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

IN VITRO REGENERATION OF WILD BANANA EMBRYO CULTURE THROUGH APPLICATION OF SUCROSE, *BENZYL ADENINE* DAN *POLYVINYLPIRROLIDONE*

Syafrilia Rahma Putri[1*)] Ika Roostika[2)] Afifuddin Latif Adiredjo[1)] dan Darmawan Saptadi[1)]

[1] Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur

[2] Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor
Jl. Tentara Pelajar 3A, Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111 Jawa Barat

[*)]E-mail: syafrilia.lia@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai formulasi media yang optimal melalui penggunaan *Benzyl adenine* (BA), *polyvinylpirrolidone* (PVP), dan sukrosa untuk pertumbuhan eksplan embrio pisang liar SPN21, serta mengetahui pengaruh BA, PVP, dan sukrosa dal iam media *in vitro* terhadap perkecambahan dan pertumbuhan embrio pisang liar SPN-21. Dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap pada 360 biji embrio (setiap perlakuan diulang 5 kali dan satu ulangan terdiri dari 6 embrio), hasil pengamatan dalam bentuk data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan taraf 5%. 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. persentase daya hidup, persentase daya tumbuh dan jumlah tunas, jumlah akar dan jumlah daun yang tertinggi diperoleh dari media MS yang ditambah dengan sukrosa 4% dan BA 0.5 mg/l (M7). Untuk variabel yang sama dan tinggi tunas perlakuan yang tertinggi diperoleh dari media MS yang ditambah sukrosa 4% (M8). Embrio pisang SPN21 tidak menghendaki formulasi media yang kompleks untuk meregenerasikannya. Media MS yang mengandung sukrosa 4% merupakan formulasi yang tepat untuk kultur regenerasi embrio pisang liar SPN21.

Kata Kunci : Kultur Embrio, Pisang Liar SPN21, Sukrosa, *Benzyl Adenine* Dan *Polyvinylpirrolidone*

ABSTRACT

A research on the optimum media formulation by using *Benzyl adenine* (BA), *polyvinylpirrolidone* (PVP) and sucrose to study the growth of the embryonic explants of SPN21 wild banana, as well as the effects of BA, PVP and sucrose in the in vitro media to the germination and growth of SPN21 wild banana embryos has been conducted. The research used the Completely Randomized Design on 360 embryo seeds (every treatment was replicated 5 times and one replication consist of 6 embryos) in which the observation result presented in quantitative data were analyzed using the analysis of variance at the eror level of 5% was conducted. Media formulation Murashige and Skoog (1962) with the addition of sucrose, BA and PVP significantly affected growth ability precentage, bud number averaage and leaf number average. The highest viability percentage, growth ability percentage, bud number, root number and leaf number were obtained from the MS media added with succrose of 4% and BA of 0.5 mg/L (M7). For the same variables plus bud height, the highest were obtained from

the MS media added with sucrose 4% (M8). SPN21 wild banana embryos did not fit in complex media formulationto regerate. The MS media containing sucrose 4% was the suitable formulation for regeneration culture of SPN21 wild banana, sucrose, benzyl adenine and polyvinylpyrrolidone.
Keywords : Embryonic culture, SPN21 wild banana, Sucrose, Benzyl adenine, and Polyvinylpirrolidone.

PENDAHULUAN

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* 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).

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, salah satunya *Musa acuminta* (Megia *et al*., 2001).

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).

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 adalah untuk 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 dan Menentukan formulasi media yang optimal untuk pertumbuhan embrio pisang liar SPN21.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Mei 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Cimanggu, Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah biji pisang liar *Musa acuminata* aksesi SPN-21 yang diperoleh dari Kebun Koleksi milik Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika (Balitbu), Solok. Sedangkan bahan kimianya adalah media MS (Murashige dan Skoog 1962), BA, PVP, sukrosa, alkohol, NaOCl serta akuades steril.

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. Media MS dengan penambahan BA (0 dan 0,5 mg/l), PVP (0 dan 100 mg/l) serta sukrosa (3,4 dan 5%) Alat yang digunakan selama proses penelitian dalam keadaan steril untuk meminimalkan kontaminasi. 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^{o}C dan tekanan 17.5psi selama 20 menit. Media yang telah diotoklaf, kemudian disimpan selama 3−4 hari untuk memastikan media bebas dari mikroorganisme. 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 12 media perlakuan.

