

**REGENERASI EMBRIO PISANG LIAR MELALUI KULTUR *IN VITRO* DENGAN APLIKASI SUKROSA, BENZYL ADENINE DAN POLYVINYLPIRROLIDONE**

Oleh:

**SYAFRILIA RAHMA PUTRI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG**

**2017**

**REGENERASI EMBRIO PISANG LIAR MELALUI KULTUR  
IN VITRO DENGAN APLIKASI SUKROSA, BENZYL  
ADENINE DAN POLYVINYLPIRROLIDONE**

Oleh :

**SYAFRILIA RAHMA PUTRI**

**125040201111017**

**MINAT BUDIDAYA PERTANIAN  
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelara Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN  
MALANG  
2017**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Mengesahkan,  
MAJELIS PENGUJI**

**Penguji I**

**Penguji II**

Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc., Ph.D  
NIP. 197209122000032001

Dr. Ika Roostika, SP. M.Si  
NIP. 195303281981031001

**Penguji III**

**Penguji IV**

Afifuddin Latif Adiredjo, SP., M.Sc., Ph.D  
NIP. 198111042005011002

Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP.  
NIP. 197107082000121002

**Penguji V**

Dr. Ir. Nurul Aini, MS.  
NIP. 19601012 198601 2 001

Tanggal Lulus:

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Regenerasi Embrio Pisang Liar melalui Kultur  
*In Vitro* dengan menggunakan Aplikasi Sukrosa, *Benzyl Adenine* dan  
*Polyvinylpirrolidone*  
Nama : Syafrilia Rahma Putri  
NIM : 125040201111017  
Minat : Budidaya Pertanian  
Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

**Pembimbing I,**

Dr. Darmawan Saptadi, SP.,MP.  
NIP. 197107082000121002

**Pembimbing II,**

Afifuddin Latif Adiredjo, SP., M.Sc.,Ph.D  
NIP. 198111042005011002

**Pembimbing III,**

Dr. Ika Roostika,SP. M.Si  
NIP. 197209122000032001

Diketahui,

**Ketua Jurusan Budidaya Pertanian**

Dr. Ir. Nurul Aini, MS.  
NIP. 19601012 198601 2 001

## RINGKASAN

**SYAFRILIA RAHMA PUTRI. 125040201111017. Regenerasi Kultur Embrio Pisang Liar melalui Aplikasi Sukrosa, Benzyl Adenine dan Polyvinylpirrolidone. Bimbingan Dr. Darmawan Saptadi, SP, MP. sebagai pembimbing utama dan Afifuddin Latif Adiredjo, SP, M.Sc., P.hD sebagai pembimbing pendamping dan Dr. Ika Roostika, SP, M.Si. sebagai pembimbing penelitian di Balai Besar Biogen, Bogor.**

---

---

Pisang (*Musa spp.*) adalah buah-buahan penting di Indonesia maupun dunia. Indonesia dan Asia Tenggara sebagai pusat keragaman pisang, memiliki banyak jenis pisang termasuk berjenis-jenis pisang liar. Namun, saat ini masalah penyakit layu akibat jamur *Fusarium*, layu bakteri atau layu darah, dan virus *bunchy top* cukup menurunkan produksi dan menghancurkan pertanaman pisang. Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha pelestarian guna menghindari kepunahan genotipe atau plasma nutfah pisang liar yang ada di Indonesia melalui metode regenerasi kultur embrio dengan mencari komposisi media kultur terbaik. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui formulasi media yang optimal melalui penggunaan *benzyl adenine* (BA), *polyvinylpirrolidone* (PVP), dan sukrosa untuk pertumbuhan eksplan embrio pisang liar, serta mengetahui pengaruh BA, PVP, dan sukrosa dalam media *in vitro* terhadap perkecambahan dan pertumbuhan embrio pisang liar SPN-21.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Mei 2016 bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Cimanggu, Bogor. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap. Setiap perlakuan diulang 5 kali dan satu ulangan terdiri dari 6 embrio, sehingga total biji embrio dalam penelitian ini yaitu 360 embrio. Hasil pengamatan dalam bentuk data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan uji analisis ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 5%. Apabila hasil pengujian menunjukkan pengaruh nyata maka selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%. Peubah yang di amati yaitu persentase eksplan hidup, persentase eksplan tumbuh, jumlah tunas, skoring jumlah akar, jumlah daun dan tinggi tunas.

Pada karakter pengamatan rata-rata persentase daya tumbuh dan rata-rata jumlah tunas perlakuan yang tertinggi yaitu media yang berformulasi MS ditambahkan sukrosa 4% dan BA 0.5 mg/l (M7). Pada karakter pengamatan rata-rata jumlah perlakuan yang mengalami pertumbuhan tertinggi terjadi pada media berformulasi MS ditambahkan sukrosa 4% (M8).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Formulasi media dengan penambahan sukrosa, BA dan PVP tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya hidup, rata-rata jumlah akar dan tinggi tunas. Pada persentase daya hidup embrio pisang SPN21 tidak menghendaki formulasi media yang kompleks. Formulasi media dengan penambahan sukrosa, BA dan PVP memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tumbuh, rata-rata jumlah tunas dan rata-rata jumlah daun. Penambahan sukrosa 4% pada media merupakan formulasi yang tepat untuk kultur regenerasi embrio pisang liar SPN21.

## SUMMARY

**SYAFRILIA RAHMA PUTRI. 125040201111017. Culture Regeneration of Wild Banana Embryos through the Application of Sucrose, Benzyl Adenine and Polyvinylpyrrolidone. Under guidance of Dr. Darmawan Saptadi, SP, MP. as main supervisor and Afifuddin Latif Adiredjo, SP, M.Sc., P.hD as co-supervisor and Dr. Ika Roostika, SP, M.Si. as field advisor at BioGen Research Center, Bogor.**

---

Banana (*Musa* spp.) is an important fruit in Indonesia and the world. Indonesia and Southeast Asia are the center of banana diversity, thus having many kinds of banana including wild banana species. Nonetheless, Fusarium wilt, bacterial blood disease and bunchy top virus currently decrease banana production and damage banana planting. Therefore, a preserving effort to avoid the extinction of wild banana genotypes or germplasm in Indonesia is necessary, such as embryonic culture regeneration method by obtaining the best culture media composition. The objectives of the research were to obtain the optimum media formulation through the application of benzyl adenine (BA), polyvinylpyrrolidone (PVP) and sucrose to the growth of wild banana embryonic explants, as well as to study the effects of BA, PVP and sucrose in the in vitro media to the germination and growth of SPN21 wild banana embryos.

The research was conducted from December 2015 to May 2016 at the Tissue Culture Laboratory, Researcher Group of Tissue and Cell Biology, Grand Research and Development Center of Biotechnology and Agricultural Genetic Resources (BioGen Research Center), Cimanggu, Bogor. The research used the Completely Randomized Design. Every treatment was replicated 5 times and one replication consisted of 6 embryos, thus totaling 360 embryos. The observation results presented in quantitative data were analyzed using the analysis of variance (ANOVA) at the error level of 5%. When the test results showed significant effect, then Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at the error level of 5% was conducted. The variables observed in the research included percentage of viable explants, percentage of alive explants, bud number, root number scoring, leaf number and bud height.

The highest growth ability percent average and bud number average were obtained in the MS-formulated media added with sucrose of 4% and BA of 0.5 mg/L (M7). The highest growth average was obtained in the MS-formulated media added with sucrose of 4% (M8).

Based on the research conducted, it was concluded that media formulation with the addition of sucrose, BA and PVP did not significantly affect the viability percentage, root number average and bud height. Viability percentage of SPN21 wild banana embryos did not fit in complex media formulation. The media formulation with the addition of sucrose, BA and PVP significantly affected the growth ability percentage, bud number average and leaf number average. The addition of sucrose of 4% to the media was the suitable formulation for the culture regeneration of SPN21 wild banana embryos.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Darmawan Saptadi, SP., MP selaku dosen pembimbing utama atas bimbingan, saran dan waktu yang telah diberikan kepada penulis dalam menyusun skripsi.
2. Afifuddin Latif Adiredjo, SP., M.Sc.,Ph.D. selaku dosen pembimbing pendamping atas bimbingan, saran dan waktu yang telah diberikan kepada penulis dalam menyusun skripsi.
3. Dr. Ika Roostika Tambunan, SP. MSi. selaku pembimbing penelitian di BB BIOGEN atas bimbingan, saran dan waktu yang telah diberikan kepada penulis dalam menyusun skripsi.
4. Prof. Ir. Sumeru Ashari, M.Agr.Sc.,Ph.D. selaku dosen pembahas atas pengarahan dan bimbingan yang telah diberikan.
5. Dr. Ir. Nurul Aini, MS. selaku Ketua Jurusan Budidaya Pertanian Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
6. Ir. Mastur, MSi. Ph.D. selaku kepala balai yang telah memberi kesempatan untuk melakukan kegiatan penelitian.
7. Semua dosen, staff dan karyawan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
8. Semua peneliti, karyawan dan sahabat seperjuangan di BB BIOGEN, terkhusus buat Ibu Suci Rahayu, Pak Djoko Tamami dkk, Mbak Alfia, Wulan yang telah banyak memberikan bantuan dan bimbingan selama pelaksanaan penelitian.
9. Papa dan Mama serta Keluarga Besar atas doa dan dukungan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
10. Yuyun, Kinanthi, Zahrah, Kamal, Mas Mujahid dan Mba Redha sebagai partner saya yang luar biasa.
11. Bang Arfan sekeluarga terimakasih selalu menjadi pendengar, sahabat, orang tua sekaligus guru spiritual saya yang luar biasa.
12. Sahabat-sahabat tercinta ( Keluarga tak Berencana, Sister another Moms, Onang-oneng, Bang Ichal, Mb jeje, Mba Asna, Muamaroh, Tika, Nia, Ica, Dira, Bayu, KampusBOS, Chocoshakes ) dan teman teman seperjuangan seorganisasi di kampus dan luar kampus yang selalu memberikan doa dan semangat dalam penulisan skripsi ini.

Penyusunan skripsi ini masih perlu pembenahan dari penulisan yang mungkin belum penulis sadari. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi memperbaiki skripsi ini.

Malang, Januari 2017

Penulis



## RIWAYAT PENULIS

Penulis dilahirkan pada tanggal 09 Juni 1994 di Kudus, Jawa Tengah. Merupakan putri pasangan Bapak Edy Eko Widjati dan Ibu Ulfiyati sekaligus anak pertama dari 2 bersaudara.

Penulis menempuh pendidikan pra sekolah pada tahun 1999-2000 di TK Pertiwi Kudus. Jenjang pendidikan dasar ditempuh oleh penulis di MI Muhammadiyah 1 Kudus pada tahun 2001-2006. Pendidikan menengah ditempuh di MTsN Kudus. Selanjutnya penulis menempuh pendidikan menengah atas pada tahun 2010-2012 di MAN 2 Kudus. Ditahun 2012, penulis diterima sebagai mahasiswa Strata Satu (S1) pada Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya melalui jalur SNMPTN Undangan.

Selama menjadi mahasiswa, penulis dalam kegiatan mahasiswa intra dan ekstra kampus diantara pencapaian terbaiknya adalah Dirjen Kewirausahaan BEM FP-UB pada tahun 2014, Staff di FORSIKA, BEM FP-UB tahun 2012 dan 2013, serta penulis aktif di UKM Renang.

