

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pisang merupakan suatu komoditi yang paling banyak digemari oleh masyarakat Indonesia. Alasan digemarinya buah yang berwarna kuning ini adalah harganya yang cukup terjangkau dan juga memiliki kandungan gizi, karbohidrat, mineral, kalium serta vitamin yang cukup untuk menyehatkan badan. Pisang juga merupakan suatu tanaman yang bisa dikatakan tidak sulit untuk dibudidayakan. Produksi pisang di Indonesia cukup besar, bahkan Indonesia menjadi salah satu penghasil pisang terbesar di dunia. Produksi pisang nasional terus meningkat setiap tahun, misalnya dari 7.007.117 ton (tahun 2016) menjadi 7.162.672 ton (tahun 2017) (Kementerian Pertanian, 2017). Daerah penghasil pisang terbesar berada di Pulau Jawa. Jenis pisang umum dikenal di Indonesia antara lain pisang ambon, pisang barangan, pisang tanduk, dan pisang raja bulu. Pisang raja bulu sering dikonsumsi masyarakat Indonesia dalam berbagai bentuk seperti gorengan, hidangan pencuci mulut, bahan pembuat roti, dan keripik pisang (Satuhu dan Supriyadi, 2008.).

Pisang raja bulu (*Musa paradisiaca* L. cv. Raja Bulu) merupakan salah satu buah tropikal yang banyak sekali tumbuh di wilayah Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Malaysia. Buah ini cukup populer karena rasanya yang tergolong sangat manis bila dibandingkan dengan buah pisang lainnya. Tidak hanya rasa manisnya saja yang membuat pisang raja digemari, kandungan vitamin C dan vitamin A yang tinggi membuat buah ini menjadi primadona. Vitamin C dan

vitamin A yang terkandung dalam buah ini merupakan anti oksidan yang sangat baik untuk mengurangi dampak radikal bebas dan mencegah berbagai penyakit.

Tabel 1. Kandungan Nilai Gizi Beberapa Varietas Pisang di Indonesia

Varietas pisang	Kalori (kalori)	Karbohidrat (%)	Vitamin C (mg)	Vitamin A (SI)	Air (%)
Raja Bulu	120	31,80	10	950	65,80
Ambon	99	25,80	3	140	72
Lampung	99	25,60	4	61,80	72,10
Angleng	68	17,20	6	76	59,10

Sumber: Anonymous, 2013

Pisang raja bulu memiliki indeks glikemik 54% dibandingkan dengan gula standar sehingga dapat dikonsumsi diabetes. Pisang juga berguna bagi mereka yang mengalami stres dan kelelahan karena mengandung serotonin. Menurut riset PKHT IPB (2014), kadar serotonin pada pisang raja bulu ini cukup tinggi, yaitu sekitar 31,4 ng/g. Pembentukan serotonin ini dirangsang oleh triptofan yang ada pada pisang. Serotonin merupakan senyawa yang membuat perasaan rileks, dan tenang. Kandungan vitamin dan mineral pisang raja bulu cukup unggul dibandingkan buah dan sayuran lain, terutama untuk vitamin B6 (piridoksin), kalium, serat, dan mangan. Jika dibandingkan dengan apel, pisang mengandung 4 kali lebih banyak protein, dua kali lebih banyak karbohidrat, tiga kali lebih banyak fosfor, lima kali lebih banyak vitamin A dan zat besi, serta dua kali lebih banyak vitamin dan mineral lainnya.

Prospek kedepan untuk pengembangan pisang raja bulu mengalami kendala dalam hal penyediaan bibit dan areal lahan tanam yang kurang memadai. Kendala perbanyakan bibit unggul pisang raja bulu secara konvensional adalah sulit 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 waktu yang singkat (Priono, 2000).

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman yang menggunakan sel, organ atau jaringan tanaman. Sel, organ dan jaringan tanaman tersebut dikulturkan pada media buatan tertentu dalam kondisi aseptik. Potongan jaringan atau organ yang dikulturkan ini dinamakan “eksplan”. Oleh karena kecilnya potongan ini maka teknik perbanyakan tanaman cara ini dinamakan “mikropropagasi”.