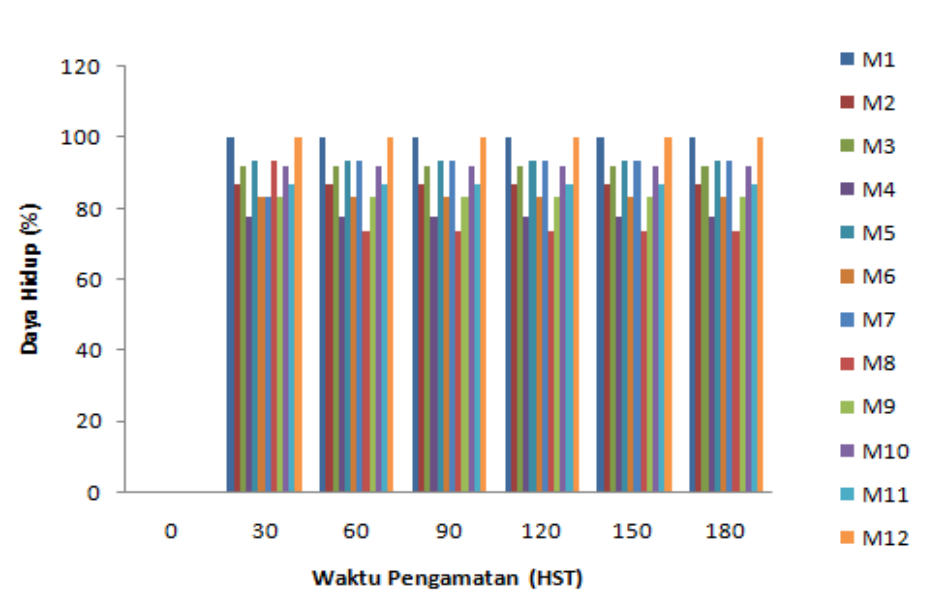
Kultur embrio di inkubasi pada ruang gelap selama 4 minggu, kemudian di pindahkan ke ruang terang dengan foto periodisitas 16 jam/hari, intensitas cahaya 1000 lux dan suhu 25^{0}C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

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). Menurut Mante *et al.* (1983) 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.

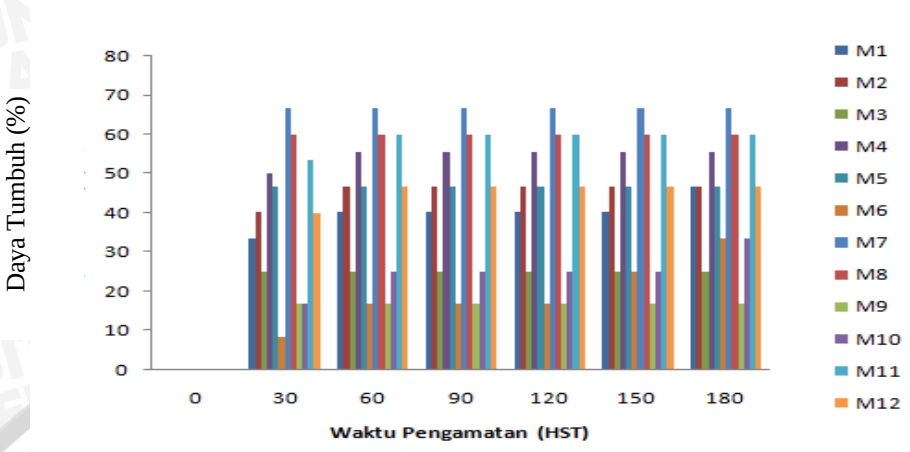
Persentase Daya Hidup

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa peubah persentase 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 HST. Hal ini diduga karena embrio pisang SPN21 tidak menghendaaki 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.



Gambar 1 Pengamatan daya hidup eksplan 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST

***Jurnal Produksi Tanaman**, Jilid X, Nomor X, Februari 2017, hlm. X*



Gambar 2 Pengamatan daya tumbuh eksplan 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

Persentase Daya Tumbuh

Hasil pengamatan peubah persentase tumbuh kultur jaringan embrio pisang liar berdasar Gambar 2. 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, M8, M11 Pada umur pengamatan 60, 90, 120, 150 dan 180 HST formulasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase daya tumbuh pisang SPN21.