Terdapat lebih dari 30 *event* di mana penulis terlibat dalam pelaksanaannya selama masa studi di universitas. Dengan lebih dari 20 ribu peserta, beberapa kegiatan tersebut diantaranya Kompas-Kampus 2012, Dies Natalies FP-UB 2012-2014, POSTER FP-UB 2013, PEMILWA 2013, Rangkaian Acara Jelajah Almamater Brawijaya (RAJA Brawijaya) 2013, PEMIRA 2013, NYEC 2014, Gebyar Wirausaha 2014 dan Festival Inspirasi 2014, Malang Fashion Day, BOSCamp, IFBC Expo 2016, IFRA Expo 2016, IFSE 2016.

Terdapat 2 Karya Ilmiah yang pernah penulis ikuti yaitu 2 PKM-K sampai tahap MONEV PIMNAS 2015, sejak tahun 2013, penulis telah memulai kegiatan wirausaha dan kerja paruh waktu di antaranya *Marketing Event* dan Tim Management di PT Era Mulia Abadi Sejahtera dan CV Danasya Mitra Berkah. Beberapa brand bisnis yang digeluti di antaranya 2 *Seasons Kitchen Restaurant* dan *Chocoshakes*. Penulis juga aktif dan menjadi pengurus beberapa Komunitas *Greenliving* dan Wirausaha skala Malang dan Nasional.

**DAFTAR ISI**

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT PENULIS .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan.....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Kultur Jaringan .....	3
2.2 Pisang .....	4
2.3 Eksplan .....	6
2.4 Media Kultur <i>In Vitro</i> .....	6
2.5 Stok Zat Pengatur Tumbuh.....	7
2.5.1 Sitokinin.....	8
2.5.2 Auksin.....	8
2.6 Sumber Karbon.....	9
<b>III. BAHAN DAN METODE .....</b>	<b>11</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	11
3.2 Bahan dan Alat .....	11
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	12
3.5 Pengamatan .....	13
3.6 Analisa Data .....	14
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>15</b>



4.1 HASIL.....	15
4.1.1 Keadaan Umum .....	15
4.1.2 Regenerasi Kultur Embrio .....	15
4.2.2 Persentase Daya Hidup .....	20
4.2.2 Daya Tumbuh.....	20
4.2.3 Jumlah Tunas .....	22
4.2.4 Jumlah Akar .....	23
4.2.5 Jumlah Daun .....	23
4.2.6 Tinggi tunas.....	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran .....	26
DAFTAR PUSTAKA .....	27
LAMPIRAN	



**DAFTAR GAMBAR**

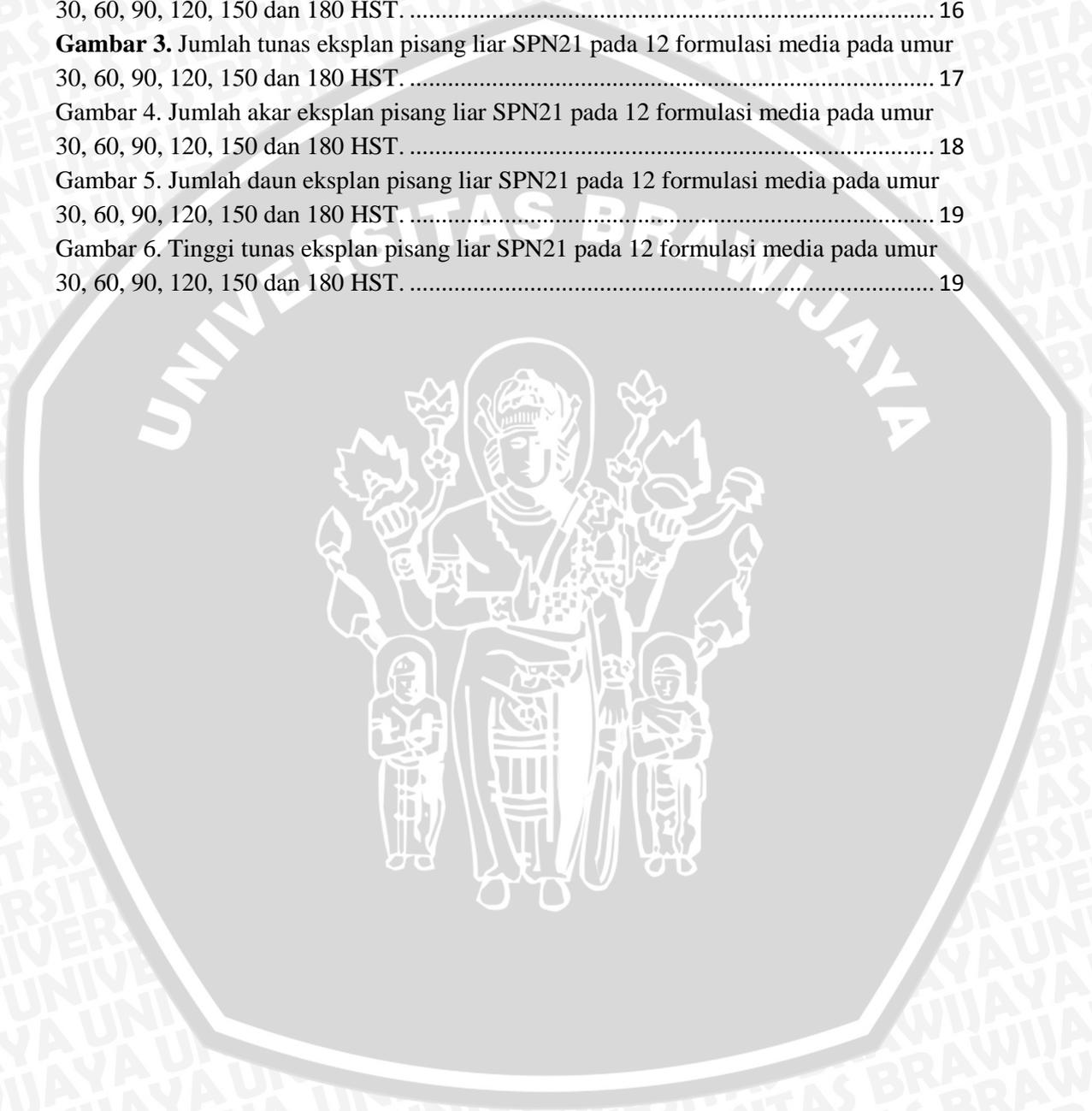
Gambar 1. Daya hidup eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. .... 16

**Gambar 3.** Jumlah tunas eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. .... 17

Gambar 4. Jumlah akar eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. .... 18

Gambar 5. Jumlah daun eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. .... 19

Gambar 6. Tinggi tunas eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. .... 19



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa* spp.) adalah buah-buahan penting di Indonesia maupun dunia. Indonesia dan Asia Tenggara sebagai pusat keragaman pisang, memiliki banyak jenis pisang termasuk berjenis-jenis pisang liar. Namun, saat ini masalah penyakit layu akibat jamur *Fusarium*, layu bakteri atau layu darah, dan virus *bunchy top* cukup menurunkan produksi dan menghancurkan pertanaman produksi pisang. Pisang merupakan kelompok tumbuhan yang erosinya tergolong pesat terutama disebabkan oleh cekaman faktor biotik (organisme pengganggu tanaman).

Indonesia saat ini memiliki lebih dari 100 kultivar pisang yang identitas genetiknya tidak diketahui dengan pasti. Adanya sejumlah kesamaan bentuk pisang merupakan sumber utama dari kebingungan dalam klasifikasi dan pemeliharaan koleksi plasma nutfah pisang (Megia *et al.*, 2001). Sebanyak 12 jenis pisang liar telah ditemukan di Indonesia. Pisang-pisang liar ini ditemukan mulai dari lembah alas (Aceh Tenggara) sampai ke daerah Papua bagian utara. Jenis pisang liar di Indonesia, antara lain: 1) *Musa acuminta*, 2) *Musa balbisiana* Colla., 3) *Musa borneensis* Becc., 4) *Musa celebica* Warb., 5) *Musa lolodensis*, 6) *Musa ornata* Roxb, 7) *Musa salaccensis*, 8) *Musa schizocarpa*, 9) *Musa textilis*, 10) *Musa troglodytarum* L., 11) *Musa uranoscopos* Lour., 12) *Musa velutina* Wendl.

Konservasi *in vitro* merupakan upaya pelestarian plasma nutfah dalam kondisi yang aseptik (steril). Teknik yang umum dilakukan untuk tujuan tersebut yaitu: 1) penyimpanan dalam keadaan tumbuh (jangka pendek), 2) penyimpanan dengan pertumbuhan minimal (jangka menengah) dan 3) penyimpanan dengan teknik pembekuan/kriopreservasi yang dikenal dengan penyimpanan secara jangka panjang (Syahid *et al.*, 1997). Teknik pertumbuhan minimal disarankan diterapkan untuk koleksi aktif, sedangkan teknik kriopreservasi diterapkan untuk koleksi dasar (Withers, 1985).

Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan, media MS (Murashige dan Skoog, 1962) mengandung jumlah hara

organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis tanaman dalam kultur (Gunawan, 1990). Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan perbanyak tanaman *in vitro* di antaranya sumber eksplan, media tumbuh, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dan lingkungan tumbuh kultur (Pierik, 1987). Penambahan ZPT ke dalam media merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro*. Pada umumnya ZPT dari golongan sitokinin, di antaranya BA, banyak digunakan untuk memacu pembentukan tunas (George and Sherrington, 1984). Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha pelestarian guna menghindari kepunahan genotipe atau plasma nutfah pisang liar yang ada di Indonesia melalui metode regenerasi kultur embrio dengan mencari komposisi media kultur terbaik.

### 1.2 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui pengaruh formulasi media yang mengandung BA, PVP dan sukrosa terhadap daya hidup, daya tumbuh, jumlah tunas, jumlah akar, jumlah daun dan tinggi tunas dari biakan yang berasal dari embrio pisang liar SPN21.
- b. Menentukan formulasi media yang optimal untuk pertumbuhan embrio pisang liar SPN21.

### 1.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

- a. Terdapat pengaruh yang nyata dari pertumbuhan embrio pisang liar SPN21 yang dipengaruhi oleh formulasi media.
- b. Formulasi media yang terbaik adalah media yang mengandung BA, PVP dan Sukrosa.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kultur Jaringan

Perbanyakan secara kultur jaringan dilakukan dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti organ, jaringan, kumpulan sel, sel tunggal, protoplasma, dan kemudian menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan aseptik yang kaya nutrisi dan mengandung zat pengatur tumbuh. Proses ini berlangsung di dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian-bagian tersebut memperbanyak diri dan beregenerasi kembali menjadi tanaman lengkap (Saptarini *et al.*, 2001).

Teknik kultur *in vitro* adalah suatu teknik budidaya sel, jaringan, organ tumbuhan dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptik. Kultur *in vitro* secara umum dapat digunakan sebagai teknik mikropropagasi tumbuhan untuk dapat menghasilkan klon tumbuhan dalam jumlah banyak hanya dengan menggunakan sedikit sayatan tanaman induk (Santoso *et al.*, 2003).

Manfaat perbanyakan tanaman secara kultur jaringan adalah untuk memperbanyak vegetatif tanaman yang permintaannya tinggi tetapi pasokannya rendah, karena laju perbanyakan secara konvensional dianggap lambat. Di samping itu, perbanyakan tanaman secara kultur jaringan sangat bermanfaat untuk memperbanyak tanaman introduksi, tanaman klon unggul baru, dan tanaman bebas patogen yang perlu diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat (Yusnita, 2003).

