

MULTIPLIKASI TUNAS PISANG ‘RAJA BULU’ (*Musa spp.* AAB) IN VITRO PADA MEDIA YANG MENGANDUNG *BENZILADENIN* DAN KINETIN

Dwi Hapsoro¹⁾, Husna Fii Karisma Jannah¹⁾ dan Yusnita¹⁾

¹⁾Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Surel: dwi.hapsoro@fp.unila.ac.id

ABSTRACT

In vitro propagation of banana cv. ‘Raja Bulu’ (*Musa spp.* AAB) has been achieved with little successes due to phenolic compound exudation. This research aimed to investigate effect of *benziladenine* (BA) and kinetin (KIN) on in vitro shoot multiplication using shoot tips from corm (Experiment I) and from in vitro shoot culture (Experiment II). The two experiments were arranged in a completely randomized designed with three replications. Each replication consisted of three 250 ml-bottles, with 4 explants per bottle. The treatments were combinations of BA concentrations (2, 4, and 6 mg/l) and KIN (0 and 2 mg/l). Media contained MS salts supplemented with 30 g/l sucrose, 100 mg/l myo-inositol, 0.1 mg/l thiamine-HCl, 0.5 mg/l pyridoxine-HCl, 0.5 mg/l nicotinic acid, 2 mg/l glycine, plant growth regulators as treatments, and agar as a solidifying agent. Results of Experiment I showed that, with or without KIN, an increase in BA concentrations from 2-4 mg/l led to an increase in shoot multiplication rate. Results of Experiment II also showed that an increase in BA concentrations also resulted in an increase in shoot multiplication. Addition of KIN resulted in an increase in shoot multiplication. Number of propagules produced was 5,83-9,78 propagules per explant.

Keywords: Banana, Benzyladenine, In Vitro, Kinetin, ‘Raja Bulu’.

ABSTRAK

Perbanyakan pisang ‘Raja Bulu’ (*Musa spp.* AAB) termasuk sulit karena eksudasi senyawa fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *benziladenin* (BA) dan kinetin (KIN) terhadap multiplikasi tunas in vitro dengan menggunakan eksplan dari bonggol (Percobaan I) dan dari kultur in vitro (Percobaan II). Kedua percobaan dilakukan dengan rancangan teracak lengkap dengan tiga ulangan. Perlakuan merupakan kombinasi BA (2, 4, 6 mg/l) dan KIN (0 dan 2 mg/l). Setiap perlakuan diulang 3 kali, 3 botol kultur (250 ml) per ulangan, 4 eksplan per botol. Media berisi garam-garam MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g/l sukrosa, 100 mg/l mio-inositol, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, dan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan, serta 8 g/l agar-agar sebagai pematat media. Percobaan I menunjukkan, baik dengan maupun tanpa KIN, peningkatan BA dari 2-4 mg/l menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas. Percobaan II menunjukkan, baik dengan maupun tanpa KIN, peningkatan konsentrasi BA juga menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas. Pemberian KIN pada taraf BA tertentu menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas. Multiplikasi tunas dan mata tunas yang dihasilkan adalah antara 5,83-9,78 propagul per eksplan.



Kata Kunci: *Benziladenin*, In Vitro, Kinetin, Pisang, ‘Raja Bulu’.

PENDAHULUAN

Sebagai buah meja dan plantain, pisang (*Musa paradisiaca* Linn.) merupakan sumber terpenting makanan umat manusia di dunia setelah gandum, padi, dan jagung (Remakanthan *et al.*, 2014). Buah pisang dilaporkan oleh UNCTAD (2010) sebagai buah yang diimpor dalam volume terbesar di dunia. Dari segi nilainya impor buah ini menduduki posisi kedua setelah jeruk (UNCTAD, 2010). Indonesia tercatat sebagai salah satu produsen utama pisang dunia dengan menyumbang 7% dari produksi pisang dunia, sedangkan India 21%, Brazil 9%, Cina 9%, Filipina 9%, Ekuador 8%, dan negara lainnya 37% (UNCTAD, 2010).

