BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pisang merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara dan kini tanaman pisang telah menyebar ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Salah satu tanaman pisang yang mempunyai nilai komersial yang tinggi dan berpeluang untuk dikembangkan adalah pisang barangan (*Musa acuminata* L.). Pisang barangan mempunyai kandungan gizi yang sangat baik dan kaya mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi, dan kalsium.Selain itu, pisang barangan juga mengandung vitamin C, B kompleks, B6, dan serotonin yang aktif sebagai *neurotransmitter* dalam melancarkan otak (Sunyoto, 2011). Manfaat pisang antara lain: buahnya dapat dikonsumsi, bonggolnya dapat diolah menjadi makanan, daun digunakan sebagai pembungkus (Supriyadi dan Suyanti, 2008) dan pelepahnya sebagai bahan serat. Dari sekian banyak jenis pisang di Indonesia, pisang barangan banyak diminati dan diusahakan, khususnya di Sumatera Utara.

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) Sumatera Utara (2015), ekspor buah-buahan Sumatera Utara sudah mencapai 92,874 juta dolar AS pada kuartal 1 tahun 2015 menyusul naiknya tingkat permintaan. Dilihat dari nilai kotor produksi dunia, pisang menempati urutan ke-empat untuk bahan pangan dunia yang paling penting untuk diperhatikan setelah beras, gandum, dan jagung (Sihotang, *dkk.,*2016). Pada tahun 2011 produktivitas buah pisang di Sumatera Utara sebesar 429.628 ton dan menurun pada tahun 2013 menjadi 342.297 ton (Badan Pusat Statistik, 2015). Kabupaten Simalungun, Deli Serdang, Tapanuli Utara dan Nias merupakan sentra penghasil pisang barangan terbesar di Sumatera Utara (Dinas Pertanian Sumatera Utara, 2014).

Pengembangan pisang barangan sulit dilakukan karena bibit yang tersedia masih langka serta teknologi perbanyakan untuk mendapatkan bibit berkualitas baik masih menemui banyak hambatan.Salah satu pembatas pembudidayaan pisang adalah terbatasnya jumlah anakan yang dijadikan bibit dan pertumbuhannya sangat lambat (Mutryarny, 2007).Tanaman pisang pada umumnya selalu diperbanyak secara vegetatif, yaitu dengan menggunakan anakan (*sucker*) yang tumbuh di bonggolnya. Dengan cara pemisahan anakan ini, satu induk pisang dapat diperoleh sekitar 5-10 anakan pertahun (Supriyadi dan Suyanti, 2008). Kendala pengadaan bibit unggul secara konvensional adalah sulitnya mendapatkan bibit yang berkualitas dalam jumlah besar dan dalam waktu yang singkat. Salah satu keunggulan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan adalah sangat dimungkinkan mendapatkan bahan tanam dalam jumlah besar dalam yang waktu singkat (Priyono, 2000).

Kultur jaringan merupakan teknik budidaya (perbanyakan) sel, jaringan, dan organ tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptik atau bebas dari mikroorganisme (Andaryani, 2010). Prinsip kultur jaringan berpegang pada teori sel dari Schwan dan Schleiden pada tahun 1838 yang dikenal dengan teori totipotensi, yang menyatakan bahwa setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika kondisinya sesuai (Zulkarnain, 2009). Teknik kultur jaringan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan kebutuhan bibit dalam jumlah besar, cepat, dan bebas penyakit sehingga bibit yang dihasilkan lebih sehat serta seragam (Arimarsetiowati, 2013).

Media kulturformula *Murashige* dan *Skoog* merupakan media yang paling sering digunakan sebagai media kultur jaringan karena media ini mempunyai konsentrasi asam organik yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula media kultur lainnya. Salah satu komponen

yang sering ditambahkan dalam media adalah zat pengatur tumbuh dari golongan auksin dan sitokinin, pemakaian keduanya dalam konsentrasi yang tepat dapat mengatur arah dan kecepatan pertumbuhan jaringan (Rahayudan Endang, 2003).