Keberhasilan teknik kultur jaringan sangat tergantung pada ketersediaan medium dasar sebagai sumber nutrisi dan juga faktor ketersediaan eksplan. Dalam teknik kultur jaringan, medium dasar yang biasa digunakan adalah medium Murashige-Skoog (MS) yang terdiri atas garam-garam anorganik dan senyawa organik, serta dilengkapi dengan beberapa tambahan gula, hormon dan vitamin (Nasir, 1999). Untuk penyediaan garam-garam murni (*pure analys*) membutuhkan biaya yang cukup besar. Selain itu juga disediakan dalam jumlah yang banyak karena harus selalu dilakukan sub kultur (pindah tanam ke medium baru).

Banyak dilakukan upaya pergantian beberapa komponen medium MS dengan komponen yang lebih murah dan lebih mudah ditemukan di pasar. Pupuk daun komersial merupakan salah satu alternatif sumber garam-garam anorganik bagi pertumbuhan bibit dalam kultur jaringan (Yusnitawati dan Triwahyuningsih, 2002).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemungkinan penggunaan pupuk daun sebagai pengganti garam-garam anorganik medium MS.

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

Diduga ada pengaruh jenis media kultur terhadap pertumbuhan eksplan tanaman pisang raja bulu.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah :

1. Sebagai alat untuk mengetahui jumlah tunas, daun, akar eksplan tanaman pisang raja bulu yang ditanam pada media Murashige-Skoog (MS), pupuk daun Growmore, dan pupuk daun Bayfolan.
2. Sebagai bahan informasi bagi petani dan pihak yang membutuhkan dalam propagasi pisang untuk penggandaan bibit pisang raja bulu.
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 Raja Bulu

Menurut Satuhu dan Supriyadi (2008), klasifikasi tanaman pisang raja bulu 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 paradisiaca</i> L. cv. Raja Bulu

Pohon pisang dapat mencapai ketinggian 3 m. Batangnya yang berupa batang semu berpelelah berwarna hijau sampai coklat. Jantung pisang yang merupakan bunga pisang berwarna merah tua keunguan. Pisang adalah nama umum yang diberikan pada tumbuhan tera raksasa berdaun besar memanjang dari famili *Musaceae*. Beberapa jenisnya antara lain *Musa acuminata*, *Musa sapientum*, *Musa balbisiana*, dan *Musa paradisiaca*. Buah ini tersusun dalam tandan dengan kelompok-kelompok tersusun menjari yang disebut sisir. Hampir semua buah pisang memiliki kulit berwarna kuning ketika matang, meskipun ada beberapa yang berwarna jingga, merah, hijau, ungu, atau bahkan

hampir hitam. Buah pisang sebagai bahan pangan merupakan sumber energi (karbohidrat) dan mineral, terutama kalium. (Sunarjono, 2002).

2.2 Morfologi Tanaman Pisang Raja Bulu

2.2.1 Akar

Menurut Tjahjadi (1991) akar pohon pisang merupakan akar serabut yang berpangkal dari umbi 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 ke samping dan hanya 75-150 cm yang tumbuh kedalam 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 bekas pembuluh yang terdiri dari xylem dan floem yang tersusun berselang-seling.

2.2.2 Batang

Batang pisang menurut merupakan batang semu yang terbentuk dari pelepah daun yang membesar di pangkalnya dan mengumpul membentuk struktur berselang-seling yang terlihat kompak sehingga tampak sebagai batang (*pseudo stem*). Batang pisang yang sebenarnya terdapat di dalam 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 (Nakasone dan Paull, 1998).

2.2.3 Daun

Secara fisiologis daun pisang bewarna 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 tulangnyanya. 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. Secara anatomi daun pisang tersusun atas epidermis yang berkutikula dan terdapat stomata. 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 (Subartento, 2006).

2.2.4 Bunga dan Buah

Bunga terdiri dari kumpulan dua baris bunga pertama dan disusul bunga jantan. Tangkai bunga terus memanjang sampai 1,5 m. Buah kemungkinan berkembang dari ovarium interior dan eksokarp disusun pada lapisan epidermis 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*. Bentuk buah pisang raja bulu melengkung dengan pangkal buah agak bulat. Kulit buah cukup tebal berwarna kuning berbintik coklat. Daging buah berwarna kuning kemerahan, bertekstur lunak, dan tidak berbiji. Panjang buah antara 12-18 cm dengan bobot rata-rata 110-120g (Nakasone dan Paull, 1998).

2.3 Propagasi Secara *In Vitro*

Perbanyakan mikro atau perbanyakan secara *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan atau

organ serta menumbuhkannya pada media nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman di dalam kondisi yang steril, sehingga bagian–bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap/sepurna. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah memperbanyak tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman dengan menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Ahmad, 2011).