Pada level nasional, Lampung tercatat sebagai salah satu produsen pisang terbesar. Oleh karena itu Universitas Lampung telah memasukkan komoditas pisang sebagai salah satu komoditas yang menjadi prioritas untuk diteliti. Penetapan prioritas ini juga ditopang oleh data konsumsi nasional akan buah pisang yang selalu naik dari tahun ke tahun. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2012) melaporkan, konsumsi pisang Ambon dari tahun 2007-2011 naik rata-rata 11,62% per tahun, sedangkan untuk pisang Raja 6,44% dan pisang lainnya 1,16%. Pada tahun 2011, konsumsi pisang per kapita per tahun rakyat Indonesia untuk pisang Ambon 2,2 kg, pisang Raja 1,6 kg, dan pisang lainnya 5,1 kg (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2012).

Pisang kultivar ‘Raja Bulu’ merupakan salah satu jenis pisang yang digemari masyarakat Indonesia. Kultivar tersebut pada kenyataannya secara genetik beragam. Oleh karena itu seleksi untuk mendapatkan kultivar ‘Raja Bulu’ yang unggul harus dilakukan. Setelah itu harus ditemukan teknologi perbanyakan vegetatif yang cepat

untuk menghasilkan bibit dalam jumlah besar. Salah satu alternatif teknologi tersebut adalah kultur jaringan atau perbanyakan *in vitro*, yang penerapannya pada pisang ‘Raja Bulu’ termasuk sulit karena kandungan senyawa fenolik yang tinggi. Senyawa fenolik mengakibatkan terjadinya *blackening* karena oksidasi senyawa fenolik tersebut, yang menghambat pertumbuhan dan perkembangan jaringan. Makalah ini menyajikan multiplikasi tunas pisang ‘Raja Bulu’ pada media yang mengandung *benziladenin* (BA) dan kinetin.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan, yaitu Percobaan I dan Percobaan II, yang keduanya bertujuan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi *benziladenin* dan *kinetin* pada multiplikasi tunas pisang Raja Bulu (genom AAB). Pada Percobaan I eksplan yang digunakan adalah tunas yang diambil dari bonggol pisang, sedangkan pada Percobaan II eksplan yang digunakan adalah tunas yang diambil dari kultur *in vitro*. Bonggol pisang dipisahkan dari batang semu dengan cara memotong bagian atas batang semu. Kemudian pelepah satu demi satu dikelupas sampai terlihat tunas pucuk pisang yang terletak di tengah bonggol. Tunas pucuk lalu dipisahkan dari bonggol pisang dengan cara memotong ke arah dalam bonggol untuk memastikan tunas pucuk yang diambil benar-benar utuh. Tunas-tunas pucuk dipotong sehingga berukuran 5-7 cm, lalu direndam selama 30 menit dalam 2 liter larutan yang mengandung 150 mg/l asam askorbat dan 2 g/l fungisida *Mankozep*. Tunas-tunas pucuk ini digunakan sebagai sumber eksplan.

Bonggol yang sudah tidak mempunyai tunas pucuk direndam selama 10-15 menit dalam larutan yang mengandung 1 g/l pupuk Growmore dan 1 g/l fungisida mankozep, lalu ditanam pada media tanah dalam polibag 5 kg yang sudah ditaburi 1-2 g insektisida Furadan 3G. Tunas-tunas samping dibiarkan tumbuh sampai masing-masing mempunyai 4 daun terbuka. Tunas-tunas samping ini juga digunakan sebagai sumber eksplan.

Eksplan dan Sterilisasinya

Pada Percobaan I, tunas-tunas, baik pucuk maupun samping, dikecilkan dengan mengelupas pelepah dan memotong batang semu hingga berukuran 3 cm, direndam selama 15-25 menit dalam larutan detergen, lalu dibilas dengan air kran yang mengalir sampai bersih dari sisa-sisa fungisida dan detergen. Di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC), tunas disterilisasi dengan merendam-kocok selama 30 menit dalam larutan sodium hipoklorit (NaOCl) dengan penambahan beberapa tetes *Tween 20*, lalu dibilas dengan akuades steril minimal tiga kali. Tunas-tunas lalu dikecilkan sampai bagian pangkalnya berukuran 2x2x1 cm dan batang semunya berukuran 0,3—1 cm, disterilisasi dengan merendam kocok selama 10 menit dalam larutan NaOCl 0,5%, lalu dibilas dengan akuades steril sedikitnya tiga kali. Tunas-tunas selanjutnya ditanam sebagai eksplan pada media prakondisi selama 2 minggu sebelum dipindahkan ke media perlakuan. Media prakondisi adalah media MS yang mengandung 2,5 mg/L *benziladenin* (BA).

