

**Pengaruh Konsentrasi Benziladenin dan Sukrosa terhadap Multiplikasi Tunas
Pisang Raja Bulu (AAB) *In Vitro***

Dwi Hapsoro^{*)}, Doni Saputra dan Yusnita Yusnita

^{*)} Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jln. Prof.
Dr. Soemantri Brojonegoro no 1 Bandar Lampung 35145.
E-mail: dwi.hapsoro@fp.unila.ac.id; No HP: 081379155175.

ABSTRAK

Penyediaan bibit pisang dalam jumlah besar yang seragam dan sehat dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh berbagai konsentrasi benziladenin (BA) dan sukrosa terhadap perbanyakan *in vitro* tunas pisang Raja Bulu (AAB), pengakaran dan aklimatisasi planlet. Percobaan dilaksanakan dengan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan, yang masing-masing terdiri dari 3 botol kultur berisi satu eksplan. Perlakuan disusun secara faktorial (5x2), faktor pertama adalah konsentrasi BA (0; 1; 2; 4; dan 8 mgL⁻¹), faktor kedua konsentrasi sukrosa (30 dan 50 gL⁻¹). Jumlah mata tunas, tunas dan panjang tunas diamati pada 12 MST. Data dianalisis ragam dan jika terdapat perbedaan nyata antarperlakuan dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi BA berpengaruh nyata terhadap jumlah mata tunas dan tunas, namun sukrosa hanya berpengaruh terhadap jumlah mata tunas. Hasil terbaik didapatkan pada media dengan konsentrasi BA 2 mgL⁻¹ dan 50 gL⁻¹ sukrosa yang menghasilkan 5.3 mata tunas dan 4.2 tunas per eksplan. Tunas-tunas dapat diakarkan dan planlet berhasil diaklimatisasi.

Kata Kunci: *In vitro*, perbanyakan, tunas, BA, sukrosa, aklimatisasi.

**Effects of Benzyladenine and Sucrose Concentrations on *In Vitro* Shoot Multiplication of
Banana cv. Raja Bulu (AAB Group)**

Dwi Hapsoro^{*1)}, Doni Saputra dan Yusnita Yusnita

^{*)} Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jln. Prof.
Dr. Soemantri Brojonegoro no 1 Bandar Lampung 35145.
E-mail: dwi.hapsoro@fp.unila.ac.id; No. HP: 081379155175.

ABSTRACT

Objectives of this research were to study effects of different benzyladenine and sucrose concentrations on *in vitro* shoot multiplication of banana cv. Rajabulu, rooting and plantlet acclimatization. An experiment on shoot multiplication was conducted using a completely randomized design with three replicates, each of which consisted of 3 culture bottles with one explant. Treatments were arranged in 5x2 factorial combination, i.e., BA concentrations (0; 1; 2; 4; dan 8 mgL⁻¹), and sucrose concentrations (30 or 50 gL⁻¹). Number of shoot buds and shoots per explant, and length of shoots were observed after 12 weeks of cultures. Data were subjected to analysis of variance, followed by mean separation using LSD. Results showed that BA concentrations significantly affected number of shoot buds and shoots per explant, but sucrose concentrations only affected number of shoot buds. The best treatments for shoot bud and shoot multiplication was 2 mgL⁻¹ BA and 50 gL⁻¹ sucrose, which produced 5,2 and 4,2 shoot buds and shoots per explant, respectively. Shoots were successfully rooted and the plantlets were successfully acclimatized in a green house.

Key words: *In vitro*, shoot multiplication, benzyladenine, sucrose, acclimatization.

