

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan salah satu jenis buah-buahan tropis yang tumbuh subur dan mempunyai wilayah penyebaran merata di seluruh wilayah Indonesia. Pisang adalah tumbuhan yang termasuk dalam famili Musaceae yang merupakan komoditas bernilai ekonomi tinggi di Indonesia (Martiningsih, 2000).

Salah satu komoditas hortikultura dari kelompok buah - buahan yang saat ini cukup di perhitungkan adalah tanaman pisang. Pengembangan komoditas pisang bertujuan memenuhi kebutuhan akan konsumsi buah-buahan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya gizi dimana pisang merupakan sumber vitamin, mineral dan juga karbohidrat. Selain rasanya lezat, bergizi tinggi dan harganya relatif murah, pisang juga merupakan salah satu tanaman yang mempunyai prospek cerah karena di seluruh dunia hampir setiap orang gemar mengkonsumsi buah pisang (Komaryati dan Adi, 2012).

Buah pisang mengandung gizi cukup tinggi, kolesterol rendah serta vitamin B6 dan vitamin C tinggi. Zat gizi terbesar pada buah pisang masak adalah kalium sebesar 373 miligram per 100 gram pisang, vitamin A 250-335 gram per 100 gram pisang dan klor sebesar 125 miligram per 100 gram pisang. Pisang juga merupakan sumber karbohidrat, vitamin A dan C, serta mineral. Komponen karbohidrat terbesar

pada buah pisang adalah pati pada daging buahnya, dan akan diubah menjadi sukrosa, glukosa dan fruktosa pada saat pisang matang (15-20 %) (Ismanto, 2015).

Pisang merupakan komoditi yang cukup menarik untuk dikembangkan dan ditingkatkan produksinya, jika ditinjau dari aspek perdagangan internasional. Namun, Indonesia yang tercatat sebagai negara produsen ranking keenam dunia, belum tercatat sebagai eksportir buah pisang. Sedangkan beberapa negara importir justru tercatat juga sebagai negara eksportir, contohnya yang menonjol dari negara-negara importir buah pisang yang juga menjadi eksportir adalah Belgia, Amerika Serikat, Jerman, dan Prancis (Rusdiansyah, 2013).

Produksi pisang di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 6.279.290 ton atau mengalami peningkatan sebesar 90.238 ton atau sekitar 1,45% dibandingkan tahun 2012. Sementara itu produksi pisang di Provinsi Sumatera Utara pada tahun 2013 yaitu sebesar 342.298 ton. Sumatera Utara merupakan provinsi penghasil pisang terbesar kedua di Sumatera setelah Provinsi Lampung. Di Sumatera Utara sendiri pisang merupakan tanaman buah dengan produksi paling tinggi dibanding tanaman buah lainnya (Badan Pusat Statistik, 2015).

Deli Serdang merupakan Kabupaten dengan produksi pisang tertinggi di Provinsi Sumatera Utara yaitu sebesar 367.431 kuintal pada tahun 2013. Kecamatan dengan produksi pisang tertinggi adalah Sinembah Tanjung Muda Hilir sebesar 182.840 kuintal, disusul oleh Sinembah Tanjung Muda Hulu sebesar 120.720 kuintal dan Kecamatan Percut Sei Tuan sebesar 32.125 kuintal (Dinas Pertanian Deli Serdang, 2015)

Dalam kultur jaringan pisang, sampai saat ini yang banyak dikenal adalah kultur dengan eksplan bonggol, karena di bonggol terdapat banyak mata tunas yang aktif membelah, sehingga memungkinkan proses pertumbuhan semakin cepat. Tanaman Pisang biasanya diperbanyak secara vegetatif menggunakan anakan atau bonggolnya. Ukuran anakan yang cukup besar menyulitkan transportasi bibit dari satu tempat ke tempat penanamannya. Anakan yang diproduksi oleh satu induk pisang ukuran dan umurnya beragam, sehingga sangat sulit untuk memperoleh anakan berukuran seragam dalam jumlah memadai untuk perkebunan pisang secara komersial. Perbanyak tanaman pisang dengan teknik kultur jaringan dapat mengatasi kendala-kendala tersebut

Dalam percaturan pasar dunia, kelompok pisang terkenal ialah yang mempunyai susunan gen tripel (AAB dan AAA), bersifat triploid, dan tidak berbiji (partenokarpi) (Sunarjono, 2002). Huruf besar “A” dan “B” masing-masing menggambarkan banyaknya genom (kelompok kromosom) yang berasal dari nenek moyang pisang diploid *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana*. Pisang kepok mengandung genom BBB, pisang mauli mengandung genom AA dan pisang raja mengandung genom AAB (Sunarjono, 2002).

Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, tampaknya media MS (Murashige dan Skoog) mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur (Gunawan, 1990).

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin (Gunawan, 1990). NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) adalah zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat meningkatkan sintesa protein. Dengan adanya kenaikan sintesa protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan. Adapun BAP (*Benzyl Amino Purine*) tergolong zat pengatur tumbuh dalam kelompok sitokinin. BAP 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).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meneliti pengaruh pemberian NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*) terhadap propagasi pisang ambon (*Musa acuminata* Cavendish group.) secara *In Vitro*.

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Diduga ada pengaruh pemberian NAA terhadap propagasi tanaman pisang ambon secara *In Vitro*.
2. Diduga ada pengaruh pemberian BAP terhadap propagasi tanaman pisang ambon secara *In Vitro*.

3. Diduga ada interaksi antara konsentrasi NAA dengan konsentrasi BAP terhadap propagasi tanaman pisang ambon secara *In Vitro*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk memperoleh konsentrasi NAA dan BAP yang optimum pada propagasi tanaman pisang ambon secara *In Vitro*.
2. Untuk menghasilkan tunas yang banyak melalui teknik propagasi dengan pemberian NAA dan BAP.
3. Sebagai bahan informasi bagi petani dan pihak yang membutuhkan dalam propagasi pisang dan budidaya tanaman pisang ambon .
4. 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 Ambon

Menurut Satuhu dan Supriyadi (2008), Klasifikasi tanaman pisang ambon yang diterima secara luas saat ini adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Musaceae
Genus	: Musa
Species	: <i>Musa acuminata</i> Cavendis group.

2.2 Morfologi Tanaman Pisang Ambon

2.2.1 Akar

Menurut Tjahjadi (1991), akar pohon pisang merupakan akar serabut yang berpangkal dari umbi batang yang sebagian letaknya berada di bawah tanah. Dengan diameter sekitar 0,5-1 cm, berbentuk silinder menyebabkan terlihat besar dan tampak seperti cacing. Rata-rata panjangnya adalah 4-5 meter untuk yang menjalar

kesamping dan hanya 75-150 cm untuk yang tumbuh ke dalam tanah. Akar ini keluar dari batang dalam kelompok-kelompok yang terdiri dari 3-4 akar. Secara umum struktur anatomi akar tersusun atas jaringan epidermis, sistem jaringan dasar berupa korteks, endodermis, dan empelur; serta sistem berkas pembuluh yang terdiri dari xylem dan floem yang tersusun berselang-seling.

2.2.2 Batang

Batang pisang menurut (Nakasone, 1998) merupakan batang semu yang terbentuk dari pelepah daun yang membesar di pangkalnya dan mengumpul membentuk struktur berselangseling yang terlihat kompak sehingga tampak sebagai batang (*pseudo stem*). Batang pisang yang sebenarnya terdapat didalam tanah dan kadang-kadang muncul di permukaan tanah sebagai umbi yang tumbuh akar dan tunas. Secara umum batang tersusun atas epidermis yang berkutikula dan kadang terdapat stomata. Sistem berkas pembuluh yang terdiri atas xylem dan floem dan tersusun tersebar.

2.2.3 Daun

Secara fisiologi daun pisang menurut (Subartento *et al.* 2006) berwarna hijau tua untuk daun yang dewasa dan hijau muda untuk daun yang masih muda kecuali untuk beberapa spesies, terdapat bercak merah pada lembaran daunnya atau pada ibu tulangannya. Daun pisang yang dewasa berbentuk lonjong dan bertulang menyirip sedangkan daun mudanya menggulung. Pelekatan daun pada batang membentuk roset batang. Helai daunnya lebih panjang dari tangkai daunnya. Daun pisang memiliki pelepah daun yang yang membesar dan mengumpul berselang seling membentuk suatu struktur seperti batang yang disebut *psudo stem*. Dibawah permukaan daun

memiliki lapisan kutikula untuk mencegah terjadinya penguapan berlebih sedangkan permukaan bawahnya dilapisi oleh suatu lapisan lilin tebal yang berfungsi menahan air agar tidak membasahi daun. Secara anatomi daun tumbuhan tersusun atas epidermis yang berkutikula dan terdapat stomata atau trikoma. Sistem jaringan dasar pada daun monokotil dan dikotil dapat dibedakan . Pada tumbuhan dikotil sistem jaringan dasar (mesofil daun) dapat dibedakan atas jaringan pagar dan bunga karang.