Kultur jaringan atau biakan jaringan sering disebut kultur *in vitro* yakni teknik pemeliharaan jaringan atau bagian dari individu secara buatan yang dilakukan di luar individu yang bersangkutan. *In vitro* berasal dari bahasa latin yang artinya di dalam kaca. Jadi kultur *in vitro* dapat diartikan sebagai bagian jaringan yang dibiakkan di dalam tabung inkubasi atau cawan petri dari kaca atau material tembus pandang lainnya. Secara teori teknik kultur jaringan dapat dilakukan untuk semua jaringan, baik dari tumbuhan, hewan, bahkan juga manusia karena berdasarkan teori totipotensi sel (*Total Genetic Potential*), bahwa setiap sel memiliki potensi genetik seperti zigot yaitu mampu memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Nurdiansyah, 2007).

Menurut Ahmad (2011) terdapat faktor–faktor yang mempengaruhi proses memperbanyak tanaman dengan metode kultur jaringan yaitu:

1. Eksplan

Eksplan adalah bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk memperbanyak. Faktor eksplan yang penting adalah genotip/varietas.

2. Media tumbuh

Media tumbuh merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman dengan metode kultur jaringan secara umum sangat tergantung pada jenis media. Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkan. Oleh karena itu macam-macam media kultur jaringan telah ditemukan sehingga jumlahnya cukup banyak. Media tumbuh eksplan berisi kualitatif komponen bahan kimia yang hampir sama, hanya sedikit berbeda dalam besarnya kadar untuk tiap-tiap persenyawaan. Formulasi media kultur jaringan pertama kali dibuat berdasarkan komposisi larutan yang digunakan untuk hidroponik, khususnya komposisi unsur-unsur makro. Unsur-unsur hara diberikan dalam bentuk garam-garam anorganik. Komposisi media dan perkembangan formulasinya didasarkan pada jenis jaringan, organ dan tanaman yang digunakan serta pendekatan dari masing-masing peneliti. Beberapa jenis sensitif terhadap konsentrasi senyawa makro tinggi atau membutuhkan zat pengatur tertentu untuk pertumbuhannya.

3. Lingkungan tumbuh

Lingkungan tumbuh yang dapat mempengaruhi regenerasi tanaman meliputi pH, temperatur, panjang penyinaran, intensitas penyinaran, kualitas sinar dan ukuran wadah kultur.

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 (ZPT) yang biasa digunakan antara lain auksin, sitokinin dan giberelin (Wetherell, 1982).

2.4 Medium Murashige dan Skoog

Medium Murashige dan Skoog atau biasa disingkat dengan MS merupakan medium yang sering digunakan dalam kultur jaringan tumbuhan. Medium MS mengandung berbagai zat organik dan anorganik yang akan memicu jaringan untuk tumbuh membentuk tanaman baru. Jaringan tumbuhan yang dikembangkan akan menyerap nutrisi yang terdapat pada medium MS sehingga dapat melangsungkan proses metabolisme untuk terus tumbuh. Medium MS merupakan medium padat berbentuk agar/jeli yang dapat mengikat molekul air dan nutrisi sehingga dapat diserap oleh jaringan. Jaringan memerlukan mineral makro, mineral mikro, gula, asam amino, vitamin dan hormon agar dapat berkembang menjadi tumbuhan baru. Mineral makro (makronutrien) merupakan mineral-mineral yang dibutuhkan dalam jumlah banyak oleh tumbuhan, sedangkan mineral mikro (mikronutrien) hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit.

Gula digunakan sebagai sumber energi dan pembangun dinding sel. Asam amino dan vitamin penting bagi proses metabolisme sel, dan semua komponen di atas aktivitasnya ditentukan oleh hormon tumbuhan. Medium MS optimum digunakan pada keadaan cenderung asam, yaitu pH 5.8 sr

Tabel 2. Komponen Lengkap Media MS (Murashige dan Skoog)

Unsur	Konsentrasi (mg/liter)
Hara Makro	
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂	332.02
Hara Mikro	
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
MnSO ₄ . H ₂ O	22,30
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ . 7H ₂ O/.	8.6
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025
Sumber Besi	
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.3
Vitamin	
Thiamine HCl	0.1
Pyridoxin HCl	0.5
Nicotinic acid	0.5
Glycine	2
Senyawa Organik	
MioInositol	100
Sukrosa	30000
Agar	7000

Sumber : George and Sherrington (1984)