Perbanyakan bibit secara cepat adalah salah satu dari penerapan teknik kultur jaringan yang telah dilakukan terutama untuk beberapa jenis tanaman yang diperbanyak secara klonal. Tujuan utamanya adalah memproduksi bibit secara masal dalam waktu singkat. Hal ini terutama dilakukan pada tanaman-tanaman yang persentase perkecambahan bijinya rendah, tanaman hibrida yang berasal dari tetua yang menunjukkan sifat *male sterility*, perbanyakan pohon elit atau pohon untuk batang bawah dan tanaman yang selalu diperbanyak secara vegetatif seperti kentang, pisang dan stroberi (Mattjik, 2005).

## 2.2 Pisang

Pisang adalah tanaman terna yang berasal dari kawasan Asia Tenggara (termasuk Indonesia). Tanaman buah ini kemudian tersebar luas di kawasan Afrika (Madagaskar), Amerika Selatan, dan Amerika Tengah. Penyebaran tanaman ini selanjutnya hampir merata di seluruh dunia, yaitu meliputi daerah tropik dan subtropik, dimulai dari Asia Tenggara ke timur melalui Lautan Teduh sampai ke Hawaii. Selain itu, tanaman pisang tersebar di barat melalui Samudra Atlantik, Kepulauan Kanari, sampai Benua Amerika (Suyanti *et al.*, 2008).

Pisang merupakan tanaman semak yang berbatang semu (*pseudostem*), tingginya bervariasi antara 1–4 meter, tergantung varietasnya. Daunnya melebar, panjang, tulang daunnya besar, dan tepi daunnya tidak mempunyai ikatan yang kompak sehingga mudah robek bila terkena tiupan angin kencang. Batangnya mempunyai bonggol yang besar sekali dan terdapat banyak mata yang dapat tumbuh menjadi tunas anakan. Bunganya keluar pada ujung batang dan hanya sekali berbunga selama hidupnya (monokarpik) (Sunarjono, 2000). Menurut Anwar (2003) pisang mempunyai kandungan gizi sangat baik, antara lain menyediakan energi cukup tinggi dibandingkan dengan buah-buahan lain. Pisang kaya mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi, dan kalsium. Pisang juga mengandung vitamin, yaitu C, B kompleks, B6, dan serotonin yang aktif sebagai neurotransmitter dalam kelancaran fungsi otak.

### 2.2.1 Taksonomi Pisang

Berdasarkan taksonominya, tanaman pisang dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan berbiji)
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i> (Berbiji tertutup)
Kelas	: <i>Monocotyledonae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Musaceae</i>
Genus	: <i>Musa</i>
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i> L.

Indonesia dan Asia Tenggara merupakan pusat keragaman genetik *Musaceae* dan memiliki banyak jenis pisang (termasuk pisang liar) yang tersebar hampir di seluruh Indonesia. Lebih dari dua ratus varietas ditanam petani yang seluruhnya adalah varietas alam yang belum mengalami perbaikan/pemuliaan. Plasma nutfah pisang diploid AA terdiri atas varietas liar *Musa acuminata* Colla dan varietas budidaya (kultivar) merupakan sumber gen untuk perbaikan genetik pisang (Crouch *et al.*, 1999).

### 2.2.2 Morfologi Tanaman Pisang

Tanaman pisang termasuk dalam golongan terna monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu. Batang semu ini merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun secara rapat teratur. Percabangan tanaman bertipe simpodial dengan meristem ujung memanjang dan membentuk bunga lalu buah. Bagian bawah batang pisang menggelembung berupa bonggol. Pucuk lateral (*sucker*) muncul dari bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Buah pisang umumnya tidak berbiji atau bersifat partenokarpi (Cahyono, 2002).

Tanaman pisang dapat ditanam dan tumbuh dengan baik pada berbagai macam topografi tanah, baik tanah datar ataupun tanah miring. Tingginya antara 1–4 m, berakar serabut dengan batang bawah tanah (bonggol) yang pendek. Dari mata tunas yang ada pada bonggol inilah bisa tumbuh tanaman baru (Cahyono, 2002).

Pisang mempunyai bunga majemuk, yang tiap kuncup bunga dibungkus oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ke tanah jika bunga telah membuka. Bunga betina akan berkembang secara normal, sedang bunga jantan yang berada di ujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup oleh seludang dan disebut sebagai jantung pisang. Tiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Jumlah sisir betina antara 5–15 buah (Cahyono, 2002).

Buah pisang tersusun dalam tandan. Tiap tandan terdiri atas beberapa sisir, dan tiap sisir terdiri dari 5–15 buah pisang atau tergantung pada varietasnya. Buah pisang pada umumnya tidak berbiji atau disebut 3x (triploid), kecuali pada pisang

batu (klutuk) bersifat diploid (2x). Proses pembuahan tanpa menghasilkan biji disebut partenokarpi (Rukmana,1999). Ukuran buah pisang bervariasi, panjangnya berkisar antara 10–18 cm dengan diameter sekitar 2,5–4,5 cm. Buah berlinggir 3–5 alur, bengkok dengan ujung meruncing atau membentuk leher botol. Daging buah (mesokarpa) tebal dan lunak. Kulit buah (epikarpa) yang masih muda berwarna hijau, namun setelah tua (matang) berubah menjadi kuning dan strukturnya tebal sampai tipis (Cahyono, 2002).

### 2.3 Eksplan

Jaringan tanaman yang digunakan sebagai bahan tanam dalam media botol kultur seringkali disebut dengan eksplan. Eksplan dapat diambil dari bagian pucuk, biji, bunga, daun, meristematik, dan lainnya, sehingga mempermudah dalam melakukan perbanyakan dengan teknik kultur jaringan (Utami *et al.*, 2007). Eksplan dapat diperoleh dari jaringan yang masih muda karena jaringan tersebut tersusun atas sel-sel yang selalu membelah. (Perera *et al.*, 2007). Ukuran eksplan juga sangat berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan. Eksplan yang terlalu besar juga biasanya lebih rentan terhadap kontaminasi, sedangkan yang terlalu kecil juga kurang efektif. Sehingga pertumbuhan dan perkembangannya menjadi lambat (Rianawati *et al.*, 2009).

### 2.4 Media Kultur *In Vitro*

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan ZPT. Selain itu, diperlukan juga bahan tambahan seperti agar, gula, dan asam amino. ZPT yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenis maupun jumlahnya, tergantung dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Media yang sudah jadi ditempatkan pada tabung reaksi atau botol-botol kaca. Media yang digunakan juga harus disterilkan dengan autoklaf (Wetherell 2008).

Larutan stok merupakan larutan yang berisi satu atau lebih komponen media yang konsentrasinya lebih tinggi daripada konsentrasi komponen tersebut dalam formulasi media yang akan dibuat. Larutan stok biasanya dibuat dengan

konsentrasi 10, 100 atau 1000 kali lebih pekat. Jika larutan stok akan digunakan untuk pembuatan media maka sejumlah larutan stok diambil hingga konsentrasinya menjadi sesuai dengan yang terdapat pada formulasi media yang dikehendaki (Yusnita, 2003).

Pembuatan media dikelompokkan berdasarkan jenis bahan kimia yang digunakan, sehingga jika bahan kimia tersebut dicampur tidak terjadi interaksi yang menghasilkan senyawa baru. Biasanya pengelompokan dilakukan berdasarkan stok hara makro, stok hara mikro, myoinositol, vitamin dan stok hormon, Stok hara baik mikro maupun makro dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama yaitu 4–8 minggu, sedangkan stok ZPT biasanya disimpan dalam jangka waktu 2–4 minggu (Marlin *et al.*, 2007).

Dalam pembuatan media, langkah pertama adalah membuat stok dari media. Pembuatan larutan stok ditujukan untuk memberi kemudahan dalam pembuatan media selanjutnya, menghemat pekerjaan menimbang bahan yang berulang-ulang setiap kali membuat media, mengatasi kesulitan penimbangan dalam jumlah yang sangat kecil, mengurangi kerusakan bahan kimia akibat sering dibuka dan ditutup (Marlin *et al.*, 2007). Larutan stok di simpan dalam Enlenmeyer atau botol penyimpanan yang ditutup rapat dengan tutupnya atau menggunakan aluminium foil. Tempat penyimpanan disesuaikan dengan sifat bahan, yaitu di rak dengan suhu ruang atau di dalam lemari es dengan tujuan agar larutan terjaga sehingga tidak rusak bahan-bahan kimia yang terkandung didalamnya. Beberapa larutan stok tersebut adalah (1) Stok Hara Makro, (2) Stok Hara Mikro, (3) Stok Fe-EDTA, (4) Stok Vitamin, (5) ZPT.

### 2.5 Stok Zat Pengatur Tumbuh

ZPT mempunyai peran yang sangat penting dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam kultur. Pertumbuhan dan morfogenesis dalam budidaya jaringan diatur oleh interaksi dan keseimbangan antara pemberian ZPT pada media dengan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan (Hadioetomo, 2007). Proses penginduksian tunas biasanya dilakukan secara hormonal dengan menggunakan kombinasi perlakuan ZPT dari golongan sitokinin.

### 2.5.1 Sitokinin

Sitokinin merupakan kelompok ZPT yang berperan dalam pembelahan sel dan morfogenesis (Smith, 1992). Sitokinin juga mempengaruhi sejumlah proses perkembangan termasuk diferensiasi tunas dalam kultur jaringan. Peran utama sitokinin dalam media kultur di antaranya adalah menstimulasi dan meningkatkan pembelahan sel, memecah dormansi dan poliferasi tunas lateral, dan menginduksi morfogenesis dan pembentukan tunas adventif (Gaspar, 1996).

Sitokinin yang biasa digunakan dalam media kultur jaringan terbagi menjadi dua kelompok, yaitu sitokinin alami dan sitokinin sintetik. Kinetin dan zeatin merupakan jenis sitokinin yang termasuk ke dalam sitokinin alami. Yang termasuk sitokinin sintetik antara lain BAP atau BA (*Benzyl amino purine/Benzyl adenine*), 2-iP (*N<sup>6</sup>-2-isopentenyl adenine*), *Thidiazuron* (Lestari, 2008).

Penambahan sitokinin mempengaruhi beberapa peristiwa yang berkaitan dengan mitosis dan sitokinesis. Konsentrasi yang dibutuhkan dari setiap ZPT tersebut sangat bervariasi tergantung dari jenis eksplan yang akan dikultur, kondisi kultur dan jenis ZPT yang digunakan (Gaspar, 1996). Sitokinin harus diberikan secara berimbang dan terkontrol di dalam medium. Sitokinin bekerja secara antagonis dengan auksin pada saat proses pembentukan akar dan tunas. Ketika rasio sitokinin diberikan secara tunggal respon kultur mengarah kepada pembentukan tunas.