2.2.4 Bunga dan Buah

Bunga terdiri dari kumpulan dua baris bunga pertama dan disusul bunga jantan. Braktea membuka secara sekuen sekitar satu per hari. Tangkai bunga terus memanjang sampai 1,5 m. Buah kemungkinan berkembang dari ovarium interior dan eksokarp disusut pada lapisan epidermis dan aerenkim, dengan daging menjadi mesokarp. Endokarp terdiri atas lapisan hampir rongga ovarium. Masing-masing node memiliki dua baris pada bunga yang membentuk tandan pada buah dan secara umum disebut *sisir* dengan buah individual yang disebut *finger*. Pisang *Cavendish* mempunyai 16 sisir pertandan dengan 30 *finger* persisir dan berat tandan buah ± 70 kg. Buah matang pada daerah tropik sekitar 85-110 hari setelah muncul *inflorescence* (antesis) dan perkembangan buah pada daerah subtropik dingin atau dibawah kondisi mendung sekitar 210 hari (Nakasone, 1998).

2.3 Syarat Tumbuh Tanaman Pisang Ambon

Iklim tropis basah, lembab dan panas mendukung pertumbuhan pisang ambon. Tanaman pisang ambon akan berproduksi dengan baik apabila pertumbuhannya juga subur. Tanaman ini menghendaki iklim panas, terutama di

daerah tropik. Pisang ambon pada umumnya memerlukan matahari penuh, sangat peka terhadap angin kencang karena dapat merobek daun-daunnya, sehingga berpengaruh terhadap hasil buahnya. Memerlukan curah hujan bulanan antara 200-220 mm. Kapasitas lapang tidak boleh dibawah 60-70%, karena itu pengairan pada tanaman pisang ambon sangat dianjurkan terutama pada musim panas. Tanaman pisang ambon menghendaki tanah yang gembur, kaya bahan organik (3%), berdrainase baik, dan pH antara 4,5 hingga 7,5. Tanaman ini dapat tumbuh pada tanah dengan pH antara 4,5 hingga 8,5, sedangkan pH optimal adalah 6,0. Untuk itu tanah yang terlalu rendah pHnya dapat ditambahkan dolomite (BPTP Aceh, 2010).

Pertumbuhan anakan pisang ambon dimulai dari mata tunas yang ada pada bonggolnya. Bila kandungan air tanah mencukupi, tunas tersebut akan tumbuh menjadi dewasa. Pada umumnya tunas muncul dari bonggol bagian atas, sehingga anakan pisang ambon semakin lama semakin mendekati permukaan tanah, akibatnya pertumbuhan anakan lambat karena akarnya tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Daun pisang ambon terus berkembang hingga yang muncul menjadi lebar, namun berkurang lagi lebarnya menjadi kecil seperti bendera bila bunganya keluar. Buah pisang abon adalah partenokarpi, dan buahnya dapat dipanen setelah 80-90 hari sejak keluar jantung (BPTP Aceh, 2010).

Pisang ambon dapat tumbuh di tanah yang kaya humus, mengandung kapur atau tanah berat. Tanaman ini memerlukan makanan yang banyak sehingga sebaiknya pisang ambon ditanam di tanah berhumus dengan pemupukan. Air harus selalu tersedia tetapi tidak boleh menggenang karena pertanaman harus diari dengan intensif. Ketinggian air tanah di daerah basah adalah 50 - 200 cm, di daerah setengah

basah 100 - 200 cm dan di daerah kering 50 – 150 cm. Tanah yang telah mengalami erosi tidak akan menghasilkan panen pisang yang baik. Tanah harus mudah meresapkan air. Pisang ambon tidak hidup pada tanah yang mengandung garam 0,07%. Tanaman ini toleran akan ketinggian dan kekeringan. Di Indonesia umumnya dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan setinggi 2.000 m dpl. (BPTP Aceh, 2010).