2.5 Pupuk Daun

Pupuk daun adalah pupuk yang diberikan kepada tanaman melalui daun. Pupuk ini umumnya tergolong pupuk anorganik yang diproduksi dalam skala besar dari bahan-bahan anorganik. Dalam pengaplikasiannya, pupuk ini terlebih dahulu diencerkan dalam pelarut dengan konsentrasi tertentu untuk kemudian di semprotkan ke tanaman. Pupuk daun dapat memberikan unsur hara dengan jumlah dan jenis yang sesuai seperti yang dibutuhkan tanaman. Dengan kelarutannya yang tinggi, pupuk daun lebih mudah diserap dan ditranslokasikan oleh tanaman untuk pertumbuhannya. Karena penyerapannya yang mudah itulah kemudian efek penggunaan pupuk ini lebih cepat terlihat dibandingkan penggunaan pupuk akar. Pupuk daun juga dalam aplikasinya dapat lebih merata karena dalam penggunaannya yang menggunakan alat semprot (Andriansyah, 2013).

2.5.1 Pupuk Daun Growmore 32-10-10

Growmore adalah pupuk daun lengkap dalam bentuk kristal berwarna biru, sangat mudah larut dalam air. Pupuk daun growmore 32-10-10 mengandung unsur hara N (32%), P_2O_5 (10%) dan K_2O (10%). Unsur N yang cukup tinggi dari pupuk daun growmore 32-10-10 ini berperan penting bagi tanaman yang masih dalam pertumbuhan (vegetatif). Unsur hara N berfungsi untuk menyusun asam amino (protein), asam nukleat, nukleotida, dan klorofil pada tanaman, sehingga dengan cukup tingginya N membuat tanaman lebih hijau, mempercepat pertumbuhan tanaman (tinggi, jumlah anakan, jumlah cabang dan jumlah daun). Pupuk daun growmore 32-10-10 dapat diserap dengan mudah oleh tanaman.

Tabel 3. Komposisi Lengkap Unsur Hara Pupuk Daun Growmore 32-10-10

Unsur hara	Kadar unsur hara (%)
Total Nitrogen (N) 3.9 % Nitrogen Amonial 5.7 % Nitrogen Nitrat 10.6 % Nitrogen Urea	32 %
Asam Fosfat tersedia (P ₂ O ₅)	10 %
Kalium Karbonat larut (K ₂ O)	10 %
Kalsium (Ca)	0.05 %
Magnesium (Mg)	0.10 %
Sulfur (S)	0.20 %
Boron (B)	0.02 %
Tembaga (Cu)	0.05%
Besi (Fe)	0.10 %

Sumber: PT. Bayern Indonesia (2010)

2.5.2 Pupuk Daun Bayfolan

Pupuk daun Bayfolan merupakan pupuk anorganik yang mengandung unsur hara makro dan mikro untuk pertumbuhan vegetatif (batang daun dan cabang) dan membantu penyerapan unsur hara oleh akar. Pupuk ini memiliki dosis anjuran 2 ml/liter air (2-4 liter Bayfolan/ha) artinya dalam 1 liter air pelarut terdapat 2 ml larutan Bayfolan atau dalam 1 ha diperlukan 2-4 liter Bayfolan (Lingga dan Marsono, 2006). Bayfolan merupakan pupuk daun lengkap berbentuk cair yang memiliki kandungan unsur hara antara lain N 11 %, P₂O₅ 8 % dan unsur-unsur mikro seperti Fe, Bo, Co Mn, Zn dan Cu (PT Bayer Indonesia, 2010).

Tabel 4. Komposisi Lengkap Unsur Hara Pupuk Daun Bayfolan

Unsur hara	Kadar unsur hara (%)
Nitrogen total (N)	11.470 %
Fosfor (P ₂ O ₅)	8.00 %
Sulfur (S)	0.230 %
Kalium (K ₂ O)	6.00 %
Kalsium (CaO)	0.025 %
Sulfur (S)	0.20 %
Boron (B)	0.036 %
Cobalt (Co)	0.002 %
Besi (Fe)	0.050 %
Mangan (Mn)	0.036 %
Molibdenum (Mo)	0.005 %
Magnesium (MgO)	0.025 %
Seng (Zn)	0.080 %
Asam Indol Asetat	0.003 %

Sumber: PT. Bayern Indonesia (2010)

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pelaksana Teknis (UPT) Balai Benih Induk Hortikultura (BIH) Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Kota Medan, Sumatera Utara dan dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol pisang raja bulu yang sehat dan tanpa cacat. Media kultur yang digunakan adalah media MS (*Murashige dan Skoog*), media pupuk daun growmore, media pupuk daun bayfolan, NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (*Benzyl Amino Purine*), benlate, tween 20, agar-agar, myo-inositol, NaOH, HCl, aquades, alkohol 70%, Sodium hipoklorit (Clorox atau bayclin), aluminium foil, pH meter, dan kertas milimeter.

