

## **Perbanyak Tanaman Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dengan Teknik Kultur Jaringan** ***Propagation Of Banana Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Plant Using Tissue Culture Techniques***

Idos Susila Ningsih, Mesy Maisarah, Fauziatul Husna Zirrazaq, Rika Dea Puspita, Afriani Amelia Putri, Linda Advinda

*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang  
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Bar., Kec. Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat 25171*

Email: [idosusila@gmail.com](mailto:idosusila@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan multiplikasi tunas dan perakaran pisang kepok dengan menggunakan teknik kultur jaringan.. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan RAL yang terdiri atas 7 perlakuan yaitu IAA 0,5 ppm + BAP 1 ppm (P<sub>A</sub>), IAA 0,5 ppm + BAP 2 ppm (P<sub>B</sub>), IAA 0,5 ppm + BAP 3 ppm (P<sub>C</sub>), IAA 1 ppm + BAP 1 ppm (P<sub>D</sub>), IAA 1 ppm + BAP 2 ppm (P<sub>E</sub>), IAA 1 ppm + BAP 3 ppm (P<sub>F</sub>), dan kontrol.

Dari hasil percobaan didapatkan data visual dimana terdapat beberapa eksplan yang terkontaminasi oleh jamur dan bakteri. Eksplan yang terkontaminasi jamur ditandai dengan adanya hifa berwarna putih sedangkan eksplan yang terkontaminasi oleh bakteri ditandai dengan adanya lendir baik berwarna kuning maupun putih pada eksplan dan media tanam. Selain itu juga terdapat browning (pencoklatan) pada medium akibat jaringan eksplan yang mati sehingga lama kelamaan akan menyebabkan medium berubah warna menjadi coklat.

Kata kunci: Kultur jaringan, IAA, BAP, Eksplan, Pisang

### **PENDAHULUAN**

Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) termasuk jenis pisang olahan, yang dikonsumsi setelah diberi perlakuan tambahan. Pisang ini merupakan salah satu jenis buah tropis yang mempunyai potensi cukup tinggi untuk dikembangkan di Indonesia. Permintaan pisang semakin meningkat baik untuk konsumsi pangan maupun untuk bahan baku industri. Pisang mewakili 40 – 45% dari produk buah nasional. Tahun 2009 produksi pisang mencapai 6,3 juta ton (Artianingsih, 2012).

Perbanyak pisang kepok ini bertujuan untuk memperbanyak anakan pisang secara cepat dan menghasilkan hasil yang banyak, dikarenakan tanaman ini seringkali terkena hama serta penyakit tanaman, sehingga membuat para peneliti berusaha membuat anakan yang baik dan sesuai keinginan.

Pengembangan kebun pisang secara komersial memerlukan bahan tanam (benih) dalam jumlah yang besar dan serentak. Tanaman pisang dapat diperbanyak dengan anakan, atau belahan bonggol (bit) yang bermata tunas, namun pengadaan benih secara konvensional seperti itu menghadapi kendala karena jumlah anakan yang dihasilkan sedikit sehingga tidak kunjung dapat memenuhi kebutuhan untuk penanaman komersial

skala luas. Teknik kultur jaringan dapat mengatasi masalah ini karena teknik ini memiliki potensi untuk memproduksi benih tanaman secara massal dan dalam waktu yang relatif lebih singkat (Fitramala, 2015).