2.4 Propagasi Secara *In Vitro*

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; Katuuk 1989; Ahmed *et al.* 2001). Bagian-bagian dari tanaman, potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Pierik 1987). 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 (George & Sherrington 1984). 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 & 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. Vitamin yang sangat penting adalah tiamin. Piridoksin, asam nikotinat, dan mio-inositol dapat meningkatkan pertumbuhan sel (Murashige & Skoog, 1962).

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 umumnya dalam keadaan non autotrof.

Meskipun seluruh kebutuhan energi untuk pertumbuhan secara *in vitro* sudah dipenuhi dari gula tetapi untuk menghasilkan plantlet 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 merangsang pembentukan akar. Auksin secara alami diproduksi dalam bentuk AIA (asam indol asetat), tetapi auksin jenis ini tidak stabil (Wetherell 1982).

Perbanyakan sel dapat diinduksi dengan penggunaan auksin (NAA atau 2,4-D) atau sitokinin (zeatin dan thidiazuron). Sedangkan untuk regenerasi, auksin (NAA, IAA, IBA) dibutuhkan dalam konsentrasi rendah dan sitokinin dalam konsentrasi tinggi. Senyawa 2,4-D jarang digunakan untuk tujuan regenerasi karena senyawa ini dapat menekan diferensiasi sel pada tanaman dikotil. 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 dari proliferasi sel jaringan induk. Struktur ini dihasilkan dari lapisan luar sel korteks pada eksplan dengan pembelahan berulang-ulang dan terbentuk melalui tiga tahap yaitu, induksi, pembelahan sel, dan diferensiasi (Sears & Deckard 1982). Kalus dapat juga terbentuk pada bagian yang tidak mengalami luka akibat irisan dan sering muncul dari bagian ibu tulang daun atau tulang daun bila helaian daun digunakan sebagai eksplan (Street 1976; George & Sherrington 1984).

2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan eksplan di dalam kultur. Pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan

zat pengatur tumbuh pada media dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan (George dan Sherrington, 1984). Zat pengatur tumbuh tanaman terdiri atas lima jenis yaitu auksin, giberelin, sitokinin etilen dan asam absisat. Auksin digunakan untuk memacu pertumbuhan akar, giberelin berfungsi untuk pemanjangan sel, sitokinin memacu pembentukan tunas, etilen untuk pematangan buah, asam absisat memacu gugurnya daun (Watimena, 1988).

Penambahan zat pengatur tumbuh eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Perimbangan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin yang sesuai akan sangat besar pengaruhnya untuk menghasilkan plantlet (Gunawan, 1992). Armini, *dkk* (1991) menambahkan bahwa untuk pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* diperlukan komposisi dan atau konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda untuk satu varietas dengan varietas lain dari suatu tanaman. Penentuan taraf konsentrasi juga disesuaikan dengan tipe organ atau eksplan, metode kultur jaringan dan tingkat kultur jaringan (pembuatan kalus, induksi tunas, induksi akar, dan lain-lain).

2.5.1 Auksin (NAA)

Auksin umumnya berpengaruh terhadap pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif serta menghambat pembentukan tunas aksilar. Dalam konsentrasi rendah auksin akan memacu pembentukan akar adventif, sedangkan dalam konsentrasi tinggi mendorong pembentukan kalus (Pierik, 1997). Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh, antara lain : (1) jenis ZPT yang akan digunakan, (2) konsentrasi ZPT, (3) urutan penggunaan, (4)

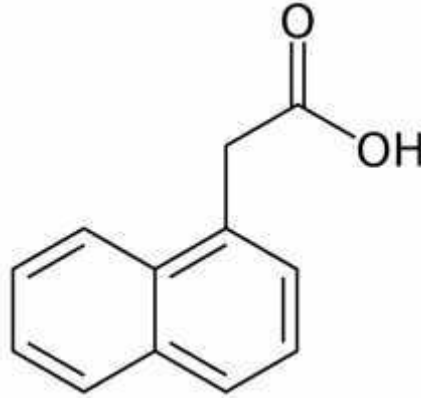
periode masa induksi dalam kultur tertentu, (5) kelemahan aktifitasnya (Lestari, 2008).

