

**KULTUR EMBRIO PISANG LIAR**  
*Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.)  
Nasution: **PENGARUH SUHU DAN PENYIMPANAN**  
**JANGKA PENDEK**

**SKRIPSI**

Disusun untuk melengkapi syarat-syarat  
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



**AMALIYA RUHAMA PUTRI**  
**3425111400**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA**

**2015**

## ABSTRAK

**AMALIYA RUHAMA PUTRI.** KULTUR EMBRIO PISANG LIAR *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution: PENGARUH SUHU DAN PENYIMPANAN JANGKA PENDEK. Skripsi. Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2015.

Penyimpanan jangka pendek embrio pisang liar dapat dijadikan sebagai alternatif konservasi dalam penyelamatan plasma nutfah pisang liar. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui penyimpanan yang efektif sebagai upaya memperpanjang masa simpan embrio, dan pengaruhnya terhadap perkecambahan dan pertumbuhan embrio zigotik pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen dengan tiga faktorial yaitu jenis organ tanaman yang disimpan (Buah dan Biji), Suhu ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$  dan  $32^{\circ}$  –  $40^{\circ}\text{C}$ ), dan lama penyimpanan (4-10 hari, 1 dan 2 bulan). Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2014 - Mei 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman - Biologi FMIPA UNJ. Media yang digunakan untuk inisiasi embrio adalah media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan  $2.25 \text{ mgL}^{-1}$  BAP,  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$  IAA, sedangkan media untuk regenerasi dan multiplikasi tunas ditambahkan  $0.22 \text{ mgL}^{-1}$  TDZ. Tunas dan kalus yang terbentuk disubkultur setiap 2 bulan selama 6 bulan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa buah yang disimpan selama 4-10 hari pada suhu  $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$  mampu berkecambah pada 12-13 hari setelah inisiasi dengan total persentase perkecambahan sebesar 70%, sedangkan pada biji yang disimpan dalam suhu dan lama penyimpanan yang sama memiliki total persentase perkecambahan 76%. Secara keseluruhan penyimpanan biji lebih efektif dibandingkan buah, biji pisang yang disimpan selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$  memiliki total persentase perkecambahan tertinggi (84%). Regenerasi dan multiplikasi tunas pisang dari kultur embrio sampai usia 6 bulan setelah inisiasi cukup tinggi meski telah dilakukan penyimpanan, regenerasi dan multiplikasi tertinggi dihasilkan pada penyimpanan biji selama 4-10 hari pada suhu  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$ .

**Kata Kunci :** Embrio zigotik, perkecambahan embrio, benzylaminopurine, indole 3-acetic acid, thydiazuron.

## ABSTRACT

**AMALIYA RUHAMA PUTRI.** EMBRYO CULTURE WILD BANANA *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution: EFFECT OF TEMPERATURE AND SHORT-TERM STORAGE. Thesis. Biological Studies Program, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Jakarta. 2015.

Short-term storage of wild banana embryos can be used as an alternative conservation to rescue germplasm of wild bananas. The objective of this study is to know effectiveness of storage to extend the shelf life of the embryo, and their effects on germination and growth of zygotic embryos of banana *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution. Method used in this study is factorial experiment with three factors which are the type of plant organs is stored (fruit and seed), temperature ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$  and  $32^{\circ}$  –  $40^{\circ}\text{C}$ ), and storage duration (4-10 days, 1 and 2 months). This study was conducted from September 2014 - May 2015 in Plant Tissue Culture Laboratory - Biological Science UNJ. Murashige and Skoog (MS) medium with the addition of  $2.25\text{ mgL}^{-1}$  BAP,  $0.175\text{ mgL}^{-1}$  IAA used for initiation of embryo, meanwhile  $0.22\text{ mgL}^{-1}$  TDZ was added for regeneration and shoots multiplication. Shoots and callus were subcultured every 2 months until 6 months after initiation. The results showed that the fruit stored for 4-10 days at a temperature of  $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$  was able to germinate 12-13 days after initiation with 70% total germination, while the seed are stored in the same condition has 76% total germination. It showed that seed storage was more effective than fruit, banana seeds were stored for 1 month at a temperature of  $1^{\circ}$  -  $5^{\circ}\text{C}$  had the highest total germination percentage (84%). Despite being stored, the regeneration and banana shoots multiplication of embryo culture was high enough until 6 months age after initiation, the highest regeneration and multiplication was on 4-10 days seed storage at a temperature of  $1^{\circ}$  -  $5^{\circ}\text{C}$ .

**Keywords:** *Zygotic embryos, embryo germination, Benzylaminopurine, indole 3-acetic acid, thidiazuron.*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamiin. Puji syukur kepada Allah SWT dan shalawat kepada Rasul-Nya atas selesainya skripsi yang berjudul "**Kultur Embrio Pisang Liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution: Pengaruh Suhu dan Penyimpanan Jangka Pendek**" sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta. Penulis menyadari bahwa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak baik moril maupun materil, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini sangatlah memberi dorongan besar bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan baik moral, doa dan materil, di antaranya :

1. Dr. Reni Indrayanti, M.Si selaku dan Dr. Ir. Agus Sutanto, M.Sc dari Balitbu Solok selaku Pembimbing II yang dengan penuh kesabaran membimbing, memberi saran dan bantuan selama penyusunan skripsi hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Adisyahputra, MS selaku Penguji I dan Agung Sedayu, S.Si., M.Sc selaku Penguji II yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.
3. Para dosen Jurusan Biologi UNJ yang telah memberikan sumbangsih ilmu kepada penulis selama masa perkuliahan.

4. Papa dan Mama terhebat dan tercinta, Emrizal dan Isnadia Hayati, S.Pd. yang telah membesarkan, selalu membimbing dan mendoakan setiap saat serta dukungan baik dukungan moral, materil, hingga bantuan demi kelancaran penelitian ini. Kakak dan adikku tersayang Muhammad Ihsan dan Nazhif Rahman untuk doa dan semangat yang diberikan selama ini. Kalian adalah penyemangat terhebat.
5. Teman-teman kultur Jaringan senasib dan seperjuangan (Bagus, Faris, Lulu dan Nani) yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian. Sukses buat kalian.
6. Teman-teman Vldrm 37 yang selalu menghibur dan menjadi bagian hidup penulis selama perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa dalam melakukan penyusunan skripsi ini terdapat beberapa kekurangan. Penulis mohon maaf dengan segala kerendahan hati bila terdapat kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik para pembaca agar dapat mengembangkan tulisan dan penelitian ini menjadi lebih berguna bagi bidang ilmu Biologi khususnya dan bagi masyarakat pada umumnya. Mohon maaf kepada pihak-pihak yang tidak disebutkan karena kekhilafan penulis. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Jakarta, Juni 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A.Latar Belakang .....	1
B.Perumusan Masalah .....	4
C.Tujuan Penelitian .....	4
D.Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN PERUMUSAN HIPOTESIS</b>	
A. Kajian Pustaka .....	6
1. Sejarah Penyebaran Tanaman Pisang .....	6
2. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pisang .....	7
3. Kultur Jaringan .....	10
4. Penyelamatan Embrio dan Kultur Embrio Zigotik .....	11
5. Aplikasi Kultur Embrio .....	13
6. Aspek Kultur Embrio .....	16
7. Tahapan Dalam Kultur Embrio .....	17
8. Penyimpanan Buah dan Biji .....	19
B. Kerangka Berfikir .....	21
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. Tujuan Operasional .....	23
B. Tempat dan Waktu .....	23

C. Bahan dan Metode Penelitian .....	23
D. Prosedur Kerja .....	26
1. Peralatan Penelitian dan Bahan Kimia Medium	
Dasar .....	26
2. Pelaksanaan Percobaan .....	27
a. Sterilisasi Alat .....	27
b. Pembuatan Larutan Stok, Zat Pengatur Tumbuh BAP dn IAA .....	27
c. Pembuatan Media untuk Multiplikasi Tunas Pisang Secara <i>In vitro</i> .....	27
d. Penyimpanan Bahan dan Penanaman Embrio ..	28
E. Teknik Pengumpulan Data .....	29
F. Teknik Analisis Data .....	30
G. Hipotesis Penelitian .....	30

#### **BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

A. Percobaan Pendahuluan .....	31
B. Kultur embrio dan kemampuan tumbuh embrio pisang <i>Musa acuminata</i> Colla var. <i>microcarpa</i> setelah masa penyimpanan .....	35
1. Perkecambahan Embrio Pisang .....	35
2. Pertumbuhan Embrio Menjadi Tunas .....	45
3. Pertumbuhan Embrio Menjadi Kalus .....	47
C. Regenerasi Tunas dan Multiplikasi Tunas Pisang <i>Musa acuminata</i> Colla var. <i>Microcarpa</i> .....	51
1. Pertumbuhan Kalus Menjadi Tunas .....	53
2. Jumlah Daun .....	56

#### **BAB V KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN**

A. Kesimpulan .....	59
B. Implikasi .....	59
C. Saran .....	60

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>61</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>67</b>
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....</b>	<b>68</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>69</b>

## DAFTAR GAMBAR

No	Halaman
1. <i>Musa acuminata</i> Colla var. <i>microcarpa</i> <i>Musa acuminata</i> (A). Tanaman pisang di lapangan; (B). Tandan pisang; (C). Daging buah dan biji pisang .....	9
2. Diagram alir penelitian .....	26
3. Kulit buah pisang pada penyimpanan suhu ruangan (30°C) selama 2 minggu, A. bagian luar buah dan B. bagian dalam buah .....	32
4. Perubahan keragaman buah pisang sebelum dan sesudah penyimpanan: A. buah setelah panen, B. penyimpanan suhu beku (-20° – -25°C), C. suhu dingin (1° – 5°C), D. diatas suhu ruangan (32° – 40°C) .....	32
5. Respon perkecambahan embrio pisang liar setelah masa penyimpanan .....	38
6. Embrio yang tidak berkecambah pada penyimpanan: A. Buah pada suhu -20° – -25°C selama 1 bulan (A1S1), B. Buah pada suhu 32° – 40°C selama 1 bulan (A1S3), C. Buah pada suhu 32° – 40°C selama 2 bulan (A2S3), D. Biji pada suhu -20° – -25°C selama 1 bulan (B1S1), E. Biji pada suhu 32° – 40°C selama 1 bulan (B1S3), dan F. Biji pada suhu 32° – 40°C selama 2 bulan (B2S3) .....	39
7. Pertumbuhan embrio yang berasal dari penyimpanan biji selama 1 bulan pada suhu 1-5 °C (B <sub>1</sub> S <sub>2</sub> ) menjadi tunas pada usia: A. 2 minggu; B. 1 bulan dan C. 2 bulan setelah inisiasi .....	46
8. Pertumbuhan embrio menjadi kalus yang berasal dari buah pada suhu 1-5 °C (A <sub>0</sub> S <sub>2</sub> ): A. 1 bulan dan B. 2 bulan.....	48
9. Pembentukan tunas dari kalus yang berasal dari biji pada suhu 1-5 °C (B <sub>0</sub> S <sub>2</sub> ) pada usia: A. 3 bulan; B. dan C. 4 bulan setelah inisiasi .....	54
10. Pertumbuhan daun dari penyimpanan biji pada suhu 1-5 °C (B <sub>0</sub> S <sub>2</sub> ) pada: A. 1 bulan; B. 2 bulan dan C. 4 bulan setelah insiasi .....	57

## DAFTAR TABEL

No		Halaman
1.	Rancangan percobaan kultur embrio dan penggunaan berbagai perlakuan penyimpanan pada pisang liar <i>M. acuminata</i> Colla var. <i>microcarpa</i> (Becc.) Nasution .....	24
2.	Teknik sterilisasi buah dan biji pisang setelah masa penyimpanan .....	34
3.	Persentase kemampuan perkecambahan embrio .....	39
4.	Rataan jumlah embrio yang menjadi tunas pada usia 1 sampai 6 bulan setelah inisiasi (BSI) .....	46
5.	Rataan jumlah embrio yang menjadi kalus pada usia 1 sampai 6 bulan setelah inisiasi (BSI) .....	48
6.	Rataan jumlah kalus yang menjadi tunas pada usia 1 – 6 bulan setelah inisiasi (BSI) .....	54
7.	Rataan jumlah daun pada usia 1 – 6 bulan setelah inisiasi (BSI) .....	57

## DAFTAR LAMPIRAN

No		Halaman
1.	Pembuatan Medium Murashige dan Skoog's (MS).....	67

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara pusat dan asal-usul tanaman pisang. Jumlah dan jenis pisang di Indonesia sangat melimpah baik yang sudah dibudidayakan maupun yang liar. Sebanyak lebih dari 15 varietas pisang liar telah ditemukan di Indonesia (Nasution, 1991; 1993), dan dapat ditemukan mulai dari Lembah Alas, Aceh Tenggara sampai ke daerah Papua bagian utara.

Pisang liar di Indonesia belum mempunyai nilai ekonomi yang tinggi, tunas atau bonggol pisang muda pisang liar selama ini diberikan sebagai pakan ternak pengganti rumput (Wina, 2001). Daunnya digunakan sebagai pembungkus makanan, dan tangkai daun serta serat upih daun yang kering digunakan sebagai pengikat. Masyarakat Jawa Tengah menggunakan pelepah daun kering sebagai pembungkus daun tembakau, sedangkan di Sumatera Utara digunakan sebagai pembungkus gula aren (Hanim, 2011). Pelepah batang dapat digunakan sebagai pelindung bibit tanaman, namun jika dikaji lebih jauh, potensi yang paling utama dari pisang liar adalah sebagai sumber plasma nutfah karena dapat digunakan untuk materi pemuliaan tanaman pisang.

Pisang yang ada pada saat ini berasal dari pisang liar *Musa acuminata* Colla dan *Musa balbisiana* Colla, kedua pisang liar ini merupakan nenek moyang pisang-pisang budidaya. Menurut Asif *et al.*, (2000) pusat

diversitas *Musa acuminata* dan hibridanya berada di Malaysia dan Indonesia. Kedua spesies alami tersebut dan hibrida kompleksnya menghasilkan kombinasi jenis pisang yang dikonsumsi saat ini (Valmayor *et al.*, 2000; Ploetz *et al.*, 2007), dan jenis pisang penghasil serat yaitu pisang abaca (*Musa textilis* Nee) (Ploetz *et al.*, 2007).

*Musa acuminata* Colla merupakan jenis pisang yang paling penting diantara genus *Musa*, dikarenakan pisang jenis ini sangat berhubungan erat dengan jenis pisang yang ada di Indonesia (Nasution, 1991; 1993). Beragamnya pisang liar di Indonesia menunjukkan keanekaragaman genetik yang ada didalam jenis tersebut sangat tinggi, sehingga menjadikan pisang liar digunakan sebagai sumber plasma nutfah dalam usaha untuk perakitan varietas unggul (Mulyanti *et al.*, 2008). Keanekaragaman genetik tersebut harus dipertahankan dan diperluas keberadaannya, sehingga bahan tanaman untuk perakitan varietas baru dan unggul dapat selalu tersedia.

Pisang liar merupakan pisang diploid ( $2n = 2x$ ) yang beberapa diantaranya tahan terhadap penyakit layu. Pisang liar dapat digunakan sebagai plasma nutfah karena memiliki polen fertil yang dapat disilangkan secara konvensional, untuk mendapatkan pisang kultivar baru. Kendala dalam perbaikan kultivar pisang secara konvensional adalah adanya inkompatibilitas dalam pembentukan biji normal, endosperm yang rusak (Uma *et al.*, 2011), dan kendala dalam penyemaian biji hasil silangan (Harry *et al.*, 2010; Rashid *et al.*, 2013). Biji pisang liar walaupun memiliki embrio yang lengkap, endosperm dan testa, seringkali gagal untuk berkecambah (Nagano *et al.*, 2008; Uma *et al.*, 2011). Kegagalan embrio untuk

berkecambah dikarenakan adanya aktivasi senyawa inhibitor pada tahap pematangan biji yang menyebabkan adanya dormansi pada testa biji (Reed, 2004; Uma *et al.*, 2011).