Media yang digunakan dalam kultur jaringan mempunyai banyak jenisnya, salah satunya adalah Murashige and Skoog (MS). Media MS terdiri dari unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin, sumber karbon, serta berbagai macam zat pengatur tumbuh, baik yang sintetik maupun alami (Eriansyah et al., 2014). Zat pengatur tumbuh dibutuhkan untuk merangsang pertumbuhan tunas dan akar. Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan (Lestari, 2011). Keberhasilan dalam perbanyakan secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh komposisi media tanam. Penambahan zat pengatur tumbuh (zpt) dalam media kultur jaringan, merupakan komponen penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara *in vitro*. Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam kultur jaringan antara lain Indol Acetic Acid (IAA), Naphthalene Acetic Acid (NAA), Benzyl Amino Purine (BAP), dan Indole 3-Butyric Acid (IBA) (Yulianti, 2010). Benzyl Amino Purine (BAP) merupakan ZPT dari golongan sitokinin yang berfungsi untuk menginduksi pembentukan tunas adventif dari eksplan pisang (Bhosale *et al.*, 2011). Indol Acetic Acid (IAA), Naphthalene Acetic Acid (NAA), dan Indole 3-Butyric Acid (IBA) merupakan zat pengatur tumbuh dari golongan auksin, ZPT ini berpengaruh pada perkembangan sel dan berfungsi untuk merangsang pertumbuhan akar eksplan tanaman (Amin *et al.*, 2009). Anbazhagan *et al.* (2014) melaporkan bahwa kombinasi BAP 3 mg/l dan IAA 0,5 mg/l memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan tunas pisang. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk meningkatkan multiplikasi tunas dan perakaran pisang kepek dengan menggunakan teknik kultur jaringan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2022 bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Kota Padang, Sumatera Barat.

### **Rancangan Penelitian**

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan yaitu IAA 0,5 ppm + BAP 1 ppm ( $P_A$ ), IAA 0,5 ppm + BAP 2 ppm ( $P_B$ ), IAA 0,5 ppm + BAP 3 ppm ( $P_C$ ), IAA 1 ppm + BAP 1 ppm ( $P_D$ ), IAA 1 ppm + BAP 2 ppm ( $P_E$ ), IAA 1 ppm + BAP 3 ppm ( $P_F$ ), dan kontrol. Masing-masing dilakukan 10 kali ulangan sehingga diperoleh 70 unit percobaan.

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas arloji, timbangan analitik, beaker glass, gelas ukur, mikropipet, batang pengaduk, *hot plate and stirrer*, pH

meter, botol kultur, *autoclave*, *freezer*, *Laminar Air Flow* (LAF), pisau scalpel, bunsen, dan pinset.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah MS (*Murashige and Skoog*) instan, sukrosa, agar swallow, *Indole Acetic Acid* (IAA), *Benzylamino Purin* (BAP), aquades, HCl, KOH, aluminium foil, plastik kaca, karet gelang, bakterisida, fungsida, alkohol, klorok, kertas saring, dan bonggol pisang.

### **Prosedur Kerja**

#### **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Botol-botol kultur, aquades dan alat-alat seperti pinset, scalpel dan *petridish* disterilisasi dengan autoclave dengan suhu 120°C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Kertas saring disterilisasi di dalam oven dengan suhu 80°C



**Gambar 1.** Sterilisasi alat dan bahan

#### **Pembuatan Stok IAA**

Stok IAA dibuat dalam konsentrasi 10.000 ppm sebanyak 50 ml. Menimbang IAA sebanyak 500 mg dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 25 ml. Ditambahkan beberapa tetes alkohol 96% sampai IAA larut, kemudian ditambahkan 20 ml aquades dan diaduk hingga homogen. Masukkan ke dalam gelas ukur 50 ml atau 100 ml, kemudian tambahkan aquades sampai batas 50 ml. Masukkan ke dalam botol kaca, labeli dengan “IAA 10.000 ppm” dan tanggal pembuatannya.

#### **Persiapan Media Tanam**

Pembuatan media yaitu dengan cara mencampurkan 1,108 g MS instan dengan 7,5 g sukrosa dan ditambahkan IAA dan BAP sesuai perlakuan ke dalam *beaker glass*. Selanjutnya dilarutkan dengan aquades sebanyak  $\pm$  100 ml, dan diaduk menggunakan batang pengaduk hingga larut. Kemudian ditambahkan aquades hingga batas 250 ml sambil tetap diaduk. Selanjutnya dilakukan pengukuran pH (5,6-5,8). Jika terlalu asam maka tambahkan HCl 1 N, namun jika terlalu asam maka tambahkan KOH 1 N. Selanjutnya ditambahkan 2 g agar ke dalam larutan, dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga larutan terlihat jernih. Media dituangkan masing-masing 2,5-3 ml ke dalam botol-botol kultur, dan ditutup dengan plastik kaca dan diikat dengan karet gelang. Kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 17,5 psi, selama 25 menit. Setelah botol kultur dingin,

diletakkan ke dalam ruang kultur. Medium diamati 1x1 minggu, hingga minggu ke 2. Apabila tidak terjadi kontaminasi, maka medium dapat digunakan untuk prosedur berikutnya.