Auksin yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah IAA (*Indole Acetic Acid*), 2,4- D (*2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*) dan NAA (*Naphtalene Acetic Acid*). Umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif, dalam medium kultur auksin dibutuhkan untuk meningkatkan embryogenesis somatic pada kultur suspense sel. Konsentrasi auksin yang tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (George dan Sherrington, 1984).

Pemilihan jenis auksin tergantung dari tipe pertumbuhan yang dikehendaki, level auksin, kemampuan jaringan mensistesa auksin dan golongan zat tumbuh yang ditambahkan. Pada umumnya auksin digunakan untuk induksi perakaran walaupun beberapa tanaman tidak memerlukanya seperti nilam, pisang, kencur dan lain-lainnya. Auksin terbagi menjadi 2 yaitu alami dan sintetis. Kelompok auksin alami adalah IAA yang merupakan auksin alamiah dari tumbuhan. Auksin sintetis terdiri dari IBA, NAA dan herbisida yang bersifat auksin seperti 2,4 D, dicamba dan 2,45T (Lestari, 2008).

NAA banyak digunakan sebagai hormon akar dan selang konsentrasi yang mendorong pembesaran sel-sel pada akar adalah sangat rendah. Menurut Zaer dan Mapes (1985), NAA memiliki sifat kimia lebih stabil dibanding IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim. Anwar (2007) menambahkan bahwa NAA merupakan IAA sintetis yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak

terdegradasi dan lebih murah. Naphthalene Acetic Acid (NAA) memiliki berat molekul 186,21 g/mol dengan rumus molekul .



Gambar.1 Struktur Kimia NAA

Menurut Purwantiningsih (2007) bahwa kombinasi perlakuan NAA 1,2 mg/l dan BAP 0,1 mg/l tanpa penambahan arang aktif merupakan kombinasi perlakuan paling baik terhadap parameter jumlah akar pisang, sedangkan kombinasi perlakuan NAA 0,9 mg/l dan BAP 0,3 mg/l yang ditambah arang aktif 50 mg merupakan kombinasi perlakuan yang paling baik untuk parameter tinggi tunas.

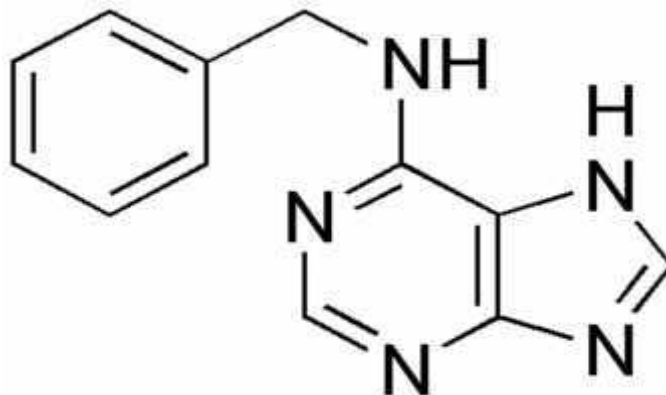
2.5.2 Sitokinin (BAP)

Sitokinin pada umumnya berperan dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Aktivitas utama sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas adventif dan dalam konsentrasi tinggi menghambat inisiasi akar (Pierik, 1997). Sitokinin juga menghambat perombakan protein dan klorofil dan menghambat penuaan (*senescence*) (Wattimena, 1988). Sitokinin terbagi menjadi 2, yaitu sitokinin alami dan sintetik. Sitokinin alami di antaranya adalah

zeatin. Beberapa sitokinin sintetik yang umum digunakan dalam kegiatan kultur *in vitro* adalah kinetin, BAP, Thidiazuron, PBA, 2CI-4PU dan 2,6 CI-4PU.

Sitokinin yang sering dipakai dalam kultur jaringan adalah BAP dan kinetin. Apabila ketersediaan sitokinin di dalam medium kultur sangat terbatas maka pembelahan sel pada jaringan yang dikulturkan akan terhambat, tetapi apabila jaringan tersebut dipindahkan pada medium dengan kandungan sitokinin yang memadai maka pembelahan sel akan berlangsung dengan cepat. Selain meningkatkan pembelahan sel dan inisiasi pucuk, sitokinin juga berfungsi didalam kontrol perkecambahan biji, mempengaruhi absisi daun dan transpor auksin, memungkinkan bekerjanya giberelin dengan menghilangkan penghambat tumbuh, serta menunda penuaan (George dan Sherrington, 1984).