Penyemaian biji pisang secara *in vivo* membutuhkan waktu yang cukup lama berkisar 3-6 minggu (Uma *et al.*, 2011), dan seringkali memberikan persentase tumbuh yang rendah, bergantung kematangan buah pada saat dipanen, usia fisiologis benih, serta masa penyimpanan (Reed 2004; Harry *et al.*, 2010; Rashid *et al.*, 2013). Persentase tumbuh yang rendah ini terjadi karena embrio pada biji sering berada pada keadaan yang tidak memungkinkan untuk tumbuh secara *in vivo*. Untuk mengatasi hal tersebut maka embrio dapat diselamatkan dan ditanam secara *in vitro* dalam media buatan sehingga dapat berkecambah dan menghasilkan tanaman utuh.

Teknik untuk mengisolasi dan menumbuhkan embrio baik yang belum matang (*immature*) maupun sudah matang (*mature*) langsung dalam medium kultur secara *in vitro* dikenal sebagai kultur embrio (*embryo culture*) (Bhojwani dan Razdan, 1983; Pierik, 1987; Reed 2004). Kultur embrio bertujuan untuk mencegah kehilangan biji setelah persilangan, pematangan dormansi biji dan memperpendek siklus pemuliaan tanaman (Pietik, 1987; Haslam dan Yeung, 2011). Kultur embrio juga digunakan untuk mendapatkan benih dengan viabilitas yang tinggi dan merupakan suatu teknik untuk penyelamatan embrio (*embryo rescue*). Menurut Bakry, (2008) dan Rashid *et al.*, (2013) pada tanaman pisang kultur embrio digunakan untuk membantu perbanyakan tanaman yang persentase perkecambahannya rendah.

## **B. Perumusan Masalah**

Perumusan masalah yang dapat dibuat adalah:

1. Belum adanya data kongkrit mengenai teknik penyimpanan benih pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution yang dapat dimanfaatkan sebagai solusi konservasi yang baik.
2. Adakah pengaruh penyimpanan terhadap perkecambahan pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution?
3. Bagaimana kemampuan regenerasi dan multiplikasi tunas pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution setelah masa penyimpanan?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui jenis organ sumber eksplan yang efektif untuk memperpanjang masa simpan embrio pisang liar.
2. Mengetahui suhu penyimpanan yang efektif untuk memperpanjang masa simpan embrio pisang liar.
3. Mengetahui lama penyimpanan yang efektif untuk memperpanjang masa simpan embrio pisang liar
4. Mengetahui kemampuan perkecambahan embrio pisang dan kemampuan regenerasi tunas dan atau kalus yang terbentuk setelah inisiasi pada embrio zigotik pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.).

#### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah sebagai alternatif konservasi dalam penyelamatan plasma nutfah pisang liar pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution, serta mengetahui apakah penyimpanan organ sumber eksplan pada suhu dan waktu tertentu berpengaruh terhadap perkecambahan dan pertumbuhan embrio zigotik pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution. Selain itu, dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat diketahui teknik penyimpanan embrio pisang yang efektif dan efisien.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Kajian Pustaka**

##### **1. Sejarah Penyebaran Tanaman Pisang**

Pisang yang ada sekarang diduga merupakan hasil persilangan alami dari pisang liar dan telah mengalami domestikasi, Satuhu dan Supriyadi (1990) menyebutkan pusat keanekaragaman tanaman pisang berada di kawasan Asia Tenggara. Para ahli botani memastikan daerah asal tanaman pisang adalah India, dan wilayah biogeografi Malesia (Jazirah Malaya, dan Filipina). Penyebaran tanaman pisang dari daerah asal ke berbagai wilayah negara di dunia terjadi mulai tahun 1000 SM. Penyebaran pisang di wilayah timur antara lain melalui Samudera Pasifik dan Hawaii, sedangkan penyebaran pisang di wilayah barat melalui Samudera Hindia, Afrika sampai pantai timur Amerika.

Pada sekitar tahun 500, Indonesia berjasa menyebarkan tanaman pisang ke pulau Madagaskar. Pada tahun 650, saudagar Islam di negara Arab telah menyebarkan tanaman pisang di sekitar laut tengah (Satuhu dan Supriyadi, 1990). Menurut Rumphius dalam bukunya *Herbarium Amboinense* yang diterbitkan tahun 1653, dikenal beberapa jenis pisang hutan dan pisang budidaya yang terdapat di Kepulauan Maluku (Rukmana, 1999). Pengembangan budidaya pisang pada mulanya terpusat di daerah Banyuwangi, Palembang, dan beberapa daerah di Jawa Barat (Eriansyah *et al.*, 2014).

## 2. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pisang

Menurut sistem binomial Linneus taksonomi tanaman pisang (*Musa*) yang dikenal selama ini adalah *Musa paradisiaca* ('French' plantain) dan *Musa sapientum* ("Silk"). Namun dengan semakin banyaknya jenis-jenis pisang yang telah teridentifikasi dan kemajuan teknologi karakterisasi (morfologi, biokimia dan molekuler), nama spesies *paradisiaca* sudah tidak digunakan lagi. Pisang termasuk famili Musaceae dari ordo Scitaminae dan terdiri dari dua genus, yaitu genus *Musa* dan *Ensete*. Genus *Musa* terbagi dalam empat seksi (*section*) yaitu *Australimusa*, *Callimusa*, *Musa* (*Eumusa*) dan *Rhodochlamys* (Ploetz *et al.*, 2007). Seksi *Australimusa* dan *Eumusa* merupakan jenis pisang yang dapat dikonsumsi, baik segar maupun olahan. Buah pisang yang dimakan segar sebagian besar berasal dari seksi *Eumusa*, yaitu *Musa acuminata* (AA) dan *Musa balbisiana* (BB) (Valmayor *et al.*, 2000; Ploetz *et al.*, 2007).

Pisang merupakan tanaman yang hanya sekali berbuah, termasuk dalam golongan terna monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu (*pseudostem*). Batang semu ini merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun secara rapat teratur. Bagian bawah batang pisang menggelembung berupa umbi yang disebut bonggol. Pucuk lateral (*sucker*) muncul dari kuncup pada bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Percabangan tanaman bertipe simpodial dengan meristem ujung memanjang dan membentuk bunga lalu buah (Tjitrosoepomo, 2000).

Pisang mempunyai bunga majemuk, 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, disebut sebagai jantung pisang. Tiap kelompok bunga disebut sisir yang tersusun dalam tandan (Tjitrosoepomo, 2000).

Buah pisang termasuk buah buni, bulat memanjang, membengkok, tersusun seperti sisir dua baris, dengan kulit berwarna hijau, kuning, atau coklat. Tiap kelompok buah (sisir) terdiri dari beberapa buah pisang. Berbiji atau tanpa biji. Bijinya kecil, bulat, dan berwarna hitam. Buah dapat dipanen setelah 80-90 hari sejak keluarnya jantung pisang. Buah pisang tersusun dalam tandan. Ukuran buah pisang bervariasi, buah 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).

Buah pisang yang dikonsumsi pada umumnya tidak berbiji, dan memiliki set kromosom triploid ( $2n = 3x$ ), buah triploid ini merupakan hasil dari proses pembuahan tanpa menghasilkan biji disebut partenokarpi sehingga terjadi sterilitas pada buah (Nasution, 1991). Pisang batu (klutuk) dan pisang mas bersifat diploid ( $2n = 2x$ ). Pisang diploid yang tidak berbiji terjadi karena pada saat pembuahan tidak terjadi pollinasi (partenokarpi) dan karena ketidakseimbangan jumlah kromosom dan perbedaan kromosom homolog (sterilitas) (Rukmana, 1999; Nasution, 1991; Ploetz *et al.*, 2007).

Kedudukan tanaman pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan (Nasution, 1991) adalah:

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Famili : Musaceae

Genus : *Musa*

Spesies : *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution



Gambar 1. Pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa*. (A). Tanaman pisang di lapangan; (B). Tandan pisang; (C). Daging buah dan biji pisang.

Pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc) Nasution memiliki nama lokal (vernakular) pisang hutan (Indonesia), pisang monyet (Indonesia) (Nasution, 1991). Batang dengan tinggi 4-5 m dengan diameter 14-15 cm. Daun lanset dengan panjang 3.2-3.3 m dengan lebar 80-90 cm dan berwarna hijau kekuningan. Tandan bunga tumbuh agak mendatar dengan panjang mencapai 1.4 m yang terdiri atas bunga betina di bagian pangkal dan bunga

jantan di bagian ujung tandan. Pada satu tandan terdapat 10-11 sisir dengan jumlah buah pada sisir bagian pangkal tandan antara 20-21 buah dan jumlah buah pada sisir ujung tandan antara 12-14 buah. Panjang buah 8-9 cm dengan diameter 1.8-2 cm. Jumlah biji pada buah berkisar 100-110 biji. Biji berwarna hitam, berbentuk bulat pipih bersudut, berukuran 5-6 mm, biji keras (Nasution, 1991).

### **3. Kultur Jaringan Tanaman**

Kultur jaringan (kultur *in vitro*) adalah suatu teknik untuk mengisolasi, sel, protoplasma, jaringan, dan organ dan menumbuhkan bagian tersebut pada nutrisi yang mengandung zat pengatur tumbuh tanaman pada kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman sempurna (George dan Sherrington, 1984; Zulkarnain, 2009). Faktor pertumbuhan yang diperlukan dalam kultur jaringan tanaman adalah faktor bahan tanaman (spesies, jenis jaringan, fase perkembangan tanaman induk, ukuran eksplan, musim, keadaan fisiologis tanaman induk dan genetik eksplan) dan faktor medium kultur (pH, lingkungan fisik, arang aktif, persenyawan organik kompleks) (George dan Sherrington, 1984; Hartmann *et al.*, 2002).

Medium kultur jaringan merupakan faktor penentu dalam perbanyakan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media kultur menyediakan unsur hara baik makro maupun mikro, sumber vitamin dan asam amino. Sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh, senyawa organik tambahan seperti air kelapa, ekstrak

buah (Katuuk, 1989; Hartmann *et al.*, 2002). Tahapan yang dilakukan dalam perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah: (1) Pembuatan media, (2) Inisiasi, (3) Sterilisasi, (4) Multiplikasi, (5) Pengakaran dan (6) Aklimatisasi (Sugito dan Nugroho, 2004). Pada saat ini teknik kultur jaringan digunakan bukan hanya sebagai sarana untuk mempelajari aspek-aspek fisiologi dan biokimia tanaman saja, akan tetapi sudah berkembang menjadi metoda untuk berbagai tujuan, salah satunya untuk mikropropagasi (perbanyak tanaman secara mikro).

Teknik kultur jaringan telah digunakan dalam membantu produksi tanaman dalam skala besar melalui mikropropagasi atau perbanyak klonal dari berbagai jenis tanaman. Jaringan tanaman dalam jumlah yang sedikit dapat menghasilkan ratusan atau ribuan tanaman secara terus menerus, dan jutaan tanaman dengan sifat genetik yang sama dapat diperoleh hanya dengan berasal dari satu mata tunas (Bhojwani, 1990). Teknik ini sudah berhasil dilakukan pada berbagai jenis pisang meja (*dessert banana*) maupun pisang olahan (*cooking banana*), diantaranya pada pisang Cavendish (Hwang dan Ko, 2004; Smith *et al.*, 2006; Raja Nangka (Rainiyati *et al.*, 2007), Raja Bulu dan Tanduk (Kasutjaningati *et al.*, 2010), Ampyang (Indrayanti *et al.*, 2011), Barangan (Jafari *et al.*, 2011), Basrai, Shirmanti dan Ardhpuri (Bhosale *et al.*, 2011), dan Matoke (Demissie, 2013).

#### **4. Penyelamatan Embrio dengan Kultur Embrio Zigotik**

Kultur embrio adalah kultur jaringan tanaman dengan menggunakan eksplan berupa embrio tanaman. Penyelamatan embrio (*embryo rescue*)

dengan kultur embrio zigotik (*zygotic embryo culture*) merupakan salah satu teknik dalam kultur jaringan jika benih sulit untuk berkecambah secara alamiah. Menurut Reed (2004), penyelamatan embrio dengan kultur embrio zigotik mengacu pada sejumlah teknik secara *in vitro* yang bertujuan untuk merangsang perkembangan embrio yang rapuh memiliki viabilitas tinggi dan menjadi tanaman.

Teknik penyelamatan embrio (*embryo rescue*) mulai dikembangkan tahun 1900an yang memungkinkan embrio yang belum matang diselamatkan untuk membentuk tanaman baru. Teknik ini biasanya dilakukan untuk benih tanaman yang memiliki masa dormansi yang panjang. Pada saat ini juga berkembang teknik penyelamatan embrio yang telah terserbuki tapi tidak mampu berkecambah (George dan Sherrington, 1984).

Kultur embrio zigotik atau kultur embrio adalah kultur jaringan tanaman dengan menggunakan eksplan berupa embrio zigotik tanaman. Pada teknik ini embrio tidak ditujukan untuk menumbuhkan kalus dari embrio yang digunakan, tapi embrio diharapkan tetap mempertahankan integritasnya dan tumbuh menjadi tanaman. Menurut George dan Sherrington (1984) dan Bakry (2008), kultur embrio ditujukan untuk membantu perkecambahan embrio menjadi tanaman lengkap, dan pada saat ini kultur embrio secara *in vitro* telah digunakan untuk mempelajari perkembangan embrio, dimana hal tersebut sulit dilakukan jika embrio ditumbuhkan secara *in vivo* (Reed 2004; Haslam dan Yeung, 2011).

Menurut Haslam dan Yeung, (2011), inkompatibilitas antar spesies atau kultivar yang timbul setelah pembentukan embrio, juga dapat menghambat

perkembangan endosperm yang disebabkan oleh laju pembelahan sel yang rendah, sehingga mengakibatkan terjadinya degradasi jaringan endosperma yang sudah terbentuk (Hadley dan Openshaw, 1980). Embrio yang kekurangan cadangan makanan akan mengakibatkan aborsi embrio. Embrio seperti ini dapat diselamatkan dengan cara mengkulturkan embrio yang belum matang dan menumbuhkannya pada media kultur yang sesuai.

## 5. Aplikasi Kultur Embrio

Menurut Bhojwani dan Razdan (1983), aplikasi lain kultur embrio secara *in vitro* adalah untuk menyelamatkan embrio agar tidak mengalami kematian akibat serangan hama dan penyakit serta kematian embrio akibat kekurangan bahan makanan untuk pertumbuhannya (Haslam dan Yeung, 2011). Kultur embrio dewasa ini dilakukan untuk berbagai tujuan antara lain:

### a. *Memperoleh hibrida interspesifik dan intergenerik*

Penyelamatan embrio banyak dilakukan untuk memperoleh hibrida interspesifik dan intergenerik, seperti yang telah dilakukan pada embrio tanaman pisang (Bhojwani, 1990; Bakry 2008; Harry *et al.*, 2010), anggrek (Dwiyani, 2012), kacang tanah (Srilestari, 2005) dan anggur (Ji *et al.*, 2013).

### b. *Pematahan dormansi.*

Beberapa tanaman memiliki masa dormansi yang panjang seperti manggis (Hidayat, 2005) dan pir (Jana, 2013). Dormansi dapat di bagi dua yaitu berdasarkan fisik dan fisiologis. Dormansi fisik adalah dormansi yang di akibatkan oleh fisik dari benih, sedangkan dormansi fisiologis adalah dormansi yang disebabkan oleh sejumlah mekanisme. Dormansi fisik dapat

dipatahkan dengan cara mengisolasi embrio dari biji dan mengecembahkannya, sedangkan dormansi fisiologis dapat dipecahkan dengan penambahan giberellin ( $GA_3$ ) ke dalam media kultur, seperti pada tanaman pir (Jana, 2013). Hasil penelitian Sutanto *et al.* (2000), Uma *et al.* (2011) dan Rashid *et al.* (2013) pada pisang liar memperlihatkan bahwa dormansi dapat dipatahkan melalui kultur embrio.

Dormansi pada biji dapat menghambat program pemuliaan tanaman, selain itu adanya jenis tanaman yang bisa menghasilkan biji namun tidak dapat dikecambahkan secara normal di alam misalnya pada *Musa balbisiana*, atau memiliki persentase perkecambahan yang rendah seperti pada *Musa acuminata ssp. malaccensis* (Rashid *et al.*, 2013), dengan kultur embrio (*embryo culture*) dapat mempercepat perkecambahan embrio sehingga bisa mempercepat proses pemuliaan tanaman.