Auksin digunakan secara luas dalam media kultur jaringan untuk menstimulasi kalus, produksi dan pertumbuhan sel, inisiasi tunas dan akar, dan induksi embrio somatik. Auksin juga sering digunakan pada kultur meristem dan pucuk .Penggunaan auksin pada konsentrasi rendah mampu mendorong inisiasi akar, dan pada konsentrasi tinggi dapat merangsang pembentukan kalus. IAA (*Indole Acetic Acid*) merupakan auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan (Anonim, 2003).

Sitokinin mempunyai 2 peran penting dalam propagasi secara *in vitro,* yaitu perangsang pembelahan sel dalam jaringan dan merangsang pertumbuhan tunas.Sitokinin berinteraksi dengan auksin sedemikian rupa sehingga pemakaian bersama-sama harus mempertimbangkan kadar maupun perbandingannya dalam media (Wetherell, 1982). Kinetin merupakan hormon golongan sitokinin yang pertama kali ditemukan (Wetherell, 1982) dan jenis sitokinin alami yag dihasilkan pada jaringan yang tumbuh aktif terutama padaakar, embrio dan buah. Kinetin berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.

Berdasarkan uraian di atas maka penulis tertarik untuk meneliti mengenai pengaruh pemberian IAA dan kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang barangan (*Musa acuminata* L.).

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian IAA dan kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang barangan (*Musa acuminata* L.).

1.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian adalah:

1. Diduga ada pengaruh perbedaan konsentrasi *Indole Acetic Acid* (IAA) dalam menginduksi tunas dari eksplan anakan pisang barangan (*Musa acuminata* L.).
2. Diduga ada pengaruh perbedaan konsentrasi kinetin dalam menginduksi tunas dari eksplan anakan pisang barangan (*Musa acuminate* L.).
3. Diduga ada interaksi antara*Indole Acetic Acid* (IAA) dan kinetin dalam menginduksi tunas darieksplan anakan pisang barangan (*Musa acuminata* L.).

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Untuk mendapatkan konsentrasi *Indole Acetic Acid* (IAA) dan kinetin yang terbaik untuk mikropropagasi pada eksplan anakan pisang barangan (*Musa acuminata* L.).
2. Sebagai bahan informasi bagi petani dan pihak yang membutuhkan dalam mikropropagasi pisang barangan (*Musa acuminata* L.).
3. Sebagai bahan penyusun skripsi yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sistematika Tanaman Pisang Barangan

Menurut Nakasone dan Paull (1998), sistematika tanaman pisang sebagai berikut:

Divisi :*Spermatophyta*

Sub Divisi :*Angiospermae*

Kelas :*Monocotyledonae*

Famili :*Musaceae*

Genus :Musa

Spesies :*Musa acuminata* L.

2.2. Morfologi Tanaman Pisang Barangan

2.2.1. Akar

Akar utama memiliki ketebalan sekitar 5-8 mm berwarna putih ketika baru dan sehat. Kemudian dari beberapa akar utama akan berkembang akar sekunder dan tersier, yang terakhir akan semakin tipis dan lebih pendek dari akar utama. Akar sekunder berasal dari *protoxilem* dekat ujung akar dan terus berkembang melewati tanah.Beberapa jarak di belakang ujung akar pada perkembangan akar utama dihasilkan rambut akar yang bertugas dalam pengambilan air dan mineral (Robinson, 1999).

2.2.2. Batang

Batang sejati pada tanaman pisang sebagian atau keseluruhan ada di bawah tanah yang disebut Rhizom. Rhizom dewasa berdiameter sekitar 300 mm. Rhizom merupakan organ penting yang mendukung pertumbuhan tandan buah

dan perkembangan anakan. Sebelum berbunga, rhizom berisi sekitar 35% total bahan kering dan menurun menjadi 20% saat kematangan buah karena cadangan didistribusikan untuk pertumbuhan buah (Robinson, 1999). Sedangkan batang semu adalah batang pisang yang tersusun dari pelepahnya.