Pada Percobaan II, eksplan adalah berupa tunas dari tunas majemuk (*multiple shoots*) yang dihasilkan oleh kultur *in vitro* yang berumur 24 minggu. Tunas-tunas dipisah-pisahkan satu dengan lainnya, lalu masing-masing dipotong ujungnya hingga berukuran 1 cm. Eksplan ditanam pada media prakondisi yaitu media MS yang

mengandung 2,5 mg/l *benziladenin* dan 2 g/l arang aktif selama 2 minggu sebelum disubkultur ke media perlakuan.

Pembuatan Media Kultur

Pada penelitian ini digunakan dua macam media, yaitu media prakondisi dan media perlakuan. Kedua media tersebut untuk Percobaan I dan II adalah sama kecuali untuk hal-hal yang akan disebutkan kemudian. Media perlakuan terdiri atas garam-garam MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g/l sukrosa, 100 mg/l mio-inositol, 0,1 mg/l tiamin-HCl, 0,5 mg/l piridoksin-HCl, 0,5 mg/l asam nikotinat, 2 mg/l glisin, dan zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Media prakondisi untuk Percobaan I sama dengan media perlakuan tersebut, tetapi ada penambahan 50 mg/l asam sitrat, 150 mg/l asam askorbat, 2,5 mg/l *benziladenin*, dan 2 g/l arang aktif. Media prakondisi untuk Percobaan II sama dengan yang untuk Percobaan I, kecuali tidak ditamhkannya asam sitrat dan asam askorbat.

Pada pembuatan media, semua komponen media, kecuali arang aktif, dilarutkan terlebih dahulu, ditetapkan pH-nya menjadi 5,8 dengan penambahan KOH atau HCl, ditambahkan 8 g/l agar-agar dan 2 g/l arang aktif, lalu dididihkan. Selanjutnya media dituangkan ke dalam botol-botol kultur 250 ml, masing-masing sebanyak 25 ml. Botol-botol kultur ditutup dengan plastik tahan panas dan diikat dengan karet gelang. Botol-botol kultur yang sudah berisi media dimasukkan dalam autoklaf untuk disterilisasi dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 kg/cm² selama 15 menit.

Rancangan Percobaan dan Perlakuan

Baik pada Percobaan I maupun Percobaan II, perlakuan yang digunakan adalah kombinasi antara konsentrasi *benziladenin* (2, 4, dan 6 mg/l) dan kinetin (0 dan 2 mg/l).

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan teracak lengkap dengan 3 ulangan. Setiap ulangan terdiri atas 3 botol kultur, yang masing-masing berisi empat eksplan. Kultur diletakkan dalam ruang kultur dengan suhu $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan pencahayaan kurang lebih 1000 lux dari lampu fluoresens, serta fotoperiodisitas 16 jam terang 8 jam gelap. Subkultur dilakukan setiap 4 minggu dan pengamatan dilakukan terhadap penampakan kultur, jumlah mata tunas dan tunas, dan panjang tunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I

Perkembangan kultur *in vitro* tanaman pisang ‘Raja Bulu’ sampai 24 MST (minggu setelah transfer) dengan eksplan tunas yang diambil dari bonggol disajikan pada Gambar 1. Tampak bahwa pada 4 MST (minggu setelah transfer) proses pengitaman belum terjadi. Tetapi pada 8 MST, eksplan tunas tampak menghitam dan berlangsung terus sampai 24 MST. Subkultur dilakukan setiap 4 minggu dan tampaknya subkultur dapat mendorong pertumbuhan dan pemunculan tunas baru. Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa semakin banyak subkultur semakin sedikit eksudat hitam yang keluar ke media.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi BA dari 2-4 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas dan mata tunas, yang ditunjukkan oleh jumlah propagul per eksplan (Tabel 1). Hal ini terjadi baik dengan maupun tanpa penambahan 2 mg/l kinetin. Pada level BA yang sama, penambahan kinetin cenderung menyebabkan peningkatan jumlah propagul. Penambahan kinetin tampaknya juga menekan *blackening*.