*c. Produksi tanaman haploid lewat penyelamatan embrio hasil persilangan antar jenis tertentu.*

Secara konvensional tanaman haploid dapat diperoleh melalui silangan antar spesies tertentu, namun persilangan ini mengakibatkan embrio (buah) gugur sebelum buah tersebut dewasa. Hasil silangan ini tidak akan diperoleh apabila buah muda tersebut tidak diselamatkan dengan cara memanennya sebelum gugur, kemudian mengecambahkan embrio muda ini secara *in vitro* (Sutanto *et al.*, 2000).

*d. Mencegah gugurnya embrio pada buah.*

Gugurnya buah sebelum buah matang sangat umum ditemukan pada persilangan. Pada buah bertekstur keras (apel dan pir), transportasi air dan hasil fotosintesa dari daun ke buah terhambat, sehingga mengakibatkan terbentuknya lapisan absisi pada tangkai buah. Terbentuknya lapisan absisi ini mengakibatkan buah tidak memperoleh nutrisi yang dibutuhkan untuk perkembangannya, sehingga buah dengan embrio yang terbentuk gugur sebelum dewasa.

Teknik *embryo rescue* umumnya dilakukan untuk menyelamatkan hasil silangan dengan cara memanen buah muda hasil persilangan sebelum buah gugur kemudian mengecembahkannya secara *in vitro*. Teknik *embryo rescue* ini telah berhasil dilakukan pada embrio tanaman pisang liar *Musa acuminata* ssp. *burmanicoides* (Sutanto *et al.*, 2000), beberapa pisang hasil silangan *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* (Bakry, 2008); pisang liar *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* (Rashid *et al.*, 2011), dan *Musa acuminata* cv Jajee (AA) (Uma *et al.*, 2011).

*e. Mencegah kehilangan biji setelah persilangan.*

Persilangan antar varietas tanaman dalam satu spesies seringkali menghasilkan buah dengan endosperm yang miskin nutrisi atau embrio lemah dan berukuran kecil. Biji-biji dengan kondisi demikian seringkali sulit bahkan tidak bisa dikecambahkan dalam kondisi normal. Teknik kultur embrio dapat digunakan untuk membantu perkecambahannya (Uma *et al.*, 2012).

## 6. Aspek Kultur Embrio

Aspek utama dalam teknik kultur embrio untuk penyelamatan embrio (*embryo culture / embryo rescue*) adalah komposisi media kultur dan eksisi embrio (Bhojwani dan Razdan, 1983; Uma *et al.*, 2011), serta tahapan pematangan embrio (Sharma *et al.*, 1996). Media dan kebutuhan nutrisi untuk pengecambahan embrio cukup sederhana dibandingkan dengan media untuk tujuan teknik kultur yang lain. Media diperlukan untuk menggantikan peranan endosperm untuk mendukung perkecambahan embrio dan perkembangan tanaman muda, mengingat embrio yang ditanam umumnya telah memiliki radicle (bakal akar) dan plumula (bakal daun).

Media yang umum digunakan untuk pengecambahan embrio adalah media Knudson, Vacin dan Went (VW), Media Murashige dan Skoog (MS) dalam setengah ( $\frac{1}{2}$ ) konsentrasi garam-garamnya. Pengecambahan embrio dewasa umumnya tidak ditambahkan vitamin, namun sumber karbon tetap diperlukan meskipun dalam konsentrasi yang lebih rendah ( $20 \text{ gL}^{-1}$ ). Menurut Bakry (2008), Uma *et al.* (2012) dan Rashid *et al.* (2013), untuk perkecambahan embrio muda diperlukan media yang lebih kompleks dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Menurut Sipek *et al.* (2011) pada kondisi optimal laju perkecambahan akan meningkat 95% melalui kultur embrio. Untuk tujuan pemuliaan tanaman pisang, teknik ini dapat meningkatkan populasi anakan, dan memungkinkan evaluasi bahan tanaman yang berasal dari kombinasi tetua dimana benih gagal berkecambah melalui prosedur penanaman secara tradisional.

Menurut hasil penelitian Bakry (2008), embrio pisang liar dapat dikecambahkan pada media Murashige dan Skoog dengan penambahan BAP  $1.0 \text{ mgL}^{-1}$  dan IAA  $0.4 \text{ mgL}^{-1}$ . Hasil penelitian Rashid *et al.* (2013) menunjukkan bahwa perkecambahan embrio biji pisang liar *M. acuminata* ssp. *malaccensis* secara *in vitro* pada media MS dengan penambahan BAP 0.2 dan 0.4  $\mu\text{M}$  memiliki persentase perkecambahan yang lebih tinggi, berkisar 46.0 – 63.0%, sedangkan embrio yang dikecambahkan secara *in vivo* pada media perkecambahan campuran tanah dan pasir (1.4% : 1.1%) memiliki laju perkecambahan yang sangat rendah, yaitu sebesar 7.6%.

## 7. Tahapan dalam Kultur Embrio

Pada prinsipnya kultur embrio melibatkan 3 tahapan, yaitu sterilisasi eksplan, isolasi dan penanaman embrio dan aklimatisasi.

### (1). Sterilisasi eksplan

Sterilisasi bahan tanaman (eksplan) yang digunakan untuk kultur embrio merupakan tahapan kritis di dalam kultur jaringan. Pada prinsipnya embrio tanaman berada dalam keadaan steril. Hal ini disebabkan karena embrio berada di dalam biji, terlindung oleh jaringan-jaringan buah, antara lain oleh kulit buah, daging buah dan kulit biji. Keadaan ini menyebabkan pada beberapa komoditas seperti anggrek, sterilisasi embrio tidak perlu dilakukan.

Sterilisasi permukaan perlu dilakukan pada buah ataupun biji dengan mencuci buah atau biji dibawah air mengalir, dan disimpan dalam laboratorium untuk mencegah benih mengering (Bakry, 2008), sehingga tidak

terdapat sumber kontaminan pada waktu isolasi embrio (Bhojwani dan Razdan, 1983). Sterilisasi dapat dilakukan dengan pembakaran buah atau biji, atau dengan sterilan kimia seperti sodium hypochlorite (NaOCl) dengan konsentrasi cukup tinggi (>2 %). Sterilisasi biji pisang dapat dilakukan dengan menggunakan 1.4% (v/v) NaOCl dan 70% (v/v) ethanol (Asif *et al.*, 2001), atau 1% (w/v) larutan perak nitrat (AgNO<sub>3</sub>) dan 0.5% (v/v) sodium chlorite (NaCl) (Bakry, 2008; Harry *et al.*, 2010).

## (2) *Isolasi dan penanaman embrio*

Pemotongan biji merupakan suatu tahapan untuk memisahkan embrio dari jaringan sekitarnya. Embrio yang telah matang dapat diisolasi secara aseptik dengan memisahkan embrio pada biji yang telah terbuka (Bhojwani dan Razdan, 1983). Isolasi embrio terutama untuk embrio berukuran kecil seringkali memiliki kendala, sehingga isolasinya harus dilakukan dibawah mikroskop. Isolasi dilakukan secara hati-hati agar embrio tidak rusak dan kehilangan salah satu atau lebih bagian-bagiannya (*radicula, plumula, hypocotil, coleoptyl*). Selain itu harus tetap dijaga agar isolasi dilakukan dalam kondisi tetap aseptis.

Embrio yang telah diisolasi selanjutnya ditanam pada media yang telah dipersiapkan dan ditumbuhkan dalam kondisi gelap selama 14 hari (Sugito dan Nugroho, 2004) atau sampai embrio berkecambah pada suhu 25-27°C (Reed, 2004; Bakry, 2008), setelah berkecambah selanjutnya dipindahkan dalam ruang kultur dengan pencahayaan untuk merangsang sintesa klorofil. Menurut Sugito dan Nugroho (2004), embrio kadangkala perlu perlakuan dingin (vernalisasi, 4°C) untuk memecah dormansi pada biji.

### (3) *Aklimatisasi*

Aklimatisasi dilakukan setelah embrio berkecambah dan diperoleh plantlet yang siap untuk dipindahkan ke lapangan. Teknik aklimatisasi untuk plantlet hasil regenerasi kultur embrio pada prinsipnya sama dengan aklimatisasi plantlet hasil regenerasi dari teknik kultur jaringan lainnya.

## **8. Penyimpanan Buah dan Biji**

Untuk mempertahankan kondisi buah dan biji setelah panen perlu dilakukan penyimpanan. Penyimpanan dilakukan agar embrio yang akan ditanam tidak mengalami kerusakan dan masih dapat berkecambah. Penyimpanan buah dan biji bergantung pada suhu, kelembaban dan organ yang disimpan.

### *a. Suhu*

Penyimpanan buah-buahan memerlukan temperatur yang optimum. Buah yang berasal dari daerah tropis dan subtropis (alpukat dan pisang) merupakan buah yang sensitif terhadap temperatur rendah (Wang 1991; Mangrich dan Saltveit, 2000). Buah dan biji akan mengalami kerusakan setelah periode penyimpanan pada suhu dingin dibawah  $10^{\circ}$ - $15^{\circ}$ C, namun diatas titik beku. Penyimpanan dibawah  $15^{\circ}$ C dan diatas titik beku bahan dikenal sebagai penyimpanan dingin (*Chilling storage*) (Mangrich dan Saltveit, 2000). Pada tanaman pisang kerusakan dapat terjadi pada temperatur kritis ( $13^{\circ}$ C), dimana buah akan berwarna kusam, perubahan cita rasa dan tidak bisa matang.

Kondisi optimum bagi buah pisang adalah 11°- 20°C (Hardaningsih dan Alfi, 2010). Pada kondisi ini metabolisme oksidatif seperti respirasi berjalan lebih sempurna. Buah pisang dapat disimpan dalam lemari pendingin untuk beberapa hari untuk menghambat pematangan buah, meskipun kulit buah akan mengalami pencoklatan namun secara keseluruhan buah tetap dapat dikonsumsi. Buah yang sensitif terhadap suhu dingin membutuhkan suhu penyimpanan setelah panen paling tidak 10°C lebih tinggi dari suhu penyimpanan 0°C yang direkomendasikan pada banyak tanaman pangan yang toleran terhadap suhu dingin (Mangrich dan Saltveit, 2000). Penyimpanan pada suhu 0°–5°C dapat digunakan untuk spesies yang toleran terhadap suhu dingin, namun untuk spesies yang sensitif penyimpanan dilakukan pada suhu berkisar 15°–20°C (Engelman, 1991; Kaviani, 2011). Pada buah pir (*Pyrus communis*) dan spesies lainnya perlakuan standar penyimpanan pada 4°C dengan fotoperiode 16 jam selama 12-18 bulan (Bell dan Reed dalam Kaviani, 2011).

*b. Organ yang disimpan*

Menurut Nagano *et al.* (2008), pada spesies pisang liar penyimpanan dalam bentuk biji lebih baik daripada bonggol (*suckers*), karena penanganan karantina benih yang lebih mudah, mudah disimpan dan dikecambahkan bila dibutuhkan. Bakteri, fungi patogen dilaporkan tidak menular ke biji, demikian pula penyakit yang disebabkan oleh *Banana Bouchy Top Virus* (BBTV) dan virus lainnya yang tidak dapat ditransmisikan melalui biji pisang.

### c. Kelembaban

Biji-bijian dapat diklasifikasikan sebagai biji toleran, dimana biji memiliki kemampuan mempertahankan viabilitasnya setelah dikeringkan dalam kelembaban yang rendah (kelembaban 1-10%) yang dikenal sebagai biji ortodoks (*orthodox seeds*) seperti biji pisang, atau biji yang sensitif dimana biji kehilangan viabilitasnya setelah dikeringkan dibawah batas kritis tertentu pada setiap spesies (kelembaban 12-30%), yang dikenal sebagai biji rekalsitran (*recalcitrant seeds*) (Kaviani, 2011).

Selain penyimpanan secara konvensional, untuk penyimpanan benih juga dapat digunakan teknik kriopreservasi. Teknik kriopreservasi merupakan teknik penyimpanan pada suhu sangat rendah dengan menggunakan nitrogen. Pembelahan sel dan proses metabolisme di dalam sel, jaringan, atau organ tanaman dapat dihentikan dalam waktu yang tidak terbatas melalui kriopreservasi (Bhojwani dan Razdan, 1983). Kondisi suhu penyimpanan secara kriopreservasi dalam nitrogen sangat rendah, yaitu  $-160$  –  $-180$  °C pada fase uap, bahkan sampai  $-196$  °C pada fase cair dan  $-200$  °C pada fase terpadatkan (*solidified*). Teknik kriopreservasi sangat potensial dikembangkan untuk penyimpanan plasma nutfah tanaman dalam jangka panjang hingga puluhan tahun. (Roostika *et al*, 2013).

## B. Kerangka Berpikir

Pisang liar merupakan pisang diploid ( $2n = 2x$ ) yang beberapa diantaranya tahan terhadap penyakit layu, selain itu pisang liar juga dapat digunakan sebagai plasma nutfah karena memiliki polen yang nantinya dapat

disilangkan dengan pisang lain untuk mendapatkan pisang kultivar baru yang dapat menurunkan sifat pisang liar tersebut, yaitu tahan terhadap penyakit layu. Kebanyakan pisang liar hanya tumbuh di tempat tertentu contohnya *Musa acuminata* colla var. *sumatrana* yang hanya berada di pulau Sumatera dan *Musa acuminata* colla var. *microcarpa* yang berada di Kalimantan yang keberadaannya perlu dipertahankan.

Pemahaman masyarakat yang kurang terhadap pentingnya pisang liar sebagai plasma nutfah menyebabkan semakin berkurangnya keberadaan pisang liar. Banyak masyarakat yang hanya memanfaatkan nilai ekonomi pisang liar tetapi tidak menanamnya kembali, sejauh ini pisang liar dapat bertahan karena pisang liar memiliki biji yang didalamnya terdapat embrio. Embrio akan tumbuh saat berada di tanah meskipun persentase pertumbuhannya hanya sedikit, tinggi rendahnya persentase pertumbuhan embrio tergantung pada kualitas embrio. Meskipun kultur embrio dan kultur jaringan telah berhasil dilakukan pada tanaman pisang dan saat ini telah ada peneliti yang melakukan kultur embrio pisang liar yang memberikan hasil jauh lebih baik dibanding pertumbuhan embrio di tanah (Sutanto *et al.*, 2000), untuk metoda penyimpanan benih yang efektif dan efisien hingga saat ini belum banyak berkembang.

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **A. Tujuan Operasional**

1. Menghitung kemampuan perkecambahan pada embrio pisang yang sebelumnya telah dilakukan perlakuan penyimpanan organ tanaman (buah dan biji) pada 3 suhu berbeda ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$  dan  $32^{\circ}$  –  $40^{\circ}\text{C}$ ) dengan 3 jangka waktu penyimpanan (4-10 hari, 1 dan 2 bulan).
2. Menghitung persentase regenerasi tunas atau kalus yang terbentuk setelah inisiasi.
3. Menghitung jumlah tunas, kalus, kalus bertunas dan jumlah daun yang terbentuk setelah inisiasi dan setelah regenerasi

#### **B. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Jakarta yang berada di Kampus B, Rawamangun Jakarta Timur. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2014 - Mei 2015.

#### **C. Bahan dan Metode Penelitian**

Bahan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini adalah pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution yang diperoleh dari Lahan Penduduk di daerah Aripan, Kabupaten Solok, Sumatera Barat. Diagram alir (*road map*) penelitian disajikan pada Gambar 2, dan

serangkaian percobaan yang akan dilakukan untuk mencapai tujuan yang diinginkan adalah sebagai berikut:

**Percobaan 1. Kultur embrio dan kemampuan tumbuh embrio pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* setelah masa penyimpanan.**

Percobaan pertama ini dilakukan dengan penanaman embrio pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* pada media buatan, yang sebelumnya telah dilakukan perlakuan penyimpanan organ tanaman (buah dan biji), pada 3 (tiga) suhu berbeda dengan 3 (tiga) jangka waktu penyimpanan yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Rancangan percobaan kultur embrio dan penggunaan berbagai perlakuan penyimpanan pada pisang liar *M. acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) Nasution

Organ tanaman	Masa Penyimpanan (bulan)	Suhu		
		-20° – -25°C	1° – 5°C	32° – 40°C
Buah	0	A <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	A <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	A <sub>0</sub> S <sub>3</sub>
	1	A <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> S <sub>3</sub>
	2	A <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> S <sub>3</sub>
Biji	0	B <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	B <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	B <sub>0</sub> S <sub>3</sub>
	1	B <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	B <sub>1</sub> S <sub>3</sub>
	2	B <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	B <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	B <sub>2</sub> S <sub>3</sub>

Keterangan: Masa penyimpanan 0 bulan dilakukan maksimum sampai 10 hari setelah buah dipetik dari lapangan.