I. PENDAHULUAN

Pisang (*Musa paradisiaca* Linn.) adalah buah yang bergizi lengkap, kaya akan vitamin dan mineral yang penting. Di tingkat global, pisang merupakan mata dagangan buah-buahan yang penting, yang nilai impornya adalah yang kedua setelah buah jeruk, tetapi dari segi volume adalah yang terbesar (UNCTAD 2010). Indonesia adalah salah satu negara produsen pisang terbesar di dunia, yang berkontribusi 7% dari total produksi pisang dunia. Negara produsen utama pisang lainnya adalah India yang berkontribusi 21%, Brazil 9%, Cina 9%, Filipina 9%, Ekuador 8%, dan negara lainnya 37% (UNCTAD, 2010). Konsumsi buah pisang di Indonesia cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Misalnya, pada periode 2007-2011 terjadi peningkatan konsumsi dalam negeri pisang Ambon sebesar 11.62% per tahun, dan dalam periode yang sama untuk pisang Raja adalah 6.44%, dan pisang lainnya 1.16% (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian 2012). Berapa volume konsumsinya dapat diprediksi dari data konsumsi per kapita per tahun penduduk. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2012) mencatat bahwa pada tahun 2011, konsumsi pisang per kapita per tahun penduduk Indonesia adalah 2.2 kg untuk pisang Ambon, 1.6 kg pisang Raja, dan 5.1 kg pisang lainnya.

Salah satu kultivar pisang yang digemari oleh konsumen yaitu pisang Raja Bulu (AAB), karena rasanya yang enak dan dapat dijadikan pisang meja atau pisang olahan. Penanaman pisang Raja Bulu dalam skala luas terkendala oleh penyediaan bibit yang seragam dan sehat. Salah satu alternatif penyediaan bibit pisang dalam jumlah besar adalah dengan teknik kultur jaringan atau perbanyakan *in vitro*. Pada tanaman pisang, strateginya adalah dengan menginduksi multiplikasi tunas aksilar dilanjutkan dengan pengakaran masing-masing tunas.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin merupakan faktor kritis dalam perbanyakan *in vitro* tanaman, khususnya untuk multiplikasi tunas. Pada kultur *in vitro* tanaman pisang, benziladenin (BA) dilaporkan efektif untuk merangsang multiplikasi tunas samping. Peningkatan konsentrasi sukrosa juga dilaporkan dapat menyebabkan peningkatan multiplikasi tunas (Waman et al. 2014). Namun demikian perlakuan tersebut belum tentu efektif untuk genotipe yang berbeda, sebab sering respons terhadap kultur *in vitro* adalah spesifik genotipe. Dibandingkan dengan genotipe pisang lainnya yang mempunyai genom AAA, pisang Raja Bulu (genom AAB) kurang responsif terhadap kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi benziladenin dan sukrosa terhadap multiplikasi tunas pisang Raja Bulu.

II. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Tanaman dan Sterilisasi Eksplan

Bahan tanam yang digunakan sebagai sumber eksplan adalah bagian bonggol pisang Raja Bulu yang mengandung mata tunas di bagian pucuknya. Bonggol pisang ini didapatkan dari kebun petani pisang di Bandar Lampung. Mata tunas (2 x 2 x 4 cm) sebagai eksplan dikeluarkan dari bonggol dengan menggunakan pisau, dikecilkan sampai 1 x 1 x 1 cm, lalu direndam dalam larutan yang mengandung 150 mgL⁻¹ asam askorbat dan 50 mgL⁻¹ asam sitrat. Secara aseptik sterilisasi permukaan eksplan dilakukan dengan merendam-kocok selama 20 menit dalam larutan pemutih komersial (5.25% NaOCl) 50% dengan penambahan dua tetes Tween 20, lalu dibilas dengan air steril tiga kali. Eksplan dikecilkan menjadi berukuran 0.7 x 0.7 x 0.7 cm, direndam-kocok selama 10 menit dalam larutan pemutih 10%, dibilas tiga kali dengan air steril, dan ditanam pada media prakondisi selama 4 minggu. Setelah itu eksplan disubkultur ke media perlakuan.

2.2. Media dan Kondisi Kultur

Media prakondisi terdiri atas garam-garam dari MS (Murashige & Skoog, 1962), 0.1 mgL⁻¹ tiamin-HCl, 0.5 mgL⁻¹ piridoksin-HCl, 0.5 mgL⁻¹ asam nikotinat, 2 mgL⁻¹ glisin, 100 mgL⁻¹ mio-inositol, 30 gL⁻¹ sukrosa, dan 5 mgL⁻¹ *benzyladenine* (BA). Media perlakuan sama dengan media prakondisi kecuali bahwa di dalam media perlakuan ditambahkan 0.1 mgL⁻¹ *naphthaleneacetic acid* (NAA) dan ditambahkan sukrosa dan BA sesuai perlakuan.