### 2.5.2 Auksin

Istilah auksin pertama kali digunakan untuk menyebut suatu senyawa yang mungkin dapat menyebabkan pembengkokan koleoptil ke arah cahaya (Salisbury *et al.*, 1992) *Indolacetic Acid* (IAA) adalah auksin endogen atau auksin yang terdapat padatanaman (Wattimena, 1988). Adapun ZPT yang digolongkan sebagai auksin sintesis, yaitu  *$\alpha$ -naftalenaasetat acid* (NAA), *2,4-dichlorophenox acetic acid* (2,4-D), *2-methyl-4-chlorophenoxy acetic acid* (MCPA), asam 2-naftalosisasetat (NoA), asam 4-klorofenoksi asetat (4-CPA), asam p-klorofenoksi asetat (PCPA), asam 2,4,5-triklorofenoksi asetat (2,4,5-T),

3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid (dikamba), asam 4-amino-3,5,6-trikloropikolinik (Santoso *et al.*, 2004).

## 2.6 Sumber Karbon

Beberapa sumber karbon yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah sukrosa, maltosa, laktosa, karbon organik dan gula alkohol seperti manitol dan sorbitol. Dalam penelitian ini sumber karbon yang digunakan adalah jenis sukrosa. Menurut Da Silva (2004), sukrosa merupakan salah satu jenis gula yang siap digunakan untuk metabolisme selain glukosa dan fruktosa. Jenis gula demikian akan lebih mudah diuraikan dalam sel tanaman sehingga sangat mendukung pertumbuhan kultur. Adanya sukrosa dalam media tumbuh berperan sebagai sumber energi yang langsung dapat diserap oleh tunas untuk proses pertumbuhan dan perkembangan, pembentukan metabolit, pembentukan polimer dan regulator siklus sel dan pembelahan sel (Ruan, 2012). Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet karena sukrosa merupakan sumber energi dan karbon (Javed *et al.*, 2008), dan regulator siklus sel yang berpengaruh terhadap pembelahan sel (Ruan, 2012). Hal ini disebabkan sukrosa merupakan sumber karbon dan energi yang paling baik dan dapat dimanfaatkan semua tanaman (Javed *et al.*, 2008). Sukrosa adalah sumber karbon yang paling baik lalu glukosa, maltosa dan rafinosa. Fruktosa dan galaktosa kurang efektif, sedangkan laktosa dan manosa adalah karbohidrat yang paling tidak efektif (Laisina, 2009).

Di dalam kultur jaringan, biakan sedikit berfotosintesis sehingga bahan fotosintesis diberikan berupa sukrosa. Sebagian besar kultur tanaman tidak dapat berfotosintesis secara efektif karena ketidakmampuan dalam pengembangan sel dan jaringan, kekurangan klorofil, pertukaran CO<sub>2</sub> yang terbatas dalam jaringan dan cahaya yang lebih rendah dibandingkan dengan keadaan optimum (Laisina, 2009), sehingga dalam media perlu ditambahkan gula sebagai penghasil energi. Gula bukan saja sebagai penghasil energi tetapi juga untuk pembentukan metabolit sekunder dan penghasil tekanan osmotik media yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kontribusi nutrisi garam berkisar antara 20–50 % untuk potensi osmotikum media dan sukrosa memberi kontribusi

sisanya. Kontribusi sukrosa untuk meningkatkan tekanan osmotik yaitu sukrosa dihidrolisis ke dalam glukosa dan fruktosa selama outoklaf (Laisina, 2009). Sukrosa dalam media dihidrolisis menjadi monosakarida selama masa kultur, hidrolisa terjadi karena aktivitas enzim *invertase* yang terdapat dalam dinding sel dan paling efektif pada pH rendah. Hidrolisis sukrosa ini menyebabkan penyerapan air ke dalam sel lebih banyak sehingga tekanan turgor meningkat, yang selanjutnya menyebabkan pembesaran dan pemanjangan sel (Suskendriyati *et al.*, 2004)



### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Mei 2016. Penelitian ini bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Cimanggu, Bogor.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pisang liar *Musa acuminata* aksesori SPN-21 yang diperoleh dari Kebun Koleksi milik Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu), Solok. Bahan kimia yang digunakan adalah media MS (Murashige dan Skoog 1962), BA, PVP, sukrosa, alkohol, NaOCl serta akuades steril. Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi oven, *hot plate*, *stirrer*, otoklaf, pH meter, *shaker*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), mikroskop, alat tanam seperti, pinset, *scalpel*, gunting, bunsen, dan botol tanam.

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Setiap perlakuan diulang 5 kali dan satu ulangan terdiri dari 6 embrio, sehingga total embrio dalam penelitian ini yaitu 360 embrio. Daftar perlakuan adalah sebagai berikut :

- M1 = Media MS + Sukrosa 3% + PVP 100 mg/l
- M2 = Media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l
- M3 = Media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l
- M4 = Media MS + Sukrosa 3%
- M5 = Media MS + Sukrosa 4% + PVP 100 mg/l
- M6 = Media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l
- M7 = Media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l
- M8 = Media MS + Sukrosa 4%
- M9 = Media MS + Sukrosa 5% + PVP 100 mg/l
- M10 = Media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l
- M11 = Media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l
- M12 = Media MS + Sukrosa 5%

Inkubasi dilakukan di ruang gelap dengan suhu 25<sup>0</sup>C. Peubah yang diamati adalah persentase daya hidup, daya tumbuh, jumlah tunas, akar, daun dan tinggi eksplan.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Persiapan Alat

Alat yang digunakan selama proses penelitian dalam keadaan steril untuk meminimalkan kontaminasi. Alat-alat dicuci dengan deterjen dan dibilas air mengalir sampai bersih. Alat tanam seperti pinset, *scalpel*, gunting, dan cawan Petri dan botol kultur disterilisasi dalam oven dengan suhu 150<sup>0</sup>C.

#### 2. Persiapan Media Perlakuan

Media dasar menggunakan media MS dengan penambahan sukrosa, BA, dan PVP sesuai perlakuan. Derajat keasamaan media disesuaikan menjadi 5.7 sebelum diotoklaf. Selanjutnya, media disterilisasi dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 17.5psi selama 20 menit. Media yang telah diotoklaf, kemudian disimpan selama 3–4 hari untuk memastikan media bebas dari mikroorganisme.

#### 3. Sterilisasi Bahan Tanam

Buah pisang yang sudah dimasukkan dalam gelas piala didesinfeksi menggunakan desinfektan fungisida Benomyl selama 1 jam dan diletakkan di atas *shaker* dengan kecepatan 75rpm. Setelah itu, buah direndam dengan bakterisida *Streptomisin sulfat* selama 30 menit. Selanjutnya, buah pisang dimasukkan kedalam LAF dan direndam menggunakan alkohol 96% selama 10 menit, kemudian dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali bilasan, masing-masing selama 5 menit sambil digojok. Kulit buah pisang dikupas dan biji-biji di bersihkan dari daging buahnya. Biji-biji yang mengandung embrio diisolasi di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 50–250 kali. Isolasi harus dilakukan secara hati-hati agar embrio tidak rusak dan kehilangan bagian-bagian penyusunnya (radikula dan plumula). Embrio ditanam pada media perlakuan.

#### 4. Inkubasi

Kultur embrio di inkubasi pada ruang gelap selama 4 minggu, kemudian di pindahkan ke ruang terang dengan foto periodisitas 16 jam/hari, intensitas cahaya 1000 lux dan suhu 25°C.

#### 3.5 Pengamatan

Karakter yang diamati pada kultur embrio adalah :

1. Persentase Daya Hidup (%)  
Persentase tidak terkontaminasi dihitung dari jumlah eksplan yang tidak terkontaminasi oleh cendawan atau bakteri dibagi dengan jumlah seluruh eksplan yang ditanam dan dikali 100%. Pengamatan ini dilakukan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST (Hari Setelah Tanam).
2. Persentase tumbuh eksplan (%)  
Persentase tumbuh eksplan didapat dari jumlah eksplan yang menghasilkan tunas atau tumbuh akar dibagi jumlah seluruh eksplan yang ditanam dari masing-masing perlakuan dan dikali 100%. Pengamatan ini dilakukan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.
3. Jumlah tunas per eksplan  
Jumlah tunas yang tumbuh dari setiap eksplan yang ditanam. Pengamatan ini dilakukan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.
4. Jumlah daun per eksplan  
Jumlah daun yang terdapat pada setiap eksplan yang ditanam. Pengamatan ini dilakukan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.
5. Tinggi tunas (cm)  
Tinggi tunas dihitung dari pangkal tumbuh hingga ujung tunas. Pengukuran dilakukan dari luar botol kultur dengan cara menempelkan penggaris di dinding botol kultur dan posisi botol kultur harus sejajar dengan mata. Pengamatan ini dilakukan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

## 6. Skor jumlah pertumbuhan akar

Skor	Keterangan
0	Eksplan yang tidak tumbuh akar
1	Eksplan yang memiliki jumlah akar kurang dari 5 helai
2	Eksplan yang memiliki jumlah akar 5–10 helai
3	Eksplan yang memiliki jumlah akar lebih dari 10-15 helai
4	Eksplan yang memiliki jumlah akar lebih dari 15 helai

### 3.6 Analisa Data

Hasil data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan uji analisis ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 5%. Apabila hasil pengujian menunjukkan pengaruh nyata maka selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 HASIL

#### 4.1.1 Keadaan Umum

Bahan tanam yang didapat dari lapang harus melalui proses sterilisasi sebelum masuk penelitian. Sterilisasi dan isolasi tidak mudah karena ukuran embrio pisang liar SPN21 yang sangat kecil, sehingga bagian embrio yang dekat dengan micropyle sangat mudah tersayat saat isolasi embrio, selain itu embrio pisang liar yang mempunyai warna putih sulit dibedakan dengan endosperm. Kendala ini dapat diatasi dengan embrio direndam dengan air steril untuk mengetahui embrio yang bagus dan rusak.

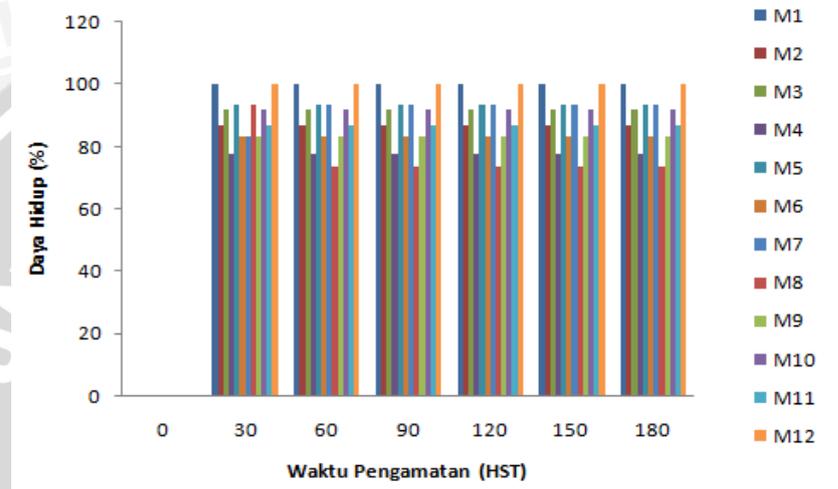
Sebagian besar embrio zigotik yang telah ditanam mengalami pembengkakan, setelah itu embrio berkecambah dan menghasilkan akar serta tunas (planlet). Pada percobaan ini terdapat tiga macam respon *in vitro* embrio yaitu, membengkak, berkecambah dan tidak membengkak (mati). Pembengkakan biasa terjadi pada awal perkecambahan (Bewley 1997). Respon *in vitro* yang ditunjukkan oleh embrio zigotik dalam perkecambahan adalah dengan berubahnya warna embrio dari yang putih susu menjadi putih kekuningan yang selanjutnya akan berubah menjadi hijau diikuti pembentukan tunas. Daya hidup embrio dapat dilihat dari warna embrio pada media, embrio yang dianggap hidup memiliki warna putih susu, putih kekuningan dan telah terbentuk tunas. Embrio yang dianggap mati akan berwarna coklat hingga hitam.