**Gambar 2.** Inkubasi medium selama 1 minggu

### **Persiapan Eksplan**

Pengambilan bonggol pisang terbaik yang akan dijadikan eksplan adalah anakan rebung yang tingginya  $\pm$  50 cm. Bonggol pisang dipotong dan diperkecil hingga berukuran 10 cm dan diameter 4-5 cm. Eksplan disterilisasi dengan direndam dalam larutan campuran 1 g bakterisida dan 1 g fungisida yang ditambahkan 100 ml aquades, kemudian digojlok selama 10 menit. Eksplan selanjutnya direndam di dalam alkohol 96% selama 10 menit, kemudian direndam di dalam larutan klorok selama 10 menit. Eksplan kemudian dipindahkan ke dalam *beaker glass* dan ditutup menggunakan aluminium foil untuk dimasukkan ke LAF.



**Gambar 3.** Sterilisasi eksplan menggunakan campuran larutan bakterida dan fungisida



**Gambar 4.** Sterilisasi eksplan menggunakan larutan alkohol 96%



**Gambar 5.** Sterilisasi eksplan menggunakan larutan klorok

### **Penanaman Eksplan**

Penanaman eksplan dilakukan di *Laminar Air Flow Cabiner* (L AFC). Sebelum digunakan terlebih dahulu L AFC disterilkan dengan alkohol 70%, semua peralatan dan media serta eksplan dimasukkan ke dalam L AFC. L AFC dihidupkan selama 30 menit sebelum dilakukan penanaman. Eksplan yang sebelumnya telah disterilisasi dikeluarkan menggunakan pinset dan diletakkan di atas *petri dish* yang sudah dilapisi kertas saring. Eksplan dipotong dengan pisau scalpel menjadi ukuran 1x1 cm, kemudian ditanam pada media sesuai perlakuan. Saat penanaman, pastikan selalu melakukan inokulasi pada pisau scalpel, pinset, mulut botol kultur dan plastik kaca untuk memperkecil terjadinya kontaminasi. Botol-botol yang telah berisi eksplan disimpan pada rak di ruang kultur dengan suhu 26°C.



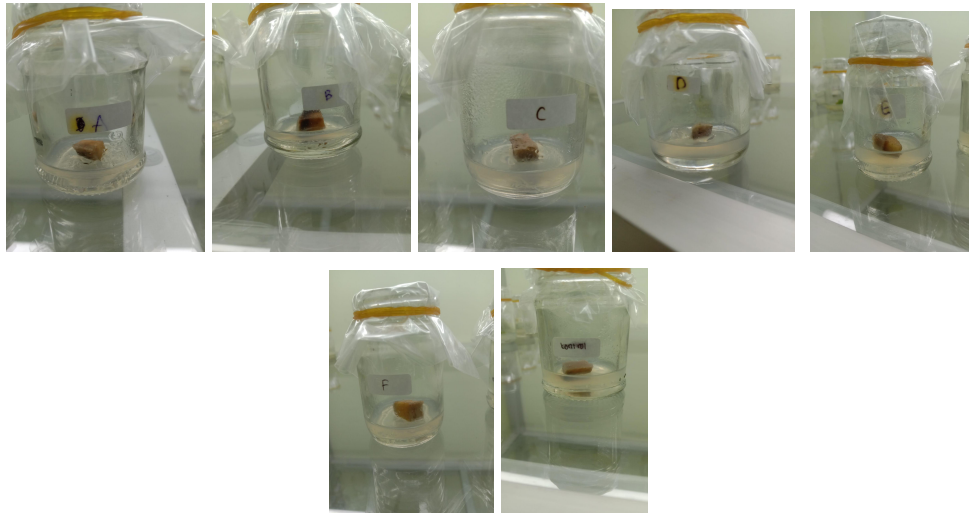
**Gambar 6.** Penanaman eksplan di L AFC

### **Parameter Pengamatan**

Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 4 minggu dengan parameter yang diamati yaitu umur munculnya tunas, jumlah tunas, dan perubahan visual (perubahan warna).