Benzyl Amino Purine (BAP) memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sitokinin turunan adenine jenis lain. Berat molekul BAP adalah 225,26 g mol⁻¹ dengan rumus molekul.



Gambar 2. Struktur Kimia BAP

Benzyl Amino Purine (BAP) merupakan sitokinin yang lebih ekonomis dan seringkali digunakan untuk merangsang multiplikasi tunas aksilar pada konsentrasi 0,5-10 mg/l (Pradana, 2011). BAP mempengaruhi penambahan jumlah tunas, terutama pada perlakuan BAP 10 mg/l dengan rata-rata 9,5 tunas. Hal ini lebih tinggi dibanding pada perlakuan BAP 7,5 mg/l dihasilkan 8 tunas (Tiliaar dan Sompotan, 2007).

Hasil penelitian Ismaryati (2010) pada pisang Raja Bulu, didapati bahwa pemberian BAP yang semakin tinggi dari 1 hingga 5 mg/l ke dalam media MS menghasilkan banyak tunas. Jannah (2013) melaporkan bahwa pada Pisang Raja Bulu berumur 12 MST jumlah tunas aksilar terbanyak didapat pada media MS + BAP 6 mg/l, tanpa kinetin maupun dengan pemberian kinetin 2 mg/l. Rainiyati, *dkk* (2009) melaporkan nilai maksimal jumlah tunas/eksplan (1,67) diperoleh dari kombinasi 3,0 mg/l BAP tanpa IAA pada Pisang Raja Nangka (AAB) dengan menggunakan eksplan nodul. Hasil penelitian dari Noviana (2014) menunjukkan bahwa perlakuan 5 mg/l BAP + 1,5 mg/l NAA menghasilkan jumlah tunas tertinggi pada pisang rotan yaitu 7,5 tunas eksplan dan bertambah menjadi 10 tunas/eksplan pada saat dipindahkan pada media. Sitokinin yang pertama ditemukan adalah kinetin yang diisolasi oleh Prof. Skoog dalam Laboratorium Botany di University of Wisconsin. Kinetin diperoleh dari DNA Ikan Herring yang diautoklaf dalam larutan yang asam. Persenyawaan dari DNA tersebut sewaktu ditambahkan ke dalam media untuk tembakau, ternyata merangsang pembelahan dan diferensiasi sel. Persenyawaan tersebut kemudian dinamakan kinetin (Gunawan, 1987).

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). 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

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pelaksanaan Teknis Benih Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatra Utara dan dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai dengan Januari 2019.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol pisang ambon yang berumur 3 bulan dengan ciri-ciri anakan memiliki tunas berukuran 40 cm - 100 cm, daun berbentuk pedang dengan ujung runcing, atau sering disebut anakan pedang, media kultur yang digunakan adalah media MS yang tercantum pada tabel lampiran 10, NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*), benlate, antracol, *tween 20*, agar-agar, NaOH 1 N, HCl 1 N, aquades, alkohol 70%, Sodium hipoklorit (Clorox).

Alat-alat yang digunakan adalah *autoklaf*, *laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), lampu *fluorescence*, botol kultur, erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, petridis, *scalpel*, gunting, bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, lemari es, kertas millimeter, pinset, oven, pH meter / kertas lakmus, kertas label, aluminium foil.

3.3 Metode Penelitian

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

1. Faktor konsentrasi BAP (*6-benzylaminopurine*) yang disusun dalam 4 taraf

yaitu :

$$A_0 = 0 \text{ mg/l}$$

$$A_1 = 3 \text{ mg/l}$$

$$A_2 = 6 \text{ mg/l}$$

$$A_3 = 9 \text{ mg/l}$$

Konsentrasi anjuran yang terbaik penggunaan BAP untuk tanaman pisang adalah 6 mg/l (Avivi dan Ikrarwati, 2007)

2. Faktor konsentrasi NAA (*naphthalenacetic acid*) yang disusun dalam 4 taraf

yaitu :

$$N_0 = 0 \text{ mg/l}$$

$$N_1 = 0,5 \text{ mg/l}$$

$$N_2 = 1 \text{ mg/l}$$

$$N_3 = 2 \text{ mg/l}$$

Konsentrasi anjuran yang terbaik penggunaan NAA untuk tanaman pisang adalah 1 mg/l (Avivi dan Ikrarwati, 2007) .

