 4 MST eksplan steril dengan respon yang baik dan dipilih 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) mg/l pada media dasar MS.

Tabel 1. Jenis media perlakuan dengan Penambahan ZPT pada media dasar MS (Murashige dan Skoog,)

Jenis Media	Kandungan ZPT Dalam MS	
	BAP	TDZ
Prakondisi (4 minggu)	5mg/l	-
Perlakuan ke- (8 minggu)	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
Regenerasi <i>Scalp</i> (4minggu)	5mg/l	-

Sebelum dilakukan pembuatan media perlu disiapkan peralatan gelas dan non gelas terlebih dahulu. Peralatan tersebut terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir dan dibilas dengan aquades. Alat tersebut berupa pinset, spatula, *magnetic stirrer*, 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, 150 mg/l asam sitrat, BAP 5 mg/l, dan 30 gr sukrosa hingga homogen. Penghomogenan bahan tersebut dilakukan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen larutan ditera hingga mencapai volume 1 liter menggunakan labu ukur dan ditetapkan pada pH 5,8. Sedangkan pada media perlakuan garam MS yang sudah larut ditambahkan sebanyak 150 mg/l asam askorbat, 50 mg/l asam sitrat, 150 ml/l CW (*coconut water*), TDZ sesuai taraf konsentrasi masing-masing, dan 30 gr sukrosa. Pada media perlakuan dilakukan modifikasi vitamin MS dengan kandungan tiamin-HCl, Pirodoxin-HCl, asam nikotinat, dan glisin masing-masing 2mg/l. Setelah itu dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen larutan ditera hingga mencapai volume 1 liter menggunakan labu ukur dan ditetapkan pada pH 5,8. Setelah penetapan pH, media dimasukkan ke dalam panci dan ditambahkan agar-agar atau pematat media lalu dimasak hingga mendidih lalu dituang pada botol kultur sebanyak ± 25 ml per botol sesuai dengan label komposisi media. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf Tommy selama 7 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Setelah selesai, media dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan kemudian disimpan dalam ruang penyimpanan media. Kemudian media ditunggu dan digunakan minimal 3 hari untuk melihat terkontaminasi atau tidaknya media.

3.6 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas. Tunas diambil dari bonggol berupa anakan pedang kemudian diperkecil sampai panjangnya ± 8 cm. Tunas kemudian direndam dalam larutan 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida mankozeb selama ± 15 menit dan dilanjut perendaman bakterisida streptomisin selama ± 15 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. Eksplan dibilas menggunakan air mengalir, kemudian ukuran eksplan dikecilkan hingga ± 4 cm. Setelah itu eksplan dibilas dengan air mengalir dan dicuci dengan , lalu dibilas di bawah air mengalir sehingga detergen dan kotoran tidak lagi menempel pada permukaannya. Eksplan yang telah bersih kemudian dimasukkan ke dalam botol schott dan dibawa ke dalam ruang transfer untuk proses sterilisasi selanjutnya.

Sterilisasi eksplan selanjutnya dilakukan dengan menggunakan larutan desinfektan yang mengandung pemutih komersial (Bayclin 5,25% NaOCl). Proses sterilisasi ini dilakukan di ruang transfer dilakukan dalam kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flaw Cabinet* (L AFC). Sterilisasi permukaan eksplan pada tahap ini dilakukan empat kali, yaitu dengan larutan Bayclin 50%, 30%, 15%, dan 5%. 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 dengan kecepatan 190 rpm. Setelah itu, eksplan dibilas 3 kali menggunakan air steril hingga tidak ada busa yang menempel.



Gambar 3. Proses sterilisasi eksplan di dalam LAF

Proses selanjutnya 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 (Gambar 3). Setelah itu eksplan dimasukkan ke dalam botol schott steril untuk dilakukan sterilisasi lagi dengan larutan Bayclin 30% dengan penambahan surfaktan Tween-20 sebanyak 2 tetes/100 ml, dengan cara dikocok selama 10 menit secara manual di dalam LAF. Setelah itu eksplan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali, kemudian eksplan kembali diperkecil hingga ukuran $\pm 1 \times 1$ cm dan tinggi ± 1 cm. Setelah itu eksplan dimasukkan ke dalam botol schott steril baru dan disterilisasi menggunakan Bayclin 10% selama 5 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Kemudian eksplan dimasukkan ke dalam botol schott steril yang baru dan disterilkan dengan keadaan vacuum menggunakan Bayclin 5% tanpa surfaktan. 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 fotoperiodisitas 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 4).