Percobaan II

Hasil percobaan menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi *benziladenin* (BA) dari 2-6 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah mata tunas (Gambar 2, Kiri). Pengaruh interaksi antara BA dan kinetin terhadap jumlah mata tunas tidak signifikan. Namun demikian terhadap jumlah tunas pengaruh interaksi tersebut signifikan (Gambar 2, Kanan). Tampak dari gambar tersebut bahwa baik dengan maupun tanpa 2 mg/l kinetin, peningkatan konsentrasi BA dari 2-6 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah tunas per eksplan, namun demikian pola responsnya berbeda. Penambahan kinetin menyebabkan peningkatan jumlah tunas, kecuali pada konsentrasi BA 6 mg/l dimana pemberian kinetin tidak berpengaruh signifikan (Gambar 2, Kanan).

Tunas dan tunas secara keseluruhan disebut propagul. Pengaruh konsentrasi BA dan pemberian kinetin terhadap jumlah propagul disajikan pada Gambar 3. Tampak bahwa peningkatan konsentrasi BA dari 2-6 mg/l menyebabkan peningkatan jumlah propagul per eksplan, yaitu dari 6,33-9,78 propagul per eksplan (Gambar 3, Kiri). Demikian juga, pemberian 2 mg/l kinetin menyebabkan peningkatan jumlah propagul per eksplan, yaitu dari 6,13-8,39 propagul per eksplan (Gambar 3, Kanan dan Gambar 4).

KESIMPULAN

Dengan menggunakan eksplan berupa tunas dari bonggol pisang, hasil percobaan menunjukkan bahwa baik dengan maupun tanpa KIN, peningkatan BA dari 2-4 mg/l menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas. Dengan menggunakan eksplan dari kultur tunas *in vitro*, hasil percobaan menunjukkan, baik dengan maupun tanpa KIN, peningkatan konsentrasi BA juga menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas.

Pemberian KIN pada taraf BA tertentu menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas. Multiplikasi tunas dan mata tunas yang dicapai adalah antara 5,83-9,78 propagul per eksplan.

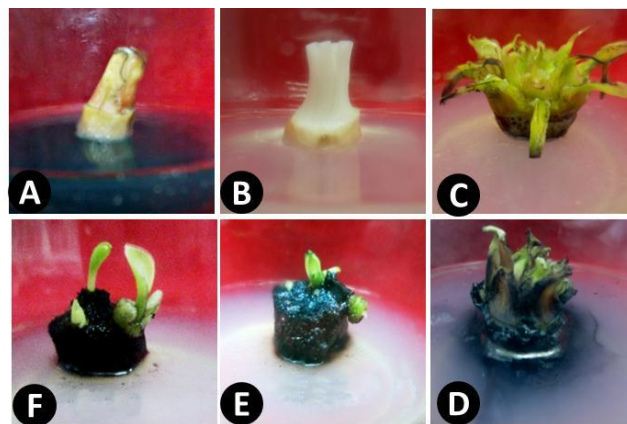
DAFTAR PUSTAKA

Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2012. *Statistik Konsumsi Pangan Tahun 2012*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Sekretariat Jendral Kementerian Pertanian.

Remakanthan, A., T.G. Menon, and E. V. Soniya. 2014. Somatic embryogenesis in banana (*Musa acuminata* AAA cv. Grand Naine): effect of explant and culture conditions. *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant* 50:127–136.

UNCTAD, 2010. <http://www.unctad.org/infocomm/anglais/banana/market.htm>. [20 April 2015]