Bagian tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan kultur embrio adalah buah dan biji pisang *Musa acuminata* Colla Var. *microcarpa*. Penelitian terdiri dari 3 faktor yaitu bahan tanaman (2), suhu penyimpanan (3) dan lama penyimpanan (3). Faktor yang diuji adalah:

Jenis organ tanaman : Buah dan Biji  
Suhu penyimpanan :  $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$  dan  $32^{\circ}$  –  $40^{\circ}\text{C}$   
Lama penyimpanan : 0, 1 dan 2 bulan

Rancangan percobaan acak lengkap (RAL) dengan pola faktorial, jumlah perlakuan 18 dengan 20 ulangan. Sehingga jumlah unit percobaan pada tahapan awal sebanyak 360 unit percobaan. satu unit percobaan ditanam 5 embrio, sehingga total embrio pisang yang ditanam sebanyak 1800 embrio.

Embrio pisang ditumbuhkan secara *in vitro* pada media tanam Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan  $2.25 \text{ mgL}^{-1}$  BAP (*Benzyl amino purine*) dan  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$  IAA (*Indole-3-acetic acid*). Parameter yang diukur adalah waktu (hari) berkecambah embrio yaitu saat radicula tumbuh, persentase perkecambahan dan jumlah tunas atau kalus yang terbentuk.

## **Percobaan 2. Regenerasi Tunas dan Multiplikasi Tunas Pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa***

Regenerasi dan multiplikasi tunas dilakukan secara bertingkat, dimana tunas yang terbentuk disubkultur setiap 4-5 minggu ke media MS dengan konsentrasi BAP yang lebih tinggi ( $2.25 \text{ mgL}^{-1}$  BAP  $\rightarrow$   $4.5 \text{ mgL}^{-1}$  BAP), sedangkan IAA tidak berbeda untuk setiap subkultur, juga dilakukan penambahan  $0.22 \text{ mgL}^{-1}$  TDZ. Tunas ditumbuhkan dalam ruang kultur pada suhu  $16^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Parameter yang diukur adalah jumlah tunas dan daun yang terbentuk pada setiap tahapan subkultur (Strosse, 2004). Apabila pada tahap pertama

embrio terbentuk kalus maka parameter yang diukur adalah jumlah kalus yang membentuk tunas.



Gambar 2. Diagram alir penelitian

#### D. Prosedur Kerja

##### 1. Peralatan Penelitian dan Bahan Kimia Medium Dasar.

Alat-alat yang digunakan untuk sterilisasi adalah transfer boks, oven, dan autoklaf. Peralatan untuk pembuatan media adalah timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirer*, botol kultur, erlenmeyer 1000 mL, *beaker glass* 1000 mL, gelas ukur 100 mL, pipet ukur (1 mL, 5 mL dan 10 mL), *bulb*, spatula, aluminium foil, pH indikator universal, dan pipet tetes, sedangkan peralatan untuk penanaman eksplan adalah pinset panjang, *scapel* dan pisau dan mata pisau, cawan petri dan lampu spiritus.

Bahan kimia untuk pembuatan medium Murashige dan Skoog terdiri dari unsur hara makro dan mikro, vitamin dan senyawa nitrogen organik, zat pengatur tumbuh BAP dan IAA, gula dan bahan pematat (agar). Diagram prosedur pembuatan media terdapat pada Lampiran 1.

## **2. Pelaksanaan Percobaan**

### **a. Sterilisasi Alat.**

Alat-alat yang disterilisasi adalah alat tanam (pinset dan pisau bedah), botol, cawan petri, dan pipet ukur. Peralatan tersebut dicuci dengan menggunakan teepol dan dikeringkan. Langkah selanjutnya membungkus alat-alat tersebut (kecuali botol kultur) dengan menggunakan *yellow page*. Alat tanam, cawan petri, dan pipet ukur serta botol kultur kemudian disterilisasikan dalam oven pada suhu 121 °C selama 2 jam, selanjutnya alat-alat tersebut disimpan dalam kontainer plastik yang bersih.

### **b. Pembuatan Larutan Stok, Zat Pengatur Tumbuh BAP dan IAA**

Larutan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) BAP dan IAA dibuat dalam bentuk larutan stok 1000 ppm. BAP ditimbang sebanyak 1000 mg dilarutkan dalam beberapa tetes larutan HCl sambil diaduk hingga BAP larut sedangkan IAA dilarutkan dengan larutan NaOH. Larutan stok 1000 ppm didapat dengan menambahkan aquadest sampai 1000 mL.

### **c. Pembuatan Media untuk Multiplikasi Tunas Pisang Secara *In vitro***

Media yang digunakan untuk multiplikasi tahap awal yaitu media MS mengandung BAP 2.25 mgL<sup>-1</sup>, IAA 0.175 mgL<sup>-1</sup>, sedangkan untuk subkultur

digunakan BAP  $4.5 \text{ mgL}^{-1}$ , IAA  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$  dan TDZ  $0.22 \text{ mgL}^{-1}$ . Cara membuat media tersebut dilakukan dengan mencampurkan 20 mL larutan A dan B, 10 mL larutan stok C dan D, 5 mL larutan stok E dan F, 1 mL larutan vitamin, 10 mL larutan Myo-inositol, dan ZPT ke dalam erlenmeyer 1000 mL. Selanjutnya larutan dicampurkan dengan aquades steril sampai 800 mL dan ditambahkan  $30 \text{ gL}^{-1}$  sukrosa. Larutan diletakkan dimasak diatas hot plate dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

Pengukuran pH media diukur pada kisaran 5.6 – 5.8, selanjutnya dimasukkan  $7 \text{ gL}^{-1}$  agar-agar ke dalam media, kemudian tambahkan aquades steril sampai batas erlenmeyer  $\pm 1000 \text{ mL}$ . Media dimasak menggunakan penangas listrik (*hot plate*) sambil digabung menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah media mendidih dan terlihat bening, media dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 40 botol dan ditutup plastik. Tahap selanjutnya yaitu sterilisasi media dengan cara meletakkan media ke dalam autoklaf pada suhu  $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit, kemudian media ditempatkan pada rak-rak penyimpanan.

#### **d. Penyimpanan Bahan Tanaman dan Penanaman Embrio**

Bahan tanaman berupa buah dan biji pisang liar berasal dari lapangan. Prosedur penyimpanan buah dilakukan dengan membersihkan kulit buah dari debu dan kotoran dengan kertas tissue yang telah dibahasi alkohol 70%, selanjutnya buah pisang dibungkus dengan kertas amplop coklat dan disimpan sesuai dengan perlakuan yang diuji. Pada penyimpanan biji, sebelum dilakukan penyimpanan biji dipisahkan dari daging buah,

selanjutnya biji dicuci dengan abu gosok untuk menghilangkan getah yang menempel pada biji. Biji tersebut selanjutnya dicuci dengan air bersih dan disemprot dengan alkohol 70%. Biji yang telah bersih dikering-anginkan dengan kertas tissue sampai kering, selanjutnya dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan sesuai dengan perlakuan yang diuji.

Penanaman embrio untuk melihat kemampuan tumbuh embrio setelah masa penyimpanan serta regenerasi dan multiplikasi tunas dilakukan terhadap buah dan biji pisang *M. acuminata* Colla var. *microcarpa*. Ketika embrio akan ditanam, buah dan biji yang telah disimpan disterilisasikan, kemudian embrio dipisahkan dari biji dan ditanam menggunakan *scapel*. Embrio diinisiasi pada media multiplikasi mengandung media dasar MS BAP  $2.25 \text{ mgL}^{-1}$ , IAA  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$ . Setelah 2 bulan dilakukan subkultur pada media MS BAP  $4.25 \text{ mgL}^{-1}$ , IAA  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$ , dan TDZ  $0.22 \text{ mgL}^{-1}$ . Keseluruhan pekerjaan dilakukan dalam transfer boks, kemudian kultur diletakkan di rak-rak penyimpanan dalam ruang kultur yang dilengkapi dengan pencahayaan lampu serta temperatur ruang  $16 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **E. Teknik Pengumpulan Data.**

Pada percobaan 1, parameter yang diukur dalam percobaan ini adalah waktu (hari) berkecambah embrio, jumlah embrio yang mampu berkecambah dan jumlah tunas dan kalus yang terbentuk pada setiap minggu. Pada percobaan 2, parameter yang diukur adalah jumlah tunas dan daun yang terbentuk pada setiap tahapan subkultur (Strosse, 2004). Apabila pada

tahap pertama embrio terbentuk kalus maka parameter yang diukur adalah jumlah kalus yang membentuk tunas.

#### **F. Teknik Analisis Data**

Data kuantitatif yang berupa hari berkecambah, persentase perkecambahan, jumlah tunas, kalus, kalus bertunas dan daun yang tumbuh setiap kali subkultur dianalisis secara deskriptif dengan menghitung rata-rata setiap parameter yang diukur dan standar error ( $\pm$ SE). Data tersebut dikelompokkan berdasarkan 3 faktor yang diuji (suhu, lama penyimpanan dan jenis organ tumbuhan) sesuai dengan rancangan percobaan yang telah dibuat.

#### **G. Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat perbedaan pada penyimpanan organ tanaman (buah dan biji) terhadap perkecambahan embrio pisang liar.
2. Terdapat perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap pertumbuhan tanaman pisang liar.

## **BAB IV**

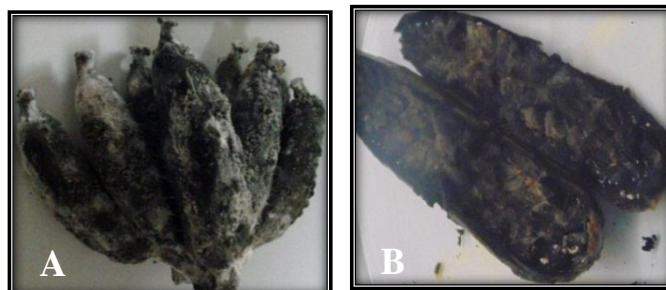
### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Penyimpanan buah dan biji pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) pada berbagai suhu dan lama penyimpanan merupakan suatu usaha untuk menyelamatkan plasma nutfah pisang liar. Penyimpanan dilakukan yaitu penyimpanan bahan (buah dan biji), pada 3 (tiga) suhu berbeda dengan 3 (tiga) waktu penyimpanan yang berbeda pada pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa*. Hasil yang diperoleh memberikan gambaran umum bahwa jenis organ sumber eksplan, penyimpanan pada suhu dan waktu yang berbeda berpengaruh terhadap efektifitas perkecambahan embrio.

#### **A. Percobaan Pendahuluan**

Buah yang digunakan dalam percobaan ini adalah buah pisang yang telah masak secara fisiologis. Buah yang telah masak akan memiliki biji yang berwarna hitam, sedangkan buah yang belum masak berwarna coklat. Biji yang belum masak fisiologis pada umumnya memiliki kandungan air yang tinggi, sehingga proses pemisahan dan pengambilan embrio dari pati yang menempel pada embrio dalam biji pisang menjadi sulit. Pada biji yang telah masak fisiologis, embrio terlihat jelas sehingga memudahkan dalam pemisahan dan pengambilan embrio. Pati yang masih menempel pada embrio akan menghambat proses perkecambahan embrio (Miyata dan Akazawa, 1982).

Pada percobaan pendahuluan, organ sumber eksplan berupa buah dan biji disimpan pada suhu beku ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ), suhu dingin ( $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu ruangan ( $30^{\circ}\text{C}$ ). Hasil percobaan menunjukkan bahwa buah pisang setelah disimpan selama 2 minggu pada suhu ruangan terlihat perubahan kulit buah yang menjadi coklat tua dan adanya pertumbuhan jamur pada kulit dan daging buah (Gambar 3A-B). Setelah ditanam embrio mengalami kontaminasi dalam kurun waktu kurang lebih 1 minggu meski telah dilakukan beberapa metode sterilisasi, sehingga pada percobaan selanjutnya untuk kisaran penyimpanan suhu ruangan yang diberikan, suhu dinaikkan menjadi  $32^{\circ}$  –  $40^{\circ}\text{C}$ .

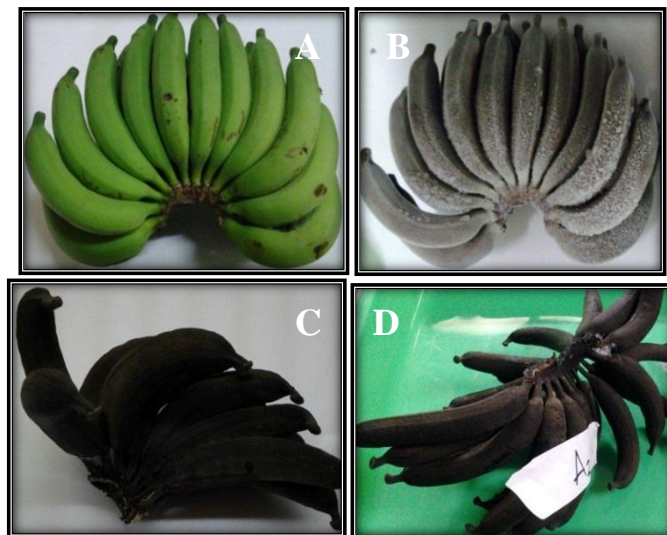


Gambar 3. Kulit buah pisang pada penyimpanan suhu ruangan ( $30^{\circ}\text{C}$ ) selama 2 minggu. A. bagian luar buah dan B. bagian dalam buah

Penyimpanan buah dan biji selama 2 bulan pada 3 suhu berbeda, memperlihatkan adanya perubahan keragaan pada buah. Buah yang disimpan pada suhu beku ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ), ukuran buah membesar karena volume air dalam buah meningkat dan membeku serta warna kulit buah berubah dari hijau (sebelum disimpan) (Gambar 4A) menjadi coklat tua (Gambar 4B). Buah yang disimpan pada suhu dingin ( $1^{\circ}$  –  $5^{\circ}\text{C}$ ), ukuran buah menjadi agak mengecil dan warna kulit buah berubah menjadi coklat

kehitaman (Gambar 4C), sedangkan buah yang disimpan diatas suhu ruangan ( $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$ ), buah menjadi sangat kering karena volume air dalam buah menurun dan menyebabkan buah menjadi keras serta warna kulit buah berubah menjadi cokelat kehitaman (Gambar 4D). Hal ini sesuai dengan pernyataan Winarno (1995) bahwa buah pisang yang disimpan untuk beberapa hari akan mengalami pencoklatan.

Pencoklatan pada jaringan merupakan hasil reaksi enzimatik. Enzim-enzim tersebut dikenal sebagai enzim fenol oksidase, polifenol oksidase, fenolase atau polifenolase (Winarno, 1995). Pencoklatan tersebut merupakan proses kimia yang terjadi pada buah-buahan yang menghasilkan pigmen warna coklat (melanin).



Gambar 4. Perubahan keragaan buah pisang sebelum dan sesudah penyimpanan: A. buah setelah panen, B. penyimpanan suhu beku ( $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$ ), C. suhu dingin ( $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$ ), D. diatas suhu ruangan ( $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$ ).

Perubahan keragaan buah setelah masa penyimpanan dan cukup tingginya tingkat kontaminasi yang ada, menyebabkan teknik sterilisasi yang digunakan juga berbeda, sehingga pada percobaan pendahuluan ini

diperoleh 2 teknik sterilisasi yang efektif untuk mengurangi tingkat kontaminasi pada eksplan (Tabel 2). Teknik sterilisasi untuk buah dan biji yang disimpan selama 4-10 hari dan 1 bulan dengan yang disimpan selama 2 bulan berbeda. Eksplan buah dan biji yang disimpan selama 4-10 hari dan 1 bulan setelah panen pada 3 (tiga) suhu berbeda digunakan teknik sterilisasi pertama (I), yaitu dengan merendam eksplan dalam alkohol selama 10 menit yang kemudian dilanjutkan dengan klorox 100% selama 10 menit, sedangkan eksplan yang disimpan selama 2 bulan pada 3 (tiga) suhu berbeda digunakan sterilisasi kedua (II).