Alat-alat yang digunakan adalah *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), lampu floresens, *magnetic stirrer*, botol kultur, erlenmeyer, pipet skala, gelas ukur, *petridish*, scalpel, gunting, bunsen, timbangan analitik, *hotplate*, spatula, lemari es, pinset, pisau bedah dan oven.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial dengan perlakuan jenis medium kultur jaringan sebagai berikut:

Media MS (<i>Murashige dan Skoog</i>)	(M ₁)
Media pupuk daun Growmore 32-10-10	(M ₂)
Media pupuk daun Bayfolan	(M ₃)

Dengan demikian diperoleh 3 perlakuan dengan 3 ulangan, sehingga terdapat $3 \times 3 = 9$. Pada masing–masing satuan percobaan terdapat 7 botol kultur sehingga terdapat $9 \times 7 = 63$ botol kultur. Tiap botol masing–masing ditanam 1 eksplan dan semua populasi diamati.

3.4 Metode Analisis

Metode analisis yang digunakan adalah metode deskriptif, yaitu suatu metode yang berfungsi untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran terhadap objek yang diteliti melalui data atau sampel yang telah terkumpul sebagaimana adanya (Sugiono, 2009)..

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan kegiatan meliputi beberapa kegiatan yaitu:

3.5.1 Pengadaan dan Seleksi Pisang Raja Bulu

Pada penelitian ini, sumber eksplan yang digunakan adalah bonggol pisang raja bulu yang sudah berumur 3 bulan dalam bentuk tanaman utuh dan sehat yang diperoleh dari kebun petani lokal Desa Bandar Setia, Kecamatan Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara. Bonggol pisang kemudian dipotong dan diperkecil sampai berukuran panjang 10 cm dan diameter 4-5 cm.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur

Ruang kultur disterilkan dengan menggunakan formalin selama 24 jam. 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 disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada tekanan 15 psi dan temperatur 121°C selama 60 menit.

3.5.3 Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan terdiri dari dua tahap, yaitu sterilisasi di luar *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dan sterilisasi di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC).

3.5.3.1 Sterilisasi Luar *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC)

Sebelum ditanam secara aseptik dalam media yang steril, eksplan harus dibersihkan dari kotoran terluar dan disterilisasi. Eksplan yang digunakan ialah bonggol pisang raja bulu. 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 lepas 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 bonggol direndam kembali pada botol yang sudah terisi oleh larutan pemutih sodium hipoklorit 5% (*Clorox* atau *Bayclin*) dan dibiarkan selama 10 menit. Setelah 10 menit eksplan dicuci kembali dengan air bersih sebanyak tiga kali. Kemudian dipotong dengan ukuran (2-3 cm) dan diletakkan ke dalam *petridish*.

3.5.3.2 Sterilisasi Dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC)

Eksplan yang sudah dipotong, kemudian direndam dalam larutan NaClO (1,3 %) ditambah Tween-80 (20 tetes) selama 15menit. 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 alkohol 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*.

3.5.4 Penanaman Eksplan Pada Media Inisiasi

Media inisiasi diharapkan dapat mengusahakan kultur yang aseptik dan aksenik. Aseptik berarti bebas dari mikroorganisme, sedangkan aksenik berarti bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. Dalam tahap ini juga diharapkan bahwa eksplan yang dikulturkan akan menginisiasi pertumbuhan baru, sehingga akan memungkinkan dilakukannya pemilihan bagian tanaman yang tumbuhnya paling kuat untuk perbanyakan (multiplikasi) pada kultur tahap selanjutnya (Wetherell, 1982). Media kultur inisiasi adalah media MS yang telah diformulasikan tanpa kandungan zat pengatur tumbuh apapun. Kegiatan penanaman eksplan pada media inisiasi dilakukan di meja *laminar air flow cabinet*, dimana eksplan yang akan ditanam pada media inisiasi dibelah dua dengan ukuran 1 cm dan ditanam pada botol media inisiasi. Botol kemudian ditutup dengan menggunakan tutup botol plastik dan disungkup dengan kain hitam (kondisi tanpa cahaya) selama 7 hari dan eksplan akan dibiarkan pada media inisiasi selama 30 hari.