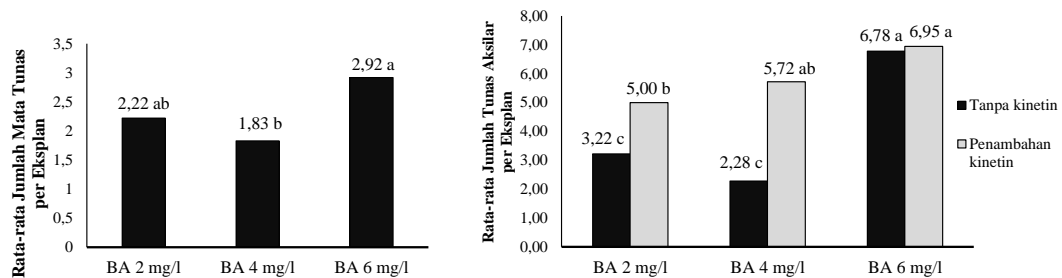


Gambar 1. Perkembangan kultur in vitro tanaman pisang ‘Raja Bulu’ dengan eksplan tunas yang diambil dari bonggol. Eksplan berupa tunas dikulturkan pada media prakondisi yang mengandung 2,5 mg/l *benziladenin* dan 2 g/l arang aktif (A). Dua minggu kemudian tunas disayat membujur hingga mengenai meristem untuk menghambat dominasi apikal, lalu ditanam pada media perlakuan (B). Pada 4 MST (minggu setelah transfer) tunas tampak bengkak (C). Pada 8 MST (minggu setelah transfer) tunas tampak tumbuh (D). Pada 12 MST (minggu setelah transfer) tunas tampak tumbuh lebih lanjut (E). Pada 16 MST (minggu setelah transfer) tunas tampak tumbuh lebih lanjut (F).

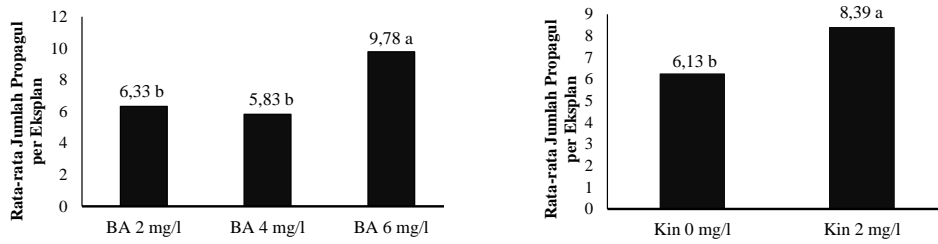
dan berwarna hijau (C). Pada 8 MST tunas tampak menghitam (*blackening*)(D). Pada 16 MST proses penghitaman berlangsung dan muncul tunas baru (E). Pada 24 MST proses penghitaman tetap berlangsung dan terjadi pemanjangan dan multiplikasi tunas (F)

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi *benziladenin* (BA) dan *kinetin* terhadap multiplikasi propagul pada kultur *in vitro* tanaman pisang ‘Raja Bulu’

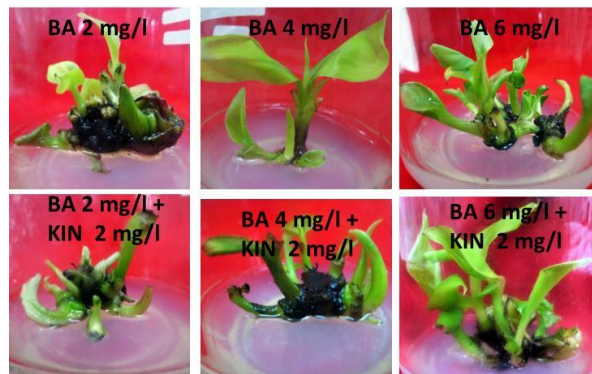
Konsentrasi BA (mg/l)	Σ eksplan awal	Σ ekplan tidak terkontaminasi	Σ ekplan menghitam	Σ ekplan responsif	% eksplan responsif	Σ propagul per eksplan
Tanpa kinetin						
2	15	5	1	4	80	2,0 ± 0,5
4	16	7	2	5	71	3,6 ± 0,7
6	13	6	4	2	33	2,0 ± 1,0
Dengan 2 mg/l kinetin						
2	13	5	0	5	100	2,4 ± 0,5
4	15	5	2	3	60	3,7 ± 1,2
6	13	7	0	7	100	4,3 ± 0,4



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi *benziladenin* (BA) dan *kinetin* terhadap mata tunas (Kiri) dan jumlah tunas aksilar (kanan). Pengaruh interaksi konsentrasi BA-*kinetin* tidak nyata terhadap jumlah mata tunas. Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji-BNT_{0,05}.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi *benziladenin* (BA) dan kinetin terhadap jumlah propagul per eksplan. Pengaruh interaksi konsentrasi BA-kinetin tidak nyata terhadap jumlah propagul. Pengaruh masing-masing faktor disajikan pada gambar kiri yaitu pengaruh konsentrasi BA dan gambar kanan yaitu pengaruh kinetin.



Gambar 4. Penampakan kultur in vitro tanaman pisang ‘Raja Bulu’ pada media yang mengandung *benziladenin* (BA) dan *kinetin* (KIN). Baris atas adalah tanpa KIN, sedangkan baris bawah dengan KIN.