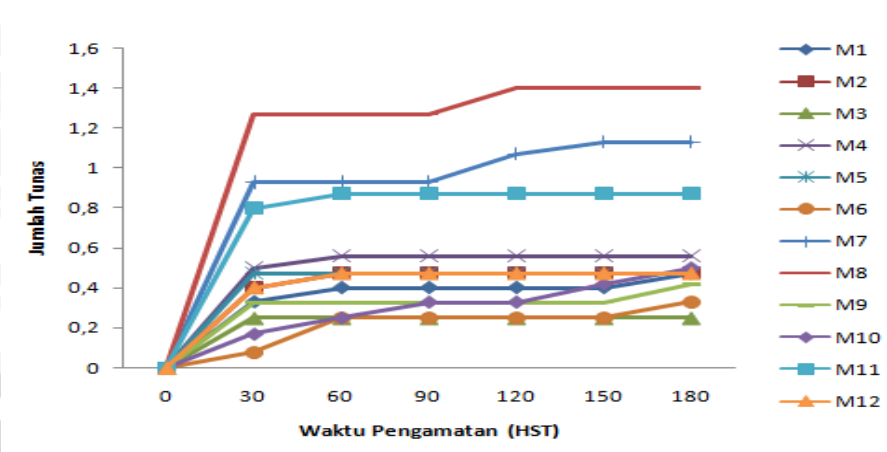
Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan 30 HST, dan perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan formulasi media MS + Sukrosa 3% + PVP 100 mg/l (M1), media MS+Sukrosa 3% + BA 0.5 mg/l + PVP 100 mg/l (M2), media MS + Sukrosa 3% (M4), media MS + Sukrosa 4% + PVP 100 mg/l (M5), media MS + Sukrosa 4% + BA 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 perlakuan media M2 dan 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 peroksidas. Penambahan PVP dan 1,4-ditio-DL-treitol (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)

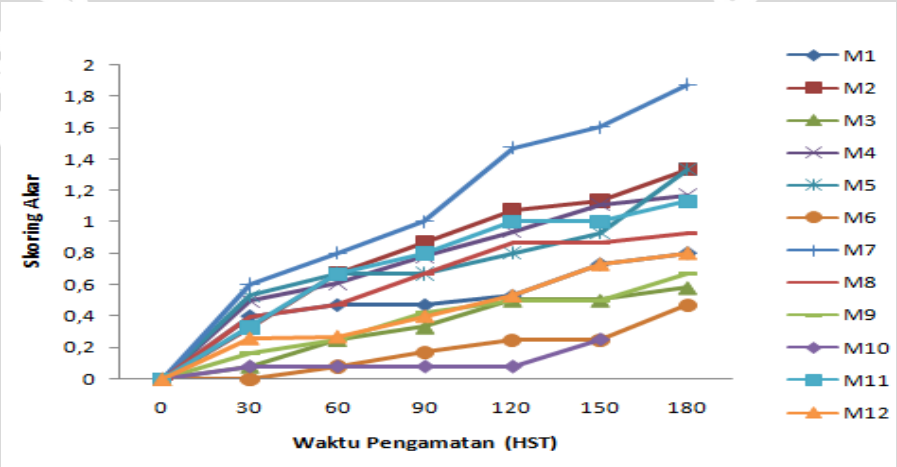
Jumlah Tunas

Berdasarkan Gambar 3 dapat diketahui bahwa formulasi media M2, M7, dan M11 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.

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 (Marlin, 2005).



Gambar 3 Pengamatan jumlah tunas 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST



Gambar 4 Pengamatan jumlah akar 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST.

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.