Gambar 4. Penanaman eksplan pada media prakondisi

3.8 Subkultur pada Media Perlakuan

Subkultur ke media perlakuan dilakukan pada 4 minggu setelah tanam (MST) di media prekondisi. Pada tahapan ini eksplan yang akan ditanam di media perlakuan terlebih dahulu diseleksi berdasarkan homogenitasnya dan dipastikan steril. Eksplan diambil dari botol kultur kemudian dipotong batang semunya dan dicacah dengan delapan sudut untuk mematahkan dominansi apikalnya. Setelah itu eksplan ditanam pada 8 media yang berbeda sesuai taraf konsentrasi TDZ masing-masing dan diinkubasi kembali dalam ruang kultur dengan cahaya, fotoperiodisitas dan suhu yang sama. Eksplan disubkultur ke media perlakuan yang sama pada 4 minggu setelah perlakuan (MSP).

3.9 Subkultur *Scalp* ke media MS + BA 5mg/l

Subkultur pada perlakuan ini dilakukan pada 8 MSP. Pada tahapan ini *scalp* yang terbentuk pada media perlakuan thidiazuron diambil dari botol kultur dan dipisahkan dari bonggol induk. Kemudian *scalp* di tanam ke media MS + BA 5 mg/l dengan jumlah 4 eksplan *scalp* per botol. Setelah itu eksplan diinkubasi kembali dalam ruang kultur dengan cahaya, fotoperiodisitas dan suhu yang sama.

3.10 Pengamatan

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Pertumbuhan eksplan pada media prakondisi. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta kontaminasi yang diamati hingga 4 MST (Minggu Setelah Tanam).
 2. Jumlah tunas. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah tunas aksilar dan tunas apikal yang muncul pada tiap eksplan dengan ukuran 0,5 cm pada 8 MSP (Minggu Setelah Perlakuan).
 3. Jumlah mata tunas. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah mata tunas yang muncul pada tiap eksplan dengan ukuran 0,5 cm pada 4 dan 8 MSP.
 4. Jumlah *Scalp*. Dilakukan pengamatan pada eksplan dengan melihat struktur membengkak berwarna putih pada 8 MSP.
 5. Penampilan visual eksplan. Penampilan visual eksplan diamati dengan mengambil gambar eksplan menggunakan kamera pada 4 dan 8 MSP.
- Variabel pengamatan ini dilakukan sebagai penunjang hasil pengamatan variabel lainnya.

6. Jumlah Tunas. Pengamatan dilakukan dengan menghitung tunas yang muncul pada eksplan *scalp* dengan ukuran 0,5 cm pada 4 MSP di media MS + BA 5 mg/l.

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 *scalp* pisang ‘Tanduk’ yang dikulturkan *in vitro* selama 8 minggu setelah perlakuan (MSP) dari 5,0 menjadi 6,0 *scalp* per eksplan. Peningkatan konsentrasi lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah *scalp* per eksplan.
2. Media terbaik untuk pembentukan tunas pada kultur *in vitro* pisang ‘Tanduk’ yang berumur 8 MSP diperoleh pada media MS dengan penambahan TDZ 0,5 mg/l, yaitu dengan rata-rata jumlah mata tunas dan tunas masing yaitu 1,8 per eksplan. Peningkatan konsentrasi TDZ lebih lanjut menghasilkan penurunan jumlah mata tunas dan tunas per eksplan.
3. Pembentukan rata-rata jumlah tunas pada kultur *in vitro* eksplan *scalp* pisang ‘Tanduk’ dari berbagai konsentrasi TDZ yang berbeda di media MS + BA 5 mg/l pada 4 MSP tertinggi dihasilkan dari eksplan *scalp* yang berada di media MS + TDZ 0,5 mg/l yaitu 3,8 tunas per eksplan. Eksplan *scalp* dari konsentrasi TDZ > 0,5 mg/l menghasilkan penurunan jumlah tunas per eksplan