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak $4 \times 4 = 16$ kombinasi yaitu :

$$A_0N_0$$

$$A_0N_1$$

$$A_0N_2$$

$$A_0N_3$$

A_1N_0	A_1N_1	A_1N_2	A_1N_3
A_2N_0	A_2N_1	A_2N_2	A_2N_3
A_3N_0	A_3N_1	A_3N_2	A_3N_3

Jumlah Perlakuan	: 16 kombinasi
Jumlah Ulangan	: 3
Jumlah eksplan/botol	: 1
Jumlah eksplan sisipan	: 1
Jumlah eksplan utama	: 48 eksplan
Jumlah eksplan total	: 96 eksplan
Jumlah seluruh botol	: 48 x 2 = 96 botol

3.4 Metode Analisis

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL Faktorial adalah :

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

dimana :

Y_{ijk} = Hasil pengamatan dari faktor NAA ke-i dan faktor BAP ke-j pada ulangan ke-k

μ = Nilai tengah

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

β_j = Pengaruh Perlakuan BAP taraf ke-j (j=1,2,3,4)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi NAA taraf ke-i dan BAP taraf ke-j

α_{ijk} = Pengaruh galat pada ulangan yang diberi NAA pada taraf ke-i dan BAP pada taraf ke-j

Jika hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh berbeda nyata, maka akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$ (Steel and Torrie, 1995).

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan kegiatan meliputi beberapa kegiatan yaitu :

3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Tanaman Pisang Ambon

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah bonggol pisang ambon yang diperoleh dari petani lokal dalam bentuk tanaman utuh, sehingga sebelum melakukan teknik kultur jaringan, bonggol harus dipotong dan dibersihkan dan kemudian dipotong kecil-kecil untuk dijadikan sebagai sumber eksplan.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

Ruang kultur yang dibersihkan dan disterilisasi selama 24 jam dengan menggunakan formalin. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan larutan stok media seperti gelas piala, Erlenmeyer, dan labu ukur, dicuci menggunakan deterjen dan dibilas dengan aquades steril. Hal yang sama juga dilakukan terhadap botol kultur, cawan petri dan alat-alat tanam. Selanjutnya alat-alat tersebut disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada tekanan 15 psi dan temperature 121°C selama 60 menit.

3.5.3 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 panik terlebih dahulu larutan stok diambil satu demi satu sesuai takarannya an 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 g, media dipanaskan hingga mendidih pada kompor gas sambil diaduk-aduk, diangkat dan ditunggu sampai dingin, kemudian media dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 30-35 ml, botol ditutup dengan kertas *aluminium foil* dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121⁰C selama 15 menit. Botol-botol kultur berisi media yang telah padat disimpan pada ruang kultur hingga 3-5 hari.

3.5.4 Sterilisasi Media dan Air

Setelah Media MS padat dan dikeluarkan dari *autoclave* lalu media disusun pada rak kultur selam 3-5 hari. 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 180⁰ C dan pada tekanan 15-20 Psi.

3.5.5 Sterilisasi Eksplan

Bahan tanam yang akan dijadikan eksplan haruslah disterilkan kemudian diisolasi terlebih dahulu. Eksplan merupakan sumber kontaminasi kultur, disamping komponen media, faktor manusia dan lingkungan. Karena itu, sebelum ditanam secara aseptik dalam media yang steril, eksplan harus dibersihkan dari kotoran terluar dan disterilisasi. Eksplan yang digunakan ialah bonggol pisang kepok. Kemudian bonggol yang sudah dipotong, dicuci bersih dari kotoran tanah yang melekat. Setelah dicuci dan dibersihkan, bonggol direndam dalam larutan detergen (*surfactant*) sambil disikat agar kotoran hilang dari bonggol. Kemudian bonggol dicuci dan dibilas hingga bersih dengan air bersih sebanyak tiga kali. Bonggol yang telah dipotong tersebut direndam dalam larutan *tween* 20, setelah itu direndam kembali pada botol yang sudah terisi oleh larutan pemutih sodium hiplokhlorit 5% (*Clorox* atau *Bayclin*) dan di biarkan selama 10 menit. Setelah 10 menit eksplan dicuci kembali dengan air bersih sebanyak tiga kali. Kemudian dipotong kecil-kecil dan diletakkan ke dalam *petridish*.

