

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Pisang (*Musa spp.*) pertama kali ditemukan tumbuh di daerah tropis di negara-negara berkembang seperti Indochina dan Asia Tenggara. Pisang selanjutnya menyebar ke daerah tropik dan sub-tropik di Asia, Amerika, Afrika, dan Australia. Ahli botani mengambil kesimpulan bahwa asal mula tanaman pisang adalah Asia Tenggara, salah satunya Indonesia (Satuhu dan Supriyadi, 2008).

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 dan 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 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).

Tanaman pisang yang dibudidayakan secara intensif menghasilkan keuntungan yang tinggi dan mampu bersaing dengan tanaman lain. 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 mg/100 g pisang, vitamin A 250 – 335 mg/ 100 g pisang dan

klor sebesar 125 mg/100 g 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 matang (Cahyono, 2007 dan Ismanto, 2015).

Pisang kepok kuning memiliki kulit yang tebal dan warna yang kuning jika sudah matang. Satu tandan terdiri dari 10 – 16 sisir dengan berat 14 – 22 kg. Berat buah pisang kepok sekitar 80 – 120 gram. Kandungan nutrisi pada pisang kepok kuning kalori 79 kkal, karbohidrat 21,2 gram, protein 1,1 gram, lemak 0,2 gram, vitamin A 0,022 gram dan vitamin C (Satuhu dan Supriyadi, 2008).

Kendala yang dihadapi dalam budidaya pisang secara konvensional adalah sulitnya memperoleh bibit yang berkualitas dalam jangka waktu yang relatif pendek. Untuk mengatasi hal tersebut maka dilakukan teknologi alternatif yaitu perbanyakan tanaman pisang yang dilakukan dengan cara kultur jaringan atau secara *in vitro*. Cara perbanyakan tersebut dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah yang banyak dalam jangka waktu yang relatif pendek (Eriansyah, Susiyanti dan Putra., 2014; Ardian dan Yuliandi, 2009).

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin. Auksin dan sitokinin adalah zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan ke dalam media tanam karena mempengaruhi pertumbuhan dan organogenesis dalam kultur jaringan. Salah satu dari jenis auksin dan sitokinin berturut-turut adalah *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan kinetin yang mampu berinteraksi dengan senyawa-senyawa kimia lainnya dan juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan seperti cahaya dan suhu (Gardner, Pearce and Mitchel, 1991 dan Marlina, 2004).

Berdasarkan uraian di atas maka penulis sangat tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) dan kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Diduga ada pengaruh konsentrasi NAA terhadap mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).
2. Diduga ada pengaruh konsentrasi kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).
3. Diduga ada pengaruh interaksi antara konsentrasi NAA dengan konsentrasi kinetin terhadap mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah:

1. Untuk memperoleh kombinasi optimum dari konsentrasi NAA dan kinetin untuk mikropropagasi tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.).

2. Untuk menghasilkan tunas pisang kepok dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang singkat dengan pemberian NAA dan kinetin.
3. Sebagai bahan penyusunan skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian sarjana pada Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen Medan.
4. Sebagai bahan informasi bagi berbagai pihak yang terkait di dalam usaha budidaya tanaman pisang kepok.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pisang Kepok

2.1.1 Morfologi Tanaman Pisang Kepok

Pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla) termasuk ke dalam Famili Musaceae (Suprapti, 2005).

Pisang berakar rimpang dan tidak mempunyai akar tunggang. Akar ini berpangkal pada umbi batang. Akar terbanyak berada di bagian bawah sampai kedalaman 75 – 150 cm, sedangkan akar yang berada di bagian samping umbi batang tumbuh ke samping dan mendatar, panjangnya dapat mencapai 4 – 5 meter. Ada dua macam perakaran, yaitu perakaran utama (akar batang yang menempel pada bonggol batang) dan perakaran sekunder (akar tumbuh dari perakaran utama sepanjang 5 cm dari pangkal akar) (Satuhu dan Supriadi, 2008).

Batang pisang sebenarnya terletak di dalam tanah, yakni berupa umbi batang. Titik tumbuh yang menghasilkan daun dan pada suatu saat akan menghasilkan bunga pisang (jantung) terdapat pada bagian atas umbi batang. Batang semu adalah yang berdiri tegak di atas permukaan tanah atau yang sering disebut batang. Batang semu ini terbentuk dari pelepah daun panjang yang saling menutupi dengan kompak sehingga dapat berdiri tegak seperti batang tanaman, oleh karena itu batang semu sering dianggap batang tanaman yang sesungguhnya. Tinggi batang semu ini berkisar 3,5 – 7,5 m, tergantung jenisnya (Suryanti dan Supriyadi, 2008).