2.2.3. Daun

Daun pertama dihasilkan dari meristem pusat pada perkembangan anakan.Tangkai daun berada pada dalam daun itu sendiri, tulang daun membagi menjadi dua helai bagian lamina. Lamina dewasa memiliki panjang berkisar 1,5-2,8 m, sedangkan lebar 0,7-1,0 m. Lamina membutuhkan 6-8 hari untuk membuka secara sempurna.Jumlah daun dapat mencapai 25-50, dengan 10-15 daun fungsional pada tanaman saat muncul bunga (Nakasone dan Paull 1998; Robinson, 1999).

2.2.4. Bunga

Bunga terdiri dari kumpulan dua baris bunga, bunga betina muncul pertama dan kemudian disusul bunga jantan.Braktea membuka secara sekuen sekitar satu perhari. Tangkai bunga terus memanjang sampai 1,5 m. Buah kemungkinan berkembang dari ovari inferior.Eksokarp disusun pada lapisan 5 epidermis dan perenkim, dengan daging menjadi mesokarp.Endokarp terdiri atas lapisan hampir rongga ovarian.Masing-masing node mempunyai dua baris pada bunga membentuk tandan pada buah yang secara umum disebut sisir dengan buah individual disebut *finger*.

2.3. Mikropropagasi

Perbanyakan (propagasi) secara *in vitro* (kultur jaringan) merupakan suatu metode untuk menumbuhkan bagian-bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ dalam keadaan aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh (planlet) (Sani, 2007). Propagasi *in vitro* memiliki beberapa kelebihan daripada perbanyakan vegetatif secara konvensional yaitu, waktu pemuliaan relatif singkat, tidak tergantung musim, dapat diperoleh tanaman bebas virus dari sumber eksplan yang terinfeksi penyakit, dapat dihasilkan bibit yang seragam, dan dapat diperoleh anakan (planlet) dalam jumlah banyak dari sumber eksplan yang terbatas (Sani, 2007).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur*in vitro* antara lain: faktor eksplan, komponen medium dan lingkungan kultur. Ukuran, umur, genotipe, dan sumber eksplan juga menentukan keberhasilan kultur*in vitro*. Eksplan yang terlalu kecil memiliki daya tahan untuk hidup yang rendah dan tingkat kegagalannya tinggi. Sebaliknya, eksplan yang terlalu besar akan

mudah menggulung dan mudah terkontaminasi (George dan Sherrington, 1984). Ukuran eksplan yang baik berkisar antara 0,5–1 cm, tetapi ukuran ini dapat bervariasi tergantung bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan eksplan serta jenis tanaman (Katuuk, 1989).

Komponen utama yang dibutuhkan dalam kultur*in vitro* yaitu, bahan awal, medium yang sesuai, serta tempat pengkulturan. Medium yang digunakan dalam kultur*in vitro* bisa berupa media cair ataupun media padat. Media cair digunakan untuk kultur sel, sedangkan media padat biasanya digunakan untuk menumbuhkan kalus yang kemudian akan berkembang menjadi tanaman utuh. Komposisi medium yang digunakan untuk kultur*in vitro* meliputi lima komponen utama, yaitu senyawa anorganik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh, serta suplemen organik. Senyawa anorganik dibedakan menjadi unsur makro dan unsur mikro.Medium umumnya mengandung nitrat dan kalium. Amonium merupakan senyawa esensial untuk sebagian besar kultur, namun konsentrasi yang dibutuhkan lebih sedikit dari nitrat. Sumber karbon yang digunakan bisa berupa glukosa, fruktosa, maltosa, serta sukrosa yang paling sering digunakan.Vitaminyang sangat penting adalah tiamin.Piridoksin, asam nikotinat, dan *mio-inositol* dapat meningkatkan pertumbuhan sel (Murashige dan Skoog1962).

Komponen-komponen dalam medium digunakan untuk memenuhi kebutuhan zat hara dan mengarahkan pertumbuhan eksplan. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan dalam kultur*in vitro* yaitu, cahaya, temperatur, dan pH medium. Selama pertumbuhan secara *in vitro* sel tumbuhan tidak melakukan fotosintesis secara efisien dan urnumnya dalam keadaan non autotrof.Meskipun seluruh kebutuhan energi untuk pertumbuhan secara *in vitro* sudah dipenuhi dari gula tetapi untuk menghasilkan planlet hijau dengan daun normal diperlukan cahaya. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam

medium merupakan faktor utama penentu keberhasilan kultur*in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan antara lain auksin, sitokinin dan giberelin (Wetherell, 1982).