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Berdasarkan hasil penelitian pembentukan tunas dengan menggunakan medium MS yang dikombinasikan bersama hormon tumbuhan yaitu IAA dan BAP, lalu kontrol. Pembuatan medium dilakukan menjadi 6 perlakuan, yang nantinya akan memperlihatkan parameter presentasi eksplan hidup, jumlah tunas, waktu munculnya tunas, dan perubahan visual yang terjadi pada tunas (perubahan warna)



**Gambar 1.** Eksplan yang tidak terkontaminasi

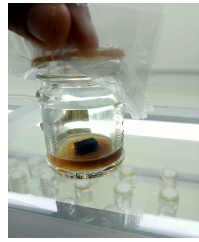
Keterangan :

- A : MS + IAA 0,5 ppm + BAP 1 ppm
- B : MS + IAA 0,5 ppm + BAP 2 ppm
- C : MS + IAA 0,5 ppm + BAP 3 ppm
- D : MS + IAA 1 ppm + BAP 1 ppm
- E : MS + IAA 1 ppm + BAP 2 ppm
- F : MS + IAA 1 ppm + BAP 3 ppm
- G : MS (Kontrol)

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat beberapa eksplan yang tidak terkontaminasi oleh jamur seperti yang terlihat pada gambar 1. Eksplan tersebut masih terlihat sehat namun belum terlihat adanya pertumbuhan akar maupun tunas. Menurut Kuswandi (2013), perlukaan akibat pemotongan pada eksplan berpengaruh terhadap penyerapan kandungan nutrisi dari media sehingga pemotongan yang tepat untuk jenis eksplan tertentu akan berpengaruh terhadap keberhasilan regenerasi tanaman. Menurut Isda et al. (2015), sitokinin berperan untuk pertumbuhan tunas dan pembelahan sel. Ditambahkan oleh Arinaitwe *et al.* (2000) sitokinin yang umum digunakan dalam kultur in vitro untuk multiplikasi pisang adalah kinetin dan BAP.

Dhaliwal et al. (2004), menyatakan bahwa organogenesis secara in vitro pada eksplan terjadi dua cara yaitu secara langsung dan tidak langsung. Menurut Noviana (2014) proses pembentukan tunas secara kultur in vitro pada tanaman pisang dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung.

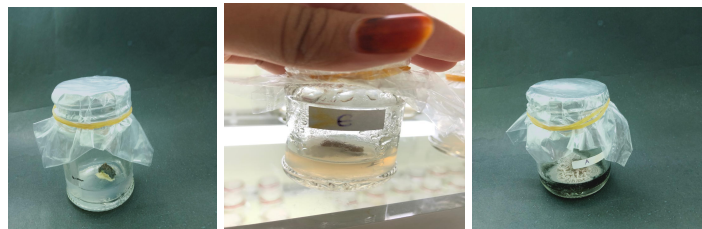




a



b



c

**Gambar. 2** a (browning), b (kontaminasi oleh bakteri), c (kontaminasi oleh jamur)

Browning (pencoklatan) terjadi disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi saat eksplan dilukai atau dipotong. Tabiyeh *et al.* (2006) mengemukakan bahwa pencoklatan dalam kultur jaringan disebabkan karena meningkatnya produksi senyawa fenolat yang diikuti oksidasi oleh aktivitas enzim oksidase (PPO) dan polimerasinya. Hal ini disebabkan Karena tingginya tingkat kontaminasi di dalam ruang kultur menyebabkan banyak eksplan mengalami kontaminasi, oleh sebab itu dilakukan kembali sterilisasi pada percobaan kedua. Untuk mengurangi kontaminasi maka dilakukan peningkatan sterilisasi pada alat tanam maupun pada eksplan penelitian.