Secara fisiologi daun pisang menurut Subartento (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 tulangnya. 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 membesar dan mengumpul berselang-seling membentuk suatu struktur seperti batang yang disebut *pseudo stem*. Menurut Suhardiman (1997) daun berkembang dari gulungan tunas daun menjadi selembar daun besar dengan ukuran panjang antara 30 – 50cm untuk tanaman muda, kemudian umurnya meningkat dewasa bertambah sampai 125 cm – 165 cm. Tulang tengah penopang terlihat jelas sekali beserta tulang-tulang daun yang nyata, tersusun sejajar, dan menyirip.

Bunga dari tanaman pisang mulai terbentuk selama 7 sampai 8 bulan dari bibit, kemudian berkembang menjadi jantung. Bunga betina tersusun membentuk jari mengelilingi tandan, dan bagian dalam jantung berisi bunga jantan. Bunga jantan dari tanaman pisang layu dengan cepat. Bunga pada barisan awal merupakan bunga betina. Setengah dari bagian tandan merupakan bunga jantan. Dalam waktu 5 – 10 hari *ovule* pada bunga betina akan membengkak dan mulai membentuk buah. Pada bunga betina terdapat bakal buah yang berbentuk persegi panjang, sedangkan pada bunga jantan tidak terdapat bakal buah (Satuhu dan Supriyadi, 2008).

Pisang mempunyai bunga majemuk yang setiap kuncup bunganya dibungkus oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ke tanah jika bunga telah membuka. Bunga betina akan berkembang secara normal, sedangkan bunga jantan yang berada di ujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup oleh seludang dan disebut sebagai jantung pisang. Setiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Jumlah sisir betina 5 – 15 buah, buahnya merupakan buah buni, bulat memanjang dan membengkok, tersusun seperti sisir dua baris, dengan kulit berwarna hijau, kuning, dan coklat. Setiap kelompok buah atau sisir terdiri dari beberapa buah pisang. Buah berbiji atau tanpa biji, bijinya kecil, bulat, dan

warna hitam. Bentuk buah pisang kepok agak gepeng dan bersegi. Karena bentuknya gepeng, ada yang menyebutnya pisang gepeng. Ukuran buahnya kecil, panjangnya 10 – 12 cm dan beratnya 80 – 120 g. Kulit buahnya sangat tebal dengan warna kuning kehijauan dan kadang bernoda cokelat (Suhardiman, 1997).

2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Pisang Kepok

Tanaman pisang di Indonesia umumnya dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan setinggi 2 000 meter di atas permukaan laut. Angin dengan kecepatan tinggi, seperti angin kumbang, dapat merusak daun dan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Curah hujan optimal untuk tanaman pisang adalah 1 520 – 3 800mm/tahun dengan 2 bulan kering. Curah hujan yang merata sepanjang tahun paling baik bagi pertumbuhan tanaman pisang, tetapi pisang dapat tumbuh pada daerah yang mempunyai bulan kering yang nyata. Temperatur yang optimal untuk pertumbuhan tanaman pisang adalah 25 – 28°C. Pertumbuhan akan terganggu apabila temperatur 22°C, sedangkan untuk temperatur rata-rata tahunan terendah untuk pertumbuhan tanaman pisang adalah 14°C. Kelembaban udara yang diharapkan adalah >60% dengan penyinaran maksimum. Angin dapat merusak daun apabila kecepatannya di atas 60 km/jam. (Mulyanti, Suprpto dan Hendra, 2008).

Tanaman pisang menghendaki tanah yang gembur, kaya bahan organik (3%), berdrainase baik, dan pH antara 5,6 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 dolomit (BPTP Aceh, 2010).

2.2 Mikropropagasi Tanaman

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, 2000; Ahmed *dkk.*, 2012). Bagian-bagian dari tanaman, potongan kecil jaringan atau organ itu disebut eksplan (Pierik, 1997).

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).

2.2.1 Eksplan Tanaman Pisang

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.

2.2.2 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 (plantlet), 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).

2.3 Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Mikropropagasi Tanaman

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, 2001). 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 (Wattimena, 2000).

Penambahan ZPT eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Perimbangan ZPT auksin dan sitokinin yang sesuai akan sangat besar pengaruhnya untuk menghasilkan plantlet (Gunawan, 1992). Armini, Wattimena dan Gunawan (1992) 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).