Pada teknik sterilisasi kedua buah dan biji direndam dalam HgCl 1-2% selama 10-15 menit kemudian direndam dalam alkohol selama 10 menit dan dilanjutkan dengan klorox 100% selama 10 menit, selanjutnya biji direndam dalam aquades steril selama 1-2 jam. Hal ini karena jika eksplan yang disimpan selama 2 bulan disterilisasi dengan sterilisasi pertama (I), kontaminasi pada eksplan masih terjadi. Ringkasan teknik sterilisasi buah dan biji pisang setelah masa penyimpanan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Teknik sterilisasi buah dan biji pisang setelah masa penyimpanan

Teknik Sterilisasi	Bahan kimia sterilisasi	Waktu (menit)
I	Alkohol 70%	10
	Klorox 100%	10
II	HgCl 1-2%	10-15
	Alkohol 70%	10
	Klorox 100%	10
	Aquades steril (perendaman)	60-120

Keterangan: I. teknik sterilisasi biji dan buah disimpan sampai 1 bulan.

II. teknik sterilisasi biji dan buah disimpan sampai 2 bulan.

## **B. Kultur Embrio dan Kemampuan Tumbuh Embrio Pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* setelah Masa Penyimpanan.**

Pada percobaan ini, buah dan biji yang telah disimpan pada 3 (tiga) suhu berbeda ditanam pada media inisiasi Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan ZPT berupa BAP sebanyak  $2.25 \text{ mgL}^{-1}$  dan IAA sebanyak  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$ . Saat proses inisiasi, terlihat adanya perbedaan keragaan embrio pisang yang berasal dari buah dan biji setelah disimpan selama 4-10 hari dengan embrio setelah disimpan selama 2 bulan pada 3 (tiga) suhu berbeda.

Embrio yang disimpan pada suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  terlihat membengkak yang disebabkan karena pembekuan dan meningkatnya volume air pada biji. pada penyimpanan suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ukuran embrio terlihat tidak jauh berbeda dengan embrio yang disimpan 4-10 hari, sedangkan pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  embrio menjadi menyusut yang disebabkan berkurangnya volume air pada biji. Embrio yang telah ditanam pada media inisiasi selanjutnya disimpan pada ruangan gelap selama satu minggu dengan tujuan agar embrio dalam biji yang secara alami berada pada kondisi gelap, dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan *in vitro* sehingga embrio tidak mengalami shock saat diletakkan pada kondisi terang.

### **1. Perkecambahan embrio pisang**

Perkecambahan adalah proses pertumbuhan embrio dan komponen-komponen biji yang mempunyai kemampuan untuk tumbuh secara normal menjadi tanaman baru, perkecambahan dimulai pada saat munculnya

radicula. Hasil pengamatan hari berkecambah menunjukkan bahwa organ sumber eksplan, suhu penyimpanan dan lama penyimpanan yang berbeda mempengaruhi kecepatan dan persentase kemampuan berkecambah embrio. Hasil percobaan memberikan gambaran umum bahwa embrio yang berasal dari penyimpanan biji lebih cepat berkecambah dibanding embrio yang berasal dari penyimpanan buah (Gambar 5). Hal ini tidak berbeda dengan penelitian Nagano *et al.* (2008) bahwa pada spesies pisang liar penyimpanan dalam bentuk biji lebih baik daripada organ lainnya.

Embrio dari penyimpanan buah lebih lambat berkecambah dibandingkan dengan yang berasal dari penyimpanan biji karena pada daging buah pisang terdapat senyawa fenol yang dapat memberikan efek dormansi kepada embrio. Fitter dan Hay (1991) mengemukakan bahwa senyawa fenol adalah alelokimia yang bersifat menghambat pembelahan sel. Penyimpanan buah dan biji selama 4-10 hari setelah panen memperlihatkan respon perkecambahan yang lebih cepat dibandingkan penyimpanan selama 1 dan 2 bulan. Berdasarkan suhu penyimpanan, embrio yang disimpan dalam buah dan biji perkecambahan tercepat terjadi pada suhu penyimpanan  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$ .

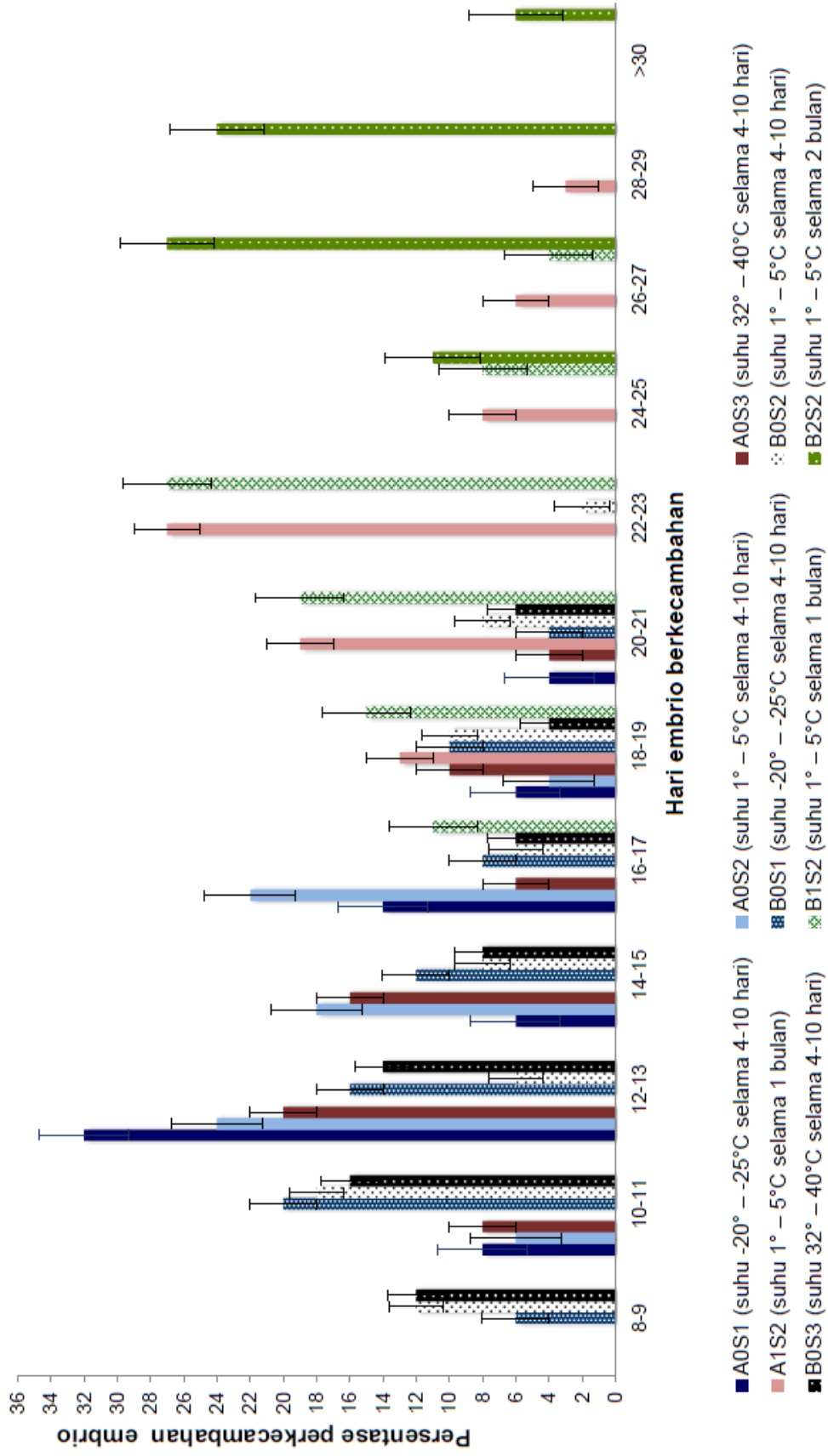
*a. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kecepatan perkecambahan.*

Lama penyimpanan berpengaruh terhadap kecepatan perkecambahan embrio pisang. Pada Gambar 5 terlihat bahwa biji yang disimpan selama 4-10 hari pada ketiga suhu ( $B_0S_1$ ,  $B_0S_2$ ,  $B_0S_3$ ), embrio mulai berkecambah pada hari ke 8-9, dengan persentase perkecambahan 6 -12%. sedangkan buah

yang disimpan selama 4-10 hari pada ketiga suhu ( $A_0S_1$ ,  $A_0S_2$ ,  $A_0S_3$ ), embrio mulai berkecambah pada hari ke 10-11, dengan persentase perkecambah 6-8%. Persentase perkecambahan tertinggi yaitu sebesar 32%, dihasilkan pada penyimpanan buah selama 4-10 hari pada suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_1$ ) yang terjadi pada hari ke 12-13 setelah inisiasi, sedangkan biji yang disimpan dalam suhu dan waktu yang sama ( $B_0S_1$ ) memiliki persentase perkecambahan 16%.

Hasil percobaan ini menunjukkan suatu fenomena bahwa buah dan biji yang disimpan selama 4-10 hari pada suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_1$ ,  $B_0S_1$ ), embrio masih dapat berkecambah setelah penyimpanan dan memiliki persentase perkecambahan yang baik, mengingat biji pisang secara alami merupakan biji ortodoks (Towill, 2004: Fortescue dan Turner, 2011). Pada percobaan ini biji pisang diduga mampu mempertahankan viabilitasnya dalam kelembaban yang sangat rendah (lebih dari -1%). Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa suhu dan lama penyimpanan dapat mempengaruhi kecepatan perkecambahan embrio.

Proses perkecambahan terjadi dalam lima tahapan: (1) penyerapan air oleh embrio, (2) aktivasi sel dan enzim-enzim serta naiknya tingkat respirasi, (3) penguraian karbohidrat, lemak dan protein menjadi bentuk-bentuk yang melarut dan ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh, (4) asimilasi dari bahan-bahan yang telah diuraikan sebelumnya di daerah meristematik untuk menghasilkan energi baru, pembentukan komponen dan pertumbuhan sel baru, (5) proses pertumbuhan kecambah, dimana terjadi proses pembelahan, pembesaran dan pembagian sel-sel pada titik-titik tumbuh (Sutopo, 2002).



Gambar 5. Respon perkecambahan embrio pisang liar setelah masa penyimpanan



*b. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kemampuan perkecambahan.*

Lama penyimpanan berpengaruh terhadap kemampuan perkecambahan embrio pisang. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa biji yang disimpan selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $B_1S_2$ ), embrio mulai berkecambah pada hari ke 16-17 (11%), dengan persentase total perkecambahan pada usia 30 hari setelah inisiasi tertinggi yaitu sebesar 84%, sedangkan buah yang disimpan pada suhu dan waktu penyimpanan yang sama ( $A_1S_2$ ), embrio mulai berkecambah pada hari ke 18-19 (13%), dengan persentase total perkecambahan sebesar 76%. Persentase kemampuan berkecambah embrio terendah terjadi pada penyimpanan biji selama 4-10 hari setelah panen pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_3$ ) dengan persentase perkecambahan sebesar 64%.

Pada percobaan ini dari ketiga suhu yang digunakan untuk penyimpanan, penyimpanan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  merupakan suhu yang efektif untuk penyimpanan. Pada suhu tersebut biji yang disimpan selama 2 bulan ( $B_2S_2$ ) embrio masih dapat berkecambah meski perkecambahan terjadi lebih lambat yaitu pada hari ke 24-25 setelah inisiasi, walaupun demikian perkecambahan ini lebih cepat dibandingkan dengan perkecambahan biji pisang liar *Musa velutina* Wend. & Drude. Hasil percobaan Nagano *et al.*, (2008) biji pisang liar *M. Musa velutina* Wend. & Drude membutuhkan waktu 49 hari untuk berkecambah setelah disimpan selama 2 bulan, namun benih yang disimpan selama 4-8 bulan mampu berkecambah pada 14-21 hari setelah tanam.

Biji pisang secara alami adalah biji ortodoks dan berbagai tipe dormansi pada biji pisang telah dilaporkan oleh Fortescue dan Turner (2011), dan buah pisang merupakan buah yang sensitif terhadap suhu rendah. Buah akan mengalami kerusakan setelah periode penyimpanan dibawah  $10^{\circ} - 15^{\circ}\text{C}$  (Mangrich dan Saltveit, 2000), atau  $11^{\circ} - 20^{\circ}\text{C}$  (Hardaningsih dan Alfi, 2010), atau  $11.5^{\circ} - 13^{\circ}\text{C}$  (Wang, 1991), dengan temperatur kritis pada suhu  $13^{\circ}\text{C}$ . Pada percobaan ini embrio pisang masih mampu berkecambah setelah disimpan pada suhu dingin yaitu pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  hingga 2 bulan (Tabel 3; Gambar 5), sehingga memberikan dugaan bahwa embrio pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* merupakan benih yang cukup tahan terhadap suhu dingin. Hal ini bisa disebabkan permeabilitas membran sel mampu bertahan terhadap kerusakan karena pendinginan.

Hasil yang berbeda ditunjukkan pada buah dan biji yang disimpan selama 1 dan 2 bulan pada beberapa perlakuan suhu beku dan diatas suhu ruangan, yaitu pada suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  ( $A_1S_1$ ,  $A_2S_1$ ,  $B_1S_1$ ,  $B_2S_1$ ) dan penyimpanan pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  ( $A_1S_3$ ,  $A_2S_3$ ,  $B_1S_3$ ,  $B_2S_3$ ). Pada perlakuan tersebut, embrio tidak mampu berkecambah hingga 6 bulan setelah inisiasi, meskipun telah dilakukan pengulangan sebanyak 3-4 kali penanaman, dengan jumlah total embrio yang ditanam 1.015 embrio (Gambar 6). Ketidakmampuan embrio berkecambah pada penyimpanan dengan suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  diduga karena terjadinya *chilling injury* yang dapat merusak sitoplasma dan mengakibatkan pecahnya protoplasma, sedangkan pada penyimpanan suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  diduga karena biji mengalami kekeringan karena kehilangan seluruh air. Hasil percobaan ini dapat

diketahui bahwa penyimpanan buah dan biji pisang pada suhu beku (-20° – -25°C) dan diatas suhu ruangan (32° – 40°C) selama 1 dan 2 bulan, bukan teknik yang tepat untuk penyimpanan jangka pendek. Kerusakan ini terjadi karena adanya gangguan fisiologis dimana warna buah akan menjadi kusam, sehingga penyimpanan pada suhu -20° – -25°C selama 1 dan 2 bulan mengakibatkan terjadinya *chilling injury* pada buah (Gambar 4).

Menurut Fortescue dan Turner (2011) biji pisang memperlihatkan dormansi setelah penyimpanan pada suhu beku, sehingga biji tidak bisa disimpan pada suhu beku. Penyimpanan bahan dibawah titik beku dapat menyebabkan kerusakan karena pendinginan (*Chilling injury*), yaitu suatu gangguan fisiologis pada tanaman yang sensitif terhadap suhu dibawah 12°C (Mangrich dan Saltveit, 2000). Secara fisiologi *chilling injury* terjadi karena adanya peningkatan permeabilitas membran selular dan perusakan pada sitoplasma (Atwell *et al.*, 1999), yang merupakan gejala umum yang terjadi karena sifat kimia dan fisika alami dari membran lipoprotein tanaman dalam menghadapi perubahan suhu.

Komposisi lipid memperlihatkan sebagai penentu bagaimana membran merespon terhadap suhu rendah. Menurut Atwell *et al.*, (1999), tanaman tropis cenderung memiliki kandungan lipid dengan proporsi asam lemak jenuh yang lebih tinggi, seperti asam palmitat yang kehilangan ikatan ganda pada strukturnya sehingga memiliki titik lebur yang tinggi, sedangkan tanaman beriklim dingin cenderung memiliki asam lemak tak jenuh yang tinggi seperti asam oleat. Namun pola yang konsisten pada perbedaan

komposisi membran lipid antara tanaman yang rentan suhu dingin dan yang resisten belum dapat dilihat, dan kemungkinan ada faktor lain yang terlibat.