Media ditetapkan pH-nya 5.8 dan dipadatkan dengan 7 gL⁻¹ agar. Media dididihkan dan dituangkan ke dalam botol-botol kultur (250 ml), masing-masing berisi 25 ml media, lalu ditutup dengan plastik tahan panas. Media diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1.2 kg cm².

Semua kultur dipelihara di dalam ruang kultur dengan suhu 25 °C ± 2 °C dengan pencahayaan dari lampu fluorescent 1000 lux dan fotoperiodositas 16 jam terang dan 8 jam gelap.

2.3. Rancangan Percobaan dan Analisis Statistika

Setelah dikulturkan selama 4 minggu pada media prakondisi, eksplan dicacah pada bagian meristemnya lalu disubkultur pada media perlakuan. Perlakuan yang digunakan terdiri dari 2 faktor yaitu konsentrasi sukrosa (30 dan 50 gL⁻¹) dan konsentrasi BA (0, 1, 2, 4, dan 8

mgL⁻¹). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan, 3 botol kultur per ulangan, satu eksplan per botol. Subkultur dilakukan tiap 4 minggu. Data yang meliputi jumlah mata tunas, jumlah tunas, dan panjang tunas dicatat pada 12 minggu setelah tanam (MST). Mata tunas adalah tunas yang berukuran panjang 0.5 cm atau kurang. Data dianalisis dengan sidik ragam dan pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji BNT 5%.

III. HASIL

3.1. Perkembangan Kultur dan Hasil Analisis Ragam

Pada media perlakuan, secara umum kultur mulai menunjukkan gejala pertumbuhan pada 4 MST (minggu setelah tanam), yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna pelepah daun dari putih menjadi hijau kemerahan dan terjadinya pembengkakan mata tunas (Gambar 1B). Sebelum inisiasi tunas, kultur mengalami *browning* (pencokelatan). Inisiasi tunas aksilar terjadi pada 4 MST di media perlakuan (Gambar 1C). Pada 12 MST, tunas-tunas terbentuk yang ditandai dengan tumbuhnya beberapa primordia daun (Gambar 1D).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi BA berpengaruh nyata terhadap jumlah mata tunas dan tunas per eksplan, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap panjang tunas. Konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap jumlah mata tunas, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas dan panjang tunas. Interaksi antara konsentrasi BA dan sukrosa tidak berpengaruh nyata.

3.2. Jumlah Mata Tunas, Jumlah Tunas dan Panjang Tunas

Pemberian BA menyebabkan peningkatan jumlah mata tunas (Tabel 1, Gambar 2) baik dengan 30 gL⁻¹ maupun 50 gL⁻¹ sukrosa. Pada kedua konsentrasi sukrosa, jumlah mata tunas dari 0-2 mgL⁻¹ BA mengalami peningkatan. Pada konsentrasi BA yang lebih tinggi sampai 8 mgL⁻¹ jumlah tunas tidak mengalami peningkatan (yaitu pada 30 gL⁻¹ sukrosa) atau mengalami penurunan (yaitu pada 50 gL⁻¹ sukrosa). Secara umum pemberian 50 gL⁻¹ sukrosa menghasilkan jumlah mata tunas yang lebih banyak dibandingkan 30 gL⁻¹ sukrosa. Jumlah mata tunas terbanyak (5.3 mata tunas/eksplan) diperoleh pada kombinasi perlakuan 2 mgL⁻¹ BA dan 50 gL⁻¹ sukrosa.

Pemberian 2-8 mgL⁻¹ BA menyebabkan peningkatan jumlah tunas per eksplan (Tabel 1). Jumlah tunas pada konsentrasi BA dari 2-8 mgL⁻¹ mengalami penurunan. Panjang tunas tidak dipengaruhi oleh perlakuan konsentrasi BA dan sukrosa.