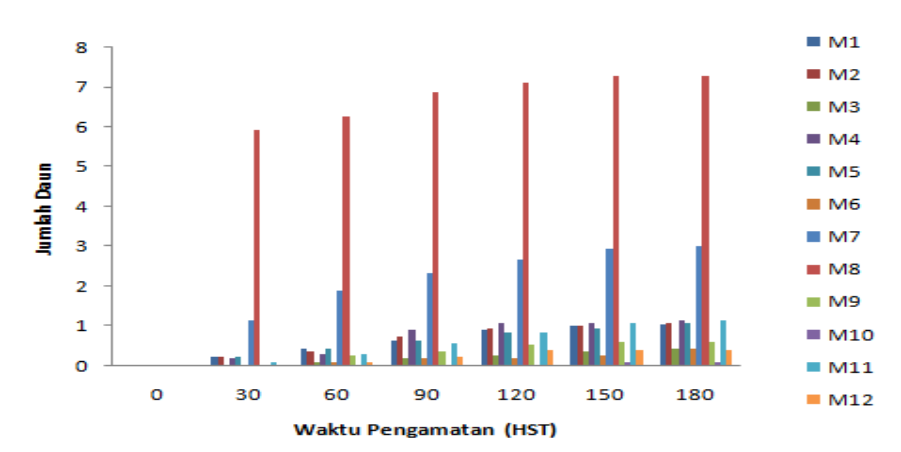
Jumlah Akar

Berdasar Gambar 4, 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, M2 dan M4 menghasilkan jumlah akar yang banyak.

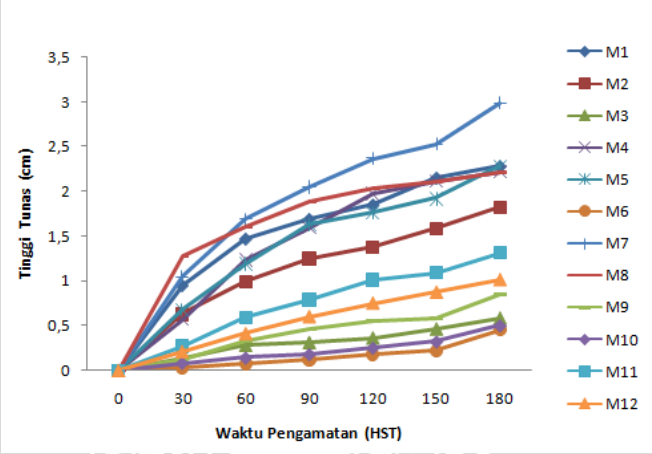
Jumlah akar yang banyak dapat mengoptimalkan penyerapan nutrisi yang ada pada media kultur. Akar yang banyak dapat menopang pertumbuhan tunas dan daun yang bagus. Hal ini terjadi pada semua umur pengamatan yaitu 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST. pada media kultur lebih banyak digunakan untuk multiplikasi tunas daripada pembentukan akar. NAA merupakan ZPT dari kelompok auksin selain IBA dan IAA, yang dapat memacu pertumbuhan akar.

Jumlah Daun

Gambar 5 menunjukkan bahwa perlakuan M8 berpengaruh nyata pada



Gambar 5 Pengamatan jumlah daun 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HST



Gambar 6 Pengamatan tinggi tunas 12 perlakuan pada umur 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 HS

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 dan M8.

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. Semakin banyak jumlah tunas maka semakin banyak juga jumlah daun eksplan. Apabila jumlah tunas yang terbentuk banyak, maka jumlah daun yang terbentuknya juga akan banyak. Banyaknya jumlah daun ini menunjukkan banyaknya tunas yang terbentuk. 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).

Tinggi Tunas

Gambar 6 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, M8 dan M11 efektif digunakan untuk meningkatkan tinggi tunas eksplan. Hal ini diduga bahwa tinggi tunas dipengaruhi oleh adanya hormon sitokinin.Sitokinin adalah ZPT turunan nadenin 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 2,5 mg/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).

KESIMPULAN

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 dan penggunaan media MS dengan penambahan sukrosa 4% merupakan formulasi media yang terbaik umtuk meregenerasikan embrio dan memultiplikasikan tunas serta membentuk plantet.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Cimanggu, Bogor yang telah menyediakan tempat dan membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bewley J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 96(1):1055–1066.

Gunawan, L.W., 1987. Teknik Kultur Jaringan. *PAU-IPB*. hal. 278.

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. *Jurnal AgroBiogen,* 4(2):65-69.

Lestari E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen.* 7(1): 63-68.

Lestari, E.G., I. Mariska., S. Harran., dan R. Megia. 2001. Penyimpanan in vitro tunas nilam dengan cara menghambat pertumbuhan. *Buletin Plasma Nutfah* 7(2):31-37.

Lestari, E.G., I. Mariska., S. Harran., dan R. Megia. 2001. Penyimpanan in vitro tunas nilam dengan cara menghambat pertumbuhan. *Buletin 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(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(1): 8-14.

Murashige, T. dan Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum. dalam **Zulkarnain, 2009.** Kultur Jaringan Tanaman; Solusi Perbanyakan Tanaman Budi Daya. Bumi Aksara, Jakarta.

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.