2.3.1 Naphthalene Acetic Acid

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 ZPT, antara lain: (1) jenis ZPT yang akan digunakan, (2) konsentrasi ZPT, (3) urutan penggunaan, (4) periode masa induksi dalam kultur tertentu, (5) kelemahan aktivitasnya (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 (*Naphthalene Acetic Acid*). Umumnya auksin meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Dalam medium kultur auksin dibutuhkan untuk meningkatkan *embryogenesis somatic* pada kultur suspensi sel. Konsentrasi auksin yang tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis (George dan Sherrington, 2001).

Naphthalene Acetic Acid 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 sintetik yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi dan lebih murah. NAA memiliki bobot molekul 186,21 g/mol.

Penambahan NAA pada media menyebabkan sel-sel kalus aktif dalam pembelahan sel, pembesaran sel, menaikkan tekanan osmotik dan meningkatkan sintesis protein. Penambahan auksin yang lebih stabil misalnya NAA cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus

dari eksplan. Mekanisme kerja auksin salah satunya adalah mempengaruhi perpanjangan sel (Wattimena, 2000).

2.3.2 Kinetin

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, 2000).

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, 2001).

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, 1992).

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 (Daisy dan Wijayani, 2008). Hasil penelitian Alamin *dkk.*, (2009), pada perlakuan 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 tunas.

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pelaksanaan Teknis Benih Induk Holtikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian pada bulan September 2018 sampai Januari 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: bonggol pisang kepok, media kultur MS (Tabel Lampiran 10), NAA (*Napthalene Acetic Acid*) dan kinetin, fungisida Benlate, *Tween* 20, agar-agar, NaOH 1 N, HCl 1 N, aquades, vitamin, sukrosa, myo-inositol, alkohol 70% dan 95%, antracol, sodium hiplokhlorit 5% (*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 milimeter, 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 NAA (*Napthalene Acetic Acid*) yang disusun dalam empat taraf yaitu:

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

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

$$N_2 = 1 \quad \text{mg/l (Dosis Anjuran),}$$

$$N_3 = 1,5 \quad \text{mg/l.}$$

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

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

$$K_0 = 0 \quad \text{mg/l,}$$

$$K_1 = 2,5 \quad \text{mg/l,}$$

$$K_2 = 5 \quad \text{mg/l (Dosis Anjuran),}$$

$$K_3 = 7,5 \quad \text{mg/l.}$$

Konsentrasi anjuran yang terbaik untuk ZPT kinetin untuk tanaman pisang kultivar bari adalah 5 mg/l (Alamin *dkk.*, 2009).

Dengan demikian diperoleh kombinasi perlakuan sebanyak $4 \times 4 = 16$ kombinasi yaitu: $N_0K_0, N_0K_1, N_0K_2, N_0K_3, N_1K_0, N_1K_1, N_1K_2, N_1K_3, N_2K_0, N_2K_1, N_2K_2, N_2K_3, N_3K_0, N_3K_1, N_3K_2, N_3K_3$.

Jumlah perlakuan sebanyak 16 kombinasi, jumlah ulangan sebanyak 3, jumlah eksplan/botol sebanyak 1 eksplan, jumlah eksplan sisipan sebanyak 1 eksplan, jumlah eksplan utama sebanyak 48 eksplan, jumlah seluruh botol sebanyak $48 \times 2 = 96$ botol.

3.4 Metode Analisis Data

Model linier aditif yang digunakan untuk RAL Faktorial adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

dimana :

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

μ = Nilai tengah

α_i = Pengaruh perlakuan NAA taraf ke-i

β_j = Pengaruh perlakuan kinetin taraf ke-j

$\alpha\beta_{ij}$ = Pengaruh interaksi NAA taraf ke-i dan kinetin taraf ke-j

ε_{ijk} = Pengaruh galat pada ulangan ke-k yang diberi NAA pada taraf ke-i dan kinetin pada taraf ke-j

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

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa kegiatan, yaitu:

3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Tanaman

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah bonggol tanaman pisang kepok (*Musa acuminata balbisiana* Colla.) yang berumur 3 bulan dengan ciri-ciri anakan: memiliki tunas berukuran 40 cm – 100 cm, daun berbentuk pedang dengan ujung yang runcing, atau sering disebut anakan pedang. Bonggol tanaman pisang kepok diperoleh dari Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pelaksanaan Teknis Benih Induk Holtikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan larutan stok media, seperti: gelas piala, erlenmeyer, dan labu ukur, dicuci dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan aquades. Hal yang sama juga dilakukan terhadap botol kultur, cawan petri dan alat-alat tanam. Alat-alat tersebut kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoklaf* pada tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121 °C selama minimal 1 jam. Ruang dalam teknologi kultur jaringan harus dalam kondisi steril agar tingkat keberhasilan tinggi. Sterilisasi ruangan dilakukan dengan menyemprot ruangan dengan alkohol 95%, sedangkan sterilisasi lantai dengan lisol kemudian ruangan ditutup rapat selama 12 jam. Selama 12 jam tersebut orang dilarang memasuki ruangan karena berbahaya bagi kesehatan.