Lamanya penyimpanan selama 2 bulan dapat menyebabkan penurunan kadar air pada benih yang erat kaitannya dengan proses penguapan benih selama masa penyimpanan. Benih pisang yang tidak mampu berkecambah setelah masa penyimpanan pada suhu beku ( $-20^{\circ}$  –  $-25^{\circ}\text{C}$ ) dan diatas suhu ruangan ( $32^{\circ}$  -  $40^{\circ}\text{C}$ ), dapat pula disebabkan biji tidak mampu menyerap air yang ada pada media pertumbuhan dikarenakan kerusakan embrio. Hasil percobaan Sukarman *et al.* (2007) pada benih jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dan percobaan Dewi dan Sumarjan (2013) pada padi (*Oryza sativa*, L) varietas IR 64 menunjukkan hasil yang sama bahwa viabilitas embrio menurun setelah disimpan selama 2 hingga 3 bulan.

Saat jaringan mengalami hidrasi, giberelin (GA3) yang ada dalam jaringan menjadi aktif dan menyebabkan jaringan mengeluarkan enzim hidrolitik. Secara sinergis, pengaktifan GA3 pada suatu jaringan juga diiringi oleh aktifnya auksin dan sitokinin, keberadaan auksin pada sel menyebabkan semakin meningkatnya permeabilitas sel terhadap air, sehingga tekanan dinding sel menurun dan menyebabkan dinding sel melunak. Pada biji yang utuh, peningkatan permeabilitas sel dan melunaknya dinding sel ditandai dengan pecahnya kulit biji sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang menyebabkan bertambahnya volume sel (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Auksin yang terdapat pada media tanam berperan dalam perkecambahan benih, auksin akan merangsang proses perkecambahan benih. Sementara itu, sitokinin memacu pembelahan sel biji dimana ketika

rasio antara auksin dan sitokinin seimbang akan tumbuh sel-sel meristem yang terus membelah dan berkembang membentuk organ. Meningkatnya konsentrasi auksin di dalam sel merupakan stimulus untuk aktivasi sitokinin, aktifnya sitokinin diikuti dengan aktifnya enzim yang menaikkan laju sintesis protein yang merupakan protein pembangun sel sehingga terbentuk sel-sel baru yang pada akhirnya terdiferensiasi menjadi organ tertentu (George dan Sherrington, 1984).

Copeland dan Donald (1985) menyebutkan faktor-faktor yang mempengaruhi viabilitas benih selama penyimpanan dibagi menjadi faktor *internal* dan *eksternal*. Faktor internal mencakup sifat genetik, daya tumbuh dan vigor, kondisi kulit dan kadar air benih awal. Faktor *eksternal* antara lain kemasan benih, komposisi gas, suhu dan kelembaban ruang simpan.

Viabilitas benih yang disimpan dengan kandungan air tinggi akan cepat mengalami kemunduran. Benih akan menyerap atau mengeluarkan uap air sampai kandungan airnya seimbang dengan udara disekitarnya. Kandungan air yang tinggi akan meningkatkan kegiatan enzim-enzim yang mempercepat terjadinya proses respirasi, sehingga perombakan cadangan makanan dalam benih menjadi semakin besar.

Jika energi yang dikeluarkan terlalu besar akibat proses respirasi yang berlebihan menyebabkan benih akan kehabisan cadangan makanan. Energi yang terhambur dalam bentuk panas dan keadaan yang lembab akan merangsang perkembangan organisme yang dapat merusak benih. Benih yang akan disimpan harus mempunyai kandungan air yang seragam, kandungan air benih yang terlalu rendah (1-2%) pada beberapa jenis benih

dapat menyebabkan benih kehilangan viabilitas serta kemampuan berkecambahnya (Sutopo, 2002). Hal ini terjadi pada penyimpanan benih pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$ , tingginya suhu menyebabkan benih kehilangan seluruh air sehingga menjadi kering dan rusak. Penurunan daya berkecambah disebabkan benih mengalami respirasi secara terus menerus karena enzim yang ada didalam benih menjadi aktif. Respirasi ini menyebabkan terjadinya perombakan cadangan makan di dalam benih. Semakin lama proses respirasi ini terjadi, semakin banyak cadangan makanan benih yang digunakan sehingga cadangan makanan berkurang dan viabilitas benih akan berkurang. Hal ini ditunjukkan dengan turunnya daya berkecambah disebabkan energi yang digunakan untuk berkecambah.

## **2. *Pertumbuhan embrio menjadi tunas***

Embrio yang telah berkecambah, selanjutnya tumbuh menjadi tunas (Gambar 7). Pada tahap ini plumula akan membentuk tunas dan bagian radikula akan membentuk akar. Pada Tabel 4 terlampir jumlah tunas yang terbentuk setiap bulan hingga usia 6 bulan setelah inisiasi, yang menunjukkan adanya perbedaan jumlah tunas yang terbentuk di setiap perlakuan penyimpanan. Pembentukan embrio menjadi tunas tertinggi pada usia 1, 2 dan 3 bulan setelah inisiasi terjadi pada penyimpanan biji selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $B_1S_2$ ) dengan rata-rata jumlah tunas berturut-turut  $3.60 \pm 0.22$  tunas,  $3.50 \pm 0.27$  tunas dan  $4.50 \pm 0.34$  tunas (Tabel 4). Turunnya rata-rata jumlah tunas yang terbentuk pada usia 2 bulan disebabkan adanya tunas yang mati karena kontaminasi.



Pembentukan tunas terbanyak pada usia 5 dan 6 bulan setelah inisiasi terdapat pada penyimpanan buah dan biji selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$ , dengan rata-rata jumlah tunas  $3.30 \pm 0.21$  ( $A_1S_2$ ) dan  $3.30 \pm 0.22$  ( $B_1S_2$ ). Pada Tabel 4 juga terlihat bahwa jumlah tunas setiap bulan mengalami perubahan baik peningkatan ataupun penurunan jumlah tunas. Peningkatan jumlah tunas dapat disebabkan bertambahnya jumlah tunas yang terbentuk setiap kali dilakukan subkultur sedangkan penurunan jumlah tunas disebabkan adanya tunas yang mati akibat kontaminasi. Faktor lain bisa disebabkan karena adanya pelukaan pada embrio saat dilakukan inisiasi, sehingga embrio yang seharusnya menjadi tunas membentuk kalus. Tingginya keragaman biji diduga berperan pula dalam variasi pertumbuhan benih, diantaranya kemungkinan auksin endogen yang terkandung pada biji yang berbeda dan menyebabkan variasi pertumbuhan benih.

### **3. *Pertumbuhan embrio menjadi kalus***

Embrio yang telah melewati masa perkecambahan, selain membentuk tunas, beberapa embrio tumbuh membentuk kalus (Gambar 8). Pada Tabel 5 terlampir jumlah kalus yang terbentuk setiap bulan hingga usia 6 bulan, terlihat jumlah kalus yang terbentuk setelah inisiasi berbeda disetiap perlakuan penyimpanan, hanya saja pembentukan kalus setelah inisiasi ini tidak dipengaruhi oleh perlakuan penyimpanan pada eksplan. Pembentukan kalus setelah inisiasi tertinggi terjadi pada penyimpanan buah selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $A_1S_2$ ).



Pada Tabel 5 diketahui pembentukan kalus tertinggi pada usia 1 bulan setelah inisiasi terjadi pada buah yang disimpan selama 1 bulan pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $A_1S_2$ ) dengan rata-rata jumlah kalus  $2.30 \pm 0.30$  kalus. Pada usia 2 bulan setelah inisiasi pembentukan kalus tertinggi terjadi pada buah yang disimpan selama 4-10 hari pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  ( $B_0S_3$ ) dengan rata-rata jumlah kalus  $2.43 \pm 0.30$  kalus. Pada usia 3 dan 4 bulan setelah tanam. Jumlah kalus tertinggi terjadi pada biji yang disimpan selama 4-10 hari setelah panen pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $B_0S_2$ ) dengan rata-rata jumlah kalus tiap bulannya  $3.50 \pm 0.40$  tunas (Tabel 5). Pada usia 5 dan 6 bulan setelah inisiasi jumlah kalus tertinggi terjadi pada biji yang disimpan selama 4-10 hari setelah panen pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  ( $B_0S_3$ ) dengan rata-rata jumlah kalus tiap bulannya  $3.57 \pm 0.48$  kalus (Tabel 5).

Kalus yang terbentuk pada tahap ini disebabkan adanya pelukaan pada embrio saat inisiasi terjadi, seperti yang diungkapkan George & Sherrington (1984) bahwa kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka dan juga dapat terbentuk sebagai akibat stress. Pembentukan kalus pada jaringan luka dipacu oleh zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin endogen (Dodds dan Roberts, 1983; Hartman *et al.*, 2002). Jika perbandingan auksin endogen lebih tinggi dari sitokinin maka eksplan akan membentuk kalus (Bhojwani dan Razdan 1983, Hartman *et al.*, (2002).

Menurut Pierik (1987) dan Suryowinoto (1996), proses terbentuknya kalus disebabkan adanya rangsangan luka, rangsangan tersebut menyebabkan kesetimbangan pada dinding sel berubah arah, sebagian protoplas mengalir keluar sehingga mulai terbentuk kalus. Terbentuknya

kalus juga disebabkan sel-sel kontak dengan media terdorong menjadi meristematik dan selanjutnya aktif mengadakan pembelahan seperti jaringan penutup luka. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang berbeda menghasilkan kecepatan eksplan membentuk kalus, persentase eksplan berkalus dan warna kalus yang dihasilkan berbeda pula. Pada percobaan ini pemberian BAP  $4.5 \text{ mgL}^{-1}$ , IAA  $0.175 \text{ mgL}^{-1}$  dan TDZ  $0.22 \text{ mgL}^{-1}$  mampu menginduksi pembentukan tunas dan kalus, dikarenakan pemberian sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi dapat memicu pembelahan sel lebih cepat.

Biji merupakan hasil pembuahan pada tanaman berbunga, tingginya keragaman biji terjadi ketika proses penyerbukan pada bunga. Pada satu kluster bunga terdapat beberapa kepala putik dan masing-masing kepala putik memiliki gen yang berbeda, biji akan terbentuk ketika serbuk sari jatuh dan menempel di atas salah satu kepala putik dan terjadi penyerbukan. Perbedaan gen pada tiap kepala putik dapat menyebabkan keragaman pada biji, selain itu dapat disebabkan reproduksi seksual tanaman yang terdiri dari dua tahapan. Tahapan pertama adalah meiosis, terjadi penurunan jumlah kromosom pada suatu sel dari diploid ( $2n$ ) menjadi haploid ( $n$ ). Tahapan kedua adalah pembuahan yaitu meleburnya dua sel kelamin yang masing-masing haploid ( $n$ ) menjadi sel diploid ( $2n$ ) dan berkembang menjadi zigot. Keragaman dapat terjadi ketika kedua tahapan ini tidak berlangsung semestinya (hanya melewati 1 tahapan) (Bernasconi *et al.*, 2003).

Peningkatan jumlah kalus dapat disebabkan bertambah besarnya ukuran kalus. Pada saat subkultur kalus yang berukuran besar dipotong menjadi beberapa bagian, dan pada saat disubkultur tumbuh dan

berkembang menjadi kalus baru, sedangkan penurunan jumlah kalus disebabkan adanya kalus yang membentuk tunas setelah subkultur. Ukuran kalus yang bertambah besar dapat disebabkan pula, karena media subkultur mengandung ZPT sitokinin dan mengandung BAP dengan konsentrasi 2 kali lebih banyak dibanding pada media inisiasi dan pematangan yang merangsang sel menjadi aktif membelah, sehingga dapat mempercepat pertumbuhan kalus. Penurunan rata-rata jumlah kalus yang terbentuk pada bulan ke 5 dan 6 setelah inisiasi dapat dikarenakan setelah dilakukan subkultur, sebagian kalus yang terbentuk tumbuh menjadi tunas, sehingga tunas yang terbentuk tidak dihitung sebagai jumlah kalus.

### **C. Regenerasi Tunas dan Multiplikasi Tunas Pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa***

Regenerasi planlet pisang *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* secara *in vitro* merupakan satu tahapan yang dilakukan untuk mendapatkan planlet dengan hasil yang optimal. Pada tahapan ini diperoleh gambaran umum bahwa tingkat regenerasi tunas yang terbentuk setelah inisiasi berbeda di tiap perlakuan penyimpanan. Variasi yang diperoleh dapat disebabkan kondisi embrio yang berbeda satu sama lain dan juga hormon endogen yang dibentuk oleh tanaman pisang tersebut. Pada percobaan tahapan ini konsentrasi sitokinin (BAP) yang diberikan lebih tinggi dari auksin (IAA), sehingga tunas mampu bermultiplikasi. Menurut Hartman *et al.*, (2002), pemberian konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin dapat menginduksi pertunasan.

Penggunaan thidiazuron (TDZ) dapat pula meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas. Thidiazuron merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin (Singha dan Bathia, 1988). Thidiazuron memacu frekuensi regenerasi secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif (Huetterman dan Prece, 1993), karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel meristem sehingga terbentuk primordia tunas (George dan Sherington, 1993).

Kombinasi *6-benzyl amino purine* (BAP) dengan thidiazuron (TDZ) untuk meningkatkan kemampuan proliferasi tunas antara lain pada tanaman *Pyrus communis* (Singha dan Bhatia, 1988), tunas apel (Van Niew Kerk *et al.*, 1986), sukun (Supriyati *et al.*, 2005), pisang cv. Ampyang (Indrayanti *et al.*, 2011). Tidak semua tanaman memberikan respon proliferasi tunas yang optimal dengan adanya thidiazuron, contohnya pada tanaman belimbing Dewi. Thidiazuron yang ditambahkan cenderung meningkatkan tinggi tunas dan jumlah daun (Supriyati *et al.*, 2006)

Menurut Strosse *et al.*, (2004) laju multiplikasi tunas pisang bergantung pada sitokinin maupun genotip tanaman. Secara umum pucuk-pucuk kultivar yang hanya memiliki genom A akan memproduksi 2-4 pucuk baru, sedangkan kultivar yang memiliki satu atau dua genom B akan memproduksi kluster-kluster pucuk yang banyak dan kuncup pada setiap siklus subkultur. Pisang liar (*Musa acuminata* Colla) merupakan pisang dengan genom AA, namun hasil regenerasi diperoleh gambaran bahwa laju multiplikasi tunas pisang pada percobaan ini cukup tinggi.

### **1. Pertumbuhan kalus menjadi tunas**

Kalus mempunyai pertumbuhan yang abnormal dan berpotensi untuk berkembang menjadi akar, tunas dan embrioid yang nantinya akan dapat membentuk plantlet (Gambar 9). Pada Tabel 6 ditampilkan jumlah kalus yang tumbuh menjadi tunas hingga usia 6 bulan, pertumbuhan kalus menjadi tunas terjadi setelah dilakukan subkultur. Pada tabel tersebut terlihat bahwa regenerasi terbaik terjadi pada penyimpanan buah dan biji selama 4-10 hari. Pertumbuhan kalus menjadi tunas mulai terjadi pada usia 3 dan 4 bulan setelah inisiasi dengan 1 kali subkultur.

Pada Tabel 6 diketahui bahwa pertumbuhan kalus menjadi tunas tertinggi pada usia 3 bulan setelah inisiasi terjadi pada biji yang disimpan selama 4-10 hari setelah panen pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $B_0S_2$ ) dengan rata-rata jumlah kalus yang membentuk tunas tiap bulannya  $5.20 \pm 0.49$  tunas dan  $12.60 \pm 2.32$  tunas, sedangkan pada usia 5 bulan setelah inisiasi pertumbuhan kalus tertinggi terdapat pada buah yang disimpan pada suhu dan lama penyimpanan yang sama ( $A_0S_2$ ), dengan rata-rata jumlah tunas yang terbentuk  $8.00 \pm 3.06$  tunas. Pada usia 6 bulan setelah inisiasi buah yang disimpan selama 4-10 hari setelah panen pada suhu  $-20^{\circ} - -25^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_1$ ) menghasilkan rata-rata jumlah tunas tertinggi yaitu  $10.34 \pm 1.38$  tunas (Tabel 6). Hal ini menunjukkan fenomena bahwa buah pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* yang disimpan dalam suhu beku, embrio masih mampu berkecambah dan beregenerasi membentuk tunas dalam jumlah yang cukup tinggi sampai usia 6 bulan.