Kontaminasi yang disebabkan oleh adanya proses browning (pencoklatan) pada eksplan dalam penelitian ini diduga karena jumlah senyawa arang aktif yang digunakan belum cukup untuk mengabsorpsi asam fenolik yang terdapat pada eksplan. Menurut Hutami (2008), upaya yang dilakukan dalam mengatasi browning yaitu dengan

memindahkan eksplan pada media baru, penambahan antioksidan, polivinilpirolidon (PVP) dan asam askorbat (vitamin C), namun cara tersebut belum tentu efektif, selain cara-cara tersebut cara yang paling umum digunakan yaitu dengan penambahan arang aktif pada media tersebut.

Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri, pada eksplan terlihat lendir berwarna kuning keputihan sebagian lagi melekat pada media membentuk gumpalan yang basah. Sedangkan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur terlihat jelas pada media. Media dan eksplan diselimuti oleh spora berbentuk kapas atau miselium yang berwarna putih, hijau dan hitam. Cendawan yang mengkontaminasi media dan eksplan adalah cendawan yang biasa ada di laboratorium seperti *Monilia sp*, *Aspergillus sp* dan *Penicillium sp*. Sedangkan bakteri yang muncul dan berasal dari laboratorium adalah bakteri gram positif (Setiyoko, 1995).

Terjadinya kontaminasi menunjukkan bahwa semakin dipercayanya suatu media dengan nutrisi maka tingkat kontaminasinya juga semakin tinggi. Demikian pula sebaliknya, semakin sederhana komponen media maka akan semakin rendah kemungkinan terjadinya kontaminasi (Santoso dan Nursandi, 2001). Munculnya kontaminan jamur dan bakteri diduga disebabkan oleh rendahnya tingkat sterilisasi ruangan, sumber eksplan yang tidak baik dan prosedur sterilisasi yang dilakukan oleh peneliti belum optimal untuk mensterilkan eksplan dari kontaminan bakteri dan jamur yang berasal dari eksplan.

Selain kontaminasi oleh jamur dan bakteri, penyebab tidak tumbuhnya eksplan pisang dipengaruhi oleh faktor jenis eksplan, keadaan eksplan, ukuran, umur dan fase fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan. Umur tanaman yang digunakan untuk kultur jaringan sebaiknya berada pada umur rata-rata dimana tanaman tersebut tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua. Hal ini disebabkan apabila tanaman berumur terlalu muda maka kemungkinan untuk tumbuh dan berkembang sangat sulit karena tanaman yang masih muda mengandung senyawa fenol yang sangat tinggi sehingga akan mengakibatkan browning dan pada akhirnya eksplan akan mati. Sedangkan apabila tanaman yang akan digunakan untuk eksplan berumur tua akan sulit untuk tumbuh. Hal itu disebabkan karena tanaman berada pada masa matur/pertumbuhan yang lanjut sehingga sifat totipotensi pada sel tersebut sangat sedikit atau bahkan tidak ada (Hasan, 2016).

Dalam melakukan kegiatan kultur pisang kebersihan pekerja perlu diperhatikan didalam perkembangbiakan secara kultur in vitro. Apabila pekerja dalam kondisi yang aseptis maka akan memperkecil kemungkinan terjadinya kontaminasi. Keadaan pekerja yang kurang aseptik akan memungkinkan terjadinya kontaminasi. Jadi didalam perkembangbiakan secara kultur in vitro, kesterilan pekerja juga sangat diperlukan untuk menunjang keberhasilan penanaman. Ruang harus senantiasa steril dan disemprot dengan alcohol 70% setiap satu kali seminggu, dan semua peralatan kultur baik



peralatan diseksi dan botol-botol yang akan digunakan harus disterilkan untuk mencegah kontaminasi serta media kultur juga harus disterilisasi pada *autoclave* (Basri, 2009).