Hormon-hormon ini sering digunakan karena mempunyai kemampuan untuk merangsang pertumbuhan eksplan dan mempengaruhi pertumbuhan akar.Dari ketiga jenis hormon ini yang paling sering digunakan adalah auksin dan sitokinin.Fungsi utama sitokinin adalah memacu pembelahan sel, sedangkan fungsi auksin adalah merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk, menyebabkan pertumbuhan pucuk baru, serta merangsangpembentukan akar.Auksin secara alami diproduksi dalam bentuk IAA (*Indole Acetic Acid*), tetapi auksin jenis ini tidak stabil (Wetherell, 1982).

Perbanyakan sel dapat diinduksi dengan penggunaan auksin (NAA atau 2,4-D) atau sitokinin (zeatin dan thidiaruzon). Sedangkan untuk regenerasi, auksin (NAA, IAA, IBA) dibutuhkan dalam konsentrasi rendah dan sitokinin dalam konsentrasi tinggi. Selain media, hal penting yang harus diperhatikan dalam melakukan kultur tanaman adalah sterilisasi. Selain komposisi media, hal utama yang harus dilakukan dalam teknik kultur jaringan adalah sterilisasi alat, ruang kerja, pekerja, dan bahan.

Sterilisasi bahan merupakan kegiatan untuk menghilangkan kontaminan organisme yang menempel di permukaan eksplan. Tujuan utama tahap ini adalah mengusahakan kultur yang aseptik dan aksenik. Aksenik berarti bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan, sedangkan aseptik berarti bebas dari mikroorganisme (Sani, 2007).Cara kerja yang aseptik dapat mengurangi tingkat kontaminasi sehingga eksplan yang ditanam dapat hidup dan mengalami embriogenesis maupun organogenesis.

Organogenesis mengarah kepada pembentukan jaringan, sel, atau kalus menjadi tunas, akar, dan tanaman utuh. Pembentukan akar dapat terjadi serentak atau dengan induksi. Zat

pengatur tumbuh berperan penting dalam proses ini. Sitokinin secara tunggal ataupun kombinasinya dengan auksin menyebabkan diferensiasi dan pembentukan tunas. Kalus merupakan sel-sel yang belum terdiferensiasi, tersusun dari sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dariproliferasi sel jaringan induk.Hasil penelitian menunjukkan, perlakuan terbaik untuk eksplan daun padi IR4 setelah 21 hari adalah perlakuan air laut 47,5 % dengan kombinasi hormon 1,5 mg/l IAA dengan 1,0 mg/l kinetin atau 2,0 mg/l IAA dengan 0,5 mg/l kinetin dapat menghasilkan kalus dan tunas (Suryowinoto, 1996).Penelitian yang dilakukan oleh Dewi dan Dyah (2010) juga menunjukkan bahwa pemberian kinetin konsentrasi 1,5 ppm dan 2 ppm memberikan pengaruh terbaik terhadap jumlah tunas yang muncul pada perbanyakan tanaman jarak pagar secara *in vitro*.

2.4. Eksplan

Eksplan adalah bagian kecil dari tanaman yang ditanam dan diperbanyak dengan teknik kultur jaringan. Eksplan yang digunakan dalam teknik kultur jaringan harus memiliki kondisi fisiologi yang tepat dan bebas penyakit. Selain itu, jenis tanaman, bagian tanaman, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh, umur, kondisi tanaman, ukuran eksplan serta musim pengambilan merupakan beberapa faktor keberhasilan dalam tahapan kultur jaringan. Hartmann*dkk*., (2002) dan Yusnita (2003) menyebutkan bahwa bagian tanaman yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah kalus, sel, protoplas, pucuk, bunga, daun, akar, umbi, biji atau bagian-bagian biji seperti aksis embrio atau kotiledon. Anakan (*sucker*)pada bonggol dapat digunakan sebagai sumber eksplan pada kultur jaringan pisang.