IV. PEMBAHASAN

Perbanyakan tanaman pisang secara *in vitro* pada umumnya dilakukan melalui perbanyakan tunas samping (*axillary branching*). Hal ini dilakukan dengan menggunakan eksplan yang berupa mata-mata tunas yang berada di bonggol pisang. Salah satu tahap yang penting adalah tahap multiplikasi tunas. Pada tahap ini peranan zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah sangat krusial, sebab ZPT mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT yang banyak digunakan untuk merangsang perbanyakan tunas adalah dari golongan sitokinin. Pada penelitian ini digunakan benziladenin (BA). Sementara itu untuk tumbuh dan berkembang, sel-sel tanaman membutuhkan energi. Pada kultur *in vitro* tanaman, pada umumnya diberikan sukrosa pada media kultur sebagai sumber energi utama untuk menyusun rangka karbon sebagai penyusun metabolit dan struktur-struktur pada tanaman. Dengan demikian, khususnya pada penelitian ini, diharapkan efektivitas BA dapat ditopang oleh sukrosa sebagai sumber energi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa (1) BA dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap jumlah mata tunas, (2) BA berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas sedangkan sukrosa tidak berpengaruh nyata, (3) BA dan sukrosa tidak berpengaruh nyata terhadap panjang tunas, dan (4) Tidak ada interaksi antara BA dan sukrosa dalam mempengaruhi ketiga variabel yang diukur. Tidak adanya interaksi antara BA dan sukrosa merupakan indikasi bahwa kedua zat tersebut secara fisiologi bekerja dengan *mode of action* yang berbeda. Dengan perkataan lain, sukrosa kemungkinan tidak memperlihatkan pekerjaan hormonal, tetapi hanya pemasok energi dan kerangka karbon sebagai penyusun zat-zat baru, serta mempengaruhi osmotikum media kultur.

Dari penelitian ini diperoleh data bahwa perlakuan BA pada konsentrasi 1-8 mg L⁻¹ merangsang perbanyakan tunas. Jumlah mata tunas naik, dan mencapai puncak pada 2 mg L⁻¹ BA lalu menurun (Tabel1). Mata tunas terbanyak diperoleh sebanyak 2.8 dan 5.3 tunas per eksplan, berturut-turut pada konsentrasi sukrosa 30 g L⁻¹ dan 50 g L⁻¹. Kenaikan konsentrasi BA juga diikuti dengan kenaikan jumlah tunas dan mencapai puncak pada 2 mg L⁻¹ BA (4.2 tunas/eksplan) lalu menurun. Pola hubungan antara konsentrasi BA dan jumlah tunas yang

seperti itu juga dilaporkan oleh peneliti lain (Ahmed et al. 2014; Rahmat et al. 2013; Devendrakumar et al., 2013; Kahlia et al. 2015; Ngomuo et al. 2013; Govindaraju et al. 2012; Bhosale et al. 2011). Secara kolektif selang konsentrasi yang mereka gunakan adalah antara 0-9 mg L⁻¹ BA, dan jumlah tunas terbanyak diperoleh pada 2-7 mg L⁻¹ BA. Adanya selang optimum konsentrasi BA ini mungkin disebabkan oleh perbedaan genotipe pisang yang mereka gunakan.