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, penulis menyarankan agar dilakukan penelitian dengan penggunaan rentang konsentrasi TDZ lebih rendah untuk mempelajari pengaruh optimumnya terhadap pembentukan tunas dan *scalp*. Serta dilakukannya studi lanjut mengenai penggunaan *scalp* hasil induksi oleh TDZ dalam penelitian ini pada media multiplikasi tunas maupun 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). Universitas Lampung. Lampung.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Pisang Menurut Provinsi (Ton) 2012-2016. http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti. Diakses pada 10 Januari 2018.
- Cahyono, B. 2009. *Pisang, usaha tani dan penanganan pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Damayanti, F. dan Samsurianto. 2010. Konservasi *in vitro* plasma nutfah untuk aplikasi di bank gen. *Bioprospek* 7 (2) : 1 – 6.
- Dodeman, V.L., Ducreux, G., dan Kreis, M. 1997. Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. *J. Exp. Bot.* 48: 1493 – 1509.
- FAOSTAT. 2014. Food and Agriculture Organization of The United Nations: Statistic Division. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>. Diakses pada 10 Januari 2018.
- 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., Hall, M.A., dan Klerk, G.J.D. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht. Springer. 3(1): 205-227.
- George, E.F. dan Sherrington, P.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Hand Book and Directory of Comercial Laboratories*. Eastern Press, Reading, Berks. England. p. 9-449.
- Gray, D.J. 2005. Propagation from non meristematic tissues: Nonzygotic embryogenesis. p. 187-200. *In* R.N. Trigiano, D.J. Gray (Eds). *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, FL.

- Gubbuk, H. dan Pekmezci, M. 2004. In Vitro Propagation of Some New Types (Musa spp.). *Turk J Agri* : 28 (2004) : 353-361.
- Guo, B., Abbasi, B.H., Zeb, A., Xu, L.L., dan Wei, Y.H. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*. 10(45): 8984-9000.
- Hapsoro, D., Alisan, M.I. dan Yusnita. 2010. Effect of benzyladenine on *in vitro* shoot multiplication of banana *Musa paradisiacal* Linn) cv. Ambon Kuning and Tanuk. Proceeding of International Seminar o Horticulture to Support Food Security 2010. Bandar Lampung, Indonesia. 22-23 June 2010(A-88).
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2016. Kultur jaringan untuk perbanyak klonal Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung.
- Huetteman, C.A. dan Preece, JE. 1993. Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 33: 105-119.
- Ikhsandi, A. 2017. Pembentukan *Scalp* Dan Tunas Pada Kultur In Vitro Tanaman Pisang Ambon Kuning Sebagai Respons Terhadap Berbagai Konsentrasi Thidiazuron. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Iliev, I., Gadjosova, A., Libiakova, G., and Jain, S.M. 2010. *Plant Micropropagation*. In: *Plant Cell Culture*. M. R. Davey and P. Anthony (Eds). John Wiley & Sons, Ltd. New Jersey. 1 – 20.
- Ismariati, T. 2010. Studi Mutiplikasi Tunas, Pengakaran dan Aklimatisasi pada Perbanyak *In Vitro* Tanaman Pisang Raja Bulu, Tanduk dan Ambon Kuning. Tesis Magister Agronomi UNILA. Bandar Lampung. 71 hlm.
- Isnaeni, N. 2008. Pengaruh TDZ terhadap Inisiasi dan Multiplikasi Kultur In Vitro Pisang Raja Bulu. (Skripsi). Program Studi Agronomi dan Hortikultura. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Istiqomah, H.N. 2015. Multipikasi Tunas Pisang ‘KepokKuning’(GenomAAA) dan ‘Raja Bulu’(GenomABB) *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 improvment of banana micropropagation. Taiwan Banana Research Institute. *Acta Hort* 692.
- Mega, S.G.A.K. 2016. Regenerasi Tunas pisang Ambon Kuning *In Vitro* pada Media yang Mengandung Thidiazuron dan 2,4-D. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung.
- Meldia, Y., Makful, Edison, dan Wahyuni. 2012. *Pengaruh Varietas terhadap Multiplikasi Tunas Pisang yang Diperbanyak Melalui Kultur Jaringan*. Prosiding Seminar Nasional Pekan Inovasi Teknologi Hortikultura Nasional: Penerapan Inovasi Teknologi Hortikultura dalam Mendukung Pembangunan Hortikultura yang Berdaya Saing dan Berbasis Sumberdaya Genetik Lokal. Lembang. 5 Juli 2012.
- 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.
- Mok, M.C., Mok, D.W.S., Turner, J.E. dan Mujar, C.J. 1987. Biological and biochemical effect of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture system. *HortSci.* 22:1194-97.
- Msogoya, T. J. dan Juliana, M. 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.
- Murch, S.J., Krishna, J.S., dan Saxena P.K. 1997. Thidiazuron-induced regeneration: A potential stress response. *Plant Physiol.* 114(3): 1771-1777.
- Murthy, S. 1997. Morpho-Physiological Role of Thidiazuron in Plants (Tesis). The University Of Guelph. Canada.
- Murasige, T, dan Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Jurnal.* Wisconsin. Dep Botany, University of Wisconsin : 473–497.
- Ngomuo, M., Mneney, E., dan Ndakidem, P.Ei. 2014. The in vitro propagation techniques for producing banana using shoot tip cultures. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 1614-1622.
- Plantamor. 2013. *Musa paradisiaca*. www.plantamor.com/species/musa-paradisiaca. Diakses pada 10 Agustus 2017
- Prihatman, K. 2000. *Pisang (Musa spp.)*. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.

- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin Agro Bio*.5 (2): 51-58.
- Rugayah, Hapsoro, D., Ulumudin, U., dan Motiq, F.W. 2012. Kajian teknik perbanyak vegetatif pisang Ambon Kuning dengan pembelahan bonggol (corm). *Jurnal Agrotropika*. 17(2):58-65.
- Sadik, K., Rubaihayo, P.R., Magambol, M.J.S., dan Pillay, M. 2007. Generation of cell suspensions of East African highland bananas through scalps. *African Journal of Biotechnology*.6(11): 1352-1357
- Satuhu, S. dan Supriyadi, A. 2010. *Pisang: Budi Daya, Pengolahan, & Prospek Pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Schoofs, H., Panis dan B., dan Swennen, R. 1998. Competence of Scalp for Embryogenesis in Musa. Proc.Int.Symp. Banana in Subtropics.*Acta Hort*. 5: 475 – 483.
- Semarayani, C.I.M. dan Dinarti, D. 2011. Subkultur berulang tunas *in vitro* pisang kepok unti sayang pada beberapa komposisi media. *Prosiding. Simposium dan Seminar Bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPI-HIGI Mendukung Kedaulatan Pangan dan Energi yang Berkelanjutan*.
- Sheibani, M., Azghandi, A.V., dan Nemati, S.H. 2007. Induction of Somatic in Saffron Using Thidiazuron (TDZ). *Biological Science*. 10(20): 3564 – 3570.
- Shirani, S., Mahdavi, F., dan Maziah, M. 2009. Morphological abnormality among regenerated shoot of banana and plantain (*Musa spp.*) after *in vitro* multiplication with TDZ dan BAP from excised shoot-tips. *African Journal of Biotechnology*. 8(21): 5755 – 5761.
- Shirani, Siamak, 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., Chaurasia, A., Agrawal, A., dan Sarin, N.B. 2009. ABA enhances plant regeneration of somatic embryos derived from cell suspension.
- Stroosse, H., Schoofs, H., Panis, B., Andre, E., reyniersdan, K., dan Swennen, R. 2005. Development of embryogenic cell suspension from shootmeristematic tissue in bananas dan plantains (*Musa spp.*). *Plant Science*. 170;104 – 112.
- Sukmadjaja, D., Purnamaningsih, R., dan Priyatno, T.P. 2013. Seleksi *in vitro* dan pengujian mutan anaman 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.
- Suyanti dan Supriyadi, A. 2008. *Pisang, budidaya, pengolahan, dan prospek pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Triyani, S. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Thidiazuron terhadap Multiplikasi Tunas Pisang 'Raja Bulu' (Genom AAB) In Vitro*. (Skripsi). Jurusan Agroteknologi. Universitas Lampung.
- Thomas, J.C. dan Katterman, F.R. 1986. Short Communication Cytokinin Activity Induced by thidiazuron. *Plant Physiol.* 81, 681 – 685.
- 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). Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian Dengan Perguruan Tinggi. cultures of plantain cv. Spambia (*Musa sp.*). *Plant Cell Tiss Organ Culture.* 99:133 – 140.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Andi Offset. Yogyakarta.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Tangerang.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Pisang*. Bandar Lampung: CV. Anugrah Utama Raharja.
- Yusnita dan Hapsoro, D. 2013. *Eksplorasi, Karakterisasi, Seleksi, dan Perbanyakkan Klonal In Vitro untuk Mendapatkan Genotipe-Genotipe Unggul Pisang Komersial* Lampung. Laporan Tahunan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Lampung.
- Yusnita, Pradana, O.C.P, dan Hapsoro, D. 2014. Pemiakan *In Vitro* Tanaman Pisang (*Musa spp*) cv. Ambon Kuning: Optimasi Multiplikasi Tunas dengan Benzioadenin dan Kinetin serta Aklimatisasi Planlet. Poster, disampaikan pada Seminar Nasional dan Rapat Tahunan (SEMIRATA) Dekan Fakultas Pertanian BKS Barat, Bandar Lampung, 19 – 20 Agustus, 2014.