2.5. Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan, contohnya, yaitu *Murashige* dan *Skoog-MS*. Media kultur tersebut dapat berbentuk cair maupun padat.

Medium padat digunakan untuk menghasilkan kalus yang selanjutnya diinduksi membentuk tanaman lengkap (planlet), sedangkan medium cair biasanya digunakan untuk kultur sel. Medium yang digunakan mengandung lima komponen umum, yaitu senyawa anorganik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh dan suplemen organik (Yuwono, 2008).

2.6. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan mengubah proses fisiologi tumbuhan. Fungsi ZPT untuk merangsang pertumbuhan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ (Gunawan, 1992).

Zat pengatur tumbuh terdiri dari golongan sitokinin dan auksin.Auksin mempunyai peran ganda yang tergantung pada struktur kimia, konsentrasi dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Pada umumnya auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memancu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium .Untuk memacu pembentukan kalus embriogenik dan struktur embrio somatik seringkali auksin diperlukan dalam konsentrasi yang relatif tinggi.

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang tidak

kenal sebagai tanaman. Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman. Dalam peroses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman. Penambahan auksin dan sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel, sehingga menjadi "faktor pemicu" dalam proses tumbuh dan perkembangan jaringan. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen. Kombinasi antara sitokinin dengan auksin dapat memacu morfogenesis dalam pembentukan tunas (Gati, 2011)

2.6.1. Auksin

Auksin adalah sekelompok senyawa yang fungsinya merangsang pemanjangan sel-sel pucuk yang spektrum aktivitasnya menyerupai IAA (*IndoleAcetic Acid*). Pierik (1987) menyatakan bahwa pada umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Auksin berpengaruh juga untuk menghambat pembentukan tunas adventif dan aksilar, namun kehadirannya dalam medium kultur dibutuhkan untuk meningkatkan embriogenesis somatik pada kultur suspensi sel. Konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pertumbuhan akar adventif, sedangkan auksin konsentrasi tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (Smith, 1992).

IAA (*Indole Acetic Acid*) merupakan hormon yang diproduksi oleh mikroorganisme tertentu dan juga dapat dihasilkan oleh tanaman yang dapat mempengaruhi proses fisiologis tumbuhan. Hanafiah *dkk.,*(2005)menyatakan bahwa *Agrobacterium tumefaciens*,*Ustilago maydis, Synchystrium endobioticum, Gymnosporangium juniper virjinianae* merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan fitohormon, baik pada kultur murni maupun pada

asosianya dengan tanaman.IAA adalah satu-satunya auksin endogen atau auksin alami yang terdapat pada tanaman auksin yang lain merupakan auksin sintetik yang memiliki cara kerja yang sama dengan auksin endogen (Torres, 1989). Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas dari auksin sintetik antara lain:(1) Kemampuan senyawa tersebut untuk dapat menembus lapisan kutikula atau epidermis yang berlilin, (2) sifat translokasi di dalam tanaman, (3) pengubahan auksin menjadi senyawa yang tidak aktif di dalam tanaman (destruksi atau pengikatan), (4) interaksi dengan hormon tumbuh lainnya, (5) spesies tanaman, (6) fase pertumbuhan, dan (7) lingkungan (suhu, radiasi, dan kelembaban).

Penentuan taraf konsentrasi zat pengatur tumbuh disesuaikan dengan tipe organ atau eksplan, metode kultur jaringan, dan tingkat kultur jaringan (pembentukan kalus, induksi tunas, induksi akar dan lain-lain). Jenis dan konsentrasi auksin dipilih berdasarkan tipe pertumbuhan yang dikehendaki, level auksin endogen, kemampuan jaringan mensintesis auksin dan golongan ZPT lain yang ditambahkan (Siti, 2012).

2.6.2. Sitokinin

Golongan sitokinin adalah turunan dari adenin yang sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Selain pembelahan sel, sitokonin mampu menstimulasi pertumbuhan tunas dalam kultur in-vitro. Sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi (1-10 mg/l) mampu menginduksi pembentukan tunas, namun menghambat pembentukan akar (Siti, 2012).

Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Berdasarkan hasil penelitian Alamin*, dkk.,* (2009) perlakuan dengan kombinasi NAA 2 mg/l dengan kinetin 5

mg/l pada multiplikasi tunas pisang kultivar bari dalam waktu 30 hari setelah inokulasi menghasilkan rata- rata tunas yaitu 1,75.

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitiandilaksanakan pada bulan September 2018 sampai dengan Januari 2019 di laboratorium Kultur Jaringan Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Benih Induk Hortikultura (BIH) Gedung Johor, Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara, Kecamatan Medan Johor.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah anakan pisang barangan, media kultur yang digunakan adalah adalah media MS (*Murashige* dan *Skoog*), IAA, kinetin, tepung agar, detergen, Tween-80, Betadine, NaClO (sodium hypoklorit), Antracol, tissue, spiritus, alkohol dan air bersih.

Alat-alat yang digunakan adalah *autoklaf, laminar air flow cabinet* (LAFC), *air conditioner* (AC), lampu TL 15 watt, lampu spiritus, botol kultur, labu Erlenmeyer, gelas ukur, petridish, pisau scalpel, timbangan analitik, kompor gas, pinset, pH meter, alluminium foil, beaker glass, *shaker*, kertas label, rak kultur, baju laboratorium, masker, keranjang botol, ember, spons, kain lap, dan kamera.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor perlakuan, yaitu:

1. Faktor konsentrasi IAA (*Indole Acetic Acid*) yang disusun dalam 4 taraf yaitu:

   I_0 = 0 mg/l

   I_1 = 0,3 mg/l (dosis anjuran)

   I_2 = 0,6 mg/l

   I_3 = 0,9 mg/l

   Konsentrasi anjuran untuk Zat Pengatur Tumbuh IAA untuk tanaman pisang adalah 0,3 mg/l (Latifah dan Dewi, 2014).

2. Faktor konsentrasi kinetin yang disusun dalam 4 taraf yaitu:

   K_0 = 0 mg/l

   K_1 = 2,5 mg/l

   K_2 = 5 mg/l (dosis anjuran)

   K_3 = 7,5 mg/l

Konsentrasi anjuran yang terbaik untuk Zat Pengatur Tumbuh Kinetin untuk tanaman pisang adalah 5 mg/l(Alamin*, dkk.*2009).

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak 4x4 = 16 kombinasi yaitu:

I_0K_0	I_1K_0	I_2K_0	I_3K_0
I_0K_1	I_1K_1	I_2K_1	I_3K_1
I_0K_2	I_1K_2	I_2K_2	I_3K_2
I_0K_3	I_1K_3	I_2K_3	I_3K_3

Jumlah perlakuan : 16

Jumlah ulangan : 3

Jumlah eksplan/botol : 1

Jumlah eksplan sisipan : 1

Jumlah tanaman utama : 48

Jumlah seluruh botol : 96 botol

3.4. Metode Analisis

Metode analisis yang digunakan untuk RAL Faktorial adalah model linier aditif sebagai berikut:

$$\mathbf{Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}}$$

dimana:

Y_{ijk} = Hari pengamatan dari faktor IAA ke-i dan faktor Kinetin ke-j pada ulangan ke-k

μ = Nilai tengah

α_i = Pengaruh perlakuan IAA taraf ke-i (i =1, 2, 3, 4)

β_j = Pengaruh perlakuan kinetin taraf ke-j (j = 1, 2, 3, 4)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi IAA taraf ke-I dan kinetin taraf ke-j

ε_{ijk} = Galat pada perlakuan ke-i ulangan ke-j pada ulangan ke-k

Untuk mengetahui pengaruh dari faktor perlakuan yang diberikan serta interaksinya maka data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam.Hasil sidik ragam yang nyata atau sangat nyata pengaruhnya dilanjutkan dengan menggunakan uji jarak duncan pada taraf $\alpha = 0,05$ dan $\alpha = 0,01$ untuk membandingkan perlakuan dan kombinasi perlakuan (Malau, 2005).

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Penyediaan dan Seleksi Sumber Eksplan

Pada penelitian ini, sumber eksplan yang digunakan adalah bonggol tanaman pisang barangan (*Musa acuminata* L.) yang diperoleh dari petani di Simalingkar, Medan.