Tabel 6. Rataan jumlah kalus yang menjadi tunas pada usia 3 – 6 bulan setelah inisiasi (BSI)

Perlakuan	3 BSI			4 BSI			5 BSI			6 BSI						
	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks				
A <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	4,33	0,88	3,00	6,00	6,86	1,34	4,00	14,00	6,74	0,71	5,00	9,00	10,34	1,38	7,00	15,00
A <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	3,40	0,75	2,00	6,00	9,17	1,51	5,00	13,00	8,00	3,06	4,00	14,00	7,38	2,93	1,00	15,00
A <sub>0</sub> S <sub>3</sub>	1,00	0,00	1,00	1,00	3,00	1,00	2,00	4,00	3,00	2,00	1,00	5,00	3,00	2,00	1,00	7,00
A <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	1,00	0,00	1,00	1,00	2,00	0,00	2,00	2,00	3,20	0,73	1,00	5,00	3,80	0,72	2,50	6,00
B <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	2,67	0,33	2,00	3,00	4,50	0,65	3,00	6,00	2,50	0,50	2,00	3,00	3,50	0,87	2,00	6,00
B <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	5,20	0,49	4,00	7,00	12,60	2,32	7,00	19,00	5,60	0,91	3,00	7,50	8,30	1,59	4,50	12,50
B <sub>0</sub> S <sub>3</sub>	2,00	0,00	2,00	2,00	3,67	0,67	3,00	5,00	4,20	1,32	2,00	9,00	6,80	1,88	2,00	12,00

Keterangan; A = penyimpanan buah, B = penyimpanan biji, (pada suhu 0 = -20° – -25°C, 1 = 1° – 5°C, 2 = 32° – 40°C.)  
 S = lama penyimpanan (0 = 4-10 hari; 1 = 1 bulan; 2 = 2 bulan).



Gambar 9. Pembentukan tunas dari kalus yang berasal dari biji pada suhu 1-5 °C (B<sub>0</sub>S<sub>2</sub>) pada usia: A. 3 bulan; B. dan C. 4 bulan setelah inisiasi

Sel-sel kalus secara fisiologis dan biokimia sangat berbeda dengan sel-sel eksplan yang sudah terdiferensiasi. Sel-sel kalus bersifat meristematik dan merupakan salah satu wujud dari dediferensiasi. Dediferensiasi merupakan langkah awal bagi perbanyakan vegetatif dengan teknik kultur *in vitro* karena merupakan dasar terjadinya primordia tunas dan akar.

Pada usia 1 bulan dan 2 bulan setelah inisiasi, pertumbuhan kalus menjadi tunas belum terjadi karena embrio sedang dalam tahap pembentukan tunas dan kalus, selain itu eksplan berada pada media inisiasi yang konsentrasi BAP lebih rendah ( $2.25 \text{ mgL}^{-1}$ ) dibanding media subkultur dan tidak menggunakan TDZ sehingga media tidak menunjang untuk pertumbuhan kalus menjadi tunas. Penurunan rataan jumlah kalus yang membentuk tunas pada 5 bulan setelah inisiasi disebabkan tunas yang terbentuk pada 4 bulan setelah inisiasi sudah dipisahkan dari kalus, selain itu pada bulan ini baru dilakukan subkultur kedua sehingga kalus masih dalam masa penyesuaian dengan media baru, dan terlihat pada 6 bulan setelah inisiasi rataan jumlah kalus yang membentuk tunas meningkat.

Sel-sel tanaman menunjukkan kemampuan yang luar biasa untuk meregenerasikan dirinya menjadi tanaman utuh dari sel-sel yang tidak terdiferensiasi tersebut, prosesnya disebut rediferensiasi, yaitu keadaan menjadi berdiferensiasi kembali untuk membentuk akar, tunas dan embrioid yang kemudian membentuk plantlet. Pembentukan struktur yang terorganisir pada kalus dimulai dengan pembentukan kelompok-kelompok sel yang rapat (meristemoid) dari sel-sel meristematik yang dicirikan dengan ukuran kecil, penuh plasma dan inti menyolok, dan selanjutnya meristemoid diharapkan

mampu membentuk primordia tunas maupun akar (Dodds dan Roberts, 1983).

## **2. Jumlah daun**

Daun akan terbentuk setelah embrio berkecambah dan membentuk tunas (Gambar 10). Daun yang terbentuk setelah inisiasi menunjukkan adanya variasi jumlah daun (Tabel 7). Pada usia 2, 3 dan 4 bulan setelah inisiasi rata-rata jumlah daun tertinggi terdapat pada buah yang disimpan selama 4-10 hari pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_2$ ) dengan rata-rata jumlah daun yang terbentuk tiap bulannya 11.75 daun  $\pm 2.09$ , 19.38 daun  $\pm 3.02$  dan 22.10 daun  $\pm 5.06$ . Namun pada 5 dan 6 bulan setelah inisiasi daun mengalami penguningan, pencoklatan dan kematian, sehingga jumlah daun berkurang.

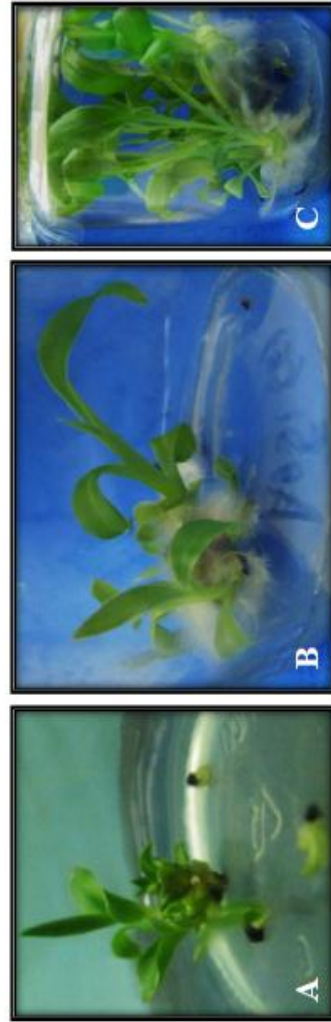
Rata-rata jumlah daun terendah sampai 6 bulan setelah inisiasi terjadi pada perlakuan buah yang disimpan selama 4-10 hari pada suhu  $32^{\circ} - 40^{\circ}\text{C}$  ( $A_0S_3$ ), sedangkan pertumbuhan daun tertinggi pada usia 5 dan 6 bulan setelah inisiasi terjadi pada penyimpanan biji selama 4-10 hari pada suhu  $1^{\circ} - 5^{\circ}\text{C}$  ( $B_0S_2$ ), dengan rata-rata jumlah daun 12.28 daun  $\pm 1.10$  dan 14.67 daun  $\pm 1.1$ . Pada tahapan ini diperoleh hasil bahwa penyimpanan organ sumber eksplan pada suhu dan waktu yang berbeda tidak mempengaruhi jumlah daun. Hal ini terlihat dari adanya pertumbuhan daun pada tunas hasil perkecambahan embrio yang disimpan dalam suhu beku dan suhu di atas suhu ruangan dalam waktu 1 sampai 2 bulan, sehingga dapat diperoleh gambaran bahwa embrio yang pada saat awal mengalami cekaman suhu, setelah melewati masa kritis mampu *recovery* pertumbuhannya.

Tabel 7. Rataan jumlah daun pada usia 1 – 6 bulan setelah inisiasi (BSI)

Perlakuan	1 BSI			2 BSI			3 BSI			4 BSI			5 BSI			6 BSI								
	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks	Rataan	±SE	Min	Maks				
A <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	3,00	0,63	2,00	5,00	9,70	1,67	4,00	19,00	15,00	2,14	7,00	24,00	16,20	2,63	4,00	29,00	10,31	0,83	7,00	13,67	11,85	1,47	6,00	20,00
A <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	2,50	0,50	2,00	3,00	<b>11,75</b>	<b>2,09</b>	<b>4,00</b>	<b>21,00</b>	<b>19,38</b>	<b>3,02</b>	<b>7,00</b>	<b>29,00</b>	<b>22,10</b>	<b>5,06</b>	<b>0,00</b>	<b>41,00</b>	<b>11,70</b>	<b>0,78</b>	<b>7,70</b>	<b>14,00</b>	<b>12,21</b>	<b>1,25</b>	<b>8,70</b>	<b>18,70</b>
A <sub>0</sub> S <sub>3</sub>	<b>3,63</b>	<b>0,86</b>	<b>2,00</b>	<b>8,00</b>	7,13	1,53	2,00	15,00	8,88	1,90	5,00	21,00	8,50	2,28	0,00	25,00	6,40	0,62	2,00	9,00	6,92	0,70	2,00	9,70
A <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	2,50	0,50	2,00	3,00	4,20	0,73	2,00	8,00	7,50	0,76	5,00	12,00	8,70	0,93	5,00	15,00	9,45	0,72	6,00	13,00	11,87	1,22	6,00	19,00
B <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	2,00	0,32	1,00	3,00	7,38	1,52	0,00	13,00	9,63	1,97	0,00	16,00	10,30	2,94	0,00	26,00	11,57	1,91	4,00	19,00	11,81	1,88	4,00	19,00
B <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	3,50	0,87	2,00	6,00	8,56	1,23	3,00	14,00	15,30	1,57	9,00	23,00	21,30	2,85	11,00	38,00	<b>12,28</b>	<b>1,10</b>	<b>6,50</b>	<b>17,00</b>	<b>14,67</b>	<b>1,11</b>	<b>6,60</b>	<b>18,00</b>
B <sub>0</sub> S <sub>3</sub>	2,50	0,50	2,00	3,00	7,00	1,00	6,00	9,00	6,83	2,24	2,00	14,00	6,10	2,32	0,00	21,00	8,09	2,44	1,00	22,00	11,41	3,00	4,00	26,00
B <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	2,70	0,15	2,00	3,00	6,30	0,62	4,00	9,00	10,30	0,91	7,00	16,00	13,30	1,87	8,00	24,00	8,75	0,87	5,80	14,00	10,42	1,07	6,80	18,00

Keterangan: A = penyimpanan buah, B = penyimpanan biji, (pada suhu 0 = -20° -- -25°C, 1 = 1° - 5°C, 2 = 32° - 40°C.)

S = lama penyimpanan (0 = 4-10 hari; 1 = 1 bulan; 2 = 2 bulan).



Gambar 10. Pertumbuhan daun dari penyimpanan biji pada suhu 1-5 °C (B<sub>0</sub>S<sub>2</sub>) pada: A. 1 bulan; B. 2 bulan dan C. 4 bulan setelah inisiasi.

Perkembangan pada daun pisang terjadi pada tulang daun yang berdiferensiasi pada tahap awal perkembangan primordium daun. Setelah pertumbuhan tulang daun berhenti, pertumbuhan lebih lanjut dari helai daun dilakukan oleh pembelahan sel helai daun. Pada awal perkembangan daun, aktifitas meristem daun menyebabkan terjadinya perpanjangan daun. Perpanjangan daun berikutnya terjadi sebagai akibat aktifitas meristem interkalar. Pelebaran daun (*bifacial/ dorsiventral*) terjadi bila meristem tepi daun aktif melakukan pembelahan sel. Bila aktifitas meristem tepi tersebut terbatas hanya pada daerah-daerah tertentu, maka akan terbentuk daun yang berbagi menyirip atau majemuk menyirip (Mulyani, 2006).

Bertambahnya ukuran daun terjadi sebagai akibat bertambahnya jumlah sel yang diikuti dengan penambahan ukuran sel. Pembelahan sel berbeda-beda pada daerah tertentu dari meristem daun, sehingga terjadi aktifitas diferensial dari meristem daun yang menyebabkan terbentuknya bentuk-bentuk daun yang berbeda. Bentuk daun sangat tergantung dari perkembangannya, terutama pembelahan dan pembesaran sel, selain itu, adanya kematian sel pada daerah-daerah tertentu selama perkembangan daun berlangsung juga dapat menentukan bentuk akhir dari suatu daun. Perkembangan daun seperti inilah yang merupakan dasar bagi terbentuknya basal daun, ujung daun, tepi daun, dan bentuk geometri daun yang berbeda-beda (Mulyani, 2006).

## BAB V

### KESIMPULAN, IMPLIKASI, DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Penyimpanan dengan menggunakan organ biji pada suhu 1° – 5°C diketahui lebih efektif untuk memperpanjang masa simpan pisang liar.
2. Buah yang disimpan dalam suhu beku selama 4-10 hari, embrio masih mampu berkecambah dan beregenerasi membentuk tunas dalam jumlah yang cukup tinggi sampai usia 6 bulan.
3. Penyimpanan buah dan biji pada suhu beku dan suhu ruangan selama 1 dan 2 bulan belum efektif untuk memperpanjang masa simpan pisang liar.
4. Regenerasi dan multiplikasi tunas pisang dari kultur embrio cukup tinggi meski telah dilakukan penyimpanan, regenerasi dan multiplikasi tertinggi dihasilkan pada penyimpanan biji selama 4-10 hari pada suhu 1° – 5°C (B<sub>0</sub>S<sub>2</sub>).

#### B. Implikasi

Penyimpanan organ sumber eksplan berupa buah dan biji pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) dapat dikembangkan dengan cara teknik penyimpanan pada suhu dan jangka waktu tertentu serta dilakukan seleksi dalam medium melalui teknik kultur jaringan untuk mengetahui apakah penyimpanan pada suhu dan waktu tertentu tidak menyebabkan pengaruh buruk pada organ sumber eksplan yang disimpan.

Penelitian ini menghasilkan teknik penyimpanan embrio pisang liar *Musa acuminata* Colla var. *microcarpa* (Becc.) jangka pendek yang kemudian hari dapat digunakan sebagai teknik penyimpanan yang efektif.

### **C. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian penyimpanan buah dan biji lebih lanjut baik pada teknik penyimpanan maupun pada suhu penyimpanan.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai zat yang dapat memecahkan masa dormansi embrio setelah dilakukan penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Acquaah, G. 2007. *Principles of Plant Genetic dan Breeding*. Blackwell Publ. UK.
- Asif, M.H., P. Dhawan, P. Nath. 2000. A simple procedure for the isolation of high quality RNA from ripening banana fruit. *Plant Mol. Bio. Rep.* 18: 105-119.
- Atwell, B., P. Kriedman, and C. Turnbull. 1999. *Plants in Action: Adaptation in Nature Performance in Cultivation*. Macmillan Education Australia PTY LTD.
- Bakry, F. 2008. Zygotic embryo rescue in bananas. *Fruits* 63: 111-115.
- Bernasconi G., M. Paschke, B. Schmid. 2003. Diversity effects in reproductive biology. *Oikos* 102:217–220.
- Bhojwani, S.S. dan M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture: Theory dan Practice*. Elsevier. New York.
- Bhojwani, S.S. 1990. *Plant Tissue Culture: Application dan Limitations*. Elsevier. New York.
- Bhosale, U.P., et al., 2011. *In vitro* Shoot Multiplication in Different Species of Banana. *Asian J. of Plant Sci. and Res.* 1 (3): 23-27.
- Cahyono, B. 2002. *Pisang Usaha Tanidan Penanganan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Copeland, L.O. dan M.B. Mc. Donald. 1985. *Principles of Seed Science and Technology*. Burgess Publ. Comp. New York.
- Demissie A.G. 2013. Effect of Different Combination of BAP (6benzyl Amino Purine) dan NAA (Naphthalene Acetic Acid) On Multiple Shoot Proliferation of Plantain (*Musa Spp.*) Cv. Matoke from Meristem Derived Explant. *Academical J. of Biotechnol.* 1 (5): 071-080.
- Dewi I.N., Sumarjan. 2013. Viabilitas Dan Vigor Benih Padi (*Oryza Sativa*, L) Varietas IR 64 Berdasarkan Variasi Tempat Dan Lama Penyimpanan. *Prosiding Seminar Nasional Fmipa Undiksha Iii*: 232-238.
- Dodds, J. H., dan L.W. Robert. 1983. *Experiment in Plants Tissue Culture*. Cambridge University Press. London.
- Dwiyani R, A. Purwantoro, A. Indrianto, E. Semiarti. 2012. Konservasi Anggrek Alam Indonesia *Vdana tricolor* Lindl. Var *suavis* Melalui Kultur Embrio Secara In-Vitro. *J. Bumi Lestari* 12 (1): 93-98.