## **PENUTUP**

1. Eksplan bonggol pisang yang ditanam ada yang sehat dan ada yang mengalami kontaminasi.
2. Kontaminasi eksplan yang disebabkan oleh jamur ditandai dengan adanya hifa berwarna putih pada eksplan dan media tanam.
3. Kontaminasi eksplan yang disebabkan oleh bakteri ditandai dengan adanya lendir berwarna kekuningan pada eksplan dan media tanam.
4. Kontaminasi eksplan yang disebabkan browning (pencoklatan) ditandai dengan mencoklatnya media tanam akibat munculnya senyawa fenolik yang terakumulasi saat eksplan dilukai atau dipotong.

## **REFERENSI**

- Al-Amin, M. D., M. R. Karim, M. R. Amin, S. Rahman, and A. N. M. Mamun. 2009. In vitro micropropagation of banana. *J. Agri. Res.* 34 (4) : 645 – 659.
- Anbazzhagan, M., B. Balachandran, and K. Arumugam. 2014. In vitro propagation of *Musa* sp (Banana). *J. Current Microbiology and Applied Sciences.* 3 (7) : 399 - 404.
- Arinaitwe, G., Rubaihayo, P. R., & Magambo, M. J. S. 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 86 (1) : 13-21.
- Artianingsih S. 2012. *19 Peluang Investasi Kayu, Tanaman Perkebunan, dan Tanaman Buah*. Jakarta : Agromedia.
- Basri, A. H. H. 2009. Eliminasi Virus Mosaik Bergaris Tebu (Sugarcane Streak Mosaic Virus) Melalui Teknik Kultur In Vitro. Tesis. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.
- Bhosale, U. P., S. V. Dubhashi, N. S. Mali, and H. P. Rathod. 2011. In vitro shoot multiplication in different species of banana. *Asian J. Plant Sci.* 1(3): 23 – 27.
- Dhaliwal, H. S., Yeung, E. C., & Thorpe, T. A. 2004. TIBA inhibition of in vitro organogenesis in excised tobacco leaf explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant.* 40 (2) : 235-238.
- Eriansyah, M, Susiyanti & Putra, Y. 2014. Pengaruh Pemotongan Eksplan dan Pemberian Beberapa Konsentrasi Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan dan

- Perkembangan Eksplan Pisang Ketan (*Musa paradisiaca*) Secara In Vitro. *Jurnal Agrologia*. 3 (1) : 54-61.
- Fitramala, Eva, K., Nina, R. D, Hadi, S. & Diah, R. 2015. Kultur in vitro pisang (*Musa paradisiaca* L.) cv. Kepok Merah untuk mikropropagasi cepat. *Menara Perkebunan*. 84 (2) : 69-75.
- Hasan, B. A. H. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Jurnal Agrica Ekstensia*. 10 (1) : 65-68.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan Pada Kultur Jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 4 (2) : 83-88.
- Isda, M. N., & Fatonah, S. 2014. Induksi Akar pada Eksplan Tunas Anggrek *Grammatophyllum scriptum* var. *citrinum* secara In Vitro pada Media MS dengan Penambahan NAA Dan BAP. *Jurnal Biologi*. 7 (2). 53-57.
- Kuswandi, P. C. 2013. Pelatihan Kultur Jaringan Anngrek-Materi 4: Bahan Tanaman (eksplan) dalam Metode Kultur Jaringan. *Jurdik Biologi-FMIPA UNY*
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *J Agrobiogen*. 7 (1) : 63-68.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang : Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Sitohang, N. 2005. Kultur Meristem Pisang Barangan (*Musa paridisiaca* L.) pada Media MS dengan Beberapa Komposisi Zat Pengatur Tumbuh NAA, BAP, IBA dan Kinetin. *Jurnal Ilmu Pertanian*. 3 (2) : 19-25.
- Tabiyeh, D.T., F. Bernard, and H. Shacker. 2006. Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in Pistacia vera shoot tips culture. *ISHS Acta Hort*. 726.
- Yuliarti, N. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. ANDI. Yogyakarta.