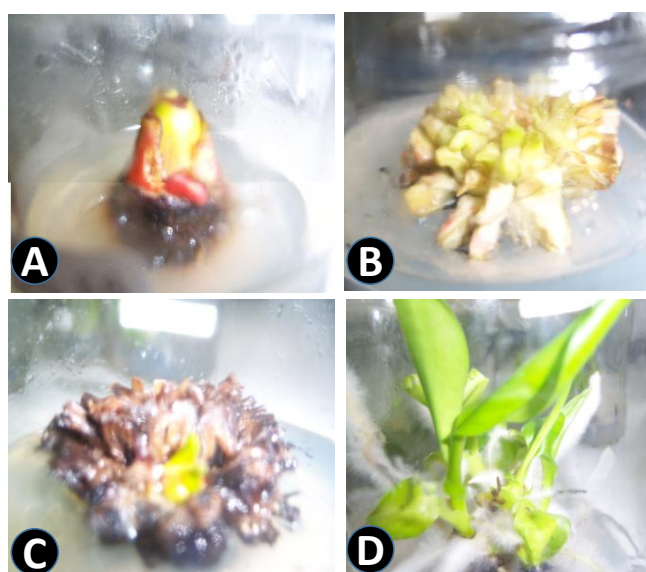
Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sukrosa menjadi 50 gL⁻¹ menyebabkan peningkatan jumlah mata tunas secara signifikan. Pada taraf konsentrasi optimum BA (2 mg L⁻¹), terjadi kenaikan jumlah mata tunas dari 2.8-5.3 mata tunas per eksplan. Walaupun konsentrasi sukrosa tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas, pengaruhnya terhadap peningkatan jumlah mata tunas dari segi perbanyakan sangatlah penting, sebab mata tunas jika memanjang akan menjadi tunas. Pada kultur *in vitro* tanaman pisang cv. Grand Naine, Morfeine (2014) menemukan bahwa kenaikan konsentrasi sukrosa 15-30 gL⁻¹ juga menyebabkan kenaikan jumlah tunas. Namun demikian, kenaikan lebih lanjut menjadi 45-75 gL⁻¹ menghasilkan jumlah tunas yang menurun. Waman et al. (2014) juga melaporkan terjadinya kenaikan jumlah tunas pada kultur *in vitro* pisang pada selang konsentrasi sukrosa 10-30 gL⁻¹. Kedua laporan tersebut mengindikasikan bahwa 30 gL⁻¹ adalah konsentrasi optimum untuk multiplikasi tunas pisang *in vitro*, suatu besaran konsentrasi sukrosa yang banyak digunakan pada kultur *in vitro* beragam spesies tanaman. Sementara itu pada penelitian kami, 30 gL⁻¹ bukanlah konsentrasi optimum sebab masih dapat ditingkatkan sampai 50 gL⁻¹ untuk menghasilkan jumlah mata tunas yang lebih banyak.

V. KESIMPULAN

Peningkatan BA dari 0 - 2 mg L⁻¹ menyebabkan kenaikan jumlah mata tunas dan tunas pada kultur *in vitro* pisang Raja Bulu. Kenaikan konsentrasi BA lebih lanjut menjadi 4 – 8 mgL⁻¹ menghasilkan jumlah mata tunas dan tunas yang menurun. Peningkatan sukrosa dari 30 – 50 gL⁻¹ menyebabkan peningkatan jumlah mata tunas. Kombinasi perlakuan 2 mgL⁻¹ BA dan 50 gL⁻¹ adalah optimum untuk menghasilkan jumlah mata tunas dan tunas terbanyak yaitu 5.3 mata tunas dan 4.2 tunas per eksplan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed S, Sharma A, Singh AK, Wali VK, Kumari P. 2014. *In vitro* multiplication of banana (Musa sp.) cv. Grand Naine. African Journal of Biotechnology 13: 2696-2703.
- Bhosale UP, Dubhashi SV, Mali NS, Rathod HP. 2011. *In vitro* shoot multiplication in different species of Banana. Asian Journal of Plant Science and Research 1(3) :23-27.
- Devendrakumar D, Anbazhagan M, Rajendran R. 2013. *In vitro* propagation of Banana (Musa acuminata L.) cv. Cavandish Dwarf. International Journal of Research in Biomedicine and Biotechnology 3:44-46.
- Govindaraju S, Saravanan J, Jayanthi B, Nancy D, Arulselvi PI. 2012. *In vitro* propagation of Banana (Musa sp - Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. Research in Plant Biology 2(5): 1-6.
- Kahlia J, Ndaruhutse F, Waweru B, Bonaventure N, Mutaganda A, Sallah PY, Kariuki NP, Aslimwe T. 2015. *In vitro* propagation of two elite cooking banana cultivars-FHIA 17 and INJAGI. International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research 6:40-47.
- Morfeine EA. 2014. Effect of Sucrose and Glucose Concentrations on Micropropagation of Musa sp. cv. Grand Naine. Journal of Applied and Industrial Sciences 2 (2): 58-62.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Ngomuo M, Mneney E, Ndakidemi P. 2013. The Effects of Auxins and Cytokinin on Growth and Development of (Musa sp.) Var. "Yangambi" Explants in Tissue Culture. American Journal of Plant Sciences 4:2174-2180.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2012. Statistik Konsumsi Pangan Tahun 2012. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Sekretariat Jendral Kementerian Pertanian. 86p.
- Rahman S, Biswas N, Hassan MM, Ahmed MG, Mamun ANK, Islam MR, Moniruzzaman M, Haque ME. 2013. Micro propagation of banana (Musa sp.) cv. Agnishwar by *In vitro* shoot tip culture. International Research Journal of Biotechnology 4: 83-88.
- UNCTAD, 2010. <http://www.unctad.org/infocomm/anglais/banana/market.htm>. diakses 20 April 2015.
- Waman AA, Bohra P, Sathyanarayana BN. 2014. Not all sugars are sweet for banana multiplication. *In vitro* multiplication, rooting, and acclimatization of banana as influenced by carbon source-concentration interactions. *In vitro* Cell.Dev.Biol.-Plant 50:552-560.