- Engelman F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm - a review. *Euphytica* 57: 227-243.
- Eriansyah M., Susiyanti dan Y. Putra. 2014. Pengaruh Pemotongan Eksplan Dan Pemberian Beberapa Konsentrasi Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Eksplan Pisang Ketan (*Musa paradisiaca*) Secara *In Vitro*. *J. Ilmu Budidaya Tanaman* 3 (1); 1-9.
- Fatonah, 2011. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas Benih wijen (*Sesamum indicum* L). Tugas akhir Sarjana FMIPA UIN Malang.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1991. *Fisiologi lingkungan tanaman*. Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Fortescue J.A., D.W.Turner. 2011. Association between low temperatures and anatomical changes in preanthetic ovules of Musa (*Musaceae*). *Sci. Horti.* (104) 433-444.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd. Englan.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture: The Technology*. 2<sup>nd</sup> Edition. Exegetics Limited. England.
- Hadley, H.H. and S.J. Openshaw. 1980. *Interspecific and intergeneric hybridization*. In W.R. Fehr and H.H. Hadley (Eds). *Hybridization of Crop Plant ASA and SCCA*. Madison. New York.
- Harry, G.I., U.U. Ebong, D.R. Vuylsteke. 2010. *In vitro* Rescue Of Zygotic Embryos For The Enhancement Of Hybrid Plantain (*Musa*, Aab Group) Production. *Nigerian J. of Agr., Food and Environ.* 6: 8-13.
- Hanim U. 2011. *Penggunaan daun pisang batu*. Skripsi Mahasiswa S1 USU. Medan.
- Hardaningsih W., H. Alfi. 2010. Penyimpanan Jangka Menengah Secara *In Vitro* Beberapa Genotipe Pisang (*Musa Spp* L.). *Jerami* (3) 1:1-6.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, R.L. Geneve. 2002. *Plant Propagation - Principle and Practises*. New Jersey Prentice Hall.
- Haslam, T.M dan E.C Yeung. 2011. Zygotic embryo culture: An overview. *Di dalam* Thrope, T.A dan E.c. Yeung editor. *Plant embryo culture. Methods and Protocols*. Methods in Molecular Biology. Vol. 710. Springer Science and Bussines media <http://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences/book/978-1-61737-987-1>. [29 Nov 2014]

- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif-Modern*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hidayat R., A. Surkati, R. Poerwanto, L.K. Darusman, B.P. Purwoko. 2005. Kajian Periode Dormansi dan Ritme Pertumbuhan Tunas dan Akar Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Bul. Agron.* (33) (2): 16-22.
- Huetterman, C.A. and J.E. Preece. 1993. Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 33:1050119.
- Hwang, S.C., W.H. Ko. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to Fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Dis.* 88:580-588.
- Roostika I. 2013. Perkembangan Aplikasi Teknik Kriopreservasi untuk Konservasi dan Mendukung Program Pemuliaan Tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 9(1):39-48.
- Indrayanti R., N.A. Mattjik, A. Setiawan, Sudarsono. 2011. Radiosensitivitas pisang Ampyang dan potensi penggunaan iradiasi gamma untuk induksi varian. *J. Agron. Indones.* 39 (2) : 104 – 112
- Jafari N., F.Y. Othman, N. Khalid. 2011. Effect of Benzylaminopurine (BAP) Pulsing on *In vitro* shoot Multiplication of *Musa acuminata* (Banana) Cv. Berangan. *Afr. J. of Biotechnol.* 10 (13): 2446-2450.
- Jana B.R., B. Das. 2013. Effect of dormancy breaking chemicals on flowering, fruit set dan quality in Asian pear (*Pyrus pyrifolia* L.). *Afr. J. of Agric.* 9 (1): 56-60.
- Ji W, Z.Q Li, Q. Zhou, W.K. Yao, Y.J. Wang. 2013. Breeding new seedless grape by means of *in vitro* embryo rescue. *Genet. Mol. Res.* 12 (1): 859-869.
- Kasutjianingati, R. Poerwanto, N. Khumaida, D. Efendi. 2010. Kemampuan pecah tunas dan berbiak *mother plant* Pisang Rajabulu (AAB) dan Pisang Tanduk (AAB) dalam medium inisiasi *in vitro*. *Agriplus.* 20 (1): 9-17.
- Kaviani, B. 2011. Conservation of plant genetic resources by cryopreservation *Review article.* *Aust. J. of Crop Sci.* 5(6):778-800
- Katuuk J.R.P. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Departemen P dan K. Jakarta.

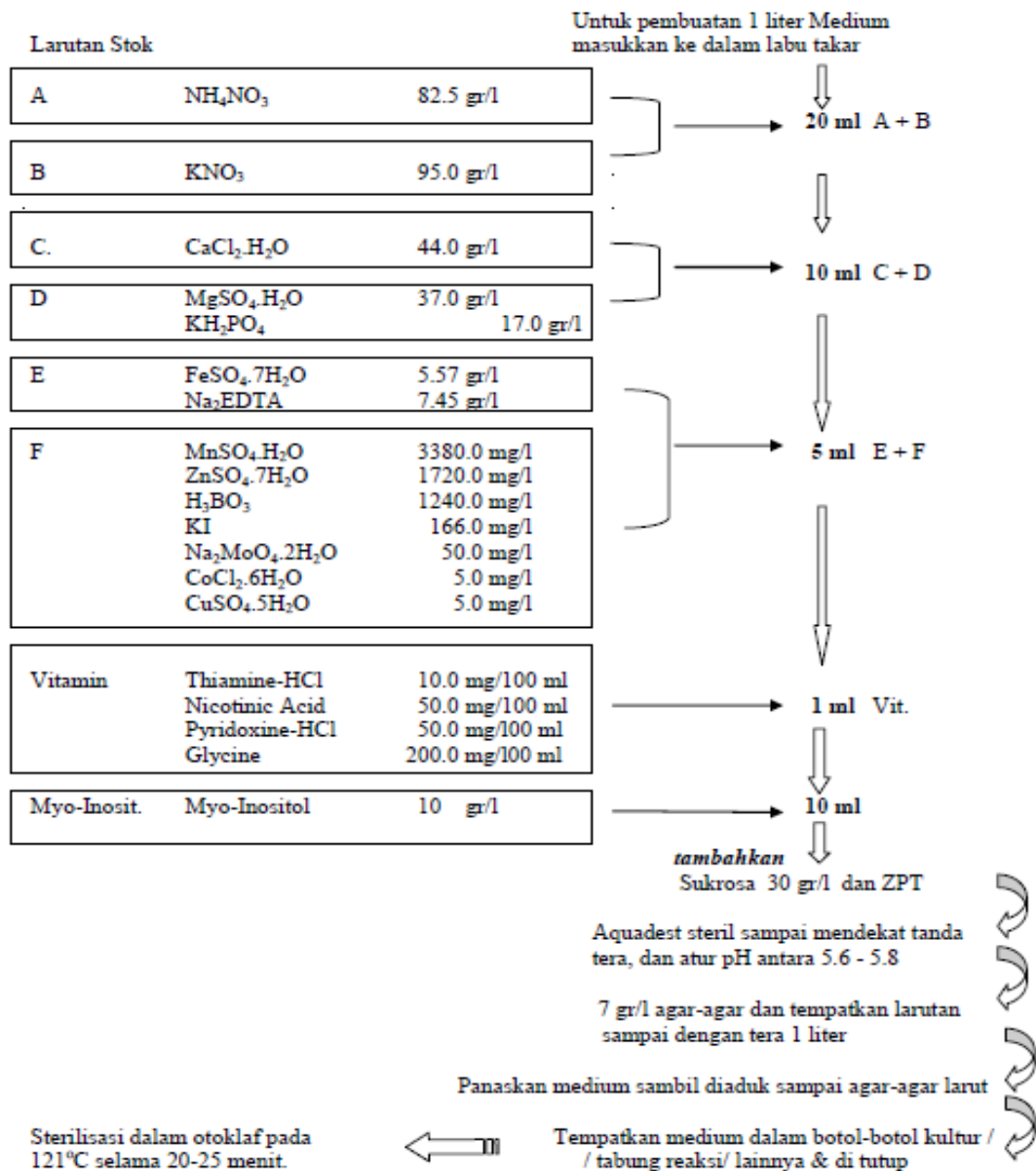
- Mangrich, M.E. Salveit. 2000. *Discovery of chilling injury*. In: *Discoveriees in plant biology* vol III. Singapore: World Scientific Publishing.
- Miyata, S., T. Akazawa. 1982. Enzymic Mechanism of Starch Breakdown in Germinating Rice Seeds, Biosynthesis Of A-Amylase In Relation To Protein Glycosylation. *Plant Physiol.* 70: 147-153.
- Mulyani, Sri. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius
- Mulyanti N., Suprpto, H. Jekvy. 2008. *Teknologi Budidaya Pisang*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Lampung
- Nagano S., G. Mori and M. Oda. 2008. Effects of temperature and moisture content of the substrate during storage on embryo development and germination in seeds of *Musa velutina* Wendl. & Drude. *J. of Hort. Sci. & Biotechnol.* 83 (1): 33–36
- Nasution R.E. 1991. *A taxonomic strudy of species Musa acuminata Colla with its intraspecific taxa in Indonesia*. Memoirs of the Tokyo University of Agriculture. 32:1-122.
- Nasution R.E. 1993. *Rediscovery of two wild seeded bananas of Indonesia*. InfoMusa. 2(2):16-18.
- Pierik R.L.M. 1987. *In vitro culture of higher plants*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Ploetz, R.C., A.K. Kepler, J. Daniells, S.S. Nelson. 2007. *Banana dan plantain dan overview with emphasis on Pasific isldans cultivars*. Specific Profiles for Pasific Island and Agroforestry.
- Putra B.H. 2011. Respon awal Kultur Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* cv buai) Terhadap Infeksi Jamur. Skripsi Mahasiswa S1 UNAND. Padang.
- Rainiyati, D. Martino, Gusniwati, Jasminarni. 2007. Perkembangan pisang Raja Nangka (*Musa* sp.) secara kultur jaringan dari eksplan anakan dan meristem bunga. *J. Agro.* 11 (1): 35-39.
- Rashid K., M. Mamat, A.B.M. Daran, A. Nezhadahmadi, F. Ruslan, F. Kayat. 2013. Seed progeny population of wild banana *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* for Fusarium screening. *Life Sci. J.* :10(3): 671-680 <http://www.lifesciencesite.com>. [29 Nov. 2014].
- Reed, S.M. 2004. Embryo Rescue. Di dalam: Trigiano RN, Gray DJ, editor. *Plant Development and Biotechnology*. New York. CRC Press.

- Rukmana, R. 1999. *Bertanam Buah-buahan di Pekarangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury, F. B and Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 4. ITB. Bandung.
- Satuhu, S. dan A. Supriyadi. 1990. *Pisang, Budidaya, Pengolahan dan Prospek Pasar*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sharma. D.R., R. Kaur, K. Kumar. 1996. Embryo rescue in plants -- a review. *Euphytica* 89 : 325-337
- Singha, S. and S.K. Bathia. 1988. Shoot proliferation of pear culture on medium containing thidiazuron and benzyl aminopurine. *Hort. Sci.* 23: 803-806.
- Smith, M.K., S.D. Hamill, P.W. Langdon, J.E. Giles. V.J. Doogan, K.G. Pegg. 2006. Towards the development of a Cavendish banana resistant to race 4 of fusarium wilt: gamma irradiation of micropopagated Dwarf Parlitt (*Musa* spp, AAA group, Cavendish subgroup). *Aust. J. Exp. Agric.* 46:107-113.
- Sipen P., J.K. Chubo , P.J.H. King, O.K. Huat, M.R. Davey. 2011. Genetic Improvement of Banana Using Conventional and *In vitro* Technologies. *J. of Crop Improv.* 25 (6): 697-727. <http://www.tandfonline.com/loi/>. [26 Des 2014]
- Srilestari R. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah Pada Berbagai Macam Vitamin Dan Sukrosa. *Ilmu Pertanian* 12 (1): 43-50
- Strosse H.I, V.D. Houwe, B. Panis. 2004. Banana cell dan tissue culture-review. Di dalam: Jain SM, Swensen R, editor. *Banana Improvement: Celullular, Molecular Biology, dan Induced Mutation*. Enfield. Sci. Publ. Inc., hlm 1-13.
- Sugito H. dan A. Nugroho, 2004. *Teknik Kultur Jaringan*. Penebar Swadaya, Yogyakarta.
- Sukarman D., Rusmin dan Melati. 2007. Viabilitas Benih Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Pada cara budidaya dan lama penyimpanan yang berbeda. *Bul. Littro.* (XVIII) 1: 1-12
- Supriyati Y., I. Mariska, dan S. Hutami. 2005. Mikropropagasi sukun (*Artocarpus communis* Forst). Tanaman sumber karbohidrat alternatif. *Berita Biologi* 7(4): 207-214.

- Supriyati Y., I. Mariska dan Mujiman. 2006. Multiplikasi Tunas Belimbing Dewi (*Averrhoa carambola*) melalui Kultur *In Vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* (12).2: 50-55.
- Suryowinoto M. 1996. *Pemuliaan tanaman secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sutanto A., S. Purnomo, D.W. Ardiana. 2000. Kultur Embrio Beberapa Pisang Liar dalam Menunjang Konservasi Sumberdaya Genetik. *J. Hort.* 10 (1): 1-10.
- Sutopo L. 2002. *Teknologi Benih*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2000, *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Uma, S. Lakshmi, M.S. Saraswathi, A. Akbar, M.M. Mustaff. 2011. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa ssp*). *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 105: 105 – 111.
- Uma, S. Lakshmi, M.S. Saraswathi, A. Akbar, M.M. Mustaff. 2012. Plant regeneration through somatic embryogenesis from immature and mature zygotic embryos of *Musa acuminata ssp. burmannica*. *In vitro. Cell. Dev. Biol. Plant* 48: 539 – 545
- Valmayor R.V., S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua, R.R.C. Espiro. 2000. *Banana Cultivar Names dan Synonyms in Southeast Asia*. INIBAP. France.
- Wang C.Y. 1991. Chilling and Freezing Injury. <http://globalripening.com/ne-postharvest.com/hb66/017chilling.pdf>. [27 Des 2014]
- Wina E. 2001. Tanaman Pisang Sebagai Pakan Ternak Ruminansia. *Wartazoa* 11 (1): 20-27
- Winarno F.G. 1995. Enzim Pangan. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara, Jakarta.

## Lampiran 1. Pembuatan Medium Murashige dan Skoog's (MS)

### PEMBUATAN MEDIUM MURASHIGE dan SKOOG'S (MS)



## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



**AMALIYA RUHAMA PUTRI.** Dilahirkan di Solok, 11 Agustus 1992. Anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan bapak Emrizal dan ibu Isnadia Hayati, S.Pd. Beralamat di Wisma Solok Nan Indah E/9, RT 02 RW 03, Kota Solok, Sumatera Barat. Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah SDN 15 Kota

Solok pada tahun 2004, MTsN Kota Solok lulus pada tahun 2007 dan SMAN 3 Kota Solok lulus tahun 2010. Pada tahun 2011 penulis diterima sebagai mahasiswa jurusan Biologi di FMIPA Universitas Negeri Jakarta melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Penulis pernah mengikuti Pelatihan IT mengenai SPSS pada tahun 2013 dan beberapa seminar: seminar nasional Isu-isu kritis lingkungan 2012 dan seminar ekologi dan konservasi 2013.

Selama masa kuliah penulis pernah mengikuti kegiatan cakrawala biologi (CABI) di Gunung Bunder pada tahun 2011. Pada tahun 2014 penulis mengikuti Kuliah Kerja Lapangan di Pangandaran dan pada tahun yang sama penulis mengikuti Praktek Kerja Lapangan yaitu “Kultur Jaringan Embrio Pisang Liar secara In vitro” di Balai Penelitian Tanaman buah Tropika (BALITBU Tropika), solok, Sumatera Barat. Pada tahun 2015 penulis menjadi Asisten Dosen untuk mata kuliah Praktikum Kultur Jaringan.