3.5.5 Pembuatan Media Kultur Perlakuan

Pembuatan kultur Murashige dan Skoog (MS), dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu untuk memudahkan pembuatan media

kultur. Larutan stok adalah larutan bahan media yang dibuat dalam jumlah atau volume besar. Pembuatan larutan stok disajikan pada Lampiran 4. Sedangkan untuk pembuatan media kultur pupuk daun Growmore, dengan cara mencampurkan 2 mg/l pupuk daun Growmore dengan aquades 1 liter pada gelas ukur, dan untuk pembuatan media pupuk daun Bayfolan, sebanyak 2 ml/l pupuk daun Bayfolan dicampurkan dengan aquades 1 liter pada gelas ukur, kemudian masing-masing media diaduk secara perlahan hingga kedua jenis pupuk daun yang dibuat pada setiap gelas ukur menjadi larut. Pembuatan media kultur untuk setiap perlakuan ditambahkan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi optimum untuk tahap multiplikasi yaitu 3 mg/l NAA dan 4 mg/l BAP (Srilestari dan Sasmita, 2015). Setiap media kultur yang telah dibuat, dimasukkan gula dan agar-agar ke dalamnya dan ditambahkan aquades hingga volume tepat 1 liter kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

Kemasaman pH media tanam diatur dengan menggunakan pH meter, pH media tanam kultur yang baik adalah 5,8. Setelah itu media dipanaskan hingga mendidih pada kompor gas sambil diaduk, 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 121°C selama 60 menit. Setiap botol-botol kultur dibuat label kode perlakuan.

3.5.6 Sterilisasi Media Kultur

Setelah media tumbuh kultur padat, media kemudian dikeluarkan dari *autoclave* lalu media disusun pada rak kultur selama 3-5 hari. Selama menunggu media siap untuk ditanami, perlu dilakukan pengamatan terhadap media ada atau

tidaknya yang terkontaminasi, hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa media yang digunakan memang benar-benar steril dan apabila terdapat media terkontaminasi bakteri ataupun cendawan, akan langsung dipisahkan dari kumpulan botol-botol kultur yang masih steril.

3.5.7 Penanaman Eksplan Pada Media Perlakuan

Setelah 30 hari eksplan dikeluarkan dari media inisiasi, kemudian dipindah tanamkan ke setiap media perlakuan (MS, Growmore, dan Bayfolan). kegiatan pemindahan eksplan ke media kultur perlakuan ini dilakukan di meja *laminar air flow cabinet*. Penanaman eksplan pada setiap media perlakuan dilakukan dengan steril, sesekali alat untuk menanam (pinset dan pisau bedah) dicelupkan pada alkohol 70 % untuk mencegah mikroorganisme yang tidak diinginkan ikut masuk kedalam media perlakuan.

3.5.8 Pemeliharaan Kultur

Ruang kultur difasilitasi dengan penyinaran lampu floresens dan rak-rak kultur difasilitasi lampu floresens. Kelembaban ruang kultur diatur 90% karena kelembaban di sekeliling ruang kultur mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Temperatur yang dibutuhkan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimum, berkisar 20-25°C. Ruangan ini diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dengan cara disterilkan setiap hari dan botol kultur disemprot dengan alkohol 70%.

3.6 Pengamatan dan Parameter

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).

$$\text{Presentase eksplan hidup} = \frac{\text{jumlah eksplan hidup}}{\text{jumlah seluruh eksplan per perlakuan}} \times 100\%$$

3.6.2 Jumlah Tunas

Jumlah tunas yang tumbuh dihitung secara manual dengan menghitung langsung dari botol kultur dan diamati sejak satu minggu setelah penelitian dimulai sampai pada akhir penelitian.

3.6.3 Jumlah Daun

Jumlah daun per tunas dihitung secara manual, yakni dengan menghitung jumlah semua daun yang terbentuk dan pengamatan terhadap jumlah daun dilakukan pada akhir minggu ke-4 sampai pada akhir penelitian yakni 8 minggu setelah tanam (Srilestari dan Sasmita, 2015).

3.6.4 Tinggi Planlet

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

3.6.5 Jumlah Akar

Jumlah akar dihitung secara manual dengan mengamati langsung banyaknya jumlah akar yang muncul. Pengamatan jumlah akar dilakukan pada akhir penelitian yaitu pada 8 MST.