Gambar 1. Representasi perkembangan kultur pisang Raja Bulu *in vitro*. Mata tunas ditanam di media prakondisi selama 4 minggu (A), lalu disubkultur ke media perlakuan (B) dan pada 4 MST (minggu setelah tanam) di media perlakuan bakal tunas mulai muncul dari eksplan (C). Pada 12 MST tunas-tunas sudah muncul (D)

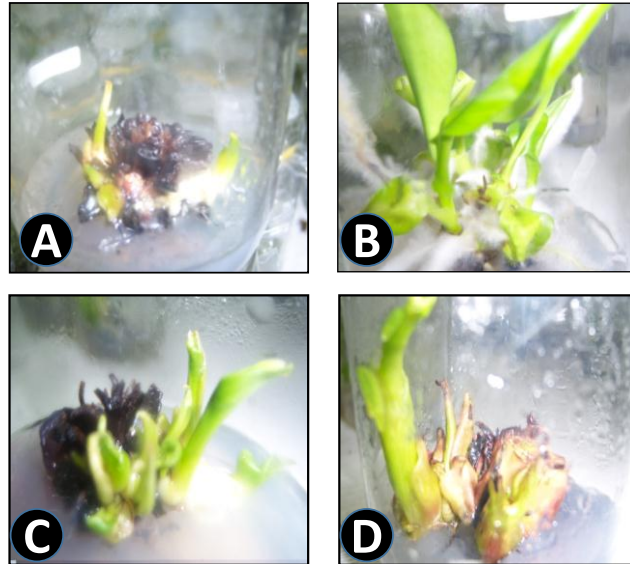
Tabel 1. Jumlah mata tunas dan tunas per eksplan dan panjang tunas pada kultur *in vitro* tanaman pisang Raja Bulu pada 12 minggu setelah tanam

Konsentrasi BA (mgL ⁻¹)	Jumlah mata tunas/eksplan *)		Jumlah tunas/eksplan **)	Panjang tunas (cm) ***)
	30 gL ⁻¹	50 gL ⁻¹		
0	1.3 d	2.2 c	2.1 d	4.3
1	1.8 c	3.2 b	2.2 d	3.8
2	2.8 b	5.3 a	4.2 a	2.7
4	3.3 b	3.7 b	3.0 b	3.2
8	2.9 b	2.4 c	2.6 c	3.7

*) Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada semua kolom tidak berbeda nyata menurut uji-BNT0.05.

**) Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom tidak berbeda nyata menurut uji-BNT0.05.

***) Konsentrasi BA dan sukrosa serta interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap panjang tunas.



Gambar 2. Representasi kultur *in vitro* tanaman pisang Raja Bulu pada media yang mengandung 50 gL^{-1} sukrosa dan (A) 1 mgL^{-1} BA, (B) 2 mgL^{-1} BA, (C) 4 mgL^{-1} BA, dan (D) 8 mgL^{-1} BA.