#### 4.1.2 Regenerasi Kultur Embrio

##### 4.1.2.1 Persentase Daya Hidup

Berdasarkan hasil analisis terhadap data yang dikumpulkan, ternyata perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata terhadap persentase daya hidup embrio pisang liar SPN21. Sementara, interaksi antara media MS dengan penambahan sukrosa, BA dan PVP tidak berpengaruh nyata terhadap daya hidup embrio pisang liar SPN21.

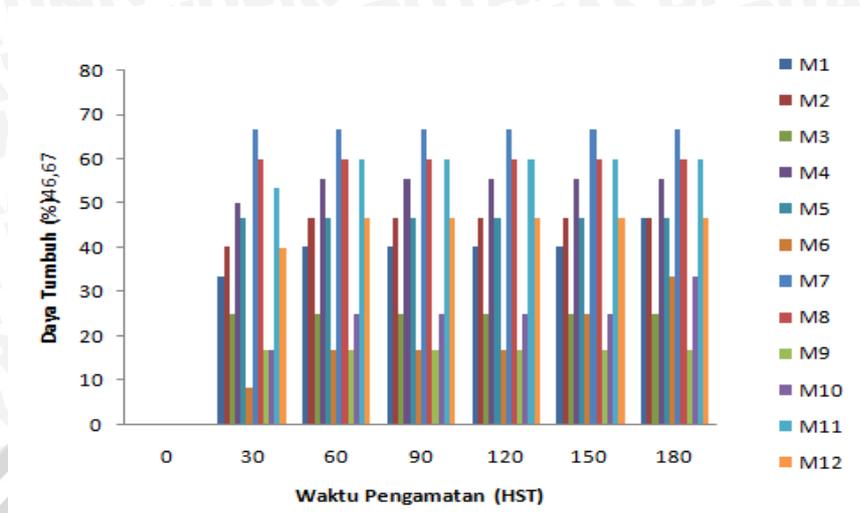
Persentase daya hidup embrio yang tertinggi pada pengamatan pertama hingga terakhir setelah tanam terjadi pada perlakuan M1 (Media MS + Sukrosa 3% + PVP 100 mg/l) dan M12 (Media MS + Sukrosa 5%) dengan persentase 100% dan persentase daya hidup terendah yaitu sebesar 76,33 % pada perlakuan M8 (Media MS + Sukrosa 4%).



**Gambar 1.** Daya hidup eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

#### 4.1.2.2 Persentase Daya Tumbuh

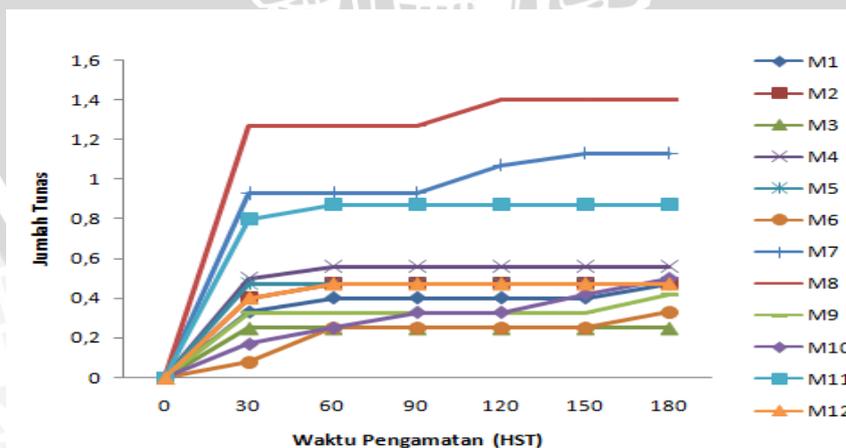
Hasil pengamatan persentase tumbuh kultur jaringan embrio pisang liar menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap perbedaan formulasi media kultur jaringan. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30 HST, dan perlakuan yang menunjukkan hasil daya tumbuh tertinggi terdapat pada perlakuan formulasi media M7 (Media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l), M8 (Media MS + Sukrosa 4%), M11 (Media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l). Pada umur pengamatan 60, 90, 120, 150 dan 180 HST formulasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tumbuh pisang SPN21.



**Gambar 2.** Daya tumbuh eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

#### 4.1.2.3 Jumlah Tunas

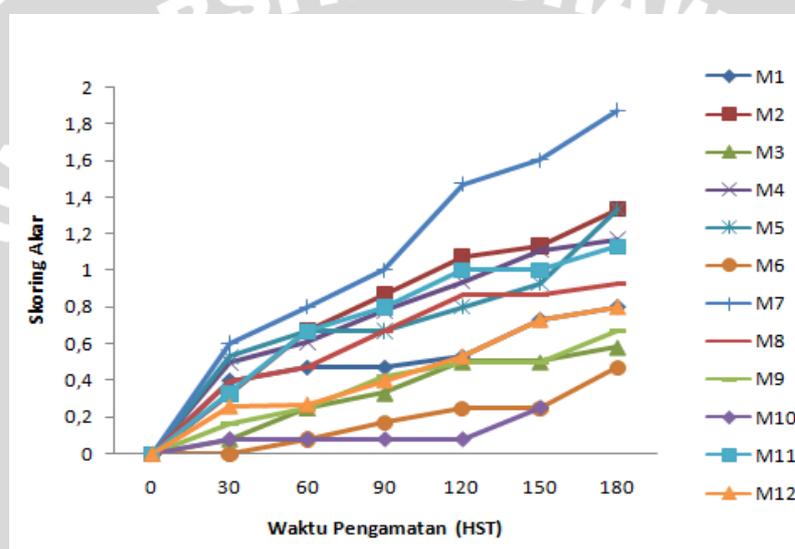
Pada pengamatan jumlah tunas menunjukkan bahwa formulasi media M2 (Media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l), M7 (Media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l), dan M11 (Media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l) menghasilkan rata-rata tertinggi dan terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah tunas pada hasil analisis umur 30 dan 60 HST, kemudian tidak berpengaruh nyata pada umur 90, 120, 150 dan 180 HST.



**Gambar 2.** Jumlah tunas eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

#### 4.1.2.4 Jumlah Akar

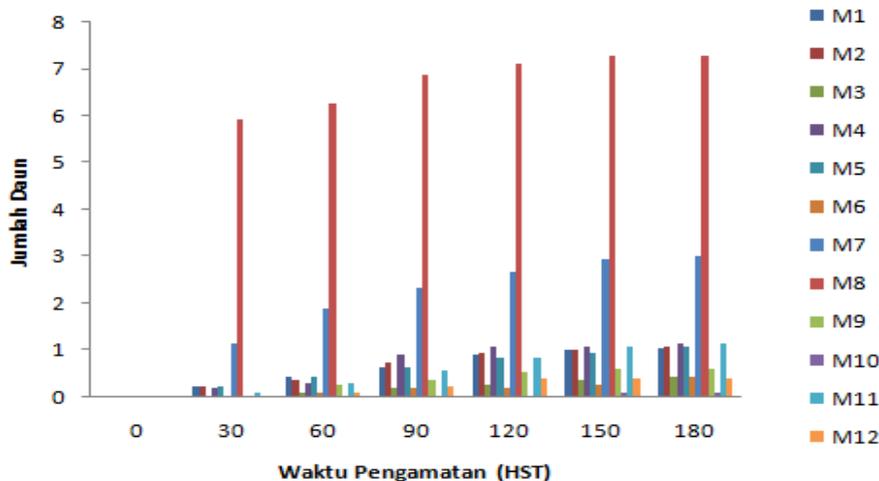
Hasil analisis terhadap data yang dikumpulkan, ternyata formulasi media menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata terhadap peubah rata-rata jumlah akar pada pemberian komposisi media kultur jaringan embrio pisang liar. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. Pada formulasi media M5 (Media MS + Sukrosa 4% + PVP 100 mg/l), M2 (Media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l) dan M4 (Media MS + Sukrosa 3%) menghasilkan jumlah akar yang banyak.



Gambar 3. Jumlah akar eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

#### 4.1.2.5 Jumlah Daun

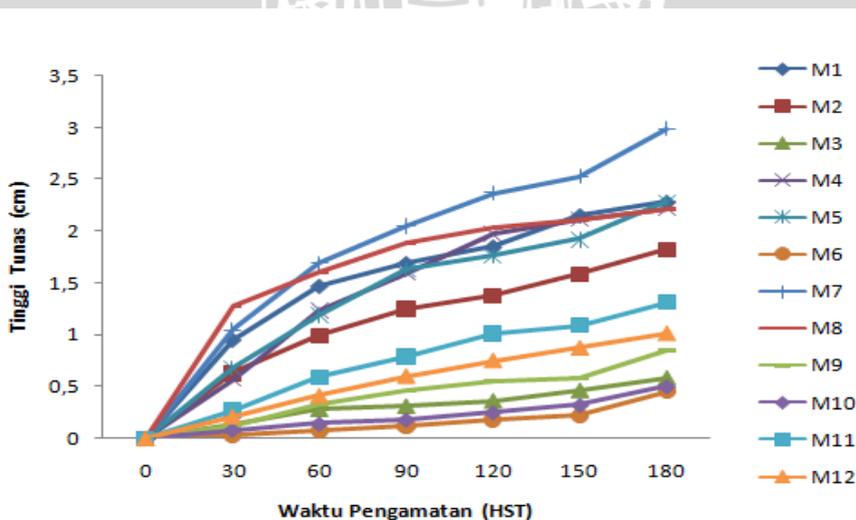
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan M8 (Media MS + Sukrosa 4%) berpengaruh nyata pada semua umur pengamatan yaitu 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 HST terhadap jumlah daun yang terbentuk dan juga semua perlakuan media. Formulasi media yang paling efektif untuk meningkatkan jumlah daun yaitu M7 (Media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l) dan M8 (Media MS + Sukrosa 4%).



Gambar 4. Jumlah daun eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

#### 4.1.2.6 Tinggi Tunas

Hasil pengamatan menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata terhadap peubah jumlah tinggi tunas pada pemberian komposisi media kultur jaringan embrio pisang liar. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. Akan tetapi formulasi media M4 (Media MS + Sukrosa 3%), M8 (Media MS + Sukrosa 4%) dan M11 (Media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l) efektif digunakan untuk meningkatkan tinggi tunas eksplan.