3.5.5.1 Sterilisasi di Luar Laminar Air Flow Cabinet

Bonggol tanaman pisang (eksplan) dibilas pada air mengalir sebanyak 3 kali pada air mengalir. Selanjutnya eksplan direndam dengan air bersih pada gelas beaker selama 15 menit lalu dibilas tanpa menyentuh eksplan sebanyak 3 kali pada air mengalir. Kemudian eksplan direndam dengan air steril selama 10 menit. Lalu dibilas dengan air steril, lalu eksplan dibawa ke dalam ruang kultur.

3.5.5.2 Sterilisasi di Dalam Laminar Air Flow Cabinet

Eksplan yang sudah dipotong direndam dalam larutan NaClO (1,3 %) ditambah Tween-80 (20 tetes) selama 15 menit. Setelah itu dilanjutkan dengan perendaman dalam NaClO (1,3 %) dan Tween-80 (2 tetes) selama 10 menit, lalu dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali. Eksplan direndam dalam larutan alcohol sebanyak 70% selama 1 menit, lalu dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Sterilisasi dilanjutkan dengan merendam eksplan dalam larutan betadine (5%) selama 5 menit. Eksplan dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali, kemudian diletakkan pada botol yang sudah steril untuk ditiriskan selama 5 menit menggunakan kertas saring pada *petridish*.

3.5.6 Penanaman Eksplan

Setelah bonggol tanaman pisang disterilkan, masing-masing eksplan dipotong kecil-kecil 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 lalu diklip dengan klip plastik untuk menghindari masuknya air dan organisme pengganggu. Kemudian botol-botol yang berisi eksplan ditempatkan dalam rak-rak kultur jaringan dan ditutup dengan kain hitam hingga 7 hari.

3.5.7 Pemeliharaan Kultur

Botol-botol kultur berisikan eksplan ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan secara acak. 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 20⁰-25⁰C. Ruangan ini diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dengan cara disterilkan setiap hari dan botol kultur disemprot dengan alkohol 70%.

3.6. Pengamatan

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

3.6.1. Persentase Eksplan Hidup

Pengamatan eksplan hidup dilakukan pada 4 minggu setelah tanam (MST).

$$\text{Persentase eksplan hidup} = \frac{\text{ju e h}}{\text{ju s e p p}} \times 100 \%$$

3.6.2 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. Eksplan akan terus mengalami pertumbuhan, ditandai dengan tumbuhnya tunas, daun, akar dan nodul. Eksplan menunjukkan gejala hidup dicirikan dengan warna hijau muda, tegar, dan tidak mengalami vitrifikasi, bebas kontaminasi serta pencoklatan. Pengamatan dilakukan pada 1 MST dan 8 MST. Kondisi eksplan dicatat secara deskriptif.

3.6.3 Jumlah Tunas

Jumlah tunas dihitung pada akhir penelitian, yaitu pada 8 MST dengan menghitung jumlah tunas yang muncul, dimana tunas yang muncul diamati sejak pertama kali terbentuk.

3.6.4 Tinggi Tunas

Tinggi plantet diukur dengan menggunakan penggaris, pengukuran dilakukan dari pangkal tempat munculnya tunas sampai pada ujung tunas yang tertinggi dan dilakukan pada akhir penelitian pada umur 8 MST.

3.6.5 Bobot Basah Akhir

Pengamatan bobot basah akhir eksplan dilakukan pada akhir penelitian, dengan cara : (a) Menimbang bobot setiap botol kultur perlakuan yang berisi media, (b) Menimbang bobot setiap botol kultur berisi media eksplan awal dan (c) Menimbang setiap botol kultur media berisi eksplan akhir. Maka bobot eksplan dapat dihitung dengan cara : bobot setiap botol kultur berisi media eksplan akhir dikurangkan dengan bobot setiap botol kultur berisi media eksplan awal.