3.5.2. Sterilisasi Ruang Kultur

Ruang kultur merupakan ruang untuk melakukan kegiatan isolasi bahan tanaman dan menanamkan eksplan ke dalam botol-botol berisi media kultur steril. Botol kultur tersebut ditempatkan pada rak-rak kultur yang dilengkapi lampu neon. Ruang ini dilengkapi dengan AC untuk mendapatkan suhu udara yang dikehendaki, yaitu 25 ± 1^0C di dalam ruangan ini peralatan lain seperti : timer pengatur *fotoperiodisitas*, *thermometer* udara, *hygrometer*, *shaker* (meja pengocok) diinkubasikan pada media cair. Ruang kultur harus selalu dibersihkan untuk menghindari kemungkinan terjadinya kontaminasi terhadap kultur.

Sterilisasi ruang kultur dilakukan dengan menyemprotkan alkolhol ke seluruh bagian ruangan, menghidupkan lampu ultra violet (UV) dan blower pada *laminar air flow cabinet* selama 30 menit.

3.5.3. Sterililasi Alat-Alat Kultur

Semua alat-alat yang digunakan dalam kultur jaringan dicuci dengan menggunakan detergen dan dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan dalam rak botol. Setelah semua alat-alat kering maka alat-alat seperti *petridish*, pengaduk, pinset, pipet tetes, pisau *scalpel*, dibungkus dengan kertas koran. Kemudian semua alat disusun dalam oven untuk disterilkan dengan suhu 121^0 C dengan tekanan 17,5 psi selama 1-2 jam.

3.5.4. Pembuatan Media Kultur dan Sterilisasi Media Kultur

Pembuatan media *Murashige* dan *Skoog* (MS) dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu untuk memudahkan pada pembuatan media. Untuk membuat 1 liter media kultur dalam panci terlebih dahulu larutan stok diambil satu demi satu sesuai takarannya dan tambahkan sukrosa 30 g lalu ditambahkan *aquades* hingga volume 1 L.

Kemasaman pH diatur dengan menggunakan pH meter, jika pH kurang dari 5,8 maka ditambahkan NaOH dan apabila pH lebih dari 5,8 maka ditambahkan HCl. Setelah itu, pada media dimasukkan agar-agar 6 gr, media dipanaskan hingga mendidih pada kompor gas sambil diaduk-aduk, diangkat dan kemudian media dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 30-35 ml, kemudian botol ditutup dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121^0C selama 15 menit. Botol-botol kultur berisi media yang telah padat disimpan pada ruang kultur.

3.5.5. Sterilisasi Media dan Air

Setelah Media MS padat dan dikeluarkan dari *autoclave* lalu media disusun pada rak kultur. Selama menunggu media, dilakukan pengamatan terhadap media ada atau tidaknya yang

terkontaminasi, hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa media yang digunakan memang benar-benar steril.Setelah semua alat disterilkan maka botol *erlenmeyer* digunakan dengan sterilisasi air. Botol Erlenmeyer diisi dengan air bersih secukupnya, botol ditutup dengan menggunakan kertas *aluminium foil*, lalu botol Erlenmeyer yang sudah tertutup disusun dalam *autoclave* untuk disterilisasi selama 20 menit sebelum pemakaian pada suhu 180^0 C dan pada tekanan 15-20 Psi.

3.5.6. Sterilisasi Eksplan

3.5.6.1 Sterilisasi di Luar Laminar Air Flow Cabinet

Bonggol tanaman pisang yang masih utuh dibersihkan dan dipotong menjadi ukuran kecil, direndam didalam air yang bercampur dengan detergen kemudian dibilas pada air mengalir.Selanjutnya eksplan direndam dengan antracol pada ember selama 1 jam.Setelah itu bonggol pisang dimasukkan kedalam stoples berukuran kecil dan dibersihkan pada air mengalir dengan mengguncang selama 20 kali, bonggol pisang dibersihkan dengan cara mengguncang sampai tidak berbusa lagi. Kemudian digoncang dengan air sterilselama 3 kali dan setelah itu digoncang dengan alkohol dan dimasukkan ke dalam stoples dan eksplan siap dibawa ke ruang kultur.