Gambar 5. Tinggi tunas eksplan pisang liar SPN21 pada 12 formulasi media pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.2 Persentase Daya Hidup

Hasil pengamatan karakter persentase daya hidup kultur jaringan embrio pisang liar secara statistika tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap perbedaan formulasi media kultur jaringan. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30, 60, 90, 120, 150 dan 180. Hal ini diduga karena embrio pisang SPN21 tidak menghendaki formulasi media yang kompleks. Embrio dapat berkecambah walaupun hanya pada media MS tanpa ZPT BA dan antioksidan serta PVP. Hal ini mengindikasikan bahwa pencoklatan tidak menjadi kendala pada kultur embrio SPN21 karena embrio dapat tumbuh tanpa pemberian PVP. Menurut Mante *et al.* (1983) Faktor yang mempengaruhi keberhasilan dari kultur jaringan dalam persentase daya hidup dan persentase daya tumbuh tunas eksplan yaitu faktor eksplan, media dan lingkungan. Daya hidup embrio dapat dilihat dari warna embrio pada media, embrio yang dianggap hidup memiliki warna putih susu, putih kekuningan dan telah terbentuk tunas. Embrio yang dianggap mati akan berwarna coklat hingga hitam. Menurut Uma *et al.* (2010) melaporkan bahwa umur dari kematangan embrio berpengaruh pada pertumbuhan atau perkecambahan embrio. Selain itu, kemungkinan yang menyebabkan persentase hidup tidak berbeda nyata juga disebabkan oleh tidak adanya kombinasi ZPT auksin dengan sitokinin. Karena persentase hidup dari kultur jaringan juga ditentukan oleh adanya ZPT auksin. Menurut Nisa dan Rodinah (2005) kombinasi NAA dan kinetin akan menyebabkan tidak terbentuknya tunas sampai persentase hidup terganggu. Formulasi media terbaik untuk pembentukan planlet adalah MS dengan penambahan NAA dan kinetin dengan perbandingan 3:3 (Nugroho *et al.*, 1996).

### 4.2.2 Daya Tumbuh

Perkecambahan biji diawali dengan adanya imbibisi air ke dalam biji, kemudian dilanjutkan ekspansi biji dengan ditandai membengkaknya biji. Setelah terjadinya pembengkakan yang merupakan puncak dari fase perkecambahan maka akan terbentuk radikula yang menandakan proses perkecambahan selesai dan

dilanjutkan proses regenerasi tunas Kucera *et al.* (2005). Menurut Santoso dan Nursandi (2004) pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor eksternal dan faktor internal. Faktor eksternal yaitu lingkungan tumbuh sedangkan faktor internal yaitu kondisi hormonal sehingga keberhasilan kegiatan kultur jaringan sebagai pengembangan budidaya biasa selain sangat ditentukan oleh media yang digunakan, eksplan, lingkungan lainnya juga sangat bergantung pada ZPT yang diberikan. Menurut Marlin (2005) bahwa kebutuhan nutrisi dan zat pengatur tumbuh untuk memacu proses pertumbuhan pada kultur *in vitro* akan berbeda untuk setiap jenis tanaman dan eksplan yang digunakan. Hasil pengamatan peubah persentase tumbuh kultur jaringan embrio pisang liar secara statistika menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap perbedaan formulasi media kultur jaringan. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30 HST, dan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan formulasi media MS + Sukrosa 3% + PVP 100 mg/l (M1), media MS+Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M2), media MS + Sukrosa 3% (M4), media MS + Sukrosa 4% + PVP 100 mg/l (M5), media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l (M7), media MS + Sukrosa 4% mg/l (M8), media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l (M11) dan media MS + Sukrosa 5% (M12). Pada umur pengamatan 60, 90, 120, 150 dan 180 HST formulasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tumbuh pisang SPN21. Pada hasil penelitian Miftakhurohmah *et al.* (2006) menunjukkan bahwa media MS sebagai kontrol tanpa penambahan BA menunjukkan hasil pertumbuhan yang paling optimal dibandingkan dengan media MS ditambahkan dengan BA 0,2 mg/l, 0, 4 mg/l, 0,6 mg/l, dan 0,8 mg/l. Pada perlakuan media MS+Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M2) dan media MS + Sukrosa 3% (M4) hasil pengamatan menunjukkan hasil formulasi bagus dengan adanya penambahan BA karena dalam media tersebut ditambahkan juga PVP 100mg/l. PVP merupakan salah satu bentuk senyawa antioksidan Newton *et al.* (2004) yang dilaporkan berfungsi sebagai zat antioksidan untuk mengurangi dan menghambat pencoklatan melalui penurunan akumulasi peroksidasi. Penambahan PVP dan 1,4-dithiothreitol (DTT) terbukti meningkatkan pembentukan kalus, diferensiasi dan pertumbuhan tunas, serta pertumbuhan akar

*Virginia pine* melalui penghambatan pencoklatan jaringan selama inisiasi kultur dan subkultur tunas selanjutnya (Hutami, 2008). Berdasarkan hasil penelitian Roostika (2008) menjelaskan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi sukrosa yang digunakan maka tingkat pertumbuhan biakan purwoceng semakin meningkat seperti meningkatnya jumlah daun dan jumlah tunas. Pertumbuhan eksplan dalam kultur *in vitro* diatur oleh interaksi dan keseimbangan ZPT pada media dan hormon endogen yang terdapat dalam eksplan. Gunawan (2000) mengungkapkan penambahan ZPT eksogen akan mengubah level hormon endogen sel.

#### 4.2.3 Jumlah Tunas

ZPT yang digunakan untuk menumbuhkan tunas adalah dari golongan sitokinin. Sitokinin adalah hormon tumbuhan turunan adenin berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, disintesis pada ujung akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xilem. Sitokinin yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan, yaitu kinetin, BA atau BA dan zeatin (Zulkarnain, 2009). Menurut Wattimena (1988) hormon berfungsi sebagai penggerak/pemicu reaksi-reaksi biokimia dan perubahan komposisi kimia di dalam tanaman yang mengakibatkan terbentuknya organ-organ tanaman, seperti akar, tunas, batang, daun, bunga, dan lain sebagainya. Sitokinin sangat aktif dalam merangsang pembelahan dan perbesaran sel tanaman (Gardner *et al.*, 1985; Salisbury dan Ross (1995)). Efektivitas ZPT auksin maupun sitokinin eksogen bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman (Bhaskaran *et al.*, 1990) Pada pengamatan jumlah tunas menunjukkan bahwa formulasi media media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l (M7), media MS + Sukrosa 4% Media mg/l (M8), media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l (M11) memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah tunas pada 30 dan 60 HST, kemudian tidak berpengaruh nyata pada umur 90, 120, 150 dan 180 HST. BA merupakan sitokinin yang banyak digunakan untuk induksi dan multiplikasi tunas adventif pada banyak tanaman (Gunawan, 1987). Media MS dengan penambahan Sukrosa 4% merupakan media optimum bagi pertumbuhan kultur embrio pisang liar, namun dengan seiring ditambahnya BA 0,5 mg/l akan meningkatkan jumlah

tunas. Laju peningkatan jumlah tunas cincau hitam yang dikulturkan di dalam media MS yang diperkaya dengan BA pada konsentrasi rendah lebih baik dibandingkan dengan BA pada konsentrasi tinggi.

#### 4.2.4 Jumlah Akar

Jumlah akar yang banyak dapat mengoptimalkan penyerapan nutrisi yang ada pada media kultur. Akar yang banyak dapat menopang pertumbuhan tunas dan daun yang bagus. Hasil pengamatan secara statistika menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata terhadap jumlah akar dari formulasi media kultur embrio pisang SPN21. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan yaitu 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. Hasil penelitian Fitriani (2008) menunjukkan bahwa hanya ada dua kombinasi perlakuan yang mampu memunculkan akar pada eksplan anggrek. Perlakuan NAA tunggal tanpa BAP mampu menstimulir terbentuknya akar. Badriah *et al.* (1998) menyatakan bahwa pemberian NAA dalam konsentrasi yang relatif tinggi dapat meningkatkan jumlah akar. Penambahan sitokinin pada berbagai konsentrasi tidak mampu memunculkan akar. Hal ini membuktikan bahwa pemberian BAP pada media kultur lebih banyak digunakan untuk multiplikasi tunas daripada pembentukan akar. Hasil penelitian Marlin (2005) pada eksplan jahe, penambahan BAP dalam konsentrasi yang lebih tinggi pada media menyebabkan eksplan lebih terfokus pada multiplikasi tunas sehingga menyebabkan terhambatnya eksplan untuk membentuk akar. Pada eksplan *A. annua* asal Irian Jaya, penambahan NAA akan diperoleh jumlah akar yang relatif tinggi (Sugiarso, 1996). NAA merupakan ZPT dari kelompok auksin selain IBA dan IAA, yang dapat memacu pertumbuhan akar.

#### 4.2.5 Jumlah Daun

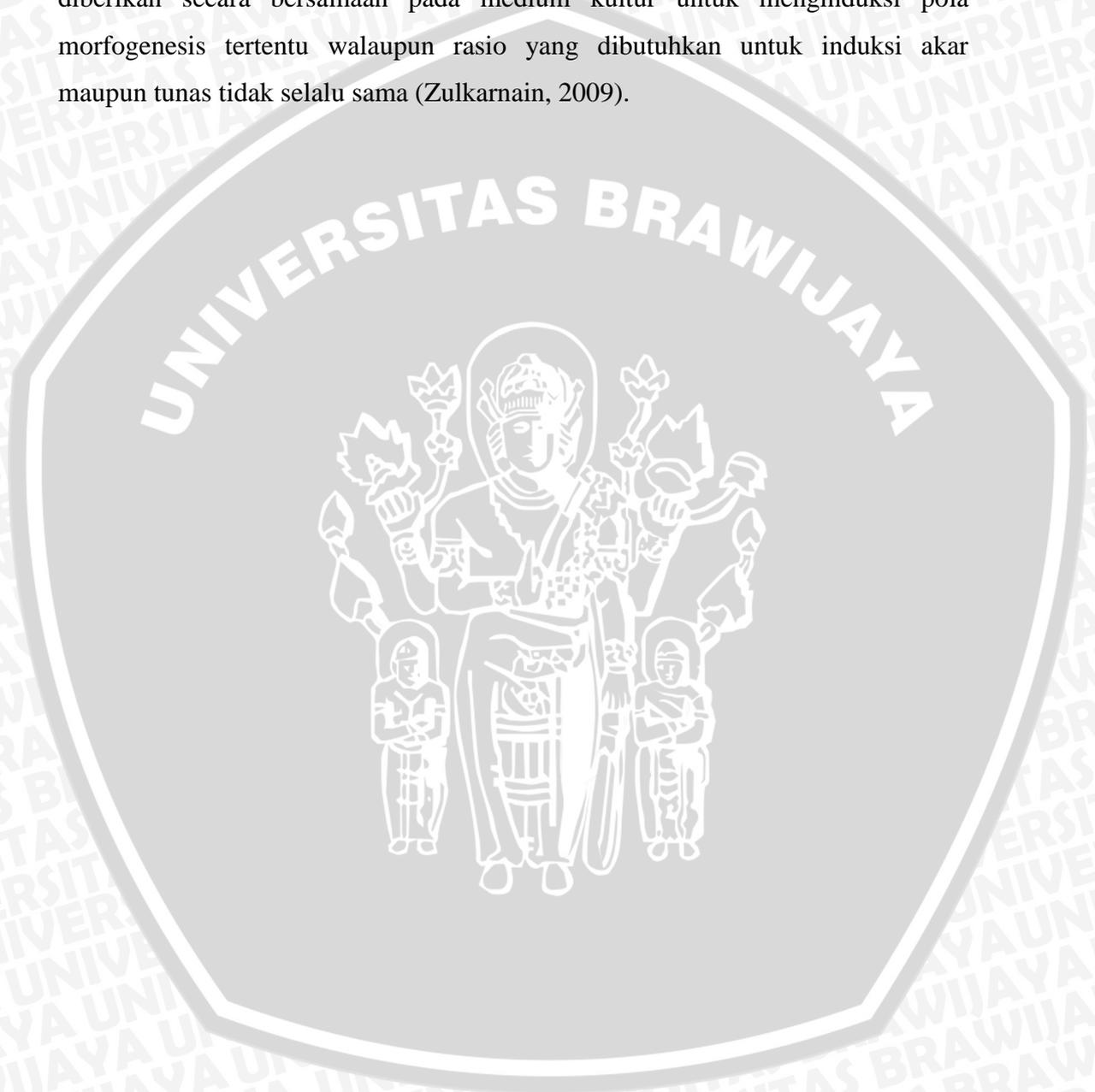
Jumlah daun per eksplan merupakan jumlah keseluruhan daun yang terdapat pada tunas-tunas suatu eksplan. Perlakuan BA memberikan pengaruh pada eksplan untuk mendorong pertumbuhan jumlah daun total. Pengaruh perlakuan tersebut mempunyai kesesuaian dengan pengaruhnya pada banyaknya jumlah tunas yang terbentuk, karena daun pada eksplan terbentuk setelah terbentuknya tunas. Apabila jumlah tunas yang terbentuk banyak, maka jumlah daun yang