3.5.3 Pembuatan Media

Media kultur yang dibuat adalah menurut formula Murashige dan Skoog (MS). Komponen formula Murashige dan Skoog (MS) disajikan pada Tabel Lampiran 10. Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu untuk memudahkan pembuatan media. Larutan stok adalah larutan bahan media yang dibuat dalam jumlah atau volume besar. Pembuatan larutan stok bertujuan untuk menghemat pekerjaan menimbang yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Larutan stok disimpan di tempat gelap dan bertemperatur rendah. Langkah dalam pembuatan media dan larutan stok disajikan pada Lampiran 11.

3.5.4 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. 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 Antracol selama 1 jam, kemudian dibersihkan kembali dengan air bersih sebanyak 3 kali, setelah itu direndam kembali pada botol yang sudah terisi oleh larutan pemutih sodium hiplokhlorit 5% (*Clorox*) dan dibiarkan selama 20 menit. Setelah 20 menit eksplan dicuci kembali dengan air bersih sebanyak tiga kali. Kemudian dipotong kecil-kecil yang berukuran 1 – 2 cm dan diletakkan ke dalam *petridish*.

3.5.5 Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet

Sterilisasi LAFC dilakukan dengan menyemprotnya dengan alkohol 70% kemudian dibiarkan terlebih dahulu sekitar 10 menit, setelah itu lampu ultra violet berwarna biru dihidupkan selama 30-60 menit.

3.5.6 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan di LAFC yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Eksplan yang sudah disterilkan masing-masing dipotong kecil berukuran 1 – 2 cm di atas *petridish*. Botol media diambil lalu didekatkan dengan api bunsen, kemudian eksplan ditanam ke dalam botol media sesuai dengan perlakuan. Apabila telah selesai, botol-botol media tersebut ditempatkan di dalam rak-rak kultur jaringan.

3.5.7 Pemeliharaan Kultur

Botol kultur yang telah berisi eksplan tersebut ditempatkan di dalam rak kultur jaringan dan disusun sedemikian rupa pada rak kultur yang suhunya telah diatur, ditempatkan pada kondisi terang dengan penyinaran lampu TL Neon dengan jarak 50 cm dari botol-botol kultur.

Untuk pemeliharaan kelembaban, lingkungannya harus mendekati 100% karena kelembaban di sekeliling kultur dapat mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum adalah 20 – 25 °C (Hendrayono, Daisy dan Wijayani, 1994). Ruangan ini harus diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari botol-botol eksplan harus disemprot dengan menggunakan alkohol 95% dan fungisida benlate.

3.6 Pengamatan Parameter

Pengamatan terhadap eksplan dimulai dari 1 minggu setelah tanam (MST) sampai dengan 8 MST. Parameter yang diamati adalah: persentase eksplan yang hidup, kondisi eksplan, jumlah tunas, tinggi tunas dan bobot basah akhir.

3.6.1 Persentase Eksplan yang Hidup

Pengamatan persentase eksplan yang hidup dilakukan pada 8 MST dengan menghitung berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Persentase eksplan yang hidup} = \frac{\text{jumlah eksplan yang hidup}}{\text{jumlah eksplan seluruhnya}} \times 100\%$$

3.6.2 Kondisi Eksplan

Kondisi eksplan dapat dilihat secara visual dengan melihat bagaimana keadaan eksplan di dalam botol perlakuan tersebut. Eksplan menunjukkan gejala hidup dicirikan dengan warna hijau muda, tegar, mengalami pembengkakan dan tidak mengalami vitrifikasi, bebas kontaminasi serta pencoklatan. Pengamatan terhadap perubahan warna dilakukan pada 1 MST hingga 4 MST, Pengamatan terhadap perkembangan dan pertumbuhan eksplan dilakukan pada 5 MST hingga 8 MST. Kondisi eksplan dicatat secara deskriptif.

3.6.3 Jumlah Tunas

Jumlah tunas dihitung pada LAFC pada akhir penelitian, yaitu pada 8 MST.

3.6.4 Tinggi Tunas

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

3.6.5 Bobot Basah Akhir

Pengamatan bobot basah akhir eksplan dilakukan pada akhir penelitian (8 MST), 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.