3.5.6.2 Sterilisasi di Dalam Laminar Air Flow Cabinet

Eksplan yang sudah dipotong digoncang dalam larutan H_2O_2 (6 %) selama 10 menit dan larutan diganti dengan Clorox ditambah 600 ml aquades ditambah Tween-80 (3tetes) dan diguncang selama 20menit. Setelah itu digoncang dengan air steril selama 10 menit, dilakukan sebanyak 3 kali sampai eksplan tidak berbusa.Eksplan dibilas dengan aquades dan ditiriskan.

3.5.7. Isolasi Eksplan

Setelah bonggol tanaman pisang disterilkan, masing-masing eksplan dipotong kecil-kecil berukuran 1-2 cm di dalam petridish dan menggunakan pisau, pinset yang telah disterilkan, dan lampu spiritus.Kemudian eksplan ditanam pada suatu botol media yang sudah disediakan. Botol kemudian ditutup dengan menggunakan tutup botol plastik pang tahan panas dan dibuat kode perlakuan dengan kertas label lalu diklip dengan klip plastik untuk menghindari masuknya air dan organisme pengganggu. Kemudian botol-botol yang berisi eksplan ditempatkan dalam rak-rak kultur jaringan.

3.5.8. Pemeliharaan Kultur

Botol-botol kultur berisikan eksplan ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan secara berurutan sesuai perlakuan. Ruang kultur difasilitasi dengan penyinaran lampu TL dan rak-rak kultur difasilitasi lampu TL. Kelembapan ruang kultur diatur 90% karena kelembapan di sekeliling ruang kultur mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum berkisar 20^0-25^0C. Ruangan ini diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dengan cara disterilkan setiap hari dan botol kultur disemprot dengan alkohol

3.6. Pengamatan

Pengamatan terhadap eksplan dilakukan pada 1 minggu setelah tanam sampai 8 minggu setelah tanam. Parameter yang diamati adalah:

3.6.1. Kondisi Eksplan

Kondisi eksplan dapat dilihat secara visual dengan melihat bagaimana keadaan eksplan di dalam botol perlakuan tersebut. Eksplan akan menunjukkan respon pertumbuhan setelah 1 minggu tahap perlakuan.Pengamatan dilakukan pada 1 MST dan 4MST, pada 1 MST dengan melihat kondisi warna dan 4 MST melihat kondisi eksplan yang terbentuk tunas. Eksplan akan

terus mengalami pertumbuhan, ditandai dengan tumbuhnya tunas, daun dan akar. Eksplan menunjukkan gejala hidup dicirikan dengan warna hijau muda, hijau kemerahan dan bebas kontaminasi.Kondisi eksplan dicatat secara deskriptif.

3.6.2. Jumlah Tunas (tunas)

Jumlah tunas dihitung pada akhir penelitian, yaitu pada 8 MST dengan menghitung jumlah tunas yang muncul.

3.6.3. Tinggi Tunas (cm)

Tinggi tunas diukur dengan menggunakan penggaris, pengukuran dilakukan dari permukaan media sampai pada ujung tunas yang tertinggi dan dilakukan pada akhir penelitian pada umur 8 MST.

3.6.4. Jumlah Akar (helai)

Jumlah akar dihitung secara manual, yakni dengan menghitung jumlah akaryang terbentuk dari satu eksplan dan dilakukan pada akhir penelitian pada umur 8 MST.

3.6.5. Bobot Basah Akhir (gr)

Bobot basahdihitung dengan cara menimbang bobot setiap botol kultur perlakuan yang berisi media dan eksplan(ditimbang pada saat setelah selesai penanaman) dan menimbang bobot setiap botol kultur yang berisi eksplan yang bertunas maupun yang tidak bertunas (ditimbang pada akhir penelitian). Jadi bobot basah akhirdihitung dengan cara: bobot botol kultur yang berisi eksplan bertunas maupun yang tidak bertunas dikurangi bobot bobot kultur yang berisi media dan eksplan.