terbentuknya juga akan banyak. Banyaknya jumlah daun ini menunjukkan banyaknya tunas yang terbentuk. Semakin banyak jumlah tunas maka semakin banyak juga jumlah daun eksplan. Secara statistik hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan M8 berpengaruh nyata pada semua umur pengamatan yaitu 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 HST terhadap jumlah daun yang terbentuk dan juga semua perlakuan media MS + Sukrosa 3% + PVP 100 mg/l (M1), media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M2), media MS + Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l (M3), media MS + Sukrosa 3% (M4), media MS + Sukrosa 4% + PVP 100 mg/l (M5), media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M6), media MS + Sukrosa 4% + BA 0.5 mg/l (M7), media MS + Sukrosa 5% + PVP 100 mg/l (M9), media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M10), media MS + Sukrosa 5% + BA 0.5 mg/l (M11), media MS + Sukrosa 5% (M12). Taraf sukrosa berpengaruh nyata terhadap jumlah total daun dan perlakuan sukrosa 5% mempunyai pertumbuhan yang lebih pesat melalui proliferasi tunas adventif, walaupun akhirnya banyak daun yang mengalami kelayuan. Kelayuan tersebut diduga sebagai akibat dari terbatasnya suplai nutrisi karena terjadinya kompetisi dalam penyerapan hara oleh tunas-tunas yang bermunculan (Roostika, 2008).

#### 4.2.6 Tinggi tunas

Pada penelitian Sukowardana *et al.*, (2015) dijelaskan bahwa formulasi media yang ditambahkan BA tidak berpengaruh pada tinggi tunas. Analisis data terhadap tinggi tunas pada pengamatan embrio diperoleh hasil tidak ada pengaruh nyata pada semua umur pengamatan yaitu 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 HST. Hal ini diduga bahwa tinggi tunas dipengaruhi oleh adanya hormon sitokinin. Sitokinin adalah ZPT turunan adenin berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, disintesis pada ujung akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xilem. Sitokinin yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan, yaitu kinetin, benziladenin (BA atau BAP), dan zeatin (Zulkarnain, 2009). Ternyata dengan pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D pada taraf konsentrasi 2,5mg/L dengan 5 mg/L kinetin mampu memacu kecepatan pembentukan tunas

sehingga kombinasi perlakuan kedua ZPT ini ikut juga mempengaruhi rata-rata tinggi organ tunas terbaik yang terbentuk. Hal ini tidak terlepas dari interaksi yang sinergis antara ZPT auksin dan sitokinin. Kadangkala auksin dan sitokinin diberikan secara bersamaan pada medium kultur untuk menginduksi pola morfogenesis tertentu walaupun rasio yang dibutuhkan untuk induksi akar maupun tunas tidak selalu sama (Zulkarnain, 2009).



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Formulasi media dengan penambahan sukrosa, BA dan PVP tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya hidup, rata-rata jumlah akar dan tinggi tunas. Pada persentase daya hidup embrio pisang SPN21 tidak menghendaki formulasi media yang kompleks.
2. Formulasi media dengan penambahan sukrosa, BA dan PVP memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tumbuh, rata-rata jumlah tunas dan rata-rata jumlah daun.
3. Penggunaan media MS dengan penambahan sukrosa 4% merupakan formulasi media yang terbaik untuk meregenerasikan embrio dan memultiplikasikan tunas serta membentuk plantlet.

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian disarankan bahwa perlu dilakukannya penelitian mengenai penambahan kombinasi ZPT auksin dan peningkatan konsentrasi ZPT sitokinin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, F. 2003. *Tips : Pisang Membuat Otak Seagar*. <http://www.depkes.go.id>.
- Badriah, D., N. T. Mathius, T. Sutater, 1998. *Tanggap Dua Kultivar Gladiol Terhadap Zat Pengatur Tumbuh pada Perbanyakan In vitro*. J. Hort. 8(2): 1048-1059.
- Bhaskaran, S., and R. H. Smith. 1990. *Regeneration in cereal tissue culture. A Review. Crop Sciencie*. 30:1328-1336.
- Cahyono. 2002. *Pisang Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. Kanisius. Yogyakarta. 78:64.
- Crouch H.K., Crouch J.H., Madsen S, Vuylsteke DR, Ortiz R. 2000. *Comparative analysis of phenotypic and genotypic diversity among plantain landraces (Musa spp., AAB group)*. Theor Appl Genet 101:1056-1065.
- Da Silva, J.A.T. 2004. *The effect of carbon source on in vitro organogenesis Chrysanthemum thin cell layers*. Bragantia, Campinas 63(2):165-177.
- Endang G. L. 2011. *Peranan Zat Pengatur Tumbuh .dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan*. Jurnal Biogen 7 (1):63-68.
- Fitriani, H. 2008. “*Kajian Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Multiplikasi Tanaman Artemisia Annuua L. Secara In Vitro*” Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Gardner, F. F., Brent P., and Roger L. M. 1985. *Physiology of Crop Plants*. UI Press. Jakarta. 426 p.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., and Thorpe, T. A., 1996. *Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture*. In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant, Vol. 32, pp. 272–289.
- George, E. T., and P. O. Sherington. 1984. *Plant Popagation by Tissue Culture Handbook And Directory Comercil Collaboration*. Exogetis Ltd, England.
- Gunawan, L.W., 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU-IPB. hal. 278.
- Hadioetomo. 2007. *Mikroba Dasar Dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar laboratorium*. Jakarta: Gramedia.

- Hutami, S. 2008. *Ulasan masalah pencoklatan pada kultur jaringan*. Jurnal AgroBiogen, 4(2):83-88.
- Ika R., Ragapadmi P., dan Arief V. Noviati. 2008. *Pengaruh Sumber Karbon dan Kondisi Inkubasi terhadap Pertumbuhan Kultur In Vitro Purwoceng (Pimpinella pruatjan Molk.)*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Javed, F., and S. Ikram. 2008. *Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes*. Pak. J. Bot. 40:1487-1495.
- Kucera, B., M.A. Cohn., and G.H. Metzger. 2005. *Plant Hormone Interactions During Seed Dormancy Release and Germination*. Seed Science Research 15: 281-307.
- Laisna J.K.J. 2009. *Pelestarian secara In vitro melalui pertumbuhan minimal pada beberapa genotipe Ubi Jalar (Ipomea batatas (L) Lam)*. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lestari E.G. 2011. *Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan*. Jurnal Agrobiogen. 7(1): 63-68.
- Lestari, E.G. 2008. *Kultur Jaringan*. AkaDemia. 60 hlm.
- Lestari, E.G., I. Mariska., S. Harran., dan R. Megia. 2001. *Penyimpanan in vitro tunas nilam dengan cara menghambat pertumbuhan*. Bul. Plasma Nutfah 7(2):31-37.
- Mante, S., and H.B.Tepper. 1983. *Propagation of Musa textille Nee Plants from Apical Slice in vitro*. Plant Tissue Culture 2: 151-159.
- Marlin. 2005. *Regenerasi In Vitro Plantlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada Beberapa Taraf Konsentrasi BAP dan NAA*. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia. 7: 9.
- Marlin., Mukhtasar., dan Hartal. 2007. *Upaya penyediaan bibit pisang Ambon 'Curup' Unggulan Pro vinsi Bengkulu dengan pembentukan planlet in vitro*. Laporan Penelitian pada Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.

- Mattjik, N.A. 2005. *Peranan Kultur Jaringan dalam Perbaikan Tanaman*. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Miftakhurohmah, dan Syahid S.F. 2006. *Pengaruh Beberapa Taraf Konsentrasi BA Terhadap Multiplikasi Tunas Cincau Hitam (Mesona Palustris) In Vitro*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor.
- Newton, R.J., W. Tang., and L.C.V. Outhavong. 2004. *Exogenously added polyamines recover browning tissues into normal callus cultures and improve plant regeneration in pine*. *Physiol. Plant.* 122(3):386-395.
- Nisa, C., dan Rodinah. 2005. *Kultur Jaringan Beberapa Kultivar Buah Pisang (Musa Paradisiaca L.) Dengan Pemberian Campuran NAA dan Kinetin*. *Bioscientiae* 2 (2):24,31.
- Nugroho, A., dan Sugito, H. 1996. *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Perera, S. 2007. A Pacific Zone? (In)security, Sovereignty, and Stories of the Pacific Borderscape. In: *Borderscapes: Hidden Geographies and Politics at Territory's Edge*, 201–227. Eds. Prem Kumar Rajaram & Carl Grundy-Warr. Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht
- Prabawati, S., Suyanti., dan D. A. Setyabudi. 2008. *Teknologi Pascapanen dan Teknik Pengolahan Buah Pisang*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Rianawati. 2009. *Embriogenesis Somatik dan Eksplan Daun Anggrek Phalaenopsis sp L., Somatic Embryogenesis from Leaf Eksplant of Phalaenopsis Orchids*. *Jurnal Agronomi Indonesia*, Vol 3, No 37, hal 240-248.
- Ruan, Y. 2012. *Signaling role of sucrose metabolism in development*. *Mol. Plant* 5:763-765.
- Rukmana, R. 1999. *Kentang : Budidaya dan Pascapanen*. Kanisius, Yogyakarta.
- Salisbury, F. B., and C. W. Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan terj. dari Plant physiology*. D. R. Lukman dan Sumaryono (penerj.). ITB. 241 hal.

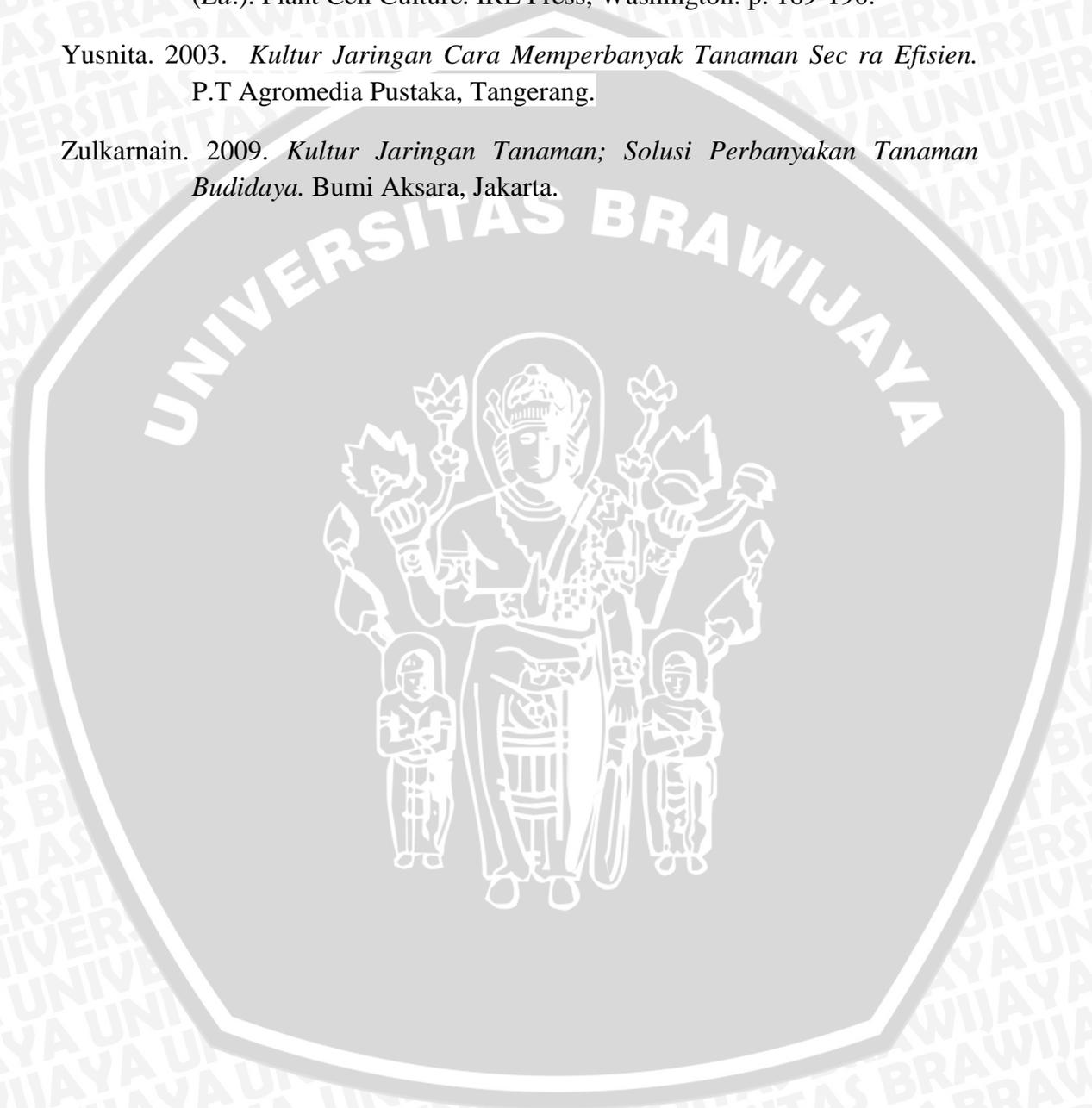
- Santoso, N. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: UMM Press.
- Santoso, U., dan F. Nursandi. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. Unibraw Press. Malang.
- Saptarini, N., Widayanti., Sari, L., Sarwono. 2001. *Membuat Tanaman Cepat Berbuah*. Edisi Revisi. Bogor. Penebar Swadaya.
- Smith, D.L. 1992. *The growth of shoot apices and inflorescences of Carex flacca Schreb. in aseptical culture*. Annals of Botany 32:361-370.
- Sukowardana, A., Kushendarto., dan Rugayah. 2015. *Pengaruh Jenis Bonggol dan Konsentrasi BA terhadap Pertumbuhan Vegetatif P pada Tanaman Pisang Kepok Manado*. Bandar Lampung : Universitas Lampung.
- Sunarjono, H. 2000. *Budidaya Pisang dengan Bibit Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Suskendriyati, H., Solichatun, dan A.D. Setyawan, 2004, *Growth and saponin production Talinum paniculatum gaertn callus cultures with a variety of carbon sources*. Biosmart 6: 19-23.
- Sutjiatmo, A.B., dan N.C. Sugiarto. 1996. *Studi perbanyakan vegetatif pada tanaman sambiloto*. Bul.Warta TOI : 35-37.
- Syahid, S.F., dan I. Mariska. 1997. *Pengaruh media dan zat pengaturtumbuh terhadap induksi dan regenerasi kalus jahe secara in vitro*. Jurnal Littri 111(4):145-150.
- Uma S., Lakshmi S., Saraswathi MS., Akbar A., and Mustaffa MM. 2010. *Embryo rescue and plant regeneration in banana (Musa spp.)*. PCTOC. 105(1):105–111.
- Utami, W. 2007. *Pengaruh  $\alpha$ -Naphthaleneacetic Acid (NAA) Terhadap Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan Phalaenopsis Amabilis (L.)* Bl. Biodiversitas 8(4) : 295-299. ISSN: 1412-033X.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor. 145 hal.
- Wattimena, G.A., dan N.A. Mattjik. 1988. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro Dalam Tim Laboratorium Kultur Jaringan* (Ed.). Bioteknologi Tanaman. PAU Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Wetherel, D.F. 2008. *Propagasi Tanaman Secara In Vitro*. Avery Publishing Group Inc. New Jersey.

Withers, L.A. 1985. *Cryopreservation and storage of germplasm*. In Dixon, D.A. (Ed.). *Plant Cell Culture*. IRL Press, Washington. p. 169-190.

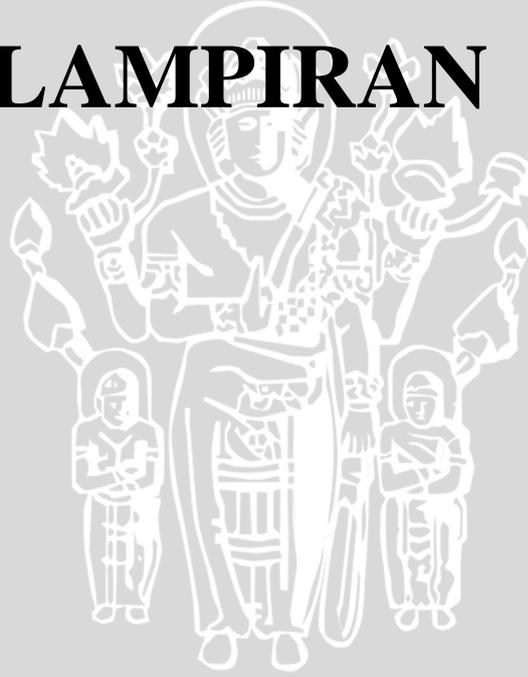
Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. P.T Agromedia Pustaka, Tangerang.

Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara, Jakarta.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

# LAMPIRAN



Lampiran

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (30 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (30HST)	Between Groups	16753.618	11	1523.056	2.391	.020
	Within Groups	28669.700	45	637.104		
	Total	45423.318	56			
Jumlah tunas (30 HST)	Between Groups	6.060	11	.551	3.508	.001
	Within Groups	7.067	45	.157		
	Total	13.127	56			
Akar (30 HST)	Between Groups	2.031	11	.185	1.713	.101
	Within Groups	4.850	45	.108		
	Total	6.881	56			
Daun (30 HST))	Between Groups	155.629	11	14.148	2.729	.009
	Within Groups	233.322	45	5.185		
	Total	388.951	56			
Tinggi tunas (30 HST))	Between Groups	9.089	11	.826	1.554	.146
	Within Groups	23.935	45	.532		
	Total	33.024	56			

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (60 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (60 HST)	Between Groups	14981.835	11	1361.985	1.680	.109
	Within Groups	36484.352	45	810.763		
	Total	51466.188	56			
Jumlah tunas (60 HST)	Between Groups	5.281	11	.480	2.672	.010
	Within Groups	8.087	45	.180		
	Total	13.368	56			
Akar (60 HST)	Between Groups	3.031	11	.276	1.685	.108
	Within Groups	7.359	45	.164		
	Total	10.390	56			
Daun (60 HST)	Between Groups	170.850	11	15.532	3.053	.004
	Within Groups	228.920	45	5.087		
	Total	399.770	56			
Tinggi tunas (60 HST)	Between Groups	17.818	11	1.620	1.431	.193
	Within Groups	50.942	45	1.132		
	Total	68.760	56			

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (90 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (90 HST)	Between Groups	14981.835	11	1361.985	1.680	.109
	Within Groups	36484.352	45	810.763		
	Total	51466.188	56			
Jumlah tunas (90 HST)	Between Groups	5.100	11	.464	2.536	.014
	Within Groups	8.226	45	.183		
	Total	13.326	56			
Akar (90 HST)	Between Groups	4.091	11	.372	1.366	.222
	Within Groups	12.248	45	.272		
	Total	16.339	56			
Daun (90 HST)	Between Groups	196.756	11	17.887	3.252	.002
	Within Groups	247.481	45	5.500		
	Total	444.238	56			
Tinggi tunas (90 HST)	Between Groups	25.448	11	2.313	1.529	.155
	Within Groups	68.078	45	1.513		
	Total	93.527	56			



ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (120 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (120 HST)	Between Groups	13426.907	11	1220.628	1.429	.193
	Within Groups	38429.241	45	853.983		
	Total	51856.149	56			
Jumlah tunas (120 HST)	Between Groups	6.503	11	.591	3.068	.004
	Within Groups	8.670	45	.193		
	Total	15.173	56			
Akar (120 HST)	Between Groups	7.434	11	.676	1.657	.115
	Within Groups	18.348	45	.408		
	Total	25.782	56			
Daun (120 HST)	Between Groups	207.264	11	18.842	3.420	.002
	Within Groups	247.909	45	5.509		
	Total	455.173	56			
Tinggi tunas (120 HST)	Between Groups	30.819	11	2.802	1.452	.184
	Within Groups	86.817	45	1.929		
	Total	117.636	56			

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (150 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (150 HST)	Between Groups	13426.907	11	1220.628	1.429	.193
	Within Groups	38429.241	45	853.983		
	Total	51856.149	56			
Jumlah tunas (150 HST)	Between Groups	6.855	11	.623	3.109	.003
	Within Groups	9.020	45	.200		
	Total	15.875	56			
Akar ((150 HST)	Between Groups	8.642	11	.786	1.744	.094
	Within Groups	20.270	45	.450		
	Total	28.912	56			
Daun (150 HST)	Between Groups	212.623	11	19.329	3.488	.001
	Within Groups	249.365	45	5.541		
	Total	461.988	56			
Tinggi tunas (150 HST)	Between Groups	34.753	11	3.159	1.388	.211
	Within Groups	102.403	45	2.276		
	Total	137.156	56			



ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidup (180 HST)	Between Groups	3720.902	11	338.264	1.005	.457
	Within Groups	15146.919	45	336.598		
	Total	18867.821	56			
Tumbuh (180 HST)	Between Groups	11140.406	11	1012.764	1.303	.254
	Within Groups	34985.052	45	777.446		
	Total	46125.459	56			
Jumlah tunas (180 HST)	Between Groups	6.256	11	.569	3.038	.004
	Within Groups	8.426	45	.187		
	Total	14.682	56			
Akar (180 HST)	Between Groups	10.263	11	.933	1.692	.106
	Within Groups	24.817	45	.551		
	Total	35.080	56			
Daun (180 HST)	Between Groups	209.773	11	19.070	3.427	.002
	Within Groups	250.437	45	5.565		
	Total	460.211	56			
Tinggi tunas (180 HST)	Between Groups	37.352	11	3.396	1.386	.213
	Within Groups	110.244	45	2.450		
	Total